

地方衛生研究所が担う HIV 検査の現状評価と課題の解決

研究分担者 貞升 健志 東京都健康安全研究センター微生物部

研究協力者 長島 真美¹、熊谷 遼太¹、北村 有里恵¹、根岸 あかね¹、
新開 敬行¹、松岡 佐織²、草川 茂²、今村 顕史³

地方衛生研究所 HIV 検査グループ

¹ 東京都健康安全研究センター、² 国立感染症研究所、³ 都立駒込病院、

研究要旨：2018年に全国32の地方衛生研究所（地研）等を対象にHIV検査に関する研修会を実施した。研修会では地研でHIV検査を行う理由、HIV検査試薬、HIV検査マニュアル改訂のポイント、HIV/AIDSの発生状況、抗体確認検査（WB法）、核酸増幅検査等についての講義を行った。また、スライドでHIV検査に関する問題を提示し、グループ（6名程度）で考える形式の演習を行った。後日、研修会参加施設に対し、HIV精度管理試料4サンプル（血漿各1mL）をジュラルミンケース包装のゆうパックにて送付し、各地研で実施した結果をメールにて受け取り、集計した。

HIV精度管理調査の結果、各サンプルの正答率は93.3-100.0%であり、本研究班で実施した第1回精度管理調査結果よりも高い正答率であった。事前に講義を行ったことで検査に関して理解が深まり、精度管理の正答率の上昇に寄与したことが推察された。改めて、各キットの添付書のみで任せるのではなく、定期的な研修等を通じたHIV専門知識の教育と精度管理調査の重要性が示唆された。

A.研究目的

保健所におけるVCT（Voluntary Counseling and Testing）によるHIV検査事業は、全国の地方衛生研究所（以下、地研）が検査の中心となり、昭和62年3月より開始されている。その事業は保健所で採血を行い、地研にてスクリーニング検査または確認検査を実施した後、保健所へ結果を返却することで成り立っている。

しかしながら、近年、即日検査や郵送検査等の検査の多様化が進み、今までとは違った検査のシステム構造ができていく。受検者の選択肢が増えたことで、我が国におけるHIV検査数、陽性者数や陽性者の病院への受診者数の把握が困難になっているのも事実といえる。WHOの掲げる90-90-90の実現のためには、数の計数管理ができる検査数の増大が必要であり、日本においてはVCTの検査拠点となってきた各地研の果たす役割はまだまだ大きいと考えられる。

今回、2018年10月に地研を対象としたHIV検査に係る研修会を実施し、さらに参加施設に対し、HIV検査の精度管理を実施したのでその概要を報告する。

B.研究方法

1. HIV検査技術研修会

2018年10月、地研を対象とし実施したHIV検査技術研修会には32施設の衛生研究所が参加した。事前に実施したアンケート調査で、2017年のHIVスクリーニング検査数の規模を調査したところ、全体で16,370検体を実施しており（図1）、全国の無料匿名検査（123,432件）の13.2%を占めていた。一方、HIVスクリーニング検査を実施していない施設が4、実施しているが年間500検体未満が半数以上を占めていた。

また、HIV検査陽性は全体で96例であったのに対し（図2）、ウエスタンブロット（WB）法に

については、7施設が2017年に実施しておらず(図3)、年間のHIV陽性検体5検体未満が81%を占めていた。また、NATについては、2017年に実施経験がない施設は23施設(72%)であった(図4)。

2. HIV 精度管理調査

HIV 検査技術研修会に参加した施設について、4本のHIV検査用サンプル(血漿各1mL)を11月13日にジュラルミンケース包装のゆうパックにて送付した(図5)。

送付検体は陰性検体(TEQS2018-01)、陽性検体(TEQS2018-02、TEQS2018-03)とし、さらにもう1本はチャレンジ検体(TEQS2018-04)とした。チャレンジ検体については希望施設についてのみ参加とし、WB法で判定保留、PCR法で陽性(10^3 コピー/ml程度)の検体である。

(倫理面への配慮)

本研究は、東京都健康安全研究センター倫理委員会にて承認されている。

C.研究結果

1. HIV 検査技術研修会の実施

技術研修会では座学を中心に1日で行い(別紙)、地研でHIV検査を行う理由、HIV検査試薬、HIV検査マニュアル改訂のポイント、HIV/AIDSの発生状況、抗体確認検査(WB法)、核酸増幅検査等について、講義を実施した。さらに、スライドで問題を提示し、6名程度のグループで答える方式のグループ演習を実施した(図6、7)。当初は理解ができなかった参加者も繰り返し問題を体験し、答えることで、HIV検査に対する理解が深まったものと思われた。

2. HIV 精度管理調査

研修会に参加した32施設を対象に約1ヵ月後に精度管理調査を実施した。そのうち、1施設は確認検査を他の衛生研究所に委託し、また、1施設はWB法までは保健所が実施することとなっ

