

# 第40回衛生微生物協議会レファレンスセンター関連会議 HIV関連（2019.7.10 熊本市国際交流会館）

## 議題

- ・ 新規HIV検査試薬（Bio-Rad Geenius HIV-1/2 Assay）に関する  
情報提供  
神奈川県衛生研究所 佐野貴子先生
- ・ 病原体検出マニュアルの改定案 - Geeniusの導入を想定した案  
東京都健康安全研究センター 長島真美先生
- ・ H30年度実施のHIV遺伝子検査精度管理調査に関する報告  
国立感染症研究所エイズ研究センター 草川茂先生

# 昨年度の活動報告

## 病原体検出マニュアルを全面的に改訂(2018年10月)

- 遺伝子診断、およびHIV-2との鑑別診断の項目を重点的に改訂

定量法 (In-house); 既存の方法を改訂し、簡略化  
定性法 (In-house); 新たにマニュアルに追加



The screenshot shows the NIID (National Institute of Infectious Diseases) website. The main content area displays the title "病原体検出マニュアル" (Pathogen Detection Manual) and a brief description: "病原体検出マニュアルは、感染症法に基づいて感染症の報告がなされる際の検査の標準化のために、国立感染症研究所と全国各地衛生研究所の共同作業で作成されたものであり、感染症対策に係る行政対応における大きな根拠となっております。本マニュアルを使用し、常に評価し、科学の進歩にあったものに改善していくことが常に求められています。" (The pathogen detection manual is created through joint efforts of the National Institute of Infectious Diseases and local health research institutes across the country to standardize testing procedures for infectious disease reporting under the Infectious Disease Control Act. It serves as a major basis for administrative response to infectious disease control. We use this manual and continuously evaluate and improve it to keep it up-to-date with scientific progress.)

更新情報 (Update Information):

- 2019.06.19 **5類感染症** の「感染性胃腸炎-ロタウイルス」を更新しました
- 2019.06.11 **5類感染症** の「感染性胃腸炎-ノロウイルス」を追加しました
- 2019.01.16 **5類感染症** の「インフルエンザ(鳥インフルエンザ)及び新型インフルエンザ等感染症を除く」を更新しました
- 2018.12.07 **5類感染症** の「播種性クリプトコックス症」を追加しました
- 2018.12.07 **4類感染症** の「A型肝炎」を追加しました
- 2018.12.07 **4類感染症** の「E型肝炎」を追加しました
- 2018.10.31 **5類感染症** の「後天性免疫不全症候群」を更新しました

右側の「関連記事」(Related Articles) section lists several reports, including one dated 2014-07-07 regarding a meeting of the Infectious Disease Control Association (東京) and the Reference Center, and another dated 2014-12-22 regarding the development of a high-efficiency detection method for poliovirus using a capillary electrophoresis-based method.

・HIV検査講習会の実施(10月)  
東京都健康安全研究センター

・遺伝子検査導入の支援  
および精度管理調査の実施

# HIV-1 NAT精度管調査の実施（H30年度）

## 背景

in-house HIV-1 NAT検査法の  
精度管理は？

適切な標準物質が無く、  
統一的な評価は行われていない

該当する外部精度調査の  
プロジェクトがない



NAT検査評価用標準物質の作製

標準物質を含むHIV-1陽性・陰性  
検体を配布し、測定結果の評価

## 感染研

- 参加施設の募集
- 標準物質を含む4サンプルを配布



## 参加施設

- 各施設で準備したStandardを使用
- 各施設で定めた測定方法でVLを決定
- 結果を報告

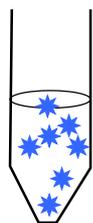
# HIV-1 NAT検査用標準物質の作製と値付け

## 標準物質候補検体の作製



HIV-1の培養

↓ (上清を60°C1時間処理し不活化)



HIV陰性血漿にスパイク、  
分注し-80°Cで保管

## 標準物質候補検体の値付け

献血血液スクリーニング用国内標準品  
JIV-(B) No.JP-1 (国立感染症研究所  
血液・安全性研究部より譲渡#)と  
候補検体の段階希釈列を異なる  
3種類の方法で3回測定



平行線定量法によって候補検体の力価を  
国内標準品に対する相対力価として算出、  
6.71 Log<sub>10</sub>IU/mL (5.17x10<sup>6</sup> IU/mL,  
3.81x10<sup>6</sup> copies/mL)と決定した

