

免疫クロマトグラフィ法でありながら発光免疫測定法に匹敵する 検出感度を有する新規 HBs 抗原検出試薬の性能評価

¹⁾ 川崎医科大学附属病院輸血部, ²⁾ 川崎医科大学血液内科学

中桐 逸博¹⁾ 和田 秀穂¹⁾²⁾ 徳永 博俊²⁾

田坂 大象²⁾ 杉原 尚²⁾

(平成 29 年 9 月 11 日受付)

(平成 29 年 11 月 20 日受理)

Key words: rapid HBsAg screening assay, immunochromatography, avidin-biotin

要 旨

新たに開発された HBs 抗原検出イムノクロマトグラフィ法 (ICA) である「アリーア HBsAg」(アリーア メディカル社) の性能評価を行う機会を得たので, 当院において HBs 抗原スクリーニング検査が実施された日本人患者 275 例の血清および一部全血 (EDTA 加) 検体, 市販の 5 種類の Seroconversion Panel および WHO International Standard HBsAg Panel を用いて検討した. 検討対象 275 例のうち RT-PCR (TaqMan 法) により HBV DNA が陽性であった 54 例での感度は, 98.1% (53/54) であり, 対照法である化学発光免疫測定法 (定量; CLIA) と同等で, 既存 ICA および化学発光酵素免疫測定法 (定性法; CLEIA) に比較して良好であった. HBV DNA が陰性であった 221 例における特異性は, 100% (221/221) と CLEIA, CLIA と同等で, 既存 ICA より良好であった. Seroconversion Panel を用いた感度試験では, CLIA 法とほぼ同等, 既存 ICA, CLEIA に比較して早期より検出可能であった. CLIA 法による Seroconversion Panel の HBsAg 定量値 (IU/mL) を基準に検出感度を求めたところ, 本法の検出感度は 0.1IU/mL であった. 今回の検討より, 本法は, アビジン-ビオチンの反応系を用いることで高い反応性と非特異反応物質との分離能向上により, 発光免疫測定法に匹敵する高感度化と同時に高い特異性が備わった新たな ICA であることが示された. 本法は全血対応も可能なことから, 緊急検査の他, 既往感染者のリスク対策など HBs 抗原の精査目的の 1 つのツールとしても有用であると思われた.

[感染症誌 92: 126~132, 2018]

序 文

B 型肝炎ウイルス (Hepatitis B virus: HBV) は 2 本鎖の環状の約 3,200 塩基対の DNA からなる遺伝子を持ち, 臨床的に B 型肝炎ウイルス表面抗原 (HBs 抗原) として通常検出されているものは, S 遺伝子のみから作られている HBs 抗原 (small S), Pre-S2 抗原, Pre-S1 抗原の総和である¹⁾²⁾. HBs 抗原が血中に検出されることは肝細胞に HBV が存在することを示し, HBV の感染状態にあることを表す. したがって, HBs 抗原は HBV の感染状態の把握のため, スクリーニング検査項目の 1 つとして広く測定されている³⁾.

測定方法は各医療機関や検査センターを中心に自動化された化学発光免疫測定法 (chemiluminescence im-

unoassay: CLIA)⁴⁾⁵⁾ や化学発光酵素免疫測定法 (chemiluminescence enzyme immunoassay: CLEIA)⁶⁾⁷⁾ などが広く用いられている. また, 緊急検査用として迅速測定が可能な免疫クロマトグラフィ法 (immunochromatographic assay: ICA)^{8)~10)} も臨床現場で広く利用されているが, 他の測定法と比較して感度が低く, さらなる改良が望まれていた¹¹⁾.

この度, CLIA に匹敵する検出感度を有した ICA である「アリーア HBsAg」(以下 ICA1 法) がアリーア メディカル社により開発され, 製造販売承認用データ取得を目的に, その性能について臨床的評価を行った. 試薬は無償で提供された. なお, 本研究は委受託研究契約書により契約を締結し, 川崎医科大学倫理委員会の承認を得て実施された (承認番号: 2322 および 2322-1).