ており、核酸増幅検査法のみを実施していた。今回の精度管理調査では、総合的な判定までを目的としたため、当該2施設の衛生研究所を除いた施設30施設についてまとめる。

各検体の正答率を見たところ(図8)、陰性検体(TEQS2018-01)については、正答率93.3%であった。不正解であった2施設は、使用した試薬を用いたスクリーニング検査で陽性であったこと、核酸増幅検査を実施していなかったことで、判定保留と判定せざるを得ず、正答には辿り着けなかった。

陽性検体(TEQS2018-02)については、30施設全てが陽性と判定していた。

陽性検体(TEQS2018-03)については、29施設は陽性と判定したが、1施設のみ、HIV-1もHIV-2も陽性としていた。

チャレンジ検体(TEQS2018-04)については、32施設中28施設(87.5%)が参加した。本検体は全てのスクリーニング検査試薬で陽性となるが、HIV-1WB法ではp25,p31,p52を認め、GPのバンドははっきりとせず、HIV-2WB法ではp25のみである。そのため、WB法では判定保留、PCR法で陽性(10^4 コピー/ml程度)とすべき検体である。核酸増幅検査を実施しなかった施設(核酸増幅検査で検出できなかった施設を含む)では判定保留、核酸増幅検査で検出した施設ではHIV-1陽性を正解とした。

結果、15施設がPCRを実施し、13施設はHIV遺伝子を検出し、2施設はHIV遺伝子を検出できずに最終判定を判定保留としている。また、13施設はPCRを実施せずに、WB法でも判定ができずに、判定保留としている。参加した28施設中1施設のみ、WB法でHIV-1WB法でgp160を検出しているのにも関わらず、陰性とする施設があったが、その他の施設は全て正解とした。

4. 研修会後のアンケート調査

研修会後のアンケート調査の結果では、研修会はとても役立ったが87.0%、役立ったが13.0%で

あった。定期的な HIV 研修会が必要とした施設は 97%であり、回数は1回/年が 40%、2年に1回が 33%であった。

D.考察

HIV 感染症の確認検査においては、抗体検査では WB 法、抗原検査としては HIV-1 の核酸増幅検査が用いられている。WB 法は客観性に優れている反面、検出感度の面では第 4 世代スクリーニング検査試薬に比べ劣っており、注意が必要である。

本研究班において、平成 28 年度から HIV の精度管理を実施しており、今回で 3 回目である。

今回、地研の HIV 検査担当者を対象に研修会を企画したところ、32 施設の地研等より参加があった。

研修会では、HIV 検査について基礎から応用までを 1 日の講義を行い、後日、精度管理調査を実施したところ、精度管理調査の正答率は 93.3-100.0%であった。この正答率は、第 1 回目の精度管理調査よりも高く (72.5-97.5%)、第 2 回目 (96.4-100.0%) よりもやや低い結果となった。

HIV-1 WB 法の判定では全体的に検出バンド数が多いような検体では、各施設での判定に間違いはなかったが、TEQS2018-01 検体のように、陰性の検体の判定を誤った地研が 2 施設あった。ただし、この検体については、A 社の試薬のみ陽性となることが後に判明し、A 社の試薬を使用し、遺伝子増幅検査を実施しなかった施設での誤回答が生じていた。

また、WB 法で判定保留であり、核酸増幅検査が必要な検体 (TEQS2018-04 検体) をチャレンジ検体としたところ、28 施設がチャレンジに参加した。うち、15 施設が PCR を実施し、13 施設は HIV 遺伝子を検出し、2 施設は HIV 遺伝子を検出できずに最終判定を判定保留としている。また、13 施設は PCR を実施せずに、WB 法のみで判定ができず、判定保留としている。1 施設は WB 法

の判定そのものが間違っていた。

今回の精度管理調査で、HIV 陽性検体についての判定は満足できる結果であったが、偽陽性や感染初期検体の判定はまだままだであるとの印象がある。その原因としては、遺伝子増幅検査法を実施していないことに原因があると推察される。今後、新たな HIV 確認検査法が認可され、使用されていくと思われることから、最終的な判定に関与する HIV 遺伝子増幅検査法の地研への導入をさらに推進していかなければならない。

HIV 検査はキット化された試薬を用いるため、判定に迷うことが少ないと考えられがちであるが、HIV 検査はきちんとしたアルゴリズムに従って実施されても、経験が浅ければ判断を誤る可能性があることが改めて示唆された。前回のよう、HIV 検査に関する精度管理を 1 年間で 2 回実施し、2 回参加した施設の正答率が著しく高くなったが、今回のように事前に講義を行うことで、正答率を上げることも可能であった。各キットの添付書に任せるのではなく、このような前提を考慮して検査マニュアル等に加筆、充実化するとともに、研修等を通じ教育していく必要性が感じられた。

