

HIV 診断・検査法に係る研究

研究分担者 加藤真吾 (株式会社ハナ・メディテック)

新規 HIV-1/2 抗体確認検査法 (Geenius) と WB 法の感度・鑑別能比較

研究協力者 川畑拓也 (地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所)
浜みなみ (地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所)
阪野文哉 (地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所)
森 治代 (地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所)
須藤弘二 (株式会社ハナ・メディテック)

研究要旨

新しい確認検査試薬 Geenius HIV 1/2 キットと、販売が終了し今後使用できなくなる従来の WB 法を比較し、その有用性を明らかにすることを目的として研究を実施した。

検体としては、2020 年 12 月から 2022 年 4 月末日までに大阪健康安全基盤研究所で Geenius と核酸増幅検査による HIV 確認検査を実施した 213 検体の凍結保存していた残渣を用い、HIV-1 陽性検体 103 例について、HIV-1 WB 法と HIV-2 WB 法を実施した。

感度については、HIV-1 陽性例のうち、PA 法の抗体価が 2^{13} 倍以下か、Geenius の抗体検出が gp160 と gp41 のみかそれより少ない検体 47 例について、HIV-1 WB 法の結果と比較した。また、HIV-1 と HIV-2 の鑑別する性能については、HIV-1 抗体陽性例のうち検体の残っていた 98 例と、HIV 陰性例 110 例の内あらためて Geenius を実施し、HIV-2 のバンドが検出された 8 例について、Geenius と WB 法の結果を比較し評価した。

感度の比較の結果、急性感染を疑った 47 例中、8 例が HIV-1 WB 法で判定保留となり、そのうち 7 例が Geenius で陽性と判定され、Geenius の方が HIV-1 WB 法より抗体検出感度が高い結果となった。一方、鑑別能の比較の結果、HIV-1 陽性例に関しては、Geenius は HIV-2 WB 法陽性例と判定保留例のすべてを HIV-1 単独陽性例と判定できていた。また HIV 陰性例 110 例中 Geenius で HIV-1 陰性、HIV-2 判定保留となった 8 例は、HIV-2 WB 法で 7 例が判定保留、1 例が HIV-2 陰性となった。Geenius では、HIV 陽性・型別不能例をごく稀に経験するが、今回検討した検体中にはみとめなかった。

結論として、新しい HIV 抗体確認検査法「Geenius HIV 1/2 キット」は、感度・鑑別能ともに従来法である WB 法よりも優れていた。

A. 研究目的

2022 年 6 月末、これまで長く HIV の確認検査に使用されてきたウエスタンブロット法試薬が販売終了になり、今後は新しく承認された後継の試薬であり、イムノクロマトグラフィ法を測定原理とした「Geenius HIV 1/2 キット」(以下 Geenius)を使用することになった。

そこで、これまでも Geenius と WB 法の

比較・評価は行われてきたが、WB 法の試薬 (ラブ プロット 1、ラブ プロット 2、以下、NLB1、NLB2) が今後は入手できなくなることから、あらためて同じ検体を用いた両者の検査結果の比較を行い、陽性検出感度と、HIV-1 と HIV-2 の鑑別能について、Geenius の有用性を明らかにすることを目的とした。

B.研究方法

2020年12月から2022年4月末までの間に大阪健康安全基盤研究所において Geenius と核酸増幅検査による HIV 確認検査を実施した残渣、213 検体について、あらためて NLB1 と NLB2 を実施し、また、HIV 陰性検体も含め Geenius 未実施の検体については、あらためて Geenius を実施した。

1. 感度の比較

上記 213 検体のうち、HIV 陽性となった、

- ・ Geenius HIV-1 抗体陽性 100 例
- ・ HIV-1 リアルタイム RT-PCR 法陽性 3 例

の中から、感染急性期を疑う、PA 法の抗体価が 2^{13} 倍以下か、Geenius の抗体検出バンドが gp160 と gp41 の 2 本のみかそれより少ない検体 47 例について、Geenius と NLB1 の結果を比較した。

2. 鑑別能の比較

上記 213 検体より、HIV-1 リアルタイム RT-PCR 法で陽性となった 3 例を除いた、

- ・ Geenius HIV-1 抗体陽性 100 例
- ・ HIV 陰性 110 例

のうち、検体の残っていた HIV-1 抗体陽性 98 例と、Geenius をあらためて実施したところ HIV-2 のバンドが検出された HIV 陰性 8 例について、Geenius と NLB1・NLB2 の結果を比較した。

(倫理面への配慮)

本研究は地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 倫理審査委員会の承認を得て実施した(申請番号:0810-04-5)。

C.研究結果

1. 感度の比較

HIV-1 陽性 103 例中、急性期を疑った 47 例の NLB1 の結果は、37 例が陽性、8 例が判定保留、2 例が陰性であった。一方、これら 47 例の Geenius の結果は、44 例が HIV-1 陽性、NLB1 で判定保留であった 1 例と NLB1 で陰性であった 2 例の計 3 例が HIV 陰性であった。