別刷請求先: (〒701-0192) 岡山県倉敷市松島 577

川崎医科大学附属病院輸血部 中桐 逸博

Table 1 Results of the detection sensitivity test with serum samples

Methods	No. of measurements	Positive	Negative	Detection sensitivity
ICA1 method	54	53	1	98.1 %
ICA2 method	54	50	4	92.6 %
CLEIA method	54	52	2	96.3 %
CLIA method	54	53	1	98.1 %

ICA1: Alere HBsAg ICA2: Dainascreen HBsAg II

CLEIA: Lumipulse Presto HBsAg CLIA: ARCHITECT HBsAg QT

Table 2 Results of the specificity test with serum samples

Methods	No. of measurements	Positive	Negative	Detection specificity
ICA1 method	221	0	221	100 %
ICA2 method	221	1	220	99.5 %
CLEIA method	221	0	221	100 %
CLIA method	221	0	221	100 %

ICA1: Alere HBsAg ICA2: Dainascreen HBsAg II

CLEIA: Lumipulse Presto HBsAg CLIA: ARCHITECT HBsAg QT

対象と方法

2016年3月1日～8月15日の間に川崎医科大学附属病院に通院または入院した日本人成人患者275検体（その中の2検体は同一患者の連続検体）を対象とした。血清275検体について、検出感度が2.1Log copy/mLであるRT-PCR（TaqMan法；ロシユ・ダイアグノスティックス社）によるHBV DNAを測定し、HBV DNAが検出された肝疾患患者54検体〔B型急性肝炎2例、B型慢性肝炎48例、B型肝炎硬変1例、骨髄移植後の肝機能障害1例2検体〕と入院時の感染症スクリーニング検査依頼がありHBV DNAが未検出の221例の2群に分けた。なお、肝疾患患者54例には核酸アナログ製剤投与患者が23例（エンテカビル投与患者：19例、テノホビル投与患者3例、ラミブジン+阿德ホビル投与患者1例）とPeg-IFN投与患者1例が含まれていた。

また、感染初期感度評価に5種類のSeroconversion Panel（Sera care Life Science社、USA）を用いた。さらにNIBSC（英国国立生物学的製剤研究所）から提供されたWHO International Standard HBs抗原を使用したパネルを用いて希釈感度を検討した。

本法はサンドイッチ免疫アッセイ法を用いたICAにより、検体（血漿、血清および全血）中のHBs抗原を検出する試薬である。検体をシート下部の検体滴下部に滴下すると、検体中のHBsAgは、ビオチン化抗HBsAgモノクローナル抗体および着色微粒子標識抗HBsAgモノクローナル抗体と反応する。結合物はニトロセルロールメンブレンのシート上を移動して、判定部の固相化されたアビジンに結合し、着色微

粒子由来の黒色ラインを形成する。なお、検体量は50μL、測定時間は15～30分である。

本法の対照法として、従来からのICAであるダイナスクリンHBsAgII（以下ICA2法、アリーアメディカル社⁹⁾、自動化法としてCLEIAであるルミパルスプレストHBsAg（CLEIA法、富士レジオ社¹²⁾とCLIAであるアーキテクトHBsAg QT（CLIA法、アボットジャパン社⁴⁾⁵⁾を用いた。また検体中のウイルス血症の確認のためにRT-PCRであるTaqMan法¹³⁾によりHBV DNA定量を行った。

成績

1. 検出感度と特異度の比較

各測定法の検出感度と特異度は臨床検体である血清275検体を用いて検討した。HBV DNAが検出されたB型肝炎患者54検体とHBV DNAが未検出のB型肝炎患者以外の221検体からHBV DNAの結果を基に各試薬の反応性から各々のHBs測定法の感度と特異度を求めた。B型肝炎患者54検体について検出感度を求めたところ、本法であるICA1法が98.1%（53/54）、ICA2法が92.6%（50/54）、CLEIA法が96.3%（52/54）、CLIA法が98.1%（53/54）で、ICA1法とCLIA法が最も高い結果を示した（Table 1）。一方、HBV DNAが陰性のB型肝炎患者以外の221検体についてHBs抗原測定における特異度を求めたところ、ICA1法、CLEIA法およびCLIA法の3法は全例陰性で特異度は100%（221/221）であったが、ICA2法では1例に偽陽性がみられ、特異度は99.5%（220/221）となった（Table 2）。

2. 他法との判定一致率

Table 3 Concordance rate with serum samples
<between the ICA1 and ICA2 methods>

		ICA2 method		Total
		Positive	Negative	
ICA1 method	Positive	50	3**	53
	Negative	1*	221	222
Total		51	224	275

ICA1: Alere HBsAg ICA2: Dainascree HBsAg II

*One patient had a negative result in the PCR assay.