日本においても欧米で使用されている WB 法に代わる目視によらない試薬が利用されつつある。WHO の掲げる 90-90-90 の実現のためにも、全国の地研にしっかりと技術・知識を根付かせなければならない。また、定期的に HIV 検査に関する技術・情報を各地研に周知し、保健所における VCT による HIV 検査事業を保持していく必要性が感じられた。

E.結論

2018 年に参加を希望した全国の 32 施設の衛生研究所の HIV 検査担当者に対し、研修会を実施した。研修会では座学を中心に行い、衛生研究所で HIV 検査を行う理由、HIV 検査試薬、HIV 検査マニュアル改訂のポイント、HIV/AIDS の発生状況、抗体確認検査 (WB 法)、核酸増幅検査等について、講義を実施した。午後はグループ演習

とし、スライドで問題を提示し、グループで答える方式をとった。

HIV 検査技術研修会に参加した施設について、4本の HIV 精度管理用サンプルを送付した。送付検体は陰性検体 (TEQS2018-01)、陽性検体 (TEQS2018-02、TEQS2018-03) とし、もう1本はチャレンジ検体 (TEQS2018-04) とした。チャレンジ検体については、WB 法で判定保留、PCR 法で陽性の検体である。

精度管理調査の正答率は93.3-100.0%であった。この正答率は、第1回目の精度管理調査 (72.5-97.5%) よりも高く、第2回目 (96.4-100.0%) よりもやや低い結果となった。

HIV 検査に関する精度管理を1年間で2回実施し、連続して2回参加した施設の正答率が著しく高くなったが、今回のように事前に講義を行うことで、正答率を上げることも可能と思われた。

WHO の掲げる 90-90-90 の実現のためにも、全国の衛生研究所にしっかりと技術・知識を根付かせなければならない。また、定期的に HIV 検査に関する情報を各地研に周知し、保健所における VCT による HIV 検査事業を保持していく必要性が感じられた。

地方衛生研究所 HIV 検査グループ

(HIV 検査技術研修会参加者)

| | |
|--------|-----------------|
| 山口 宏樹 | 北海道立衛生研究所 |
| 中島 亜子 | 栃木県保健環境センター |
| 小林 真之 | 宇都宮市衛生環境試験所 |
| 櫻井 裕子 | さいたま市健康科学研究センター |
| 古井 悠賀 | 越谷市衛生試験所 |
| 徳田 優樹 | 世田谷区衛生検査センター |
| 大木 旬子 | 千葉市環境保健研究所 |
| 清水 耕平 | 横浜市衛生研究所 |
| 望月 響子 | 相模原市衛生研究所 |
| 山口 純子 | 横須賀市健康安全科学センター |
| 酒井 悠希子 | 静岡県環境衛生科学研究所 |
| 前畑 高明 | 静岡市環境保健研究所 |
| 早苗 綾香 | 浜松市保健環境研究所 |

| | |
|--------|----------------|
| 板持 雅恵 | 富山県衛生研究所 |
| 中澤 柁哉 | 石川県保健環境センター |
| 小林 洋平 | 名古屋市衛生研究所 |
| 永田 瑞絵 | 京都府保健環境研究所 |
| 中川 力 | 京都市衛生環境研究所 |
| 福井 陽子 | 堺市衛生研究所 |
| 植村 卓 | 神戸市環境保健研究所 |
| 黒田 久美子 | 姫路市環境衛生研究所 |
| 神谷 恵利 | 尼崎市立衛生研究所 |
| 松岡 保博 | 岡山県環境保健センター |
| 兼重 泰弘 | 広島市衛生研究所 |
| 有塚 真弓 | 香川県環境保健研究センター |
| 島田 実希子 | 徳島県立保健製薬環境センター |
| 越智 晶絵 | 愛媛県立衛生環境研究所 |
| 岩佐 奈津美 | 福岡市保健環境研究所 |
| 深澤 未来 | 熊本県保健環境科学研究所 |
| 西澤 香織 | 熊本市環境総合センター |
| 松浦 裕 | 宮崎県衛生環境研究所 |
| 久場 由真仁 | 沖縄県衛生環境研究所 |

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1. 論文発表

- 1) 小田真悠子、宗村佳子、永野美由紀、木本佳那、奥津雄太、新開敬行、貞升健志:2016年から2017年の東京都におけるA型肝炎ウイルスの分子疫学的解析、食衛誌、59、6、257-264、2018
- 2) 三宅啓文、高野弘紀、水戸部森歌、横山敬子、貞升健志:梅毒無料匿名検査陽性例におけるRPRカード法と自動化法の定量値の比較、日本性感染症学会誌、29、1、29-35、2018
- 3) 長島真美、北村有里恵、秋場哲哉、貞升健志、堅田敦子、臼井久美子:東京都のHIV感染者・AIDS患者の動向、病原微生物検出状況、37、3-5、2016
- 4) 和田耕治、西塚 至、竹下 望、貞升健志、寺田千草、砂川富正、松井珠乃、岸本 剛、前田秀雄:

東京 2020 オリンピック・パラリンピック競技大会に関する自治体における感染症対策のためのリスク評価、日医雑誌、145、1459-1468、2016

5) Ogawa S, Hachiya A, Hosaka M, Matsuda M, Ode H, Shigemi U, Okazaki R, Sadamasu K, Nagashima M, Toyokawa T, Tateyama M, Tanaka Y, Sugiura W, Yokomaku Y, Iwatani Y. : A Novel Drug-Resistant HIV-1 Circulating Recombinant Form CRF76_01B Identified by Near Full-Length Genome Analysis.

AIDS Res Hum Retroviruses. 32, 284-289、2016

6) Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Mori H, Minami R, Uchida K, Sadamasu K, Kondo M, Sugiura W; Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Characteristics of Transmitted Drug-Resistant HIV-1 in Recently Infected Treatment-Naïve Patients in Japan. J Acquir Immune Defic Syndr. 71, 367-373、2016

2.学会発表

1. 貞升健志、長島真美、北村有里恵、熊谷遼太、根岸あかね、松岡佐織、川畑拓也、近藤真規子、草川 茂、新開敬行、今村顕史: 全国の地方衛生研究所を対象とした HIV 検査精度管理の実施、第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪市、2018年12月)、第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪市、2018年12月)
2. 長島真美、北村有里恵、熊谷遼太、根岸あかね、林 志直、新開敬行、椎野禎一郎、貞升健志: 東京都内公的検査機関における HIV 陽性例の国内伝播クラスタの解析: 第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪市、2018年12月)
3. 川畑拓也、井戸田一朗、小島洋子、近藤真規子、貞升健志、佐野貴子、須藤弘二、高田 昇、長島真美、森 治代、加藤真吾、今村顕史: エビデンスに基づいた専門職向け HIV 検査 Q&A 集の作成、第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪市、2018年12月)

4. 土屋菜歩、佐野貴子、近藤真規子、堅多敦子、石丸雄二、城所敏英、カエベタ亜矢、川畑拓也、貞升健志、須藤弘二、加藤真吾、大木幸子、今井光信、今村顕史: 保健所・検査所における HIV 検査・相談実施状況および陽性率に関するアンケート調査、第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪市、2018年12月)
5. 渡辺恒二、柳川泰昭、長島真美、湯永博之、菊池 嘉、岡 慎一、横山敬子、新開敬行、貞升健志: 東京都内自発的性感感染症検査施設受検者におけるアムエバ赤痢血清抗体陽性率の検討、第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪市、2018年12月)
6. 岡崎玲子、蜂谷敦子、佐藤かおり、豊嶋崇徳、佐々木悟、伊藤俊広、林田庸総、岡 慎一、湯永博之、古賀道子、長島真美、貞升健志、近藤真規子、椎野禎一郎、須藤弘二、加藤真吾、谷口俊文、猪狩英俊、寒川 整、加藤英明、石ヶ坪良明、中島秀明、吉野友佑、太田康男、茂呂 寛、渡邊珠代、松田昌和、重見 麗、重見 麗、岩谷靖雅、横幕能行、渡邊大、小島洋子、森 治代、藤井輝久、高田清式、南留美、山本政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎、杉浦 互、吉村和久、菊池 正: 国内新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV-1 の動向、第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪市、2018年12月)
7. 本間隆之、岩橋恒太、貞升健志、長島真美、生島 嗣、堅多敦子、市川誠一、今村顕史: HIV 検査相談会「快速あんしん検査上野駅 2017」の実施、第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪市、2018年12月)
8. 土屋菜歩、佐野貴子、近藤真規子、堅多敦子、石丸雄二、城所敏英、カエベタ亜矢、川畑拓也、貞升健志、須藤弘二、加藤真吾、大木幸子、今井光信、今村顕史: 保健所・検査所における梅毒検査実施状況および陽性率に関するアンケート調査、第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪市、2018年12月)
9. 三宅啓文、水戸部森歌、高野弘紀、久保田寛顕、横山敬子、貞升健志: 都内淋菌分離株の薬剤感受

性と分子疫学解析、日本性感染症学会第31回学術大会、(東京、2018年11月)

10. 熊谷遼太、長島真美、根岸あかね、北村有里恵、長谷川道弥、森 功次、林 志直、水戸部森歌、三宅啓文、新開敬行、貞升健志:非クラミジア性淋菌性尿道炎における尿道炎起因ウイルスの検出状況、第33回関東甲信静支部ウイルス研究部会(高崎市、2018年9月)