Geenius と NLB1 で特定の抗体(gp41、p24、p31)の検出率に差がみられ(gp41 検出率: NLB1 80%, Geenius 100%, p24 検出率:

NLB1 100%, Geenius 48%, p31 検出率: NLB1 91%, Geenius 27%, gp160 については共に 100%)、gp41 の検出率の差が、HIV-1 抗体検出感度の差にあらわれた。

また、Geenius で gp160 と gp41 が両方検出され、かつ PA 法の抗体価が 2^{13} 倍以下であった 39 検体の Geenius における p24 と p31 の検出頻度は、両方とも検出された検体が 9 例、p24 のみ検出された検体が 13 例、p31 のみ検出された検体が 3 例、両方とも検出されなかった検体が 14 例であり、今回検討した感染急性期を疑う検体 39 例では、標本数は少ないが、p24 の検出率と p31 の検出率の間に有意差はみとめなかった。

2. 鑑別能の比較

Geenius で HIV-1 抗体陽性と判定された 98 例において、WB 法の NLB1 と NLB2 が共に陽性になった例は 28 例、NLB1 陽性、NLB2 判定保留例が 69 例であり、全体の 99% の検体について WB 法では正しく鑑別できなかった。

Geenius で HIV-2 抗体判定保留と判定された HIV 陰性例 8 例は、WB 法では NLB2 判定保留例が 7 例、NLB2 陰性が 1 例であり、結果的に 1 例(1/8=12.5%)は正しく鑑別されていたが、これは WB 法の感度が低いことが原因であるかもしれない。

3. リーダーと目視の差

目視ではバンド(HIV-1 p24)が読み取れたものの、Geenius リーダーでは当該バンドが陰性と判断された事例を、HIV-1 陽性 1 例と HIV 陰性 1 例で経験した。

HIV 陰性事例については、Geenius 単独では判定結果に影響があるもの(HIV 陰性 → HIV-1 判定保留)であったが、大阪健康安全基盤研究所では EIA 法による追加スクリーニング検査を実施しており、当該事例は追加スクリーニング検査にて陰性となり、Geenius を実施しなかったため、問題とはならなかった。

D.考察

1. 感度の比較

急性感染を疑った 47 例中、8 例の NLB1

判定保留例のうち、7例が Geenius で陽性と判定され、Geenius の方が NLB1 より抗体検出感度は高かった。また、Geenius は検出対象抗体 (gp160、gp41、p31、p24) によって感度に差があり、試薬の感度が高くなる様に、また非特異反応が少なくなる様に、感度・特異度が調整されている印象を受けた。今回検討した急性感染期を疑う事例 47 例中 39 例においては、p24 抗体と p31 抗体の検出に差はみとめられなかった。

2. 鑑別能の比較

Geenius の判定基準で HIV-1 陽性・HIV-2 判定保留は HIV-1 陽性と判定することになっていることもあり、Geenius はすべての NLB2 判定保留例を HIV 陽性例と判定できた。また Geenius では、HIV 陽性・型別不能例をごく稀に経験するが、今回検討した検体にはみとめなかった。

3. リーダーと目視の差

今回の検討で、リーダーと目視で判定に差がでる事例を 2 例経験した。

メーカーに問い合わせたところ、HIV-1 p24 と HIV-2 gp36 のバンドの読取りに関して、リーダー内部に「しきい値」が設定されており、稀に目視で確認できてもリーダーでは「検出なし」になる場合があるとの回答を得た。よってリーダーの使用が強く推奨されると考えた。

E. 結論

新しい HIV 抗体確認検査法「Geenius HIV 1/2 キット」は、感度・鑑別能ともに従来の WB 法よりも優れていた。

Geenius リーダーを使用した場合と目視とでは、結果の判定に差が生じる場合があることが明らかとなった。リーダーの使用が強く望まれる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Takako Kurata, Takeshi Miyama, Daiki

Kanbayashi, Yuko Kaida, Ikuko Aoyama, Ryo Ikemori, Fumiya Banno, Takuya Kawahata, Haruyo Mori, Kazushi Motomura. Increasing seroprevalence but waning herd immunity against measles after elimination: Longitudinal seroepidemiology of measles in Osaka Prefecture, Japan, 2003–2020. *Vaccine*. 40(46):6581-6588, 2022.

2) 高木律男、田邊嘉也、須藤弘二、山田瑛子、加藤眞吾. SARS-CoV-2 感染診断のための PCR 検体採取法および診断精度 一口腔からの検体採取法の検討. *日本環境感染学会誌*. 37(4)、139-142、2022..

2. 学会発表

1) 川畑拓也、浜みなみ、阪野文哉、森 治代、加藤眞吾、今村顕史. Geenius と WB 法の感度・鑑別能の比較. 第 36 回日本エイズ学会学術集会、浜松市、2022 年.

2) 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、今井光信、今村顕史、加藤眞吾. HIV 郵送検査に関する実態調査(2022). 第 36 回日本エイズ学会学術集会、浜松市、2022 年.