**Three patients had positive results in the PCR assay.

Concordance rate = 98.5 % (271/275)

<between the ICA1 and CLEIA methods>

		CLEIA method		Total
		Positive	Negative	
ICA1 method	Positive	52	1*	53
	Negative	0	222	222
Total		52	223	275

ICA1: Alere HBsAg CLEIA: Lumipulse Presto HBsAg

*One patient had a positive result in the PCR assay.

Concordance rate = 99.6 % (274/275)

<between the ICA1 and CLIA methods>

		CLIA method		Total
		Positive	Negative	
ICA1 method	Positive	53	0	53
	Negative	0	222	222
Total		53	222	275

ICA1: Alere HBsAg CLIA: ARCHITECT HBsAg QT

Concordance rate = 100 % (275/275)

臨床血清検体 275 検体における判定一致率を Table 3に示す。ICA1 法と ICA2 法の一致率は 98.5% (271/275) であり、4 例の不一致を認めた。この 4 例については ICA2 法での偽陽性が 1 例、偽陰性が 3 例であった。また、ICA1 法と CLEIA 法の判定一致率は 99.6% (274/275) で、1 例の不一致を認めた。この 1 例は CLEIA 法による偽陰性例であった。なお、本法と CLIA 法とは 100% (275/275) の判定一致率であった。

3. 検体種間（血清と全血）の一致率

ICA1 法における血清と全血（EDTA-2Na 加血）との一致率は 100% であった（Table 4）。

4. 感染初期感度評価

5 種類の Seroconversion Panel (HVB6281, HVB 6282, HVB11003, PHM924 および PHM926 ; Sera care Life Science 社, USA) の検討結果を Table 5に示す。ICA1 法は測定開始から 15 分と 30 分でそれぞれ結果を読み取り、15 分での結果を判定結果とした。ICA2 は測定開始から 15 分、30 分および over night 後にそれぞれ読み取り、15 分での結果を判定結果とした。な

Table 4 Concordance rate according to sample type (serum and whole-blood samples with the ICA1 method)

		Whole blood		Total
		Positive	Negative	
Serum	Positive	40	0	40
	Negative	0	40	40
Total		40	40	80

ICA1: Alere HBsAg

Concordance rate = 100% (80/80)

お、30 分と over night 後の判定結果はすべて一致したため測定時間の標記を 30/ON とし結果に記載した。各パネルにおける HBs 抗原陽転日を比較したところ、CLIA 法と ICA1 法とでは両者の陽転日にほとんど差はなく、ほぼ一致していた。ICA1 法と CLEIA 法との比較では ICA1 法の陽転化が平均 4 日早い結果となった。また、従来法の ICA である ICA2 法は HVB 6281, HVB11003, PHM924 および PHM926 の 4 種の Panel では陽転化は見られず、唯一陽転化がみられた HVB6282 においても他法に 12~14 日遅れて陽転化を示した。

CLIA 法による Seroconversion Panel の HBsAg 定量値 (IU/mL) を基準に各測定法の検出感度を求めたところ、ICA1 法は 0.08IU/mL, ICA2 法は 3.2IU/mL, CLEIA 法は 0.2IU/mL であった。特に一過性感染例と推測される HVB6281 では、CLIA 法が 19 日目に陽転化し、さらに 50 日目に陰転化したが、ICA1 法においても同様の結果を示した。

5. 抗原希釈感度パネル評価

WHO international standard HBs 抗原を生理食塩水で溶解し、抗原希釈パネル (0.4, 0.2, 0.1IU/mL) を作製し、ICA1 法, ICA2 法, CLEIA 法で測定を行った結果を Table 6に示す。ICA1 法と CLEIA 法は 0.1 IU/mL の抗原パネルまで陽性であったが、ICA2 法は 0.4~0.1IU/mL の HBs 抗原量では検出できなかった。