11. Oda.M., Soumura.Y., Nagano.M., Asakura.H.,Shinkai.T.,Sadamasu.K.:Epidemiological and genetic analysis of hepatitis A viruses circulating in Tokyo, 2016-2018, 第66回日本ウイルス学会学術集会、2018(京都、10月)

12. Yanagawa.Y., Nagashima.M., Shinkai.T., Kikuchi.Y., Gatanaga.H., Oka.S., Sadamasu.K., Watanabe.K. : Seroprevalence of Entamoeba histolytica at a Voluntary Counseling and Testing Center in Tokyo: Data from 2017、American Society of Microbiology Microbe 2018 (USA, Atlanta)

H.知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

なし

別紙

平成 30 年度 地方衛生研究所 HIV 検査技術研修会

厚生労働科学研究「HIV 検査受検勧奨に関する研究」 研究代表 今村顕史
(地方衛生研究所が担う HIV 検査の現状評価と課題の解決 分担研究 貞升健志)

プ ロ グ ラ ム

平成 30 年 10 月 11 日 (木) 東京都健康安全研究センター 7D 会議室

- 9 : 30 ~ 9 : 35 オリエンテーション (東京都健康安全研究センター 新開敬行)
講師・実習生紹介、研修内容の説明
- 9 : 35 ~ 10 : 05 講義 (東京都健康安全研究センター 貞升健志)
HIV 検査総論：衛生研究所で HIV 検査を行うために
- 10 : 05 ~ 10 : 35 講義 (国立感染症研究所 草川 茂)
HIV 検査各論：HIV 検査試薬について
- 10 : 35 ~ 11 : 05 講義 (東京都健康安全研究センター 長島真美)
WB 法の判読法・IC 法の欠点 (検査毎の感度・特異性等)
- 11 : 15 ~ 12 : 00 講義 (国立感染症研究所 松岡佐織)
HIV 検査総論：HIV 検査マニュアル改訂のポイント
HIV/AIDS の発生状況について
- 13 : 10 ~ 13 : 40 講義 (草川)
HIV 検査各論：核酸増幅検査
- 13 : 40 ~ 14 : 10 講義 (長島)
HIV 検査各論：検査における問題例の紹介
- 14 : 10 ~ 15 : 10 演習：グループワーク①
- 15 : 20 ~ 16 : 20 演習：グループワーク②
- 16 : 20 ~ 16 : 40 講義 (がん・感染症センター都立駒込病院感染症科部長 今村顕史)
- 16 : 40 ~ 17 : 00 総合討論&まとめ

【事前アンケート】

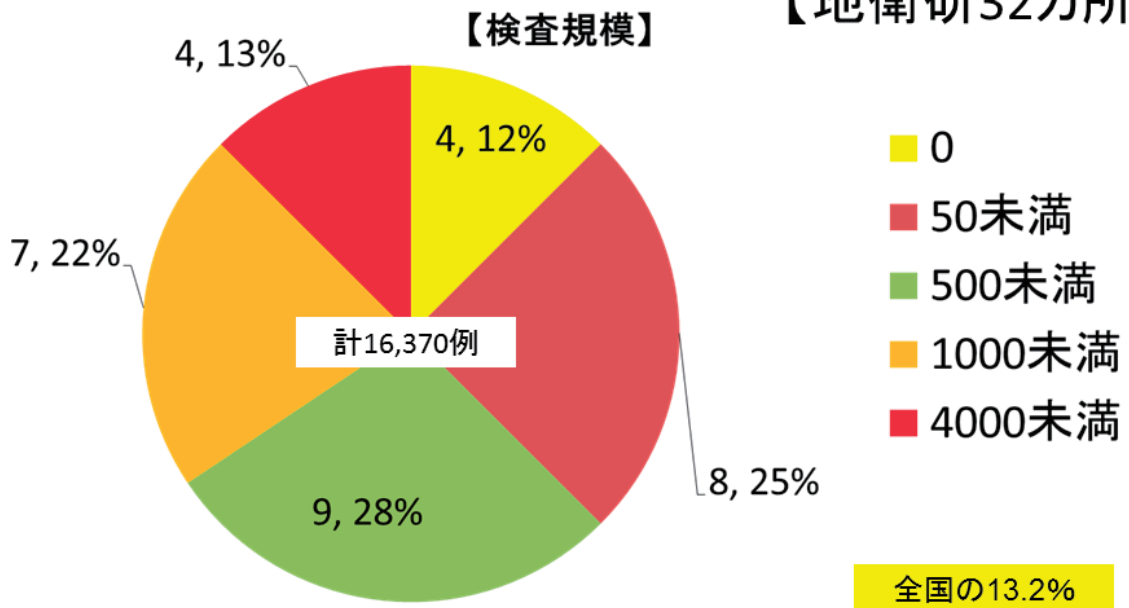


図1. 研修参加施設のスクリーニング検査数(2017年)