3) 土屋菜歩、佐野貴子、城所敏英、根岸 潤、堅多敦子、川畑拓也、貞升健志、須藤弘二、加藤眞吾、大木幸子、生島 嗣、今井光信、今村顕史. COVID-19 流行下での保健所・特設検査所における HIV 検査・相談実施状況と課題及び工夫. 第 36 回日本エイズ学会学術集会、浜松市、2022 年.

4) 佐野貴子、近藤真規子、須藤弘二、櫻木淳一、井戸田一朗、今井光信、加藤眞吾、今村顕史. COVID-19 流行下における民間臨床検査センターでの HIV 検査等の実施状況に関する検査. 第 36 回日本エイズ学会学術集会、浜松市、2022 年.

5) 近藤真規子、佐野貴子、須藤弘二、井戸田一朗、土屋菜歩、貞升健志、今井光信、加藤眞吾、櫻木淳一、中澤よう子、今村顕史. 新型コロナウイルス感染症流行禍の 2 年間(2020-2021 年)における HIV 検査体制の実態. 第 36 回日本エイズ学会学術集会、浜松市、2022 年.

- 6) 小島賢一、加藤真吾、長尾 梓、久慈直昭
精液洗浄技術を利用した挙児希望相談ー最
近 10 年間の傾向ー. 第 36 回日本エイズ学
会学術集会、浜松市、2022 年.
- 7) 阪野文哉、川畑拓也、渡邊 大、塩野徳史、
西田明子、朝来駿一、澤田暁宏、西岡弘晶、
荒川創一、大森亮介、駒野 淳、森 治代、
本村和嗣. MSM 向け HIV・性病検査キャ
ンペーン (2021 年度実績報告). 第 36 回日
本エイズ学会学術集会、浜松市 (オンデマ
ンド)、2022 年.
- 8) 浜みなみ、阪野文哉、川畑拓也、森 治代.

Geenius 導入後の HIV 確認検査実績と検出
感度の検討. 第 36 回日本エイズ学会学術集
会、浜松市 (オンデマンド)、2022 年.

- 9) 浜みなみ、阪野文哉、川畑拓也、森 治代
Geenius 導入後の HIV 確認検査実績と検出
感度の検討 -WB 法の販売終了に向けて-.
第 35 回近畿エイズ研究会学術集会、奈良
(オンサイト)、2022 年.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

結果（1）感度の比較

HIV-1陽性103例中、急性期を疑った47例のNLB1の結果は、37例が陽性、8例が判定保留、2例が陰性であった。
一方、これら47例のGeeniusの結果は、44例がHIV-1陽性、NLB1で判定保留であった1例とNLB1で陰性であった2例の計3例がHIV陰性であった。

	WB陽性	WB判定保留	WB陰性
Geenius HIV-1陽性	37	7	0
Geenius HIV-1判定保留	0	0	0
Geenius 陰性	0	1	2

↓ 3例は、HIV-1 NATにて陽性

GeeniusとNLB1で特定の抗体（gp41、p24、p31）の検出率に差がみられ、gp41の検出率の差が、HIV-1抗体検出感度の差に現れた。

	Geenius	WB
p24検出率	48%	100%
p31検出率	27%	91%
gp41検出率	100%	80%
gp180検出率	100%	100%

結果（2）鑑別能の比較

GeeniusでHIV-1抗体陽性と判定された98例において、WB法のNLB1とNLB2が共に陽性になった例は28例、NLB1陽性、NLB2判定保留例が69例であり、全体の99%の検体でWB法は正しく鑑別できなかった。


	WB HIV-1陽性 WB HIV-2陽性	WB HIV-1陽性 WB HIV-2判定保留	WB HIV-1陽性 WB HIV-2陰性
Geenius HIV-1単独陽性	28	69	1
Geenius HIV陽性 (1+2の型別不能)	0	0	0
Geenius HIV-2単独陽性	0	0	0

GeeniusでHIV-2抗体判定保留と判定されたHIV陰性例8例は、NLB2判定保留例が7例、NLB2陰性が1例となり、1例(1/8=12.5%)をWB法は正しく鑑別できた。

結果（3）リーダーと目視の差

目視ではバンド（HIV-1 p24）が読み取れたものの、Geeniusリーダーでは当該バンドが陰性と判断された事例を、HIV-1陽性1例とHIV陰性1例で経験した。


HIV-1抗体陽性例における事例



Image

Interpretation type:	Automatic
#	Result
1	gp24
2	gp180
3	p31
4	gp120
5	gp41
6	gp41
7	CTRL

HIV陰性例における事例



Image

Interpretation type:	Automatic
#	Result
1	gp24
2	gp180
3	p31
4	gp120
5	gp41
6	gp41
7	CTRL

HIV陰性事例については、Geenius単独では判定結果に影響があるもの（HIV陰性→HIV-1判定保留）であったが、大阪健康安全基盤研究所では追加スクリーニング検査を実施しており、当該事例はそもそもGeeniusを使用しなかったため、実際の確認検査では問題にならなかった。