

病原体検出マニュアル

後天性免疫不全症候群（エイズ） /HIV 感染症

2025 年 2 月改定版

目次

1. 序論：HIV 感染症の概要、および改定の背景

2. HIV 検査の概要
 - 2-1 HIV 体外診断薬の進歩
 - 2-2 HIV 検査の進め方

3. 実際の HIV 検査：手順と注意点
 - 3-1 HIV スクリーニング検査
 - 3-2 HIV 確認検査

4. HIV 核酸増幅検査
 - 4-1 PCR 検査室の設置
 - 4-2 定性法と定量法
 - 4-3 コンベンショナル RT-PCR とリアルタイム RT-PCR
 - 4-4 血漿検体からの RNA 抽出・精製法、濃縮法
 - 4-5 定性 RT-PCR 法
 - 4-6 定性（迅速リアルタイム）RT-PCR 法
 - 4-7 定量（リアルタイム）RT-PCR 法
 - 4-8 HIV-2 の核酸増幅検査
 - 4-9 その他の核酸増幅検査

5. HIV 核酸増幅検査の精度管理
 - 5-1 NAT の標準品・参照品
 - 5-2 NAT の管理検体（ランコントロール検体）
 - 5-3 管理検体用不活化 HIV ストックの作製法
 - 5-4 定性 NAT の最小検出感度の決定と定性 NAT 陽性管理検体の作製法
 - 5-5 定量 NAT の定量可能範囲の決定
 - 5-6 定量 HIV-1NAT 用管理コントロール（定量スタンダード）の作製

6. 参考文献

1. 序論：HIV 感染症の概要、および改訂の背景

病態

ヒト免疫不全ウイルス（Human Immunodeficiency Virus, HIV）は主に CD4 陽性 T 細胞に感染する。感染後、宿主免疫が誘導されるものの体内からウイルスが完全に排除されることはなく慢性持続感染が成立し、5 年から 10 年の長い無症候期を経て後天性免疫不全症候群（AIDS）に至る。近年は抗 HIV 療法の進歩に伴い、感染後より早期に検査を受け適切な治療を受けることで病態進行を遅らせることが可能になった。その結果 HIV 感染者の生命予後が非感染者とほぼ変わらない程度まで伸びていることが報告されている。

疫学

1984 年より始まった厚生労働省エイズ発生動向調査により、日本国内で診断された全数が把握されている。調査開始以後、国内の報告は年々増加し 2007 年には年間診断数が 1500 件を超えた。近年新たに HIV を診断された報告数は減少傾向にあるものの、今なお国内では毎年新たに約 1,000 人から 1,200 人が HIV 感染症を診断されている。

HIV はゲノムの構造から HIV-1 と HIV-2 に分類される。HIV-2 は 1990 年代に西アフリカ地域の一部の地域で流行が見られたものの、現在世界的にいずれの地域でも主要な流行株は HIV-1 に置き換わっている。日本においても HIV 感染者の 99.9% 以上は HIV-1 による感染である。現在国内では欧米で広く流行が見られるサブタイプ B、続いて東南アジアに分布が見られる HIV-1 CRF01_AE が主要な流行株である。

予防戦略と日本の現状

HIV 感染後の早期診断・早期治療は感染者個人の病態進行阻止に結びつくだけでなく、新たな感染を防止する効果（treatment as prevention）があることから、検査・診断数のみならず治療についても国内の状況を数値化し評価することが世界的に主要な予防戦略の 1 つとなっている。このうち、日本においては新たに HIV を診断される人の約 3 割が AIDS 発症まで診断に至っておらず、早期診断者割合が低いことが課題として指摘されている。

自治体における HIV 検査

地方衛生研究所においては 1987 年から保健所又は医療機関からの検査依頼に対応するための体制の整備が進んだ。1993 年からは自治体を実施する HIV 検査が無料化され、特設検査の開設、即日検査、土日検査、夜間受付等の導入により広く国民に HIV 検査機会が提供されている。AIDS 発症前に検査で HIV 感染症を診断される人のうち、約半数が自治体が発行する保健所等の HIV 検査で診断に結び付いていることから、保健所 HIV 検査に参与する地方衛生研究所の役割は極めて大きい。行政としてはより広く検査機会を提供し、効率よ

くかつ正確な診断に結び付ける体制の整備が重要である。

2025 年 2 月改定版発行の背景

2020 年以降、日本国内で HIV 体外診断薬の新規発売や終売が続き、HIV 検査に関する情報の更新が必要になっている。更に抗 HIV 薬の暴露前予防内服（Pre-exposure prophylaxis, PrEP）の普及など予防戦略の多様化により、今後更に HIV 診断が複雑になることが懸念される。本マニュアルでは保健所や特設検査場（保健所等）の無料匿名検査をバックアップするため、地方衛生研究所で実施される HIV 検査の手順、検査法を中心に記載した。特に本改訂では時代に即した検査体制の構築に向け、以下 4 点を重点的に加筆・改訂した。

- 1) 日本国内で入手可能な体外承認診断薬に関する情報の更新（2024 年秋時点）
- 2) 確認検査・鑑別 IC 法への切り替えに伴う課題とその対応
- 3) 核酸増幅検査、定性 RT-PCR に新法を追加
- 4) HIV 検査の精度管理に関する考え方とその手法

特に 2) については、実際に実施した検体検査について代表的な例または判定に苦慮した例等を選別し、検査の経過と最終解釈を症例集形式でまとめた。画像も掲載したゆえ資料集として活用してほしい。

2. HIV 検査の概要

2-1. HIV 体外診断薬の進歩

HIV 検査はスクリーニング検査と確認検査の2段階で行われる。スクリーニング検査用診断薬は、より高い検出感度が得られるように設計されている。一方、確認検査用診断薬は、複数の構造タンパクを別々に検出するよう設計されており、スクリーニング検査偽陽性例を排除する目的で用いられる。我が国で体外診断薬として製造販売承認を受けている核酸増幅検査用診断薬は、すべて HIV-1 RNA 量をモニタリングする目的で使用される定量用診断薬であり、感染診断には補助的に用いられる。

スクリーニング検査用診断薬は第1世代から現在の第4世代まで改良が進んでいる。第1世代・第2世代は、特異抗体の検出に酵素標識抗ヒト IgG が用いられ、抗原は第1世代ではウイルスが、第2世代では組換え抗原が用いられた(図 2-1)。第3世代は、特異抗体の検出に酵素標識 HIV 抗原を用いる抗体検出試薬で、洗浄後に残存した非特異的ヒト IgG の検出によるバックグラウンドが低下したことと、IgG だけでなく IgM も検出できるようになったことで、正確性と感染初期の検出感度が飛躍的に高まった(図 2-1)。第4世代は、第3世代の試薬に HIV-1 p24 抗原の検出能を加えたもので、セロコンバージョン前のウイルス血症の時期も検出が可能になった(図 2-1)。

現在、国内で体外診断薬として承認を受け、スクリーニング検査用診断薬として一般に入手可能なものは、粒子凝集法(PA)を除いて第4世代となっている。ただし、酵素免疫測定法(ELISA)あるいは化学発光免疫測定法(CLIA)を検出原理とする試薬の HIV-1 p24 抗原の検出感度が 10pg/mL 近傍(HIV-1 RNA コピー数で 1×10^5 copies/mL 程度)であるのに対し、イムノクロマト法(IC法)を検出原理とするものはその 1/5 以下で感染急性期の検出感度は必ずしも高くない[1]。IC法は検体を滴下後 20~40 分で結果が得られ、測定に機器を必要としないため、即日検査やイベント会場における検査に有用である。それぞれの診断薬の特性をよく理解しておく必要がある。

長らく抗体確認検査用診断薬として用いられてきたウエスタンブロットに代わり、イムノクロマト法を原理とする確認 IC 法診断薬「Geenius HIV 1/2 キット(バイオ・ラッド ラボラトリーズ)」が使用されるようになった。ウエスタンブロット法と比較し検出感度・特異性が向上し、検査に要する時間の短縮、操作の簡便化、機械を利用した検査結果の判定や結果保存ができるなど、性能と操作性が飛躍的に向上した。一方、HIV 陰性検体で交差反応が見られる例があること、HIV-1 判定ラインとの交差反応により HIV-2 感染例の診断がやや難しいことが報告されている[2, 3, 4]。「3-2. HIV 確認検査」の項目に詳細に記載した

ので、ご一読いただきたい。

核酸増幅検査（Nucleic acid Amplification Test, NAT）試薬は、PCR 法等を検出原理とする試薬である。現在我が国で感染診断に使用可能な定性用診断薬として製造販売承認を受けた定性用診断薬は存在しない。HIV-1 RNA 定量用診断薬を感染診断補助手段として使用することができるが、製造販売承認を受けている製品はすべて専用の反応・測定装置を必要とするため、購入や維持管理のコストがかかる。本マニュアルの第 4 項および 5 項に、研究用試薬を用いた HIV 確認検査用 in-house NAT 検査法について紹介しているので、参照されたい。

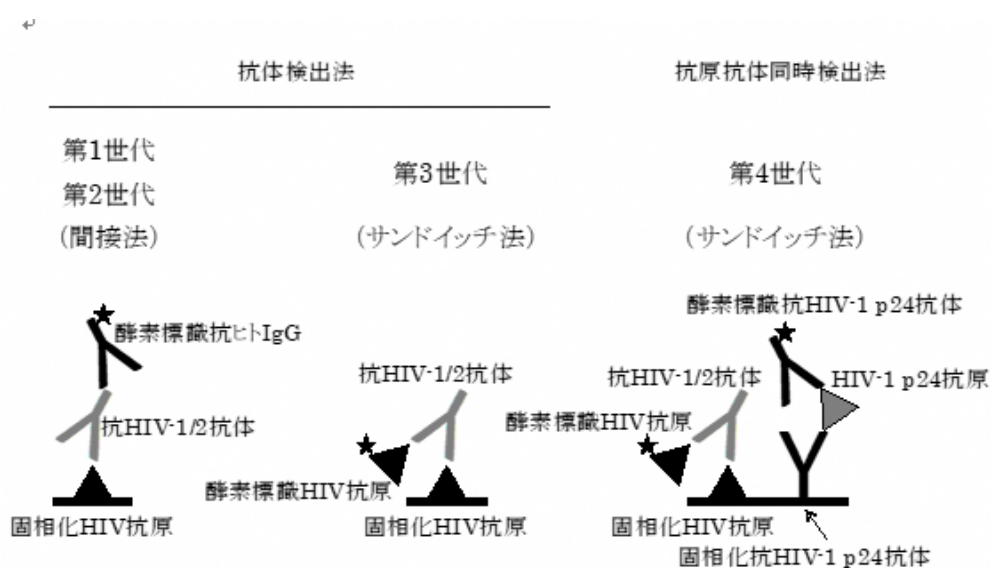


図 2-1：HIV スクリーニング検査試薬の進化

HIV 検査に使用されている診断薬は、厚生労働省の審査を経て製造販売承認を受けている。製造販売承認を維持しているが、実際には終売となっている製品がある。表 2-1 に、2025 年 2 月現在購入可能な HIV 診断薬を示した。これらの製品については、添付文書に従って使用している限り、その検査精度についてはメーカーによって担保されていると考えて良い。研究用試薬や in-house の検査法を用いる場合、その成績の取り扱いについて各施設で定めておくとともに、その検査の性能について外部に説明ができるよう、各検査施設で精度管理することが求められている。

表 2-1 に示したとおり、薬事申請において HIV 診断薬はスクリーニング検査用診断薬と確認検査用診断薬は区分される。確認検査用試薬はスクリーニング検査陽性検体から HIV-1/-2 陽性検体を確認し偽陽性検体を排除する能力を中心に評価されるため、スクリーニング検査試薬に求められる感度・特異度は必ずしも担保されていない。定められた HIV 検査

推奨法に従わず、スクリーニング検査を経ずに確認検査を実施し、HIV 非感染者を HIV-1 陽性と判定した事例があったため、「Geenius HIV 1/2 キット」添付文書に「HIV スクリーニング検査陽性または判定保留例に対して使用」するよう追記がなされた。正確な HIV 感染診断を行うため、各施設において後述の「**2-2.HIV 検査の進め方**」に沿った検査フローチャートを策定すべきである。

表 2-1： 2025 年 2 月時点で購入可能な HIV 診断薬

診断薬名	製造・販売	検出原理
【迅速診断用診断薬】		
ダイナスクリーン TM HIV Combo	アボット ダイアグノスティクス メディカル株式会社	イムノクロマト法 (IC, ICA)
【スクリーニング検査用診断薬 (抗体検出)】		
ジェネディア®HIV-1/2 ミックス PA	富士レビオ株式会社	ゼラチン粒子凝集法 (PA)
【スクリーニング検査用診断薬 (抗原・抗体同時検出)】		
ジェンスクリーン HIV Ag-Ab ULT	バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社	酵素免疫測定法 (ELISA)
HIV Ag/Ab コンボアッセイ®・アボット (アーキテクト®)	アボットジャパン合同会社	化学発光免疫測定法 (CLIA)
HIV Ag/Ab コンボアッセイ®・アボット (Alinity®)		化学発光免疫測定法 (CLIA)
HISCLTM HIV Ag+Ab 試薬	シスメックス株式会社	化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA)
ルミバルスプレスト®HIV Ag/Ab	富士レビオ株式会社	化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA)
ルミバルス®HIV Ag/Ab		化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA)
エクルーシス®試薬 HIV combi PT	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社	電気化学発光免疫測定法 (ECLIA)
エクルーシス®試薬 HIV Duo		電気化学発光免疫測定法 (ECLIA)
ケミルミ Ag/Ab コンボ HIV	シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス株式会社	化学発光免疫測定法 (CLIA)
ケミルミ Ag/Ab コンボ HIV (アテリカ)		化学発光免疫測定法 (CLIA)
アキュラシード HIV Ag/Ab (識別記号 B)	三洋化成工業株式会社	化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA)
ビトロス®HIV Combo	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社	化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA)
【抗体確認検査用診断薬】		
Geenius HIV 1/2 キット	バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社	確認イムノクロマト法 (確認 IC 法)
【HIV-1 RNA 定量用診断薬】		
アキュジーン®m-HIV-1	アボットジャパン合同会社	リアルタイム RT-PCR 法
Alinity®m システム HIV-1		リアルタイム RT-PCR 法
コバス®6800/8800 システム HIV-1	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社	リアルタイム RT-PCR 法
アプティマ HIV-1	ホロジックジャパン株式会社	TMA 法
エリート MGB HIV-1 PCR 測定キット#	株式会社日立ハイテク	リアルタイム RT-PCR 法