【事前アンケート】

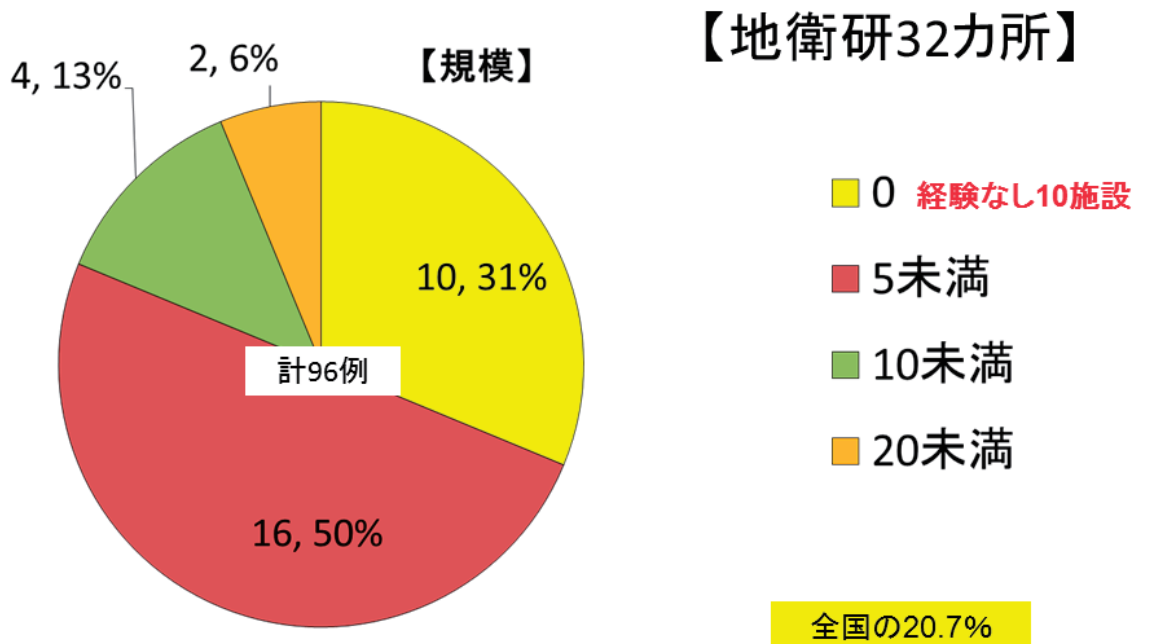


図2. 研修参加施設のHIV検査陽性数(2017年)

【事前アンケート】

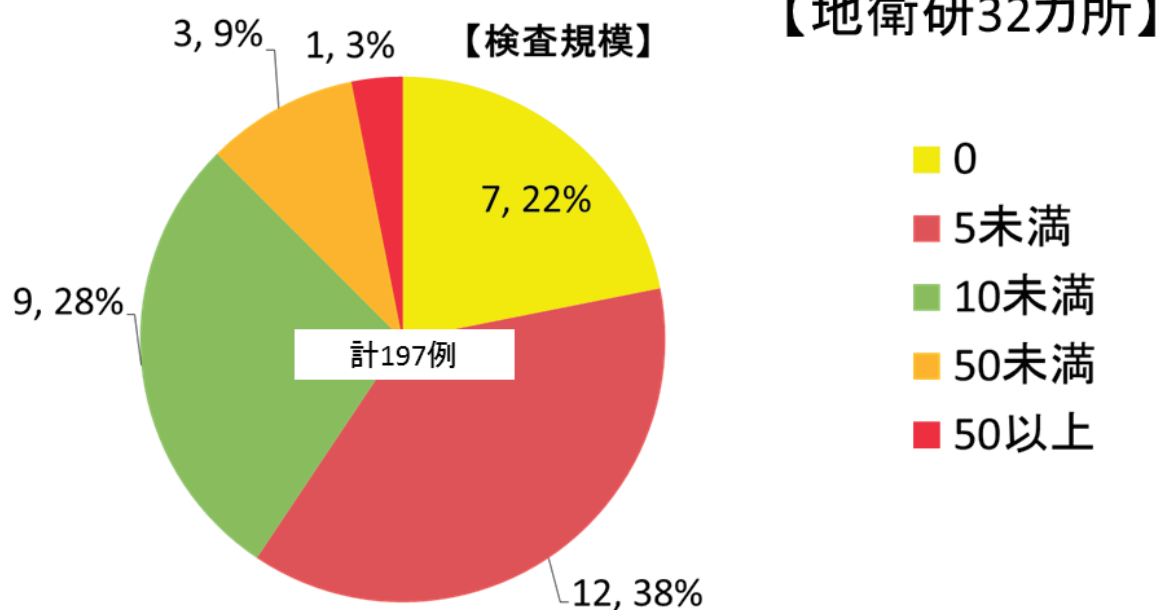


図3. 研修参加施設のWB法検査数(2017年)