#日本輸血細胞治療学雑誌 (2018) 第64巻 第3号 502-509

# HIV-1 NAT精度管理調査結果の概要

※参加施設には個別に報告書を郵送

※ 定量法10施設、定性法3施設の独立した3測定の結果を評価した。

## HIV-1定量NAT検査

### 2施設

増幅効率90-100%を示すSlope値の検量線が得られ、HIV-1 RNA定量診断薬と比較してばらつきのない標準物質18-00定量値が得られた。

他施設(8施設)では、陽性・陰性の判定には問題がなかったが、検量線、測定間の測定値のばらつきなどの問題があり、引き続き検討が必要と考えられた。

## HIV-1定性NAT検査

### 3施設

陽性・陰性の判定結果に問題はなかった。

### 1施設

標準物質18-00希釈列の複数回測定で同じ結果が得られ、最小検出感度が**38.1cp/mL**であることが示された。

- 定期的な精度管理調査が必要であることが示唆された
- 系の立ち上げ、支援の一助になったと考えている

# 今後の見込み

； Bio-Rad Geenius HIV-1/2 Assayに関する情報提供

## 2019年秋以降に発売開始見込

原理 ； イムノクロマト（IC）法を基本とし金コロイド  
標識プロテインAを検出

操作性； 簡便

検出感度； 組換えタンパク・ペプチドを用いてIgGを検出

用途； 現行の確認検査、および鑑別検査法（WB法）  
の後継品

# Geenius HIV 1/2 キットについて

- 抗HIV-1抗体、抗HIV-2抗体が1つのデバイスで判定可能
- 検体は血清、血漿および全血で測定可能
- **短時間（30分）で結果判定が可能**
- Geenius専用リーダーおよびソフトウェアにより自動読み取り解析,結果のデジタルデータの保管が可能

**※スクリーニング検査での陽性検体の確認検査としてのみ使用可能**



# HIV-1陽性検体166件(慢性期146件、急性期20件)を用いた検討

Table 1. Comparison of Geenius with NLB 1 and 2 results for established and acute HIV-1 infection samples.

	WB	Geenius							Total
		HIV-1 positive	HIV-1 indeterminate	HIV-2 positive	HIV-2 indeterminate	HIV positive untypable	HIV negative		
Established HIV-1 Infection <sup>a</sup> (n = 146)	NLB 1	Positive	143	0	0	0	1	0	144
		Indeterminate	1 <sup>c</sup>	1 <sup>c</sup>	0	0	0	0	2
		Negative	0	0	0	0	0	0	0
		Total	144	1	0	0	1	0	146
	NLB 2	Positive	18	0	0	0	0	0	18
		Indeterminate	122	1	0	0	1	0	124
		Negative	4	0	0	0	0	0	4
		Total	144	1	0	0	1	0	146
Acute HIV-1 infection <sup>b</sup> (n = 20)	NLB 1	Positive	0	0	0	0	0	0	0
		Indeterminate	7	6	0	0	0	3	16
		Negative	0	0	0	0	0	4	4
		Total	7	6	0	0	0	7	20
	NLB 2	Positive	0	0	0	0	0	0	0
		Indeterminate	5	3	0	0	0	0	8
		Negative	2	3	0	0	0	7	12
		Total	7	6	0	0	0	7	20

・Geeniusの感度は99.3% (145/146) [95%CI, 96.2-100.0]、HIV-2バンドの交差反応性は0%

・NLB 1の感度は98.6% (144/146) [95%CI, 95.1-99.8] 2件の判定保留例は治療中の検体

・NLB 2では4件しか陰性にならず、交差反応性は12.3%(18/146)となった

・急性期検体では、NLB 1で判定保留となった16件中7件は、Geeniusでは陽性となった。

# HIV検査体制の維持・向上に向けた取り組み 2019年度の計画

- Bio-Rad Geenius HIV-1/2 Assayの導入を見込んだ病原体検出マニュアルを更新  
レファレンスセンター関連会議で討論した内容を反映させ、最終版とします。
- HIV検査講習会の実施（秋以降）  
問合せ先；東京都健康安全研究センター（貞升先生）
- HIV-NAT精度管理調査の実施（秋以降）  
系の立ち上げに関する相談は感染研エイズセンターにて随時受付ております。