考 察

今回、開発された ICA1 法の最大の特徴は ICA であるにもかかわらず、発光免疫測定法に匹敵する HBs 抗原測定法の検出感度を有したことである。ICA1 は、試料中の HBsAg をストリップ上でビオチン化抗 HBsAg 抗体と黒色ラテックス標識抗 HBsAg 抗体の間にサンドイッチ状態に反応させ、最大の特徴である抗原判定部の固相化されたアビジンにトラップさせる反応系を用いている。従来の抗原判定部には固相化 HBs 抗体が用いられていたが、反応性と特異度を向上させるためアビジン-ビオチンの反応系が応用された¹⁴⁾。ビオチンは低分子であるため標識分子への影響

Table 5 Sensitivity assessment in the early phase of infection

(-): negative (+): positive (w+): weakly positive

Device	ICA1 method				ICA2 method			CLEIA method		ARCHITECT HBsAg QT		
	Time (min)		15	30	JUD	15	30/ON	JUD	S/CO	JUD	IU/mL	JUD
	Panel/No	bleed	HBsAg	HBsAg		HBsAg	HBsAg		S/CO	JUD	IU/mL	JUD
HVB6281	1	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	2	5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	3	7	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	4	13	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.3	(-)	0.03	(-)
	5	19	(-)	(w+)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.3	(-)	0.07	(+)
	6	22	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	1.1	(+)	0.19	(+)
	7	33	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	3.1	(+)	0.51	(+)
	8	36	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	5.0	(+)	1.27	(+)
	9	41	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	9.3	(+)	1.45	(+)
	10	43	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	2.5	(+)	1.52	(+)
	11	50	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	12	54	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
HVB6282	1	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	2	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	3	7	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	4	12	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.2	(-)	0.01	(-)
	5	14	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.2	(-)	0.01	(-)
	6	19	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	0.6	(-)	0.06	(+)
	7	21	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	1.0	(+)	0.18	(+)
	8	26	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	5.3	(+)	0.58	(+)
	9	28	(+)	(+)	(+)	(-)	(w+)	(-)	7.7	(+)	1.19	(+)
	10	33	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	246	(+)	3.21	(+)
	11	35	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	62.2	(+)	6.22	(+)
	12	40	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	359.6	(+)	29.36	(+)
	13	43	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	836.7	(+)	69.70	(+)
	14	47	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	2,000	(+)	660.0	(+)
HVB11003	1	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	2	84	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.03	(-)
	3	125	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	4	133	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.2	(-)	0.01	(-)
	5	135	(-)	(w+)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.2	(-)	0.01	(-)
	6	142	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	0.8	(-)	0.12	(+)
	7	149	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	3.7	(+)	0.40	(+)
	8	152	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	8.9	(+)	0.86	(+)
PHM924	1	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	2	23	(-)	(w+)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.4	(-)	0.03	(-)
	3	29	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	0.9	(-)	0.09	(+)
	4	35	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	2.2	(+)	0.21	(+)
	5	43	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	8.0	(+)	1.00	(+)
PHM926	1	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	2	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.1	(-)	0.01	(-)
	3	9	(-)	(w+)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.4	(-)	0.03	(-)
	4	13	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	0.6	(-)	0.07	(+)
	5	15	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	1.0	(+)	0.14	(+)
	6	20	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	2.0	(+)	0.25	(+)
	7	23	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	2.5	(+)	2.33	(+)
	8	27	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	6.8	(+)	1.17	(+)

ICA1: Alere HBsAg ICA2: Dainascreen HBsAg II CLEIA: Lumipulse Presto HBsAg
 JUD: Judgment ON: Over Night

も少なく、アビジン-ビオチン間のアフィニティーが高く素早く結合されることから、免疫反応の検出や特定タンパク質の精製などに利用されている¹⁵⁾¹⁶⁾。ICAを測定原理とした本法においてもアビジン-ビオチンの反応系を用い、さらにビオチンに固相化された高純

度の抗HBsAg特異抗体と検体中のHBsAgの反応性が良好となることで発光免疫測定系に匹敵する検出感度が得られたものと推測され、我々の検討でも低ウイルス血症であった症例に対してCLIA法に匹敵する検出感度を有していることが確認できた。Seroconver-

Table 6 Sensitivity assessment with antigen dilution

(-): negative (+): positive

WHO International Standard from NIBSC	ICA1 method			ICA2 method			CLEIA method	
	15		JUD	15	30/ON	JUD	S/CO	JUD
	HBsAg	HBsAg	HBsAg	HBsAg	HBsAg			
0.4 IU/mL	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	7.5	(+)
0.2 IU/mL	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	4.0	(+)
0.1 IU/mL	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	2.0	(+)

