

2025 年 8 月 1 日

VirFinder Type-A
VirFinder Type-B
バリデーションデータ

1. 概要

ウイルス遺伝子検出キット（VirFinder Type-A、Type-B）の性能を評価するために、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」及び「血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査（NAT）の実施に関するガイドライン」を参考にバリデーションデータを取得した。

2. VirFinder バリデーション内容と実験条件

リアルタイム PCR 装置にて行った実験条件を表 1 に、本バリデーションに使用したウイルス参照品情報を表 2 および表 3 に示した。

表 1. VirFinder バリデーション検出条件

DNA 抽出試薬	QIAamp MinElute Virus Spin Kit（株式会社キアゲン）
PCR 装置	CFX Opus（バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社）
PCR 条件	42℃、10 分 95℃、10 秒 95℃、10 秒 } 5 サイクル 56℃、30 秒 } 95℃、10 秒 } 50 サイクル 56℃、30 秒 } 蛍光検出波長：FAM
測定結果の判定	PCR 装置付属ソフト（CFX Maestro™ ソフトウェア）にて実施 解析法：Regression 法、Baseline Subtracted Curve Fit モード

表 2. バリデーションに用いたウイルス参照品〔HBV、HCV、HIV-1、HIV-2、PVB19、CMV、EBV（NIBSC）〕

Virus	WHO International Standard	NIBSC Code
HBV	5th WHO International Standard for HBV DNA for NAT	22/120
HCV	6th WHO International Standard for hepatitis C virus for nucleic acid amplification techniques	18/184
HIV-1	4th HIV-1 International Standard	16/194
HIV-2	2nd WHO International Standard for Human Immunodeficiency Virus type 2 RNA for Nucleic Acid Amplification Techniques	16/296
PVB19	3rd WHO International Standard for Parvovirus B19 for Nucleic Acid Amplification Techniques	12/208
CMV	1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques	09/162
EBV	1st WHO International Standard for Epstein-Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques	09/260

表 3. バリデーションに用いたウイルス参照品〔HTLV-1、WNV (ZeptoMetrix)〕

Virus	Product Description	Cat No.	Lot No.
HTLV-1	NATtrol Human T Lymphotropic Virus Type I Stock	NATHTLVI-ST	334588
WNV	NATtrol West Nile Virus (NY2001-6263)	NATWNV-0005	333189 334780

3. 検出感度試験

各検査項目のウイルス参照品を 500、1000、2000 IU もしくは 500、1000、2000 copies となるようにヒト細胞およびヒト血清に添加した被検サンプルを調製した。核酸を抽出後、本キットに供試し、各検査項目において 1000 IU もしくは 1000 copies のウイルス参照品が検出可能であるか検証した。

感度試験の結果を表 4 に示す。ヒト細胞およびヒト血清に添加した 1000 IU もしくは 1000 copies のウイルス参照品が検出できることを確認した。

表 4. 感度試験結果

検体	試験ウイルス	ウイルス項目										
		HBV	HCV	HIV-1			HIV-2	HTLV	PVB19	CMV	EBV	WNV
	ウイルス量/単位	IU	IU	IU	LTR	pol	IU	copy	IU	IU	IU	copy
細胞	500	8/8	8/8	8/8	8/8	4/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
	1000	24/24	24/24	24/24	23/24	23/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24
	2000	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
血清	500	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
	1000	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24
	2000	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

※8/8 は 8 検体中 8 検体すべて陽性となったことを示す。

HIV-1 については、検査項目とした HIV-1 LTR、HIV-1 pol の陽性数をそれぞれの結果欄に示し、HIV-1 結果欄には LTR、pol のいずれかが陽性であった数を示す。

5. 頑健性試験

検出機器間差が VirFinder の性能に及ぼす影響について、リアルタイム PCR 装置間のウイルス検出性能差を検証した。

機器間差の試験結果を表 5 に示す。サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社 7500 FAST および QuantStudio 5 の 2 機種において、1000 IU もしくは 1000 copies のウイルス参照品を検出できることが確認された。

表 5. 頑健性試験結果

機種	試験ウイルス	ウイルス項目										
		HBV	HCV	HIV-1	LTR	pol	HIV-2	HTLV	PVB19	CMV	EBV	WNV
	検体/単位	IU	IU	IU	-	-	IU	copy	IU	IU	IU	copy
7500 FAST	細胞	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
	血清	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
QuantStudio 5	細胞	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
	血清	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3

※3/3 は 3 検体中 3 検体すべて陽性となったことを示す。

HIV-1 については、検査項目とした HIV-1 LTR、HIV-1 pol の陽性数をそれぞれの結果欄に示し、HIV-1 結果欄には LTR、pol のいずれかが陽性であった数を示す。

以上