2024 年 9 月販売開始

2-2. HIV 検査の進め方

各自治体の検査数、各施設の設備等に応じて様々な検査フローが想定されるが、ここでは代表的なものを上げ、基本的な方針、解釈をまとめておく（図 2-2）。なお保健所等のスクリーニング検査で陽性となった検体の確認検査のみを実施する場合でも、「**3-1. HIV スクリーニング検査**」から読み進めて頂きたい。

(1) スクリーニング検査

保健所等の即日検査等で陽性となり確認検査を依頼された場合であっても、スクリーニング検査からの実施を推奨する。その理由として、即日検査に用いられる IC 法は目視により判定する方法であるため判定が人により異なる可能性があること、またスクリーニング検査法ではいずれの検査法でも偽陽性が生じることが挙げられる。偽陽性を効率よく排除するために追加スクリーニング検査の実施が有効である。追加スクリーニングに用いる試薬は保健所等ですでに実施された検査と同等以上の感度を有するものが望ましい。スクリーニング検査（追加スクリーニング検査を含む）が陰性の場合には確認検査を実施せずに、陰性と判定する。スクリーニング検査が陽性または判定保留の場合には確認検査に進む。

(2) 確認検査

確認検査には、抗体確認検査（Geenius HIV 1/2 キット）および核酸増幅検査（NAT）がある。抗体確認検査と NAT は同時に実施しても、抗体確認検査を先行させても良いが、NAT のみ実施することは推奨しない。

HIV 感染初期はウイルスが盛んに産生されるため NAT では HIV ゲノムが検出可能であるのに対し、特異的 IgG の産生は充分でない。このため感染急性期は Geenius HIV 1/2 キットでの抗 HIV 抗体の検出が困難であるが、感染後一定期間を経て感染者生体内で宿主免疫が誘導されると抗体確認検査では陽性となる。一方、抗 HIV 特異的抗体が産生されるとウイルス量が抑えられるため NAT での検出は難しくなる。抗体確認検査と NAT を実施しいずれか一方が陰性であった場合には、スクリーニング検査の結果及び方法論を含め、検査結果を精査する必要がある。

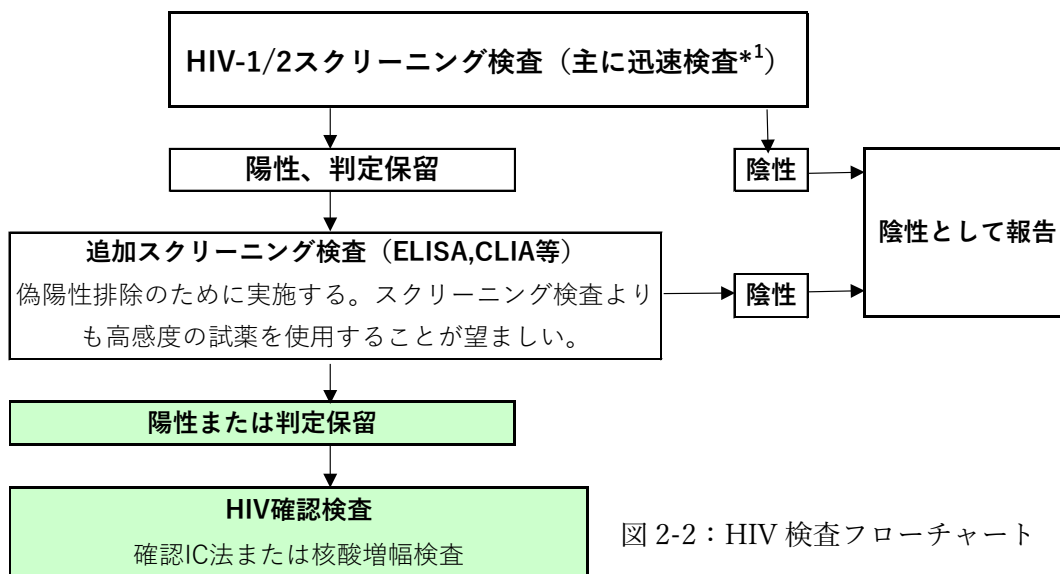


図 2-2： HIV 検査フローチャート

確認IC*2			HIV-1核酸増幅検査	備考
HIV-1	HIV-2	判定		
陽性	陽性	HIV陽性		
	陰性	HIV-1陽性		
	判定保留	HIV-1陽性		
判定保留	陽性	HIV-2陽性		
	陰性	HIV-1判定保留	陽性 (HIV感染急性期疑い)	追加スクリーニングの実施 2週間後再検査
	判定保留	HIV判定保留	陰性 (偽反応)	
陰性	陽性	HIV-2陽性		
	陰性	HIV陰性	陽性 (HIV感染急性期疑い)	追加スクリーニングの実施 2週間後再検査
	判定保留	HIV-2判定保留	陰性 (偽反応)	

図 2.2： HIV-1/-2 検査のフローチャート

本図は「診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2020 (日本エイズ学会・日本臨床検査医学会標準推奨法)」[5]を基に、地方衛生研究所で HIV 検査を進める際に想定される代表的な流れを示した。

*1：迅速検査 (IC 法) 以外の ELISA,CLIA,PA 法等でも概ね同じ流れで進めることができる。
*2：HIV-2 感染疑例については図 3.2-13 から図 3.2-19 参照。

3. 実際の HIV 検査：手順と注意点

この項では実際の HIV 検査を進める手順、および検査を進める上で想定される問題点および注意点について情報を共有したい。更に後半では実際に HIV 検査を実施し陽性もしくは判定保留となって例について検査経過と最終結果について例示した。

従来はスクリーニング検査から確認検査までの一連を地方衛生研究所で実施していた。しかし迅速検査等の普及によりスクリーニング検査は保健所で実施し、地方衛生研究所では確認検査のみ実施する自治体が増加している。検査の過程の一部にしか関与しない場合においても、検査を進める上で生じえる問題とその背景を理解することは重要である。そのため保健所等のスクリーニング検査で陽性となった検体の確認検査のみを実施する場合でも、「**3-1. HIV スクリーニング検査**」から読み進めて頂きたい。

3-1. HIV スクリーニング検査

(1) IC 法の感度・特異性

保健所等の即日検査では、利用者の利便性や操作性の観点から IC 法が広く用いられている。近年検出感度が向上したもののスクリーニング検査ではいずれの検査法でも、0.3～1%の偽陽性が含まれるため、IC 法でバンドが不明瞭な場合には IC 法以外の検査試薬による追加スクリーニング検査の実施が望ましい。

現在流通している第 4 世代の IC 法は p24 抗原と抗体のいずれも検出が可能であるが、p24 抗原の検出感度は ELISA 法や CLIA 法より劣る。抗体の検出感度については PA 法とは同程度、確認検査試薬（確認 IC 法）の Geenius HIV 1/2 キットよりも感度はやや高いことが報告されている[6,7]。

(2) HIV 検査試薬の選択

追加スクリーニング検査では、スクリーニング検査で用いた試薬と同等以上の感度を有する ELISA 法、CLIA 法、ECLIA 法、ELFA 法等が推奨される。感度については「**2. HIV 検査の概要**」を参照してほしい。

多検体処理を求められる施設では ELISA 法または CLIA 法の実施を推奨する。CLIA 法は簡便かつ短時間で結果を得ることが可能であるが、高額かつ専用の反応・測定装置が必要である。PA 法も検出装置を必要しないことから追加スクリーニング試薬として候補に挙がる。しかしながら現行の PA 法は抗体を検出する試薬であり、第 4 世代の IC 法で抗原陽性・抗体陰性という結果が得られた検体においては PA 法では陰性と判断される可能性が高いことを留意すべきである。

(3) 追加スクリーニング検査の必要性

スクリーニング検査ではそれぞれの検査法により 0.3%~1%の偽陽性が認められる[6,8]。保健所等の検査における確認検査後の平均 HIV 陽性率は 0.38% (2017 年) であることを考慮すると、スクリーニング検査陽性検体には多くは偽陽性が含まれる可能性が高い[3]。また、スクリーニング反応で偽陽性を示す検体は抗体確認検査についても同様に偽反応を示すことが多く、結果として最終的な診断結果に結びつかない検体が少なくない。HIV 陽性率の低い集団において効率よく検査を進めていくためには、確認検査の前に感度の高い追加スクリーニング検査を実施し、偽陽性検体の HIV 感染を否定しておくことが有効である。※注：2015 年東京都内で実施した即日検査 (IC 法) 陽性 (判定保留) 例のうち確認検査陽性率は 71.4%であった[9]。その一方、妊婦においてはスクリーニング検査結果が陽性となった妊婦の確認検査陽性率は数%にすぎない (スクリーニング検査陽性検体中の確認検査陽性率：2003 年 3.8%、2012 年 6.5%) [10,11]。

(4) 感染急性期検体の場合

感染急性期例では血中ウイルス量が多く、HIV 特異的抗体の産生が充分でない。そのため抗体のみを検出する第 3 世代検査試薬の測定値は低いものの第 4 世代検査試薬は抗原と抗体の合計で出力されるため高値となることがある。また抗体量が充分でないため抗体確認検査において陰性もしくは判定保留となることが多い。そのため、「スクリーニング検査陽性、追加スクリーニング検査陽性、かつ Geenius HIV 1/2 キット陰性または判定保留」の場合には核酸 (遺伝子) 増幅検査の実施を推奨する (図 3-1)。

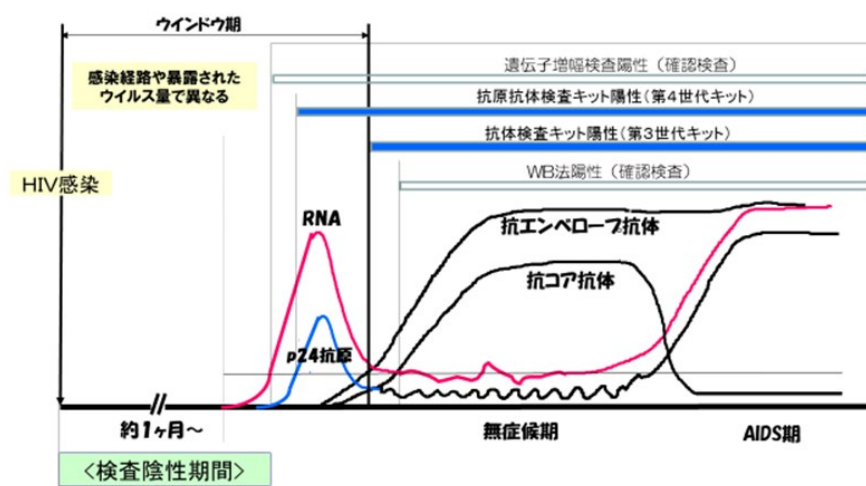


図 3-1：HIV 感染における抗原・抗体の推移と HIV 検査.

※Seroconversion panel を用いた評価では Geenius HIV 1/2 キットのウインドウ期は従来の WB 法より短くなることが報告されている。

3-2. HIV 確認検査

確認検査法として抗体を検出する Geenius HIV 1/2 キット（確認 IC 法）と HIV 遺伝子を検出する核酸増幅法（NAT）があるが、この項では抗体確認検査を中心に概説する。NAT の手法については「**4. HIV 核酸増幅検査**」を確認していただきたい。

(1) 確認検査の手順

スクリーニング検査で陽性または判定保留の場合には確認検査を実施する。地方衛生研究所における HIV 検査では費用とコンタミネーションのリスクを考慮し、初めに Geenius HIV 1/2 キット（鑑別 IC 法）を用いて検査を実施し、判定できなかった検体について NAT を行うことを推奨する。

近年、都市部を中心に HIV 感染リスクを回避することを目的に抗 HIV 薬暴露前予防（PreP）・暴露後予防内服（PEP）の需要が高まっている。予防内服している人が HIV に感染してしまった場合でも検査のタイミングによって NAT 陰性になる場合がある。このように予防方法の多様化により様々な条件下での検査があることが想定されるため、NAT の実施のみで陽性・陰性を判断することは推奨しない。

Geenius HIV 1/2 キットは既に販売中止となったウエスタンブロット（WB）法に比べ迅速性に優れ、かつ感度が向上していることから、判定保留となる検体が少なくなることが期待される。一方で WB 法と同様に偽反応も報告されている[2,12]。偽陽性が疑われる場合にはスクリーニング検査結果を含めた検査結果を精査するとともに、NAT を実施し感染の可能性が低いことを確認することも考慮すべきである。

(2) Geenius HIV 1/2 キット（確認 IC 法）を用いた確認検査

キットの構成

Geenius HIV 1/2 キット（バイオ・ラッド）は HIV-1 抗体及び HIV-2 抗体を 1 つのデバイスで検出するイムノクロマト法を原理としたキットである。テストエリアとして 6 本、コントロールエリア 1 本のバンドの有無で判定する。HIV-2 についてはバンド 1、2 の 2 本（gp36、gp140）、HIV-1 についてはバンド 3～6 の 4 本（p31、gp160、p24、gp41）、そして検査コントロールが 1 本である。読取り画像を図 3.2 に掲載したので参照されたい。陽性および陰性のコントロール検体がバイオ・ラッド社から提供されているが、デバイスには含まれないため別途購入する。またコントロール検体の有効期限が比較的に短いため、計画的に購入する必要がある。

感度と特異性

Geenius HIV 1/2 キットは既には販売が終了した WB 法と比べ感度・特異性共に高いが、HIV 抗原の検出はできない[2,7,12,13]。また IC 法（スクリーニング検査）と比べてやや感度が劣ることが報告されている[6]。従って抗原抗体同時スクリーニング検査試薬陽性で(IC 法陽性を含めて)、本試薬で陰性または判定保留の場合には核酸増幅検査（HIV-1）が必要である。

また WB 法と比較し頻度は低いものの、HIV 陰性検体において Geenius HIV 1/2 キットでバンドが検出されることがある（図 3.2-16、図 3.2-17）。Geenius HIV 1/2 キットを実施する前、もしくは当試薬で陰性または判定保留の場合、さらには HIV 核酸増幅検査が陰性の場合には追加スクリーニング検査（抗原抗体同時スクリーニング検査）を実施し感染の可能性が低いことを確認する。

判定基準と精度管理

判定基準を表 3 にまとめた。本診断薬は目視による判定も可能として販売承認されているため、単独で使用することが可能である。一方で WB と同様に、目視では結果の解釈に迷うことや検査実施者により結果の解釈に違いが生じうることに注意が必要である。

専用リーダーではバンドの有無・濃淡を読み取り、独自のアルゴリズムに基づいて HIV 感染の有無を判定する。判定結果は読取り画像、検査日、検査に使用したロット番号と共に PC 内に PDF として自動保存される。目視による判定とリーダーによる判定が異なる場合があることから（図 3.2-2、図 3.2-6 参照）、専用リーダーでは各バンドにより異なる閾値が設定されていることが推測される。