【事前アンケート】

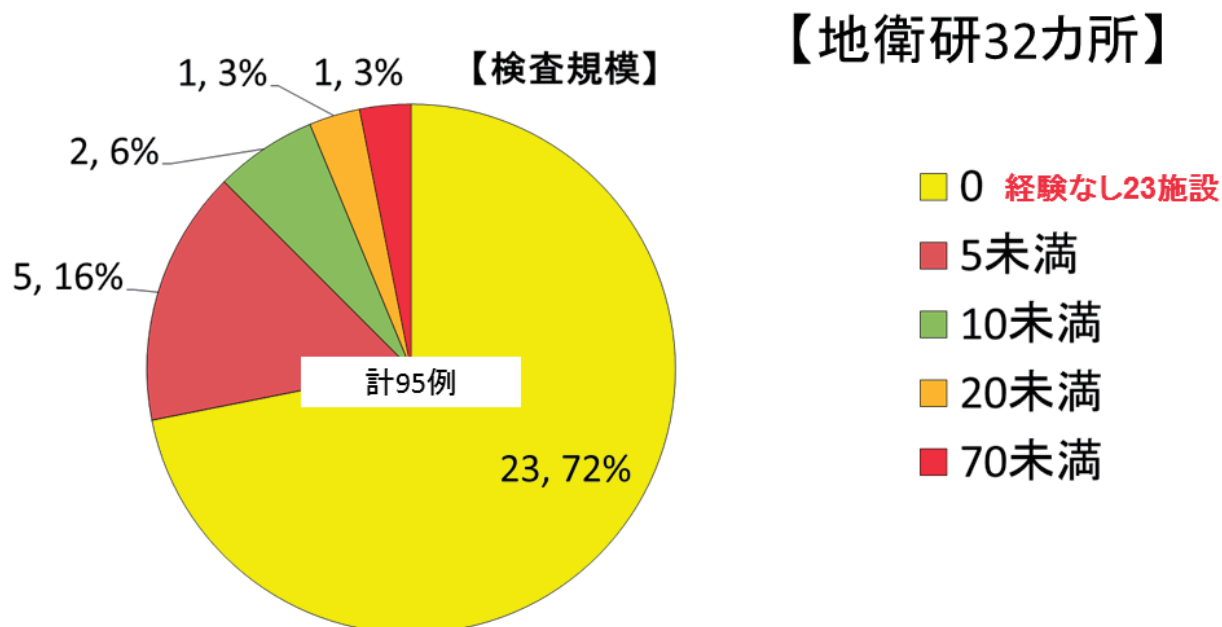


図4. 研修参加施設の核酸増幅検査実施件数(2017年)

発送元: 東京都健康安全研究センター

送付サンプル: TEQS2018 panel (sample 4本)

発送日: 2018年11月13日 (ゆうパック)

輸送条件: チルド (ジュラルミンケース)

サンプルを取り出した後、ジュラルミンケース (三重容器を含む) を 付属の着払い伝票 にて、直ちにご返送ください。

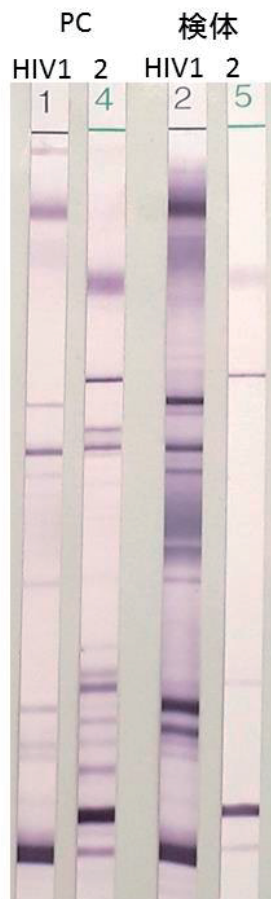
(付属のクロネコヤマトの着払い伝票を必ず使用してください、11月19日必着のこと)

| Lot | サンプル | 蓋の色 |
|---------------------------|------|-----|
| TEQS2018 -01 | 血漿 | 赤 |
| TEQS2018 -02 | 血漿 | 黄 |
| TEQS2018 -03 | 血漿 | 緑 |
| TEQS2018 -04 【チャレンジ検体】 | 血漿 | 白 |

チャレンジ検体とは・・・検査結果、総合判定に加え、判定に至った経緯等を記述してください (任意参加とします)。

本検体は、精度管理結果の集計対象から除きます。

図5. 精度管理調査送付サンプル



【スクリーニング検査】

IC法抗体/抗原 (+/-)

PA法 (+)

WB法 (バンド確認)

HIV-1は?