ICA1: Alere HBsAg ICA2: Dainascreen HBsAg II CLEIA: Lumipulse Presto HBsAg
JUD: Judgment ON: Over Night

Table 7 Results of assays on a HBV recovered patient treated with immune-suppression agents for transplantation

(-): negative (+): positive (w+): weakly positive

	ICA1 method			ICA2 method			CLEIA method		CLIA method		TaqMan HBV DNA assay	
	15min	30min	JUD	15min	30min/ON	JUD	S/CO	JUD	IU/mL	JUD	Log copies/mL	JUD
Day 0	(w+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	0.8	(-)	0.21	(+)	2.7	(+)
Day 2	(w+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	1.7	(+)	0.76	(+)	2.3	(+)

ICA1: Alere HBsAg ICA2: Dainascreen HBsAg II CLEIA: Lumipulse Presto HBsAg
CLIA: ARCHITECT HBsAg QT JUD: Judgment ON: Over Night

sion Panelで陽転したポイントにおけるCLIA法のHBs抗原の定量値とWHO International Standard HBs抗原希釈パネルの検出結果を基に、各方法の検出感度を求めてみると、本法は0.1IU/mL、ICA2法は3.2IU/mL、CLEIA法は0.1~0.2IU/mLであった。また、Seroconversion Panel HVB6281に示す一過性感染例においても、本法はCLIA法の測定結果と同様の陽転化および陰転化の結果を示しておりの確にHBs抗原を捉えていることが確認できた。

今回の検討でHBV DNAが検出されているにもかかわらずそれぞれの測定法で陰性を示した症例は、3症例4検体で見られた。このうちICA1法が陰性の1例は他の3法もすべて陰性であった。この症例は、治療中のB型慢性患者であった。ICA2およびCLEIA法が陰性であった症例は、B型肝炎既往歴があり、骨髄移植後に免疫抑制剤が投与された患者であった。初回測定時では、HBV DNAが2.7Log copies/mLを示し、ICA1法およびCLIA法のみHBs抗原が陽性であったが、2日後の採血検体ではCLEIAは陽転したが、ICA2は陰性であった(HBV DNA: 2.3Log copies/mL)(Table 7)。他にICA2法のみ陰性の症例も治療中のB型慢性患者であった。これら3例4検体のHBV DNA量は2.3~2.7Log copies/mLの低ウイルス血症であった。このことからHBV既往感染患者に対する骨髄移植後の免疫抑制剤投与中にHBVが再活性化¹⁷⁾したと思われる症例においてもICA1法はいち早くHBs抗原を捉える可能性を示唆している。今回の

検討結果より、ICA1は、従来のICAで期待されていた検出率向上がなされており、その感度は化学発光法などの自動化測定試薬と同等であることが確認された。

アビジン-ビオチン反応系を用いることは、両者間のアフィニティーが高いことで得られる高感度化に加え、分離能が改善させることから免疫検査における特異性の向上も期待される。今回の検討では、ICAを原理とした従来法であるICA2法において1例の偽陽性がみられた。この症例はリウマチ因子が946U/mL(基準値:<15U/mL)、IgGが2,064mg/dL(基準値:861~1,747mg/dL)を示す慢性関節リウマチ患者であるが、同じICAを原理とする本法では偽陽性反応を示さなかった。B型肝炎患者以外の221例では他にも慢性関節リウマチ患者21例(リウマチ因子:157~3,496U/mL、IgG:647~3,329mg/dL)が含まれていたが、何れも陰性であり本法は特異度においても優れたICAであることが確認された。

さらにICA1法は全血測定が可能である点も他法にない特徴の1つである。今回の検討では全血と血清の測定結果の一致率は100%であった。

HBV感染のスクリーニングは、HBs抗原検査、HBc抗体およびHBs抗体検査、HBV DNA定量法を感度の高い測定法で系統的に実施する必要がある¹⁷⁾。HBV持続感染者に対する抗ウイルス療法の治療目的は、肝炎の活動性と肝線維化進展の抑制による慢性肝不全の回避ならびに肝細胞癌発生の抑制である。これらの治