機器の管理として内蔵コントロールや外部コントロール等（試薬のロットが変わった場合等）を利用して精度管理が可能である。そのため精度管理上の観点からも専用リーダーを用いて判定することを推奨したい。ただし専用リーダーは初期購入費に加え、定期的なメンテナンスが必要になるため導入が難しい施設もあろう。導入が難しい施設においては通常は目視にて判定し、目視での判定に迷った場合にはリーダーを保有している施設に相談するのも一案である。国立感染症所エイズ研究センターでもリーダーを保有しており、行政検査として受け付けることが可能である。

(3) HIV-2 感染疑い例

Geenius HIV 1/2 キットでは HIV-1 と HIV-2 の重複陽性が疑われる場合は、UNTYPABLE(HIV 陽性、型別不能)となる。ただし日本で確認された HIV 感染者の 99.9%以上が HIV-1 の感染であり、HIV-2 流行地への渡航歴、被検者もしくはパートナーの国籍が HIV-2 流行地域である等のケースを除いては、HIV-2 感染の可能性は極めて低いと考え

られる。(図 3.2-15、図 3.2-19、および 4-8. HIV-2 の核酸増幅検査の項を参照していただきたい。)

表 3.1 : Geenius HIV 1/2 キットの判定規準

HIV-1 抗体の判定基準
陽性：バンド 3、4、5、6 のうち、4 (gp160) 又は 6 (gp41) のいずれかを含む 2 本以上のバンドが認められる場合。
陰性：バンド 3、4、5、6 のいずれも認められない。
判定保留：上記、陽性及び陰性でない場合。
HIV-2 抗体の判定基準
陽性：バンド 1、2 のうち、2 本すべて (1:gp36、2 : gp140) のバンドが認められる。
陰性：バンド 1、2 が認められない。
判定保留：上記、陽性及び陰性でない場合。

表 3.2 : Geenius HIV 1/2 キットでの最終結果判定

HIV-1 結果	HIV-2 結果	最終結果判定
陰性	陰性	HIV 陰性
陰性	判定保留	HIV-2 判定保留
判定保留	陰性	HIV-1 判定保留
判定保留	判定保留	HIV 判定保留
陽性	陰性	HIV-1 陽性
陽性	判定保留	HIV-1 陽性
陰性	陽性	HIV-2 陽性
判定保留	陽性	HIV-2 陽性
陽性 Case 1: 1 本の ENV バンド + GAG あ るいは POL バンドが 1 本 Case 2: 2 本の ENV バンド	陽性	Case 1: HIV-2 陽性 (HIV-1 交差反応) Case 2: HIV 陽性 型別不能

+/- GAG and/or +/- POL

Geenius HIV 1/2

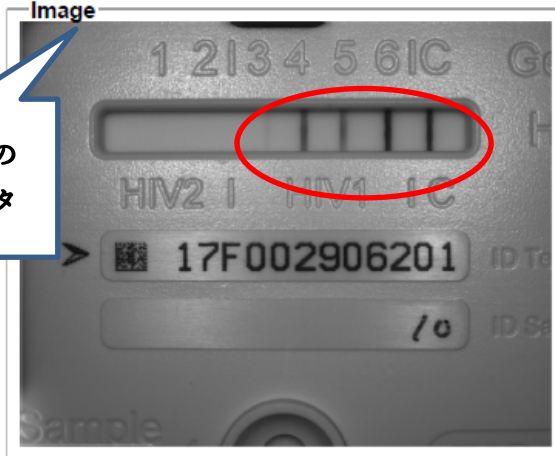
Sample ID: 10
Cassette ID: 17F002906201
Kit Lot - Exp. Date: 7F0029 - 5/2/2019
Order date: 12/12/2018 17:18:53
Analysis date: 12/12/2018 17:18:55
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.2-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP6H011108
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 12/12/2018 15:37:45

Controls

Lot number: NC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:20:19
Lot number: PC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:21:01

Image



検査結果の
画像データ

Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Present
4	gp160	Present
5	p24	Present
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated by: Supervisor -

最終結果判定

図 3.2-1： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV-1 陽性例）

リーダーではバンド 3-6 を検出し、最終判定は「HIV-1 POSITIVE」である。検出画像データではバンド 4 から 6 がはっきりと見えるが、バンド 3（p31）は薄い。

Geenius HIV 1/2

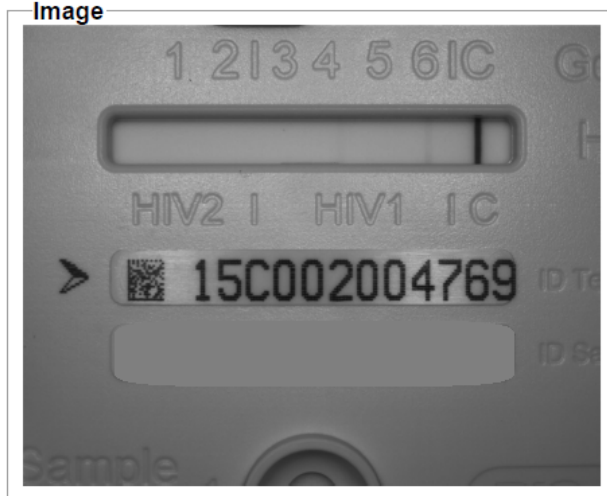
Sample ID:
Cassette ID: 15C002004769
Kit Lot - Exp. Date: 5C0020 - 7/31/2016
Order date: 7/12/2016 14:41:58
Analysis date: 7/12/2016 14:42:01
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 7/12/2016 12:50:49

Controls

Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 6/21/2016 11:07:25
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 6/21/2016 11:07:51

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Present
5	p24	Absent
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-2 : Geenius リーダーを用いた判定結果の例 (HIV-1 陽性)

ダイナスクリーン・HIV-1/2 で陽性、HIV-1/2 PA で 1,280 倍、HIV-1 WB で判定保留、HIV-2 WB で判定保留、HIV-1 核酸増幅検査で 1,200 コピー/mL の検体である。Geenius リーダーではバンド 4 と 6 を検出し、最終判定は「HIV-1 POSITIVE」であった。

Geenius HIV 1/2

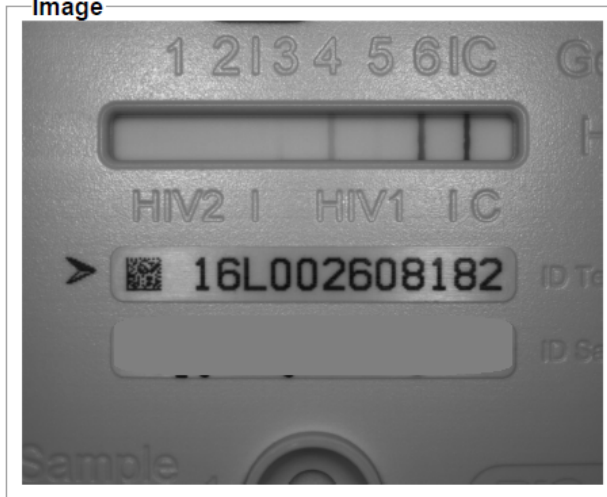
Sample ID:
Cassette ID: 16L002608182
Kit Lot - Exp. Date: 6L0026 - 10/30/2018
Order date: 2/24/2017 10:28:35
Analysis date: 2/24/2017 10:28:40
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 2/24/2017 10:05:27

Controls

Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:30
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:59

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Present
5	p24	Absent
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-3： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV-1 陽性）

ダイナスクリーン・HIV Combo で陽性、HIV-1/2 PA で 2,048 倍、HIV-1 WB で陽性、HIV-2 WB で判定保留、HIV-1 核酸増幅検査で陰性の検体である（後日、治療中であることが判明した）。Geenius リーダーではバンド 4 と 6 を検出し、最終判定は「HIV-1 POSITIVE」であった。

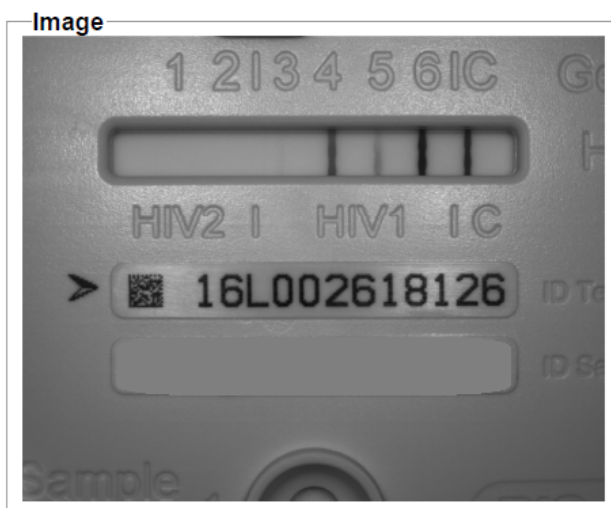
Geenius HIV 1/2

Sample ID:
Cassette ID: 16L002618126
Kit Lot - Exp. Date: 6L0026 - 10/30/2018
Order date: 3/22/2017 14:59:07
Analysis date: 3/22/2017 14:59:11
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 3/22/2017 13:57:16

Controls

Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:30
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:59



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Present
4	gp160	Present
5	p24	Present
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-4 : Geenius リーダーを用いた判定結果の例 (HIV-1 陽性)

ダイナスクリーン・HIV Combo で陽性、HIV-1/2 PA で 25,600 倍、HIV-1 WB で陽性、HIV-2 WB で判定保留、HIV-1 核酸増幅検査で 17,000 コピー/mL の検体である。Geenius リーダーではバンド 3、4、5、6 を検出し、最終判定は「HIV-1 POSITIVE」であった。

Geenius HIV 1/2

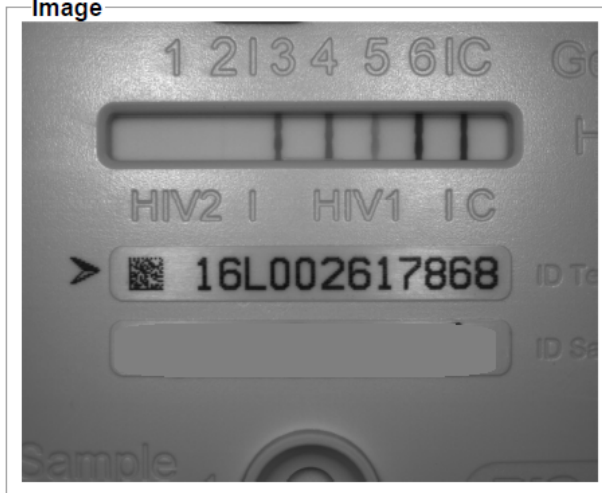
Sample ID:
Cassette ID: 16L002617868
Kit Lot - Exp. Date: 6L0026 - 10/30/2018
Order date: 3/23/2017 13:57:40
Analysis date: 3/23/2017 13:57:44
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 3/23/2017 10:48:01

Controls

Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:30
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:59

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Present
3	p31	Present
4	gp160	Present
5	p24	Present
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-5 : Geenius リーダーを用いた判定結果の例 (HIV-1 陽性)

HIV 治療中 (7 年目) の方の検体である。HIV-1 WB で陽性、HIV-2 WB で判定保留である。Geenius リーダーではバンド 2、3、4、5、6 を検出し、最終判定は「HIV-1 POSITIVE」であった。目視ではバンド 2 は確認できない。

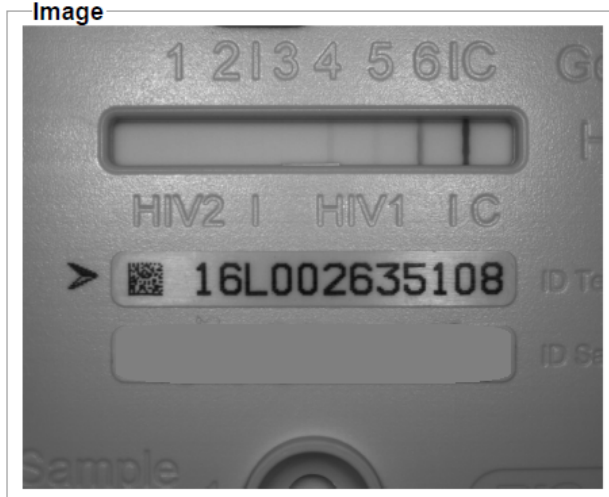
Geenius HIV 1/2

Sample ID:
Cassette ID: 16L002635108
Kit Lot - Exp. Date: 6L0026 - 10/30/2018
Order date: 2/24/2017 13:51:06
Analysis date: 2/24/2017 13:51:09
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 2/24/2017 13:29:56

Controls
Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:30
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:59

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Present
5	p24	Absent
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-6 : Geenius リーダーを用いた判定結果の例 (HIV-1 陽性)

HIV 治療中 (12 年目) の方の検体である。HIV-1 WB で陽性、HIV-2 WB で判定保留、HIV-1 核酸増幅検査で検出限界未満の検体である。Geenius リーダーではバンド 4 と 6 を検出し、最終判定は「HIV-1 POSITIVE」であった。目視ではバンド 5 も確認できたが、リーダーでは不検出であった。

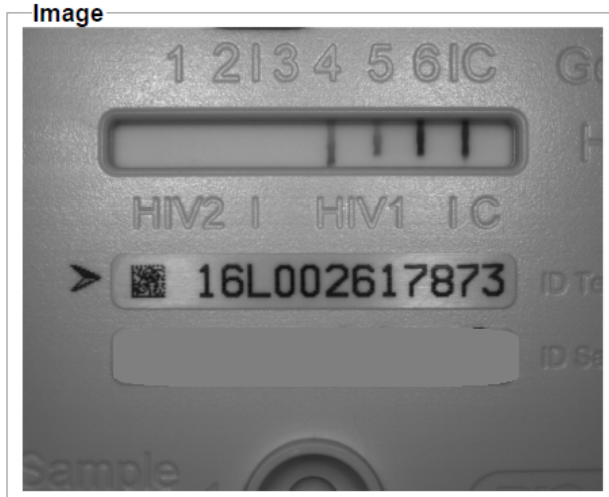
Geenius HIV 1/2

Sample ID:
Cassette ID: 16L002617873
Kit Lot - Exp. Date: 6L0026 - 10/30/2018
Order date: 3/23/2017 11:13:17
Analysis date: 3/23/2017 11:13:21
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 3/23/2017 10:48:01

Controls
Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:30
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:59

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Present
5	p24	Present
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-7： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV-1 陽性）

HIV 治療中（12 年目）の方の検体である。HIV-1 WB で陽性、HIV-2 WB で判定保留、HIV-1 核酸増幅検査で検出限界未満の検体である。Geenius リーダーではバンド 4、5、6 を検出し、最終判定は「HIV-1 POSITIVE」であった。目視ではバンド 5、6、IC の下部が欠けて見られたが、リーダーでの判定が可能であった。