HIV-2は?

判定は?

追加検査は

図6. グループワーク①資料 (一部抜粋)

【保健所から検体搬入有り】

・IC法にて抗原陰性、抗体陽性とのこと

WB法1、WB法2を実施したところ、WB法1は陰性、WB法2はp26のバンドのみが出現した。さらに、HIV-1のRealtime-PCRを実施したところ、陰性になった。

どうすべきか？

- (1) HIV確認検査陰性と判定する。
- (2) WB法2が判定保留のため、HIV-1陰性、HIV-2判定保留とする。
- (3) HIV-2のrealtime-PCR法を実施する。
- (4) HIV-1/2抗原抗体同時スクリーニング検査を実施する。

【解答： 〃】

図7. グループワーク②資料(一部抜粋)

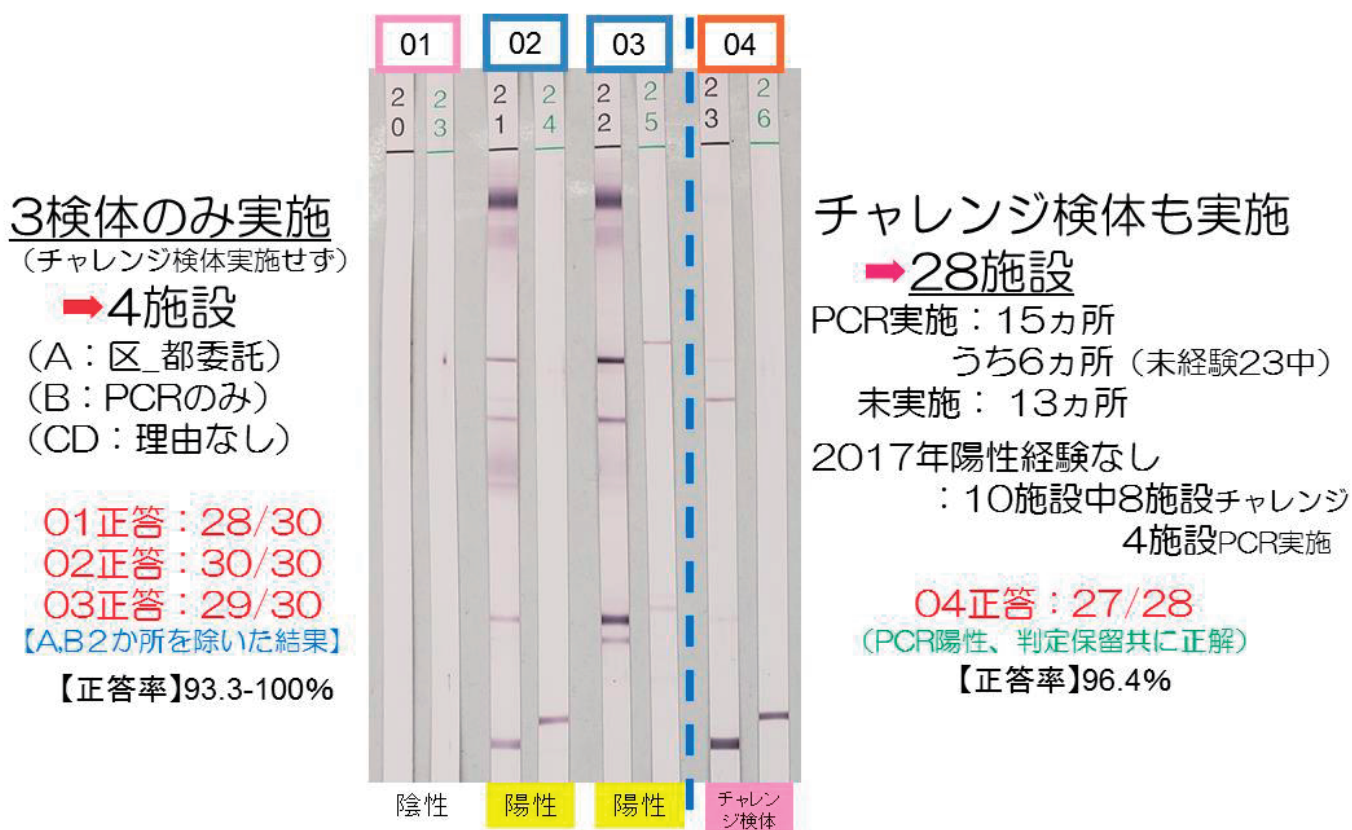


図8. HIV精度管理調査(第3回)の結果