療目標を達成するために最も有用な surrogate marker は HBs 抗原であり、抗ウイルス療法の長期目標は HBs 抗原の消失である¹⁾。HBs 抗原消失の確認のためには高感度な HBs 抗原測定が必須となる。

血中 HBs 抗原が陰性であるにもかかわらず HBV DNA が血中または組織中に検出される状態が occult HBV 感染であり、occult HBV 感染を特定するためにはさらに HBc 抗体および HBs 抗体を測定することが有効となる¹⁸⁾。今回経験した HBV 既往感染例における HBV 再活性化においても、スクリーニング検査は感度の高い検査法で行うことが望ましく、CLIA 法に匹敵する検出感度を有する本法の有用性は高いものと考えられた。

本法による HBs 抗原測定は、ICA にもかわらず CLIA 法に匹敵する検出感度を有し、また特異度も良好な迅速診断薬であることが確認できた。全血対応も可能なことから、緊急検査の他、既往感染者のリスク対策など HBs 抗原の精査目的の 1 つのツールとしても有用であると思われた。

利益相反自己申告：申請すべきものなし

文 献

- 1) B 型肝炎治療ガイドライン 第 2 版 2016 年 5 月 日本肝臓学会 肝炎診療ガイドライン作成委員会編。
- 2) Bruss V, Ganem D : The role of envelope proteins in hepatitis B virus assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991 ; 88 : 1059—63.
- 3) 日本消化器病学会肝機能研究班：肝機能検査法の選択基準 (7 版)。日本消化器病学会雑誌 2006 ; 103 : 1403—12.
- 4) Lou SC, Pearce TX, Lukaszewska TX, Taylor RE, Williams GT, Leary TP : An improved Abbott ARCHITECT® assay for the detection of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg). *J Clin Virol* 2011 ; 51 : 59—63.
- 5) Popp C, Krams D, Beckert C, Buenning C, Queiros L, Piro L, *et al.* : HBsAg blood screening and diagnosis : performance evaluation of the ARCHITECT HBsAg qualitative and ARCHITECT HBsAg qualitative confirmatory assays. *Diag Micro and Infect Dis* 2011 ; 70 : 479—85.
- 6) Shinkai N, Matsuura K, Sugauchi F, Watanabe T, Murakami S, Iio E, *et al.* : Application of a newly developed high-sensitivity HBsAg chemiluminescent enzyme immunoassay for hepatitis B patients with HBsAg seroclearance. *J Clin Microbiol* 2013 ; 51 (11) : 3484—91.
- 7) Takeda K, Maruki M, Yamagaito T, Muramatsu M, Sakai Y, Tobimatsu H, *et al.* : High sensitive detection of hepatitis B virus surface antigen by use of a semiautomated immune complex transfer chemiluminescence enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 2013 ; 51 (7) : 2238—44.
- 8) Abraham P, Sujatha R, Raghuraman S, Subramaniam T, Sridharan G : Evaluation of two immunochromatographic assays in relation to 'RAPID' Screening of HBsAg. *Indian J Med Microbiol* 1998 ; 16 : 23—5.
- 9) Sato K, Ichiyama S, Iinuma Y, Noda T, Shimokata K, Nakashima N : Evaluation of immunochromatographic assay systems for rapid detection of hepatitis B surface antigen and antibody, Dainascreen HBsAg and Dainascreen Ausab. *J Clin Microbiol* 1996 ; 34 (6) : 1420—2.
- 10) Franzcek FC, Ngwale R, Msongole B, Hamisi M, Abdul O, Henning L, *et al.* : Viral hepatitis and rapid diagnostic test based screening for HBsAg in HIV-infected patients in Rural Tanzania. *PLOS ONE* 2013 ; 8 (3) : e58468.
- 11) 柴田 宏, 陶山洋二, 伊藤睦子, 三島清司, 益田順一, 木下敬一郎, 他 : インフェクトロールを用いた HBs 抗原検出用イムノクロマトグラフィ法試薬のロット間検出感度比較. *医学検査* 2005 ; 54 (6) : 880—6.
- 12) B 型肝炎ウイルス表面抗原キット ルミパルスプレスト®HBsAg 添付文書 2014 年 11 月改訂 (第 7 版).
- 13) Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Laperche S, Pawlotsky JM : Performance of the Cobas ampliprep/Cobas TaqMan real time PCR assay for hepatitis B virus DNA quantification. *J