Image

Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Absent
5	p24	Absent
6	gp41	Absent
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV NEGATIVE

Status: Validated by: Supervisor -

(No.1)

Image

Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Present
5	p24	Absent
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated by: Supervisor -

(No.2)

Image

Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Present
5	p24	Present
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated by: Supervisor -

(No.3)

Image

Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Present
5	p24	Present
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 POSITIVE

Status: Validated by: Supervisor -

(No.4)

No.	最初の採血日からの日数	Geenius 最終判定	WB-1	WB-2	HIV-1 RNA	ダイナスクリーン HIV Combo	
						Ag	Ab
1	0	HIV NEGATIVE	陰性	陰性	2.1×10^7	+	+
2	7	HIV-1 POSITIVE	判定保留	陰性	3.8×10^5	-	+
3	39	HIV-1 POSITIVE	陽性	判定保留	5.9×10^3	-	+
4	126	HIV-1 POSITIVE	陽性	判定保留	< 50	-	+

図 3.2-8： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV-1 陽性）

HIV-1 感染初期に継続的に検査を実施した方の検体である（No.1～4）。最初の採血日から約1か月前に感染機会があり、検査前9日前に発熱し医療機関を受診した。最初の採血日（No.1）ではダイナスクリーン・HIV Comboで陽性（抗原と抗体ラインが出現）、Geeniusでは「HIV NEGATIVE」であったが、感染初期を疑い HIV-1 核酸増幅検査を実施したところ、 2.1×10^7 コピー/mL であった。7日後（No.2）では Geenius でも「HIV-1 POSITIVE」となった。

Geenius HIV 1/2

Sample ID: 103
Cassette ID: 17F002904406
Kit Lot - Exp. Date: 7F0029 - 5/2/2019
Order date: 12/14/2018 18:04:07
Analysis date: 12/14/2018 18:04:09
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.2-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP6H011108
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 12/14/2018 17:22:16

Controls

Lot number: NC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:20:19
Lot number: PC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:21:01

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Absent
5	p24	Absent
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 INDETERMINATE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-9： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV-1 判定保留）

WB で陰性、HIV-1 核酸増幅検査陽性の検体である。リーダーではバンド 6 のみ（gp41）を検出し、最終判定は「HIV-1 INDETERMINATE」である。検出画像データではバンド 6 がはっきりとは見えない。

Geenius HIV 1/2

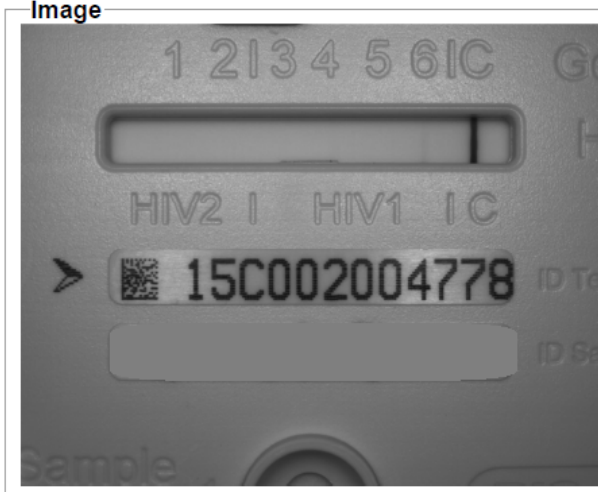
Sample ID:
Cassette ID: 15C002004778
Kit Lot - Exp. Date: 5C0020 - 7/31/2016
Order date: 7/12/2016 14:46:03
Analysis date: 7/12/2016 14:46:07
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 7/12/2016 12:50:49

Controls

Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 6/21/2016 11:07:25
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 6/21/2016 11:07:51

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Absent
5	p24	Absent
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 INDETERMINATE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-10： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV-1 判定保留）

HIV-1/2 PA で 64 倍、HIV-1 WB で判定保留、HIV-2 WB で陰性、HIV-1 核酸増幅検査 2,300 コピー/mL の検体である。Geenius リーダーではバンド 6 のみを検出し、最終判定は「HIV-1 INDETERMINATE」であった。

Geenius HIV 1/2

Sample ID:
Cassette ID: 16L002618223
Kit Lot - Exp. Date: 6L0026 - 10/30/2018
Order date: 3/22/2017 15:00:43
Analysis date: 3/22/2017 15:00:47
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP41004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 3/22/2017 13:57:16

Controls

Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:30
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 2/22/2017 14:05:59

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Present
4	gp160	Absent
5	p24	Absent
6	gp41	Absent
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 INDETERMINATE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-11： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV-1 判定保留）

ダイナスクリーン・HIV-1/2 で陽性、HIV-1/2 PA で陰性、HIV-1 WB で判定保留、HIV-2 WB で判定保留、HIV-1 核酸増幅検査で陰性の検体である。Geenius リーダーではバンド 3 のみを検出し、最終判定は「HIV-1 INDETERMINATE」であった。

Geenius HIV 1/2

Sample ID:
Cassette ID: 15C002004756
Kit Lot - Exp. Date: 5C0020 - 7/31/2016
Order date: 7/13/2016 13:21:38
Analysis date: 7/13/2016 13:21:42
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 7/13/2016 10:02:26

Controls

Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 6/21/2016 11:07:25
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 6/21/2016 11:07:51

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Absent
5	p24	Absent
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-1 INDETERMINATE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-12： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV-1 判定保留）

ダイナスクリーン・HIV-1/2 で陽性、HIV-1/2 PA で 256 倍、HIV-1 WB で判定保留、HIV-2 WB で陰性、HIV-1 核酸増幅検査で 330,000 コピー/mL の検体である。Geenius リーダーではバンド 6 のみを検出し、最終判定は「HIV-1 INDETERMINATE」であった。

Geenius HIV 1/2

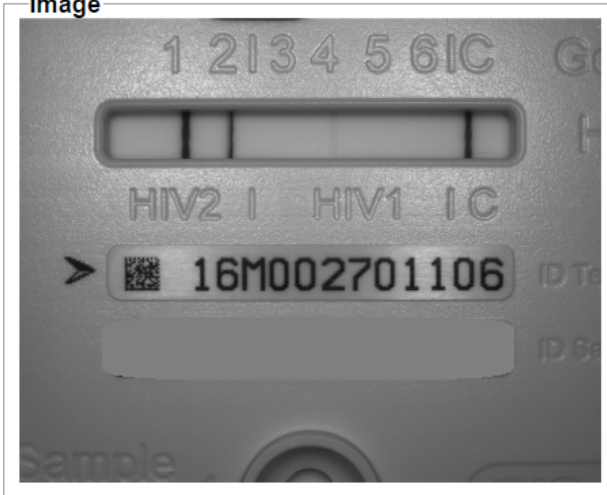
Sample ID: Anti-HIV2-12
Cassette ID: 16M002701106
Kit Lot - Exp. Date: 6M0027 - 11/30/2018
Order date: 8/15/2017 13:58:54
Analysis date: 8/15/2017 13:58:58
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 8/15/2017 12:39:02

Controls

Lot number: PC17A0029180130
Last run on: 8/8/2017 14:39:44
Lot number: NC17A0029180130
Last run on: 8/8/2017 14:12:17

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Present
2	gp140	Present
3	p31	Absent
4	gp160	Present
5	p24	Absent
6	gp41	Absent
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-2 POSITIVE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-13： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV-2 陽性）

HIV-1 WB で判定保留、HIV-2 WB で陽性の検体である。Geenius リーダーではバンド 1、2、4 を検出し、最終判定は「HIV-2 POSITIVE」である。最終判定で HIV-2 となった場合は型別確定が必要であり、多くの検査施設では HIV-2 核酸増幅検査を実施していないことから、確定診断のために国立感染症研究所または地方衛生研究所等に相談する。

Geenius HIV 1/2

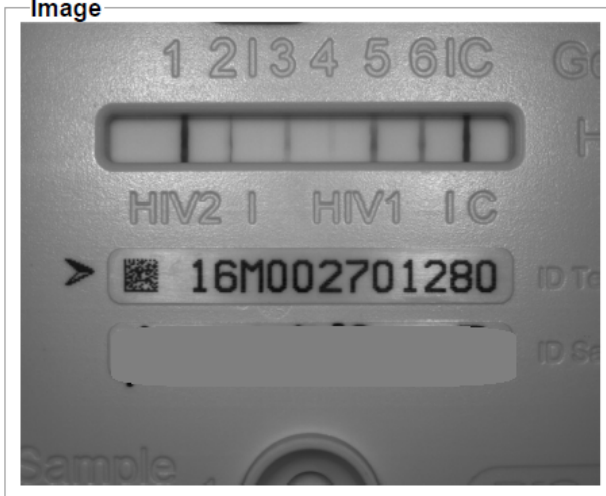
Sample ID:
Cassette ID: 16M002701280
Kit Lot - Exp. Date: 6M0027 - 11/30/2018
Order date: 8/15/2017 14:50:32
Analysis date: 8/15/2017 14:50:36
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 8/15/2017 12:39:02

Controls

Lot number: PC17A0029180130
Last run on: 8/8/2017 14:39:44
Lot number: NC17A0029180130
Last run on: 8/8/2017 14:12:17

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Present
2	gp140	Present
3	p31	Present
4	gp160	Present
5	p24	Present
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-2 POSITIVE (with HIV-1 cross-reactivity)

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-14 : Geenius リーダーを用いた判定結果の例 (HIV-2 陽性 (HIV-1 交差反応))
 HIV-1 WB で判定保留、HIV-2 WB で陽性の検体である。Geenius リーダーではバンド 1、2、3、4、5、6 を検出し、最終判定は「HIV-2 POSITIVE (with HIV-1 cross-reactivity)」である。最終判定で HIV-2 (HIV-1 交差反応) となった場合は型別確定が必要であり、多くの検査施設では HIV-2 核酸増幅検査を実施していないことから、確定診断のために国立感染症研究所または地方衛生研究所等に相談する。

Geenius HIV 1/2

Sample ID:
Cassette ID: 16M002701249
Kit Lot - Exp. Date: 6M0027 - 11/30/2018
Order date: 8/15/2017 14:21:25
Analysis date: 8/15/2017 14:21:29
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP4I004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 8/15/2017 12:39:02

Controls

Lot number: PC17A0029180130
Last run on: 8/8/2017 14:39:44
Lot number: NC17A0029180130
Last run on: 8/8/2017 14:12:17

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Present
2	gp140	Present
3	p31	Present
4	gp160	Present
5	p24	Present
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV POSITIVE - UNTYPABLE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-15 : Geenius リーダーを用いた判定結果の例 (HIV 陽性-型別不能)

HIV-1 WB で判定保留、HIV-2 WB で陽性の検体である。Geenius リーダーではバンド 1、2、3、4、5、6 を検出し、最終判定は「HIV POSITIVE-UNTYPABLE」である。最終判定で HIV 陽性 (型別不能) となった場合は、HIV-1 と HIV-2 の共感染あるいは交差反応かを精査することから、確定診断のために国立感染症研究所または地方衛生研究所等に相談する。

Geenius HIV 1/2

Sample ID:
Cassette ID: 15C002004437
Kit Lot - Exp. Date: 5C0020 - 7/31/2016
Order date: 7/20/2016 13:30:31
Analysis date: 7/20/2016 13:30:35
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.1-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP41004201
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 7/20/2016 13:15:22

Controls

Lot number: PC16C0024170330
Last run on: 6/21/2016 11:07:25
Lot number: NC16C0024170330
Last run on: 6/21/2016 11:07:51

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Present
3	p31	Absent
4	gp160	Absent
5	p24	Absent
6	gp41	Absent
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-2 INDETERMINATE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-16 : Geenius リーダーを用いた判定結果の例 (HIV-2 判定保留)

スクリーニング検査である HIV-1/2 PA で陰性、自動化測定装置試薬で陰性、確認検査である HIV-1 WB で陰性、HIV-2 WB で判定保留の検体である。Geenius リーダーではバンド 2 のみを検出し、最終判定は「HIV-2 INDETERMINATE」であった。スクリーニング検査陰性の検体を Geenius で測定すると、非特異反応により Geenius で判定保留や陽性結果となり、感染の否定に苦慮することもあることから、Geenius はスクリーニング検査で陽性あるいは判定保留検体の確認検査にのみ使用する。

Geenius HIV 1/2

Sample ID: 112
Cassette ID: 17F002906471
Kit Lot - Exp. Date: 7F0029 - 5/2/2019
Order date: 12/14/2018 18:27:25
Analysis date: 12/14/2018 18:27:27
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.2-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP6H011108
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 12/14/2018 17:22:16

Controls

Lot number: NC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:20:19
Lot number: PC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:21:01

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Present
3	p31	Absent
4	gp160	Absent
5	p24	Absent
6	gp41	Absent
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV-2 INDETERMINATE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-17 : Geenius リーダーを用いた判定結果の例 (HIV-2 偽反応例)

ICによる検査陽性(追加スクリーニング検査陰性)、HIV-1 核酸増幅検査陰性、WB 陰性の検体である。リーダーではバンド 2 のみ (gp140) を検出し、最終判定は「HIV-2 INDETERMINATE」である。検出画像データではバンド 2 ははっきりとは見えない。本結果は偽反応と思われる。HIV-2 の核酸増幅検査は、感染診断に必ずしも有効ではないため (4-7 参照)、追加スクリーニング検査の実施を考慮する (3-1(3))。

Geenius HIV 1/2

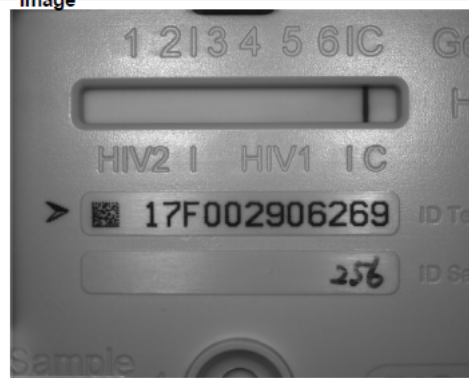
Sample ID: 256
Cassette ID: 17F002906269
Kit Lot - Exp. Date: 7F0029 - 5/2/2019
Order date: 2/22/2019 19:31:37
Analysis date: 2/22/2019 19:31:39
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.2-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP6H011108
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 2/22/2019 19:16:16

Controls

Lot number: NC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:20:19
Lot number: PC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:21:01

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Absent
5	p24	Absent
6	gp41	Absent
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV NEGATIVE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-18： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（Geenius 陰性、HIV-1 NAT 陽性例）
 IC による検査陽性（追加スクリーニング検査陽性）、HIV-1 核酸増幅検査陽性、WB 陰性の検体である。バンドが検出されず陰性の結果であるが、第 4 世代スクリーニング検査陽性の場合、HIV-1 核酸増幅検査の実施が必要である。IC のみの結果で、Geenius HIV-1/2 キットを実施し本結果の場合、追加スクリーニング検査（第 4 世代キット）を実施する。

Geenius HIV 1/2

Sample ID: 173
Cassette ID: 17F002904238
Kit Lot - Exp. Date: 7F0029 - 5/2/2019
Order date: 12/26/2018 14:59:35
Analysis date: 12/26/2018 14:59:38
Test run by: Supervisor -
Test version: 1.2-OUS
Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria

Reader S/N: DP6H011108
Geenius version: 1.2.201.001
Last Calibration: 12/26/2018 14:38:39

Controls

Lot number: NC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:20:19
Lot number: PC18A0033190109
Last run on: 12/12/2018 11:21:01

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Present
2	gp140	Present
3	p31	Present
4	gp160	Present
5	p24	Present
6	gp41	Present
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV POSITIVE - UNTYPABLE

Status: Validated **by:** Supervisor -

図 3.2-19： Geenius リーダーを用いた判定結果の例（HIV 陽性-型別不能）

リーダーではバンド 1 から 6 を検出し、最終判定は「HIV POSITIVE - UNTYPABLE」である。検出画像データではバンド 6 (gp41) は薄い。このような検体の依頼の場合、HIV-1/2 混合感染の可能性もあり、確定診断のために国立感染症研究所または地方衛生研究所等に相談する。

4. HIV 核酸増幅検査

HIV のウイルス遺伝子検査法として、核酸増幅検査 (Nucleic Acid Amplification Test, NAT) が行われる。市販の体外診断薬として現在購入可能な製品を「2. HIV 検査の概要」表 2-1 に示した。HIV-1 抗原・抗 HIV-1/2 抗体同時検出のいわゆる第 4 世代スクリーニング検査試薬が主流となった昨今、感染急性期でスクリーニング検査陽性・抗体確認検査判定保留又は陰性となる例が増えており、NAT が必要になる例が増えている。

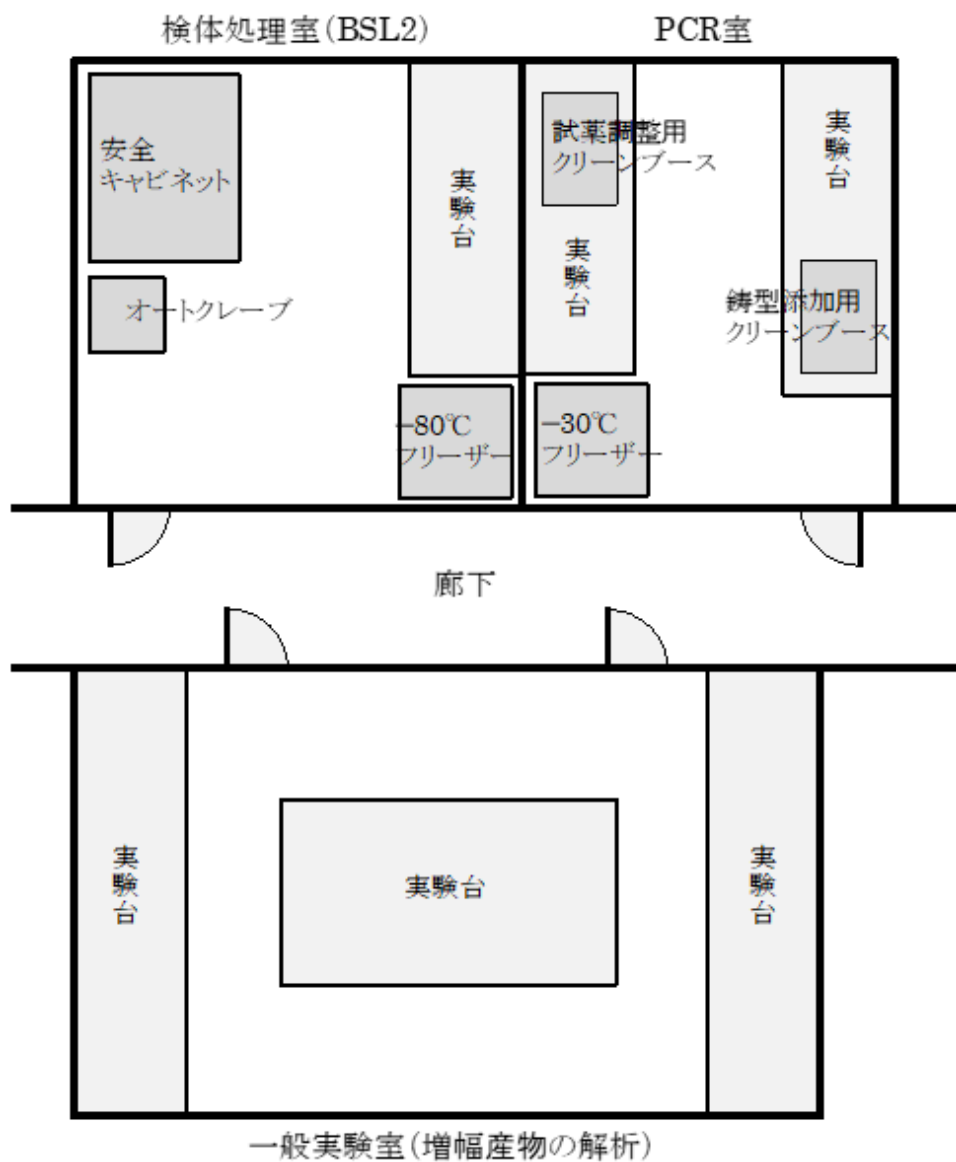
NAT は高検出感度であるため、コンタミネーションによる偽陽性に十分注意を払う必要があると同時に、感染者の血漿に含まれる HIV-1 コピー数は、in-house 法で一般的に使用される研究用 RNA 抽出試薬の使用では検出限界に近い数値になることも多いため、検査法の精度管理に十分な注意を払う必要がある。

市販の体外診断薬は、その添付文書の指示に従って精度管理を行う。ここでは PCR 法を原理とする in-house NAT の紹介とその精度管理について概説する。

4-1. PCR 検査室の設置

PCR 検査を行う実験室では、①RNA 抽出用、②試薬調整用、③テンプレート添加用、④アガロースゲル電気泳動等の PCR 後の解析を行うスペースを設ける (図 4-1)。RNA 抽出は臨床検体を用いるため、クラス II の安全キャビネットで行う。試薬調整用、テンプレート添加用の場所は、部屋を分けるのが理想的ではあるが、それぞれ専用の UV 照射が可能なクリーンブースを設置して、独立した場所を設ければ良い。PCR 後の解析を行うスペースは一般実験室で構わないが、PCR 検査室とは独立した場所に設定する。マイクロピペット等の器具やチップ等の消耗品も、それぞれの場所に専用のものを準備する。

(a)



(b)

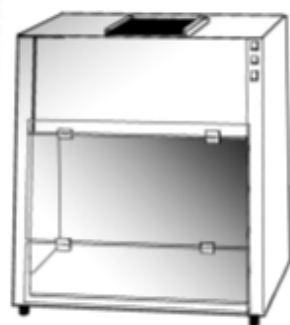


図 4-1: 実験スペースの配置の一例(a)とクリーンブース(b)

4-2. 定性法と定量法

HIV の核酸増幅検査法には、病原診断に用いる定性（検出）法と、主に HIV 感染者の病態の進行や治療効果の確認等に用いられる定量（測定）法がある。

HIV のウイルス遺伝子定性検査法には、血漿中のウイルス RNA を検出する方法と、末梢血単核細胞(PBMC)由来 DNA を鋳型として用いるプロウイルスを検出する方法がある。一般的には血漿中 HIV-1 RNA を検出する方法を用いるが、新生児等で抗体検査が有効でなく、かつ検査に必要な血液量が採取できなかった場合には、プロウイルスの検出法が用いられることがある。いずれも国内で製造販売承認を受けた製品は無く、検査室レベルでの対応となる。

一方、HIV のウイルス RNA 定量法は、複数の品目が体外診断薬として承認され市販されている。いずれも HIV-1 RNA 専用試薬であり、HIV-2 RNA には対応していないことに留意する必要がある。汎用のリアルタイム PCR 装置があれば、in-house の定量系を構築することも可能である。（詳細は「4-7. 定量（リアルタイム）RT-PCR 法」で後述する。）

注：国内で販売されている核酸増幅検査試薬は、すべて定量試薬としての承認であり、法令上、感染診断を使用目的とした承認ではないので、結果の取り扱いについては各検査室において定めておく必要がある。「診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2020（日本エイズ学会・日本臨床検査医学会標準推奨法）」[5]では、確認検査（血清診断）陰性で HIV-1 RNA が検出された場合「急性 HIV-1 感染者」と診断するが、後日適切な時期に抗体確認検査を実施、陽性を確認することが推奨されている。

4-3. コンベンショナル RT-PCR とリアルタイム RT-PCR

コンベンショナル RT-PCR は検出法であり、一般的な RT-PCR 用試薬、サーマルサイクラー、アガロースゲル電気泳動装置と染色したゲルの撮影装置があれば実施できる、比較的安価な方法である。リアルタイム RT-PCR は検出法、定量法のいずれにも対応可能であり、一般的により高感度であること、データ解析が自動的に行われて保存されるためトレーサビリティに優れていること、増幅産物確認作業を密閉した状態のまま増幅反応と並行して行うため、増幅後の PCR 産物によるコンタミネーションのリスクを低減することに有用である等、多くの利点がある。しかしながら、専用の反応測定装置の購入、機器のバリデーションや定期的な部品交換の必要があり相応のコストがかかる。各検査室の実情に応じて方法を選択する。

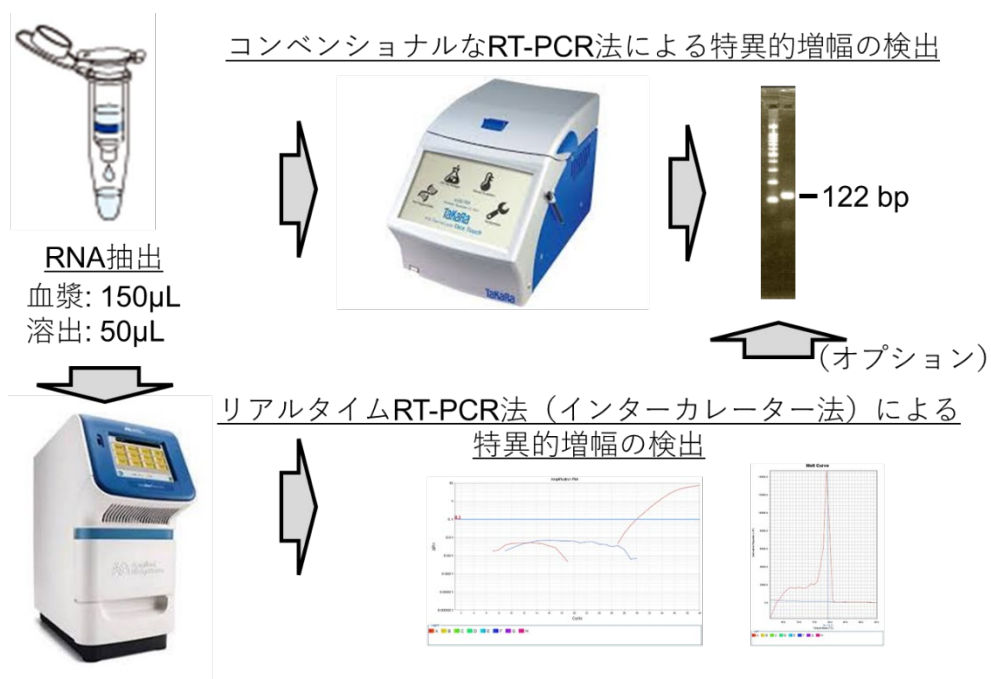


図 4-2: コンベンショナル RT-PCR とリアルタイム RT-PCR による特異的 RNA 検出

4-4. 血漿検体からの RNA 抽出・精製法、濃縮法

国立感染症研究所エイズ研究センターでは、定性法・定量法のいずれの場合も同じ方法で抽出・精製・濃縮を行っている。使用法の詳細は各キットの添付文書を参照のこと。

1) 検査検体の採取とコントロール

血液検体は EDTA 採血して得た血漿が望ましいが、クエン酸ナトリウムを使って採血した血漿や血清でも可能である。定性法では陽性・陰性コントロール、定量法では陰性コントロールや定量スタンダードを同時に測定する。(作製法は「5. HIV 核酸増幅検査の精度管理」を参照。)

2) RNA 抽出・精製キット

NucleoSpin RNA Virus (タカラバイオ、マッハライナーゲル) と QIAamp Viral RNA Mini Kit (キアゲン) の簡易プロトコルを示した。試薬の準備や保存可能期間等の注意事項、トラブルシューティング等はキットの添付文書を参照のこと。(2019 年版では検体 200µL から抽出する方法を示したが、その後の検討で添付文書による方法と検出感度に差が見られなかったため、添付文書に沿った記述に変更した。)

※ キットは各検査室で慣れたものを使用し、適切な陽性・陰性コントロール検体を用いて性能を確認しておく。キットにより回収効率や精製度が異なり、NAT の検出感度や定量可能範囲に影響を及ぼすため、キットを変更する時には、性能を再度確認する必要がある。

※ NucleoSpin RNA Virus は High Pure Viral RNA Kit (ロシュ) と比べて手順が複雑であるが、RNA 回収効率に優れ、より低いコピー数まで検出できる。ただしキアゲン社とロシュ社のキットの方が低コピー数から高コピー数までの回収効率にばらつきが少ないなどの理由から、定量検査の時に常に適切な検量線が得られる傾向にある。

※ NucleoSpin RNA Virus と QIAamp Viral RNA Mini Kit は、キャリア RNA 添加後の検体処理液(RAV1, AVL)を-20~30° C で保存可能であることをメーカーに確認している。検体処理液作製時に、1 測定に必要な量を 1 本のチューブに分注し保存、使用時に必要な本数を室温に戻して融解、検体を加えて以後の操作を行うようにしておくとう便利である。

<方法>

a. NucleoSpin RNA Virus

添付文書に従い、RAV1, RAW, RAV3 を調整しておく。

1. あらかじめ 600 μ L の RAV1 溶液を分注した 2mL スクリューキャップチューブに検体と陽性・陰性コントロール各 150 μ L を加え 10 秒間ボルテックス後スピンドウン。70° C 5 分間インキュベーション。(凍結保存した RAV1 を使用する場合には、ボルテックスで沈殿を完全に溶解させてから使用する。)
2. スピンドウン後エタノール 600 μ L を加え、転倒混和後スピンドウン。
3. 2 の処理済み検体 660 μ L をカラムに入れて遠心 8,000xg 1 分、コレクションチューブを交換後、残りを同じカラムに入れて遠心 8,000xg 1 分。コレクションチューブを交換。
4. カラムに RAW 溶液 500 μ L を入れて遠心 8,000xg 1 分、コレクションチューブを交換。
5. カラムに RAV3 溶液 600 μ L を入れて遠心 8,000xg 1 分、コレクションチューブを交換。
6. カラムに RAV3 溶液 200 μ L を入れて遠心 11,000xg 5 分、コレクションチューブを捨て、カラムを 1.5mL 回収用チューブにセット。
7. あらかじめ 70° C にしておいた dH₂O 50 μ L を入れて 2 分間静置後、11,000xg 1 分遠心し RNA を溶出。使用まで 4° C、すぐに使用しない場合は-80° C で保管。

b. QIAamp Viral RNA Mini Kit

添付文書に従い、AVL, AW1, AW2 を調整しておく。

1. あらかじめ 560 μ L の AVL 溶液を分注した 2mL スクリューキャップチューブに検体と

陽性・陰性コントロール各 140 μ L を入れ 15 秒間ボルテックス後スピンドウン。室温で 10 分間インキュベーション。

2. スピンドウン後エタノール 560 μ L を加え、転倒混和後スピンドウン。
3. 2 の処理済み検体 630 μ L をカラムに入れて遠心 6,000xg 1 分、コレクションチューブを交換後、残りを同じカラムに入れて遠心 6,000xg 1 分。コレクションチューブを交換。
4. カラムに Buffer AW1 を 500 μ L 入れて遠心 6,000xg 1 分、コレクションチューブを交換。
5. カラムに Buffer AW2 を 600 μ L 入れて遠心 20,000xg 3 分、コレクションチューブを交換。
6. そのまま遠心 20,000xg 1 分遠心、コレクションチューブを捨て、カラムを 1.5mL 回収用チューブにセット。
7. Buffer AVE を 60 μ L 入れて 1 分間静置後、6,000xg 1 分遠心し RNA を溶出。使用まで 4° C、すぐに使用しない場合は-80° C で保管。

(注) 低コピー数のため RNA 抽出後に濃縮が必要となる検体に対し、国立感染症研究所エイズ研究センターでは 1 検体当たり 5 本のカラムを使用するか、Nucleospin RNA Virus F (タカラバイオ、マッハライナーゲル) を使って検体 1mL から RNA を抽出し、濾液を後述の RNA 濃縮キットを用いて濃縮している。1mL の検体からの RNA 抽出に対応しているキットとして、QIAamp Ultrasens Virus Kit (キアゲン) がある。ウイルスを含む沈殿を得る操作と沈殿物を溶解させる最初のステップにおいて、正確な操作が求められる。(沈殿が溶けなくなることがある。) 検体をあらかじめ高速冷却遠心 (一般的なマイクロチューブ用遠心機で 12,000-15,000rpm、1 時間、4°C) し、ウイルスをペレットダウンしてから RNA を抽出する方法も有効であるが、遠心後の上清を除去する際にペレットを吸引してしまうリスクがあることを承知しておくべきである。

c. MagDEA Dx SV

効率的に検査を行うため自動核酸抽出装置の活用も有効である。ここでは比較的多くの地方衛生研究所に導入されている magLEAD と専用試薬を活用した例を示す。抽出装置 magLEAD 6gC または magLEAD 12gC を使用し、以下の操作を行う。

1. プロトコル IC カード (検体 400 μ L からのトータル核酸抽出用: MagDEA Dx SV 400 6gC または 12gC) を装置にセット。
2. 装置背面にある電源スイッチを入れる。
3. イニシャライズ終了後、画面の指示に従い試薬カートリッジ MagDEA Dx SV を試薬カ

ートリッジラックにセット。

4. 検体 400 μ L が入ったマイクロチューブ（キャップなし）および消耗品をチップ／チューブラックにセット。溶出液量は 50 μ L を選択。
5. 画面の指示に従い、プロトコルを実行（約 27 分）。
6. プロトコル終了後、画面の指示に従い核酸抽出液を回収する。使用まで 4°C、すぐに使用しない場合は -80°C で保管。

3) RNA 濃縮キット

RNeasy MinElute Cleanup（キアゲン）の簡易プロトコルを示しておく。詳細はキットの添付文書を参照のこと。

<方法>

1. RNA 抽出キットのろ液 200 μ L に対し Buffer RLT を 700 μ L 加えて混和。
2. スピンドダウン後エタノール 500 μ L を加え、ピペッティングにより混和、そのまま約 700 μ L をカラムに入れて遠心 8,000xg 15 秒、コレクションチューブを交換。この操作を 2 回繰り返す、全量を 1 本のカラムにロードする。
3. カラムに Buffer RPE を 500 μ L 入れて遠心 8,000xg 15 秒、コレクションチューブを交換。
4. カラムに 80%エタノールを 500 μ L 入れて遠心 8,000xg 2 分、コレクションチューブを交換。
5. そのまま遠心 20,000xg 5 分遠心、コレクションチューブを捨て、カラムを 1.5mL 回収用チューブにセット。
6. RNase free dH₂O を 14 μ L 入れて 1 分間静置後、20,000xg 1 分遠心し RNA を溶出。使用まで 4°C、すぐに使用しない場合は -80°C で保管。

注 エタノールあるいはイソプロパノール沈殿法により濃縮する場合は「Gen とるくん（タカラバイオ）」のようなキャリアを使用する。低コピー数 RNA の回収は技術的に難しいので、教育訓練を通じ同一検体の測定間誤差について検討しておくべきである。

4-5. 定性 RT-PCR 法

2019 年版で紹介した方法はやや非特異反応が出る場合があったので、使用するプライマーを再検討し、性能を確認した改良法[14]を記載した。

1) RNA の準備

臨床検体から抽出した RNA。

陽性・陰性管理コントロール用検体由来 RNA。

RNA 溶出に用いた緩衝液または dH₂O (RNA 抽出操作は行わない)

※ 陽性コントロールとして、最小検出感度の 3 倍から 5 倍コピー数を含む臨床検体を用いる。RNA 抽出過程を含めた一連の操作のコントロールを目的としているため、常に臨床検体と陽性・陰性コントロールからの RNA 抽出操作を同時に行うこと。(陽性・陰性コントロールの作製方法は「5.核酸増幅検査の精度管理」を参照。)

2) プライマー(QL1)

Forward primer:

gag-580A 5'-GAT GGG TGC GAG AGC GTC-3' (789-806 HXB2)

Reverse primer:

gag-612B 5'-GCT CCC TGC TTG CCC ATA CTA-3' (910-890 HXB2)

※ HIV-1 Group M だけでなく HIV-1 Group O にも対応できることを確認しているが HIV-2 には対応していない。

※ プライマーは一例で、各検査室で検討・準備されたもので構わないが、そのプライマーを用いる科学的合理性(最小検出感度、判定一致率、サブタイプ/CRF への対応等)を明らかにしておくこと。

3) RT-PCR キット

GoTaq 1-Step RT-qPCR System (プロメガ)

※ キットは各検査室で慣れたものを使用し、管理検体を用いて最小検出感度の測定を行っておく。コンタミネーションと結果がばらつくリスクを減らすため、プレミックスタイプで逆転写反応と PCR を連続して行うことができる試薬を推奨する。本試薬はインターカレーター法の RT-qPCR 試薬であるが、反応終了後アガロースゲル電気泳動法で特異的な増幅を確認することもできる。コンベンショナル PCR 用反応装置を使用しアガロースゲル電気泳動法で観察する場合には、一般的な RT-PCR 試薬が使用可能である。

※ 試薬を変更する時には、反応条件と最小検出感度を再検討する必要がある。(方法は「5.核酸増幅検査の精度管理」を参照。)

4) 反応機器

※ リアルタイム PCR システムやサーマルサイクラーは、日常各検査室で使用されているもので良い。機器の定期的な点検と陽性コントロールの検出結果により性能を担保する。機器を変更する時には、反応条件と最小検出感度をあらためて検討しておくこと。

※ 国立感染症研究所エイズ研究センターでは検査用として「StepOne Plus (Applied Biosystems)」を使用しているが、2027年6月をもってメーカーサポートが終了する予定である。光学系機器部分の精度管理が行えなくなるため、このような場合には機器の買い替えを検討する必要がある。

<方法>

※ 詳細はキットに添付のプロトコルを参照のこと。

1. 以下のように RT-qPCR 混合液を作製する。チューブ間の試薬濃度の誤差を少なくするため、検体数に応じてマスターミックスを作製し分注する。試薬調整後、鋳型添加用の場所へ移動し、RNA 溶液を加える。

dH ₂ O	6.4μL
2x 1step buffer	10.0μL
CXR Reference Dye	0.3μL
20μM 580A	0.2μL
20μM 612B	0.2μL
GoScript RT Mix	0.4μL
検体 RNA	2.5μL

2. リアルタイム PCR システムにセットし、以下の条件で反応を行う。
3. 50° C 15 分→94° C 10 分→(95° C 10 秒→60° C 15 秒→72° C 30 秒)_x 40 サイクル→95° C→(60° C→95° C, 1° C/分) [Melting cycle] (コンベンショナル PCR では不要)
4. 蛍光の検出結果で判定する場合には、図 4-3(a)に示した規格に従い「検出」あるいは「検出せず」と判定する。
5. アガロースゲル電気泳動法で判定する場合には、反応後に 2~5μL を 3%アガロースゲル電気泳動し、特異的な増幅(122bp)を確認する。陽性コントロールが陽性、陰性コントロールが陰性であることを確認し、臨床検体の結果を判定する (図 4-4)。バンドが陽性コントロールより薄い場合は判定保留とする。

※ 増幅サイズが小さいため、3%以上の濃度のゲルを使用することを推奨する。

Prime Gel Agarose PCR-Sieve HRS（タカラバイオ）は高濃度でも扱いやすく、十分な解像度の結果が得られる。

(a) QL1: Detection of amplification-specific fluorescent signal

	Ct	Tm [§]	
Positive control	Determined	77 - 83	Invalid ▶ Retest [‡]
Negative control	Undetermined		

Valid

	Ct	Tm	Interpretation
Sample	Determined	77 - 83	Reactive
	Undetermined		Non-reactive*
	Determined	Out of 77 - 83	Indeterminate [#]

(b) QL2: Detection of amplification-specific fluorescent signal

	Ct	Tm [§]	
Positive control	Determined	84 - 88	Invalid ▶ Retest [‡]
Negative control	Undetermined		

Valid

	Ct	Tm	Interpretation
Sample	Determined	84 - 88	Reactive
	Undetermined		Non-reactive*
	Determined	Out of 84 - 88	Indeterminate [#]

図 4-3: 蛍光の検出による QL-NAT [(a) QL1, (b) QL2]結果判定の規格と結果の解釈[14]

Tm[§]: Melting temperature, Retest[‡]: RNA 抽出から再検査, Non-reactive*: =非感染者ではないことに留意, Indeterminate[#]: アガロースゲル電気泳動による増幅確認または RNA 抽出から再検査

(c) QL1 and QL2: Detection of amplification-specific band by agarose gel electrophoresis

Specific band		
Positive control	Observed	Invalid ➡ Retest‡
Negative control	Not observed	

Valid
⬇

	Specific band	Interpretation [¶]
Sample	Observed	Reactive
	Not observed	Non-reactive*

図 4-4: アガロースゲル電気泳動による QL-NAT 結果判定の規格と結果の解釈[13]

Retest‡: RNA 抽出から再検査, Interpretation[¶]: バンドが陽性コントロールより薄い場合は判定保留, Non-reactive*: =非感染者ではないことに留意

5) 別のプライマーペア(QL2)

※ プライマーは十分に保存された領域で設計されているが、ミスマッチによる誤判定を回避するため、もう一つのプライマーペアを準備している[1]。至適反応条件が異なるため、反応条件も併せて紹介しておく。結果判定の規格と結果の解釈は図 4-3(b)に示した。PCR 産物のサイズは 165bp。このプライマーペアは HIV-1 Group O の検出には対応していない。

Forward primer:

Gag183UF 5'-CTA GCA GTG GCG CCC GAA CAG-3' (629-649 HXB2)

Reverse primer:

Gag187LR 5'-CCA TCT CTC TCC TTC TAG CCT CCG CTA GTC A-3' (793-763 HXB2)

50° C 15 分→94° C 10 分→(95° C 10 秒→72° C 45 秒)x 40 サイクル

→95° C→(60° C→95° C, 1° C/分) [Melting cycle] (コンベンショナル PCR では不要)

※ 図 4-3(b), 4-4 に示した規格に沿って判定する。

6) 市販パネル検体を用いた定性 NAT 法の性能評価

※ 文献[14]に、ダイナスクリーン HIV Combo (アボット ダイアグノスティクス メディカル) で抗原のバンドを認めた検体の検討結果を示した。すべての検体で増幅を確認できた一方、抗原偽陽性の検体は検出されなかった。

※ 図 4-5 に HIV-1 Low Titer Performance Panel PRB107 を測定した結果を示す。表 4-1 に示した通り、1 検体が HIV 陰性、残り 14 検体のうち 9 検体は HIV スクリーニング検査陽性・Geenius HIV 1/2 キットを用いた HIV 抗体確認検査で陰性または判定保留となったが、定性 NAT 法では HIV スクリーニング検査陽性検体はすべて「HIV-1 RNA 検出」となった。

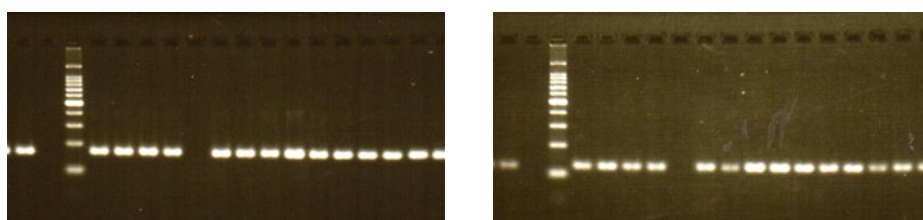


図 4-5: QL1 (左), QL2 (右) による PRB107 増幅産物の電気泳動
陽性コントロール、陰性コントロール、100bp Ladder、PRB107-01 から 15 の順

表 4-1: PRB107 の測定結果

Sample	ダイナスクリーン HIV Combo				ジェンスクリン HIV Ag-Ab ULT		Geenius HIV 1/2 キット							HIV-1 NAT		
	Ag	Ab	CTRL	判定	COI	判定	HM-2		HM-1			CTRL	判定	QL1	QL2	
							gp36	gp140	p31	gp160	p24					gp41
PRB107-01	+	+	+	抗原・抗体検出	11.647	陽性	-	-	-	-	-	-	+	HIV NEG	検出	検出
PRB107-02	+	+	+	抗原・抗体検出	12.473	陽性	-	-	-	-	-	+	+	HIV-1 IND	検出	検出
PRB107-03	-	+	+	抗体検出	6.880	陽性	-	-	-	-	-	+	+	HIV NEG	検出	検出
PRB107-04	-	+	+	抗体検出	11.590	陽性	-	-	-	-	-	+	+	HIV-1 IND	検出	検出
PRB107-05	-	-	+	検出せず	0.265	陰性	-	-	-	-	-	-	+	HIV NEG	検出せず	検出せず
PRB107-06	+	+	+	抗原・抗体検出	12.516	陽性	-	-	-	+	-	+	+	HIV-1 POS	検出	検出
PRB107-07	-	+	+	抗体検出	9.060	陽性	-	-	-	-	-	+	+	HIV-1 IND	検出	検出
PRB107-08	+	+	+	抗原・抗体検出	12.544	陽性	-	-	-	-	-	-	+	HIV NEG	検出	検出
PRB107-09	+	+	+	抗原・抗体検出	12.894	陽性	-	-	-	-	-	-	+	HIV NEG	検出	検出
PRB107-10	+	+	+	抗原・抗体検出	13.032	陽性	-	-	-	+	-	+	+	HIV-1 POS	検出	検出
PRB107-11	-	+	+	抗体検出	12.830	陽性	-	-	-	+	-	+	+	HIV-1 POS	検出	検出
PRB107-12	+	+	+	抗原・抗体検出	11.502	陽性	-	-	-	-	-	-	+	HIV NEG	検出	検出
PRB107-13	-	+	+	抗体検出	11.498	陽性	-	-	-	-	-	-	+	HIV NEG	検出	検出
PRB107-14	-	+	+	抗体検出	11.265	陽性	-	-	-	-	+	-	+	HIV-1 POS	検出	検出
PRB107-15	-	+	+	抗体検出	10.382	陽性	-	-	-	+	-	-	+	HIV-1 POS	検出	検出

Geenius HIV 1/2 キットの判定	
HIV NEG	HIV 陰性
HIV-1 IND	HIV-1 判定保留
HIV-1 POS	HIV-1 陽性

4-6. 定性（迅速リアルタイム）RT-PCR 法

1) RNA の準備

臨床検体から抽出した RNA

陽性・陰性管理コントロール用検体由来 RNA。RNA 溶出に用いた緩衝液または dH₂O（RNA 抽出操作は行わない）

※ 陽性コントロールとして、最小検出感度の 3 倍から 5 倍コピー数を含む臨床検体を用いる。RNA 抽出過程を含めた一連の操作のコントロールを目的としているため、常に臨床検体と陽性・陰性コントロールからの RNA 抽出操作を同時に行うこと。（陽性・陰性コントロールの作製方法は 5.核酸増幅検査の精度管理を参照。）

2) リアルタイム RT-PCR キット

GeneSoC HIV-1 検出キット（研究用）（杏林製薬）

3) 反応・測定装置

GeneSoC mini または GeneSoC mini R（杏林製薬）

※ 装置の定期的な点検と陽性コントロールの検出結果により性能を担保する。

<方法>

※ 詳細はキットおよび装置の取扱説明書等を参照のこと。

1. RT-PCR 反応液を氷上で作製し検体と混合後、スピンドウンして使用する。

PCR Reaction Mix 12.0 μ L

Primer/Probe Mix 3.0 μ L

検体 RNA 5.0 μ L

2. GeneSoC mini 専用測定チップ（杏林製薬）に付属の使用方法に従い、2~20 μ L 用マイクロピペットを用いて、専用測定チップの試料導入口から 1.の溶液を 17.0~19.0 μ L 注入する。注入時に気泡が入らないようマイクロピペットのプッシュボタンは第 1 ストップまで押し込んで注入し、第 2 ストップまで押し込まないこと。

3. 専用測定チップを GeneSoC mini または GeneSoC mini R にセットし、以下の条件で測定を開始する。

42°C 60 秒→96°C 10 秒→（96°C 4 秒→66°C 10 秒）×50 サイクル

※ GeneSoC HIV-1 検出キット（研究用）の取扱説明書に掲載の QR コードを用いて自動入力することも可能である。

4. GeneSoC mini または GeneSoC mini R の画面上に表示された測定結果について以下の判定方法に従い判定する。無効となった場合は 1.から改めて操作し再測定する。

HIV-1	IC	判定
+	+	陽性
+	-	陽性
-	+	陰性
-	-	無効

4-7. 定量（リアルタイム）RT-PCR 法

KK-TaqMan 法の条件を改変した方法を含む 2 種類の方法を紹介する。

1) RNA の準備

臨床検体から抽出した RNA。

定量スタンダード検体から抽出した RNA、または定量スタンダード核酸と管理検体由来 RNA。

※ 国立感染症研究所エイズ研究センターでは、定量スタンダード検体を、RNA 抽出過程を含めた一連の操作のコントロールとして位置付け、得られた検量線の Slope 値、決定係数 (R^2)、直線性をもって毎回の検査の妥当性を評価し、常に臨床検体と定量スタンダード検体からの RNA 抽出操作を同時に行っている。定量スタンダードとして、あらかじめ抽出・精製した核酸を用いている場合には、RNA 抽出過程を含めた操作のコントロールとして、定量上限及び下限に近いコピー数の高値陽性及び低値陽性コントロールを設定して臨床検体と同時に RNA 抽出と PCR を行い、定量結果の妥当性を確認すること。（定量スタンダード検体と管理検体の作製方法は「5. HIV 核酸増幅検査の精度管理」を参照。）

2) プライマー・プローブ

TaqMan MGB 遺伝子発現検出キット（アプライドバイオシステムズ）を用いている。

Set 1 (KK-TaqMan 法[15]と同じプライマー・プローブ)

Forward primer:

deSK145 5'-AGTRGGGGGACAYCARGCAGCHATGCARAT-3' (1359-1388 HXB2)

Reverse primer:

deSKCC1B 5'-TACTAGTAGTTCCTGCTATRTCACTTCC-3' (1513-1486 HXB2)

TaqMan probe:

deKK-MGB 5'-FAM-ATCAATGARGARGCTGCAGAATGGGA-MGB-3' (1402-1427 HXB2)

Set 2 [16]

Forward primer:

Gag183UF 5'- CTAGCAGTGGCGCCCGAACAG-3' (629-649 HXB2)

Reverse primer:

Gag187LR 5'- CCATCTCTCTCCTTCTAGCCTCCGCTAGTCA-3' (793-763 HXB2)

TaqMan probe:

Gag187P-MGB 5'-FAM- TCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTG-MGB-3' (682-708 HXB2)

※ いずれも HIV-1 Group M を広く定量できることを確認しているが、HIV-1 Group O や HIV-2 には対応していない。またプライマー・プローブは、各検査室で検討・準備されたものでも構わないが、そのプライマー・プローブを用いる科学的合理性（市販 HIV-1 RNA 定量試薬との相関性、サブタイプ/CRF への対応等）を明らかにしておく必要がある。

3) リアルタイム RT-PCR キット

TaqMan® RNA-to-Ct™ 1-Step Kit (アプライドバイオシステムズ)

Luna® Universal One-Step RT-qPCR Kit (NEB) 等

※ キットは各検査室で通常使用しているもので構わないが、管理検体を用いてあらかじめ定量可能範囲の検討を行っておくべきである。また試薬を変更する時には、反応条件と定量可能範囲を再検討する必要がある。(方法は「5. HIV 核酸増幅検査の精度管理」を参照)。

4) 反応・測定機器

StepOne Plus (アプライドバイオシステムズ) 等

※ 他の機種でも構わない。ただし使用する機種により性能が異なるので、参照品や適切なコントロールを用いて最適な反応条件と定量可能範囲をあらかじめ検討しておくこと。機器を変更する時には、反応条件と定量可能範囲を再検討することが求められる。(「5. HIV 核酸増幅検査の精度管理」を参照)。

<方法>

※ TaqMan® RNA-to-Ct™ 1-Step Kit を使った方法を示す。詳細はキットに添付のプロトコルを参照のこと。

1. 以下のように混合液を作製する。チューブ間の試薬濃度の誤差を少なくするため、検体数に応じてマスターミックスを作製し分注する。

dH₂O 4.7μL

2x TaqMan RT-PCR Mix	10.0μL
20μM Forward primer	0.9μL
20μM Reverse primer	0.9μL
10μM MGB-Probe	0.5μL
40x TaqMan RT Enzyme Mix	0.5μL
Template RNA	2.5μL

2. 1をよく混合してスピンドウンした後、リアルタイム PCR システムにセットし、以下の条件で反応を行う。
3. 50° C 15分→95° C 10分→(95° C 10秒→60° C 45秒) x 40 サイクル
4. 解析終了後、検量線の妥当性の確認 (Slope 値、決定係数[R²]等) や管理検体の定量値が規格の範囲にあるかどうか (例えば値付け値の±0.5Log) 等、あらかじめ定めた規格を満たしている事を確認し、得られた臨床検体の値を測定結果とする。

4-8. HIV-2 の核酸増幅検査

厚生労働省から承認を受けた HIV-2 RNA NAT 診断薬はなく、国立感染症研究所で HIV-2 NAT 検査用国際標準品制定協力を行うための NAT 実施体制を整備しているが、一般的に HIV-2 感染者の RNA コピー数は低いため、NAT による感染診断は容易ではない。近年、HIV-2 流行地域への渡航者やそのパートナーだけでなく、HIV-1 prevalence が低い地方でも予期せず HIV-2 感染例が見つかったケースが報告されている [17]。これまでの症例では、血清診断による確認検査で HIV-2 陽性の判定が可能であったが、「3-2. HIV 確認検査」に記載の通り、Geenius HIV 1/2 キットによる HIV-2 の判定が難しい場合がある。判定が困難な症例や HIV-2 NAT 実施については、国立感染症研究所エイズ研究センターまで相談されたい。

4-9. その他の核酸増幅検査

1) HIV-1 RNA 定量用体外診断薬

「2. HIV 検査の概要」の表 2-1 を参照されたい。

2) KK-TaqMan 法 [15]

神奈川県衛生研究所の近藤真規子氏と慶應義塾大学医学部の加藤真吾氏 (当時) が構築し

た in-house リアルタイム PCR である。プライマー・プローブは「4-6. 定量（リアルタイム）RT-PCR 法」に紹介している。原法は下記のリンクを参照されたい。

(http://www.chieiken.gr.jp/manual01/HIV/KK-TaqMan_hiv_2011.pdf)

3) ヒト免疫不全ウイルス 1 遺伝子検出試薬（タカラバイオ）

タカラバイオ社のリアルタイム PCR 試薬「One Step PrimeScript III RT-qPCR Mix, with UNG」と組み合わせて使用する病原体関連遺伝子検出シリーズのプライマー・プローブセットである。一般的なリアルタイム PCR 用機器で使用可能である。体外診断薬ではなく、様々な流行株への対応が必ずしも明らかではないため、結果の取り扱いについては各検査室であらかじめ決めておく必要がある。

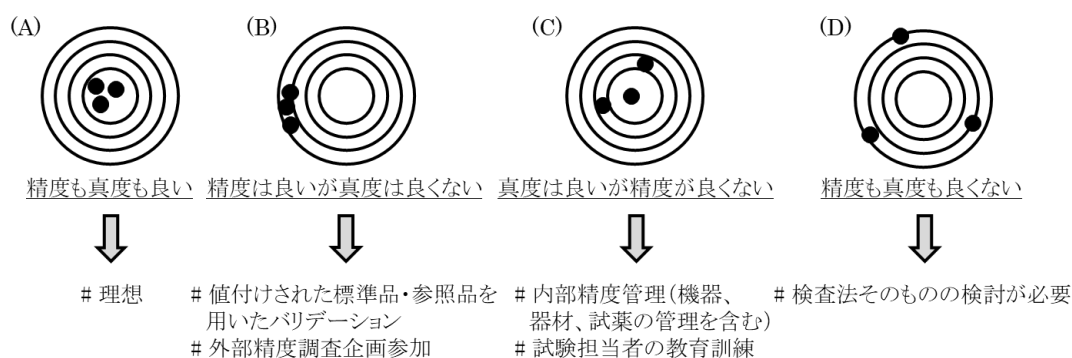
4) GeneSoC HIV-1 検出キット（杏林製薬）

遺伝子解析装置 GeneSoC mini 及び超高速リアルタイム PCR 装置 GeneSoC mini R の専用試薬である。測定機器が小型・軽量で、比較的短時間で結果が得られる特徴を持つ。測定は 1 検体ずつとなるので、比較的小規模の検査施設やクリニックでの使用に向いている。本製品も体外診断薬ではないため、結果の取り扱いについては各検査室であらかじめ決めておく必要がある。手順の詳細は「**4-6.定性（迅速リアルタイム）RT-PCR 法**」に示した。

注：HIV-1 RNA 定量用として承認されている体外診断薬は専用の反応・測定装置を必要とし、購入と維持管理にかなりのコストがかかるが、精度管理のサポートがある。それ以外の方法を用いる場合には、各施設の責任において内部精度管理を実施することが求められる。

5. HIV 核酸増幅検査の精度管理

検査においては、同じ検体を同じ測定法で測定した時に常に正しい結果が再現されることが求められる。検査法の品質管理のことを「精度管理」という。「外部精度管理 (External Quality Assurance, EQA)」とは、外部精度調査に参加し、各検査室で行われている試験法や試験操作が適切であるかどうか、結果が真の値を示しているかどうかを確認することを行う。一方「内部精度管理 (Internal Quality Assurance, IQA)」とは、検査室 (施設) 内で適切な管理検体を用いて、行っている試験法の正確性や再現性を確認することを行う。検査の精度は、測定間でどのくらいばらつきがあるか (精度) と、真の値とどのくらいの誤差があるか (真度) で評価できる。検査結果のイメージと求められる対応を図 5-1 に示した。(A) のようになることが理想であるが、測定間の誤差は常に存在する。低濃度検体ではその傾向が強い。検査の最小検出感度や定量可能範囲を知っておくことは重要であり、5-4, 5-5 にその方法を記載した。



(脚) 日本食品分析センター JFRL ニュース (2012) 4(10) 「試験検査の品質管理: 内部精度管理について」より引用、改変

図 5-1: 検査結果のイメージと求められる対応

HIV-1 RNA 増幅定量用体外診断薬として製造販売承認を受けている診断薬では、最小検出感度や測定可能範囲がメーカーによって調べられ担保されているのに対し、in-house 法を用いる場合には、参照品を用いた最小検出感度の測定 (定性法) や定量可能範囲の検討 (定量法) を各検査室で検討し、それに合わせた管理検体の作製や測定結果の規格の設定を行い、精度管理を行う必要がある。

本稿では、国立感染症研究所エイズ研究センターで行っている in-house NAT の精度管理に用いる参照品の調整法と内部精度管理の方法について紹介する。

5-1. NAT の標準品・参照品

標準品・参照品とは、測定値の算出や正確性を確認するために用いられる、あらかじめ値付けされたコントロールのことをいう。NAT の導入時や試薬・機器変更時に、最小検出感度（定性法）や検量線の直線性（定量法）を検討するために用いられる。

HIV-1 NAT の精度管理のための国際標準品（英国・国立生物学的製剤研究所[National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC]から入手可能）があり、それをもとに各検査施設において値付けしたコピー数既知の参照品（二次標準物質）を精度管理に使用するのが一般的である。

参照品は、高いコピー数の HIV-1 陽性血漿があればそれを材料として作製する。国立感染症研究所エイズ研究センターでは、細胞に感染させて得たウイルスの培養上清を 60° C 1 時間加熱することによって不活化し、HIV 陰性血漿にスパイクした検体を用いている。HIV のウイルス液を扱うことができない検査室では、BSL2 実験室で培養可能な、非感染性ウイルス粒子を産生する 8E5 細胞の培養上清をスパイクした検体を用いることができる。参照品は-80° C で長期保存が可能であるが、凍結融解やフリーザーの管理状況によって測定結果にばらつきが出ることがある。一度融解した検体は使い切るようにし、加えて一定期間ごとのコピー数測定を行い、測定値が規格の範囲内にあることを確認する。参照品の調整が難しい場合は国立感染症研究所エイズ研究センターに相談されたい。

5-2. HIV-1 NAT の管理検体（ランコントロール）

HIV-1 陽性管理コントロール（陽性コントロール）として、定性 NAT では最小検出感度の 3 倍から 5 倍程度の RNA コピー数（図 5-2 陽性コントロール候補 2）になるように、HIV 陰性が確認されている血漿（以下、HIV 陰性血漿）で希釈した HIV-1 陽性血漿や HIV-1 スパイク血漿を用意する。コピー数が高すぎるコントロール（図 5-2 陽性コントロール候補 1）では許容範囲を超える検査のばらつきを検出できず、カットオフ近傍に設定しすぎた場合（図 5-2 陽性コントロール候補 3）には許容範囲内のばらつきでも陽性コントロールが検出されず再検査となることが起こりうる。その濃度設定には注意が必要である。

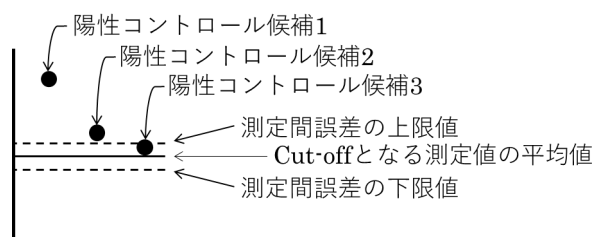


図 5-2: 定性 NAT における陽性コントロール設定の考え方

定量 NAT では定量可能範囲の下限および上限に近い HIV-1 RNA コピー数の HIV-1 陽性血漿 (HIV-1 をスパイクした血漿検体で可) を含む、コピー数既知の検体を用意する。陰性管理用コントロール (陰性コントロール) は HIV 陰性が確認された血漿 (プール血漿で可) を用いる。陰性コントロールの作製では、コンタミネーションによる偽陽性判定が出ないように調整・分注作業に細心の注意を払い、より高感度な市販 HIV-1 RNA 定量用診断薬でシグナルが検出されないことを確認する。検体保存・管理の注意点は参照品と同様である。

5-3. 管理検体用熱不活化 HIV-1 ストックの作製法

1. HIV-1_{LAI} を MT2 細胞に感染させ、ウイルスを Expand する。(ウイルス株と細胞は各検査室で用いている組み合わせでよい。) 培養上清を 15mL 遠心管に回収し 2,000rpm 5 分間遠心、さらに上清を 0.45 μ m シリンジフィルターで濾過し 1mL に小分け後、使用時まで -80° C に保存する。(ウイルスストック)
2. 融かしたウイルスストックを 60° C で 1 時間加熱処理し分注、 -80° C に保存する。
3. ウイルスの感染性が失われていることを確認するために、熱処理ウイルス 200 μ L をあらかじめ 24well プレートに準備した MAGIC5 細胞に接種、一晚吸着させた後に新しい培地と交換して培養する。接種後 2 週間まで、コンフルエントになる毎に複数のプレートに継代して、細胞変性の観察と β -gal 染色によりウイルスが増殖していないことを確認する。

5-4. 定性 NAT の最小検出感度の決定と定性 NAT 陽性管理検体の作製法

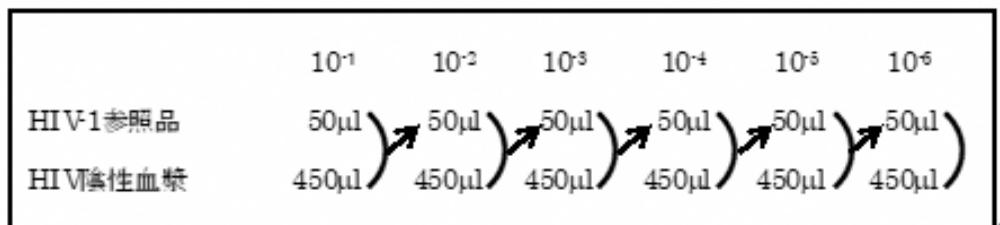
※ 管理検体の調整を目的とした、エンドポイント法を紹介する。

※ 参照品の代わりに、HIV-1 RNA コピー数未知の HIV-1 陽性血漿や、5-3 で紹介した不活化 HIV-1 を HIV 陰性血漿にスパイクしたものをを用いても良い。

1. HIV 陰性血漿を用いて参照品の 10 倍希釈系列を作製し、RNA 抽出と RT-PCR を行

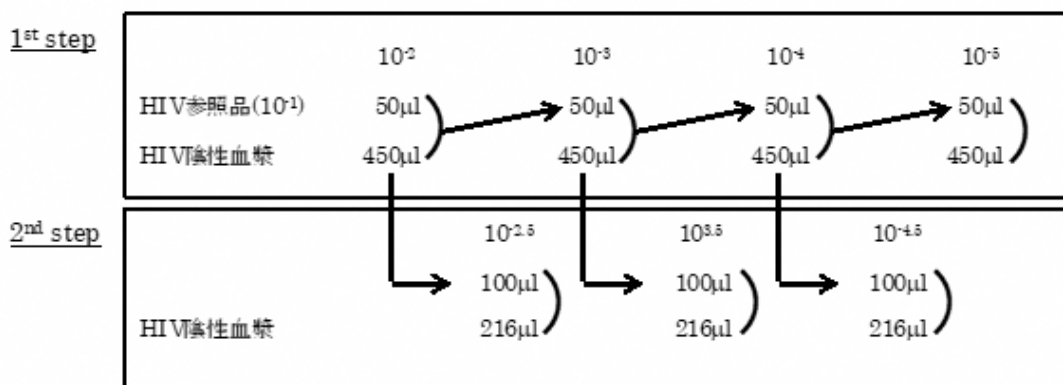
う。同じ希釈操作と RNA 抽出、RT-PCR を 3 回独立に行い、陽性と判定される最大希釈倍数を決定する。

(例)



- 1 で得られたエンドポイントを中心に、HIV 陰性血漿を用いて参照品の $10^{0.5}$ 倍希釈系列を作製し、RNA 抽出と PCR を行う（下の希釈列作製例は、1 で得られた希釈倍数が 10^3 から 10^4 の間と推測された場合）。同じ希釈操作と測定を 3 回独立に行い、陽性と判定された最大希釈倍数を最小検出感度とする。参照品のコピー数が値付けされている場合は、最小検出感度をコピー数で記す。

(例)



- 2 で得られたエンドポイントの 3 倍から 5 倍の希釈倍数の検体を作製・分注し、 -80° C に保存する。

※ 国立感染症研究所エイズ研究センターでは、作製した管理検体後の HIV-1 RNA コピー数を定量するようにしている。コピー数未知の材料を用いて作製した場合は、必ず定量値を確認しておく。

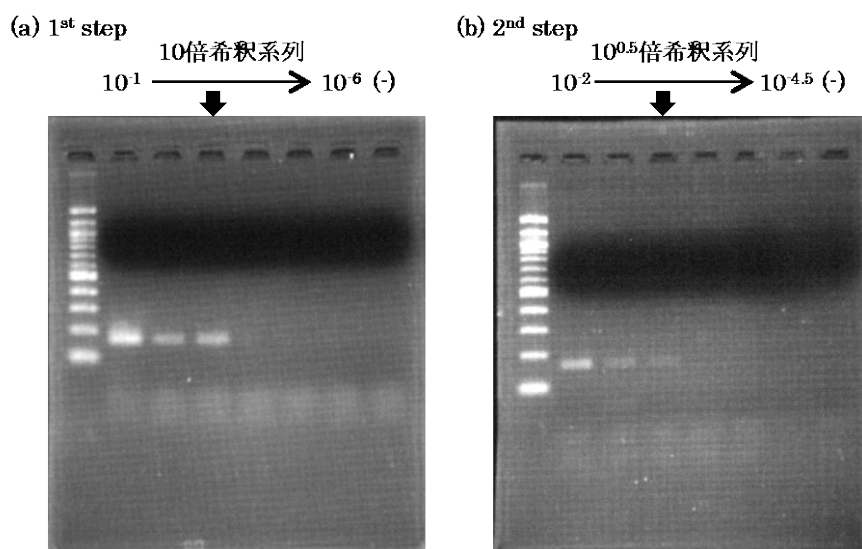


図 5-3: 参照品の段階希釈系列解析結果の一例、エンドポイントは 10^{-3} 希釈と判定した。

5-5. 定量 NAT の定量可能範囲の決定

1. HIV 陰性血漿を用いて HIV-1 RNA コピー数既知の参照品の 10 倍希釈系列を作製し、RNA 抽出と定量 NAT を行う。
2. ①得られた検量線の傾きと決定係数 (R^2) が規格の範囲内にあるかどうか (例えば-3.58 ~ -3.10 [増幅効率が 90%~110%], $R^2 \geq 0.98$)、②得られた検量線の参照品の理論値との誤差が規格の範囲内 (例えば $\pm 0.5 \text{Log}$) にあるかどうか、多重測定を行う検査室では、平均値と標準偏差から変動係数 (CV 値) を算出し、値が規格の範囲内かどうか (例えば 35%) 等を確認する。
3. 同じ希釈操作と測定を 3 回以上独立に行い、同様の解析を行う。さらに同一検体の測定間の誤差が規格の範囲内 (例えば中央値の $\pm 0.5 \text{Log}$) にあるかどうかを確認する。
4. 2 と 3 の両方の規格を満たした最小から最大までのコピー数を定量可能範囲とする。

5-6. 定量 HIV-1 NAT 用管理コントロール (定量スタンダード) の作製

※ 定量 NAT 用の定量スタンダード作製には大量の HIV-1 陽性の材料を必要とするため、保有量が限られている参照品は較正用基準物質として使用するのが一般的である。

※ コピー数既知の残余臨床検体を高値陽性及び低値陽性コントロールとして使用できる場合には、それを使用する。

1. -80°C 保存の熱処理ウイルス(本稿 5-3)を HIV-1 陰性血漿で 10 倍希釈し、さらに 4

段階の 10 倍希釈系列を作製する。これらを定量 NAT で測定し、定量可能範囲の測定値からウイルスストックのコピー数を決定する。

2. 決定したコピー数をもとに、HIV-1 陰性血漿を用いて、参照品を用いて定めた定量可能範囲内の 5 段階の希釈系列の管理検体（定量スタンダード）を作製し、小分け後に -80°C に保存する。

※ 確認のため国立感染症研究所エイズ研究センターでは作製した管理用コントロールを市販 HIV-1 RNA 定量体外診断薬で測定し、理論値と測定値の誤差が規格の範囲内（ $\pm 0.3\text{Log}$ ）である事を確認した上で、理論値を採用し、定量 NAT 用スタンダードとしている。

注） 定量スタンダードとして精製した核酸を用いている検査室では、ステップ 5 で定量上限及び下限に近いコピー数の高値陽性及び低値陽性コントロール、さらに必要に応じてその中間のコピー数を示す管理コントロールを作製する。

不明な点は国立感染症研究所エイズ研究センター担当者にお問い合わせ下さい。

6. 参考文献

1. Kusagawa S, et al., Pract Lab Med, 2022. 32: e00301.
2. Kondo M, et al., PLoS ONE, 2018. 13(10): e0198924.
3. Nagashima M. et al. Jpn J Infect Dis, 2020. 73: 173-175.
4. Kusagawa S. et al., BMC Infect. Dis, 2021. 21:569.
5. 診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2020 版,
(<https://jaids.jp/wpsystem/wp-content/uploads/2020/10/guidelines.pdf>)
6. 川畑拓也、他。感染症学誌、87, 431-434, 2013
7. 河上麻美代、他。日本エイズ学会誌, 26, 158-162, 2024
8. HIV 感染症「治療の手引き」第 22 版 (<http://www.hivjp.org/>)
9. 長島真美、他。病原微生物検出情報, 37, 169-171, 2016
10. 山田里佳、嶋 貴子、他。日性感染症会誌、19、122-126、2008
11. HIV 母子感染予防対策マニュアル
(http://api-net.jfap.or.jp/library/guideLine/boshi/images/H25_manual.pdf)
12. Nagashima M,et al.,Jpn J Infect Dis. 2020 Mar 24;73(2):173-175.
13. 草川茂 感染症学雑誌、93、12-19、2019
14. Kusagawa S, et al., Heliyon, 2024. 10: e24451.
15. Kondo M, et al., J Virol Methods, 2009. 157(2): 141-146.
16. Kaur P. et al. PLoS One, 2014. 9(3): e89826.
17. 草川茂, 他。病原微生物検出情報(IASR), 2023. 44(10): 157-158.

執筆者一覧（敬称略）

長島 真美 東京都健康安全研究センター
川畑 拓也 （地独）大阪健康安全基盤研究所
佐野 貴子 神奈川県衛生研究所
草川 茂 国立感染症研究所エイズ研究センター
貞升 健志 東京都健康安全研究センター
松岡 佐織 国立感染症研究所エイズ研究センター

<連絡先>

国立感染症研究所エイズ研究センター
TEL（代表）03-5285-1111
草川茂、松岡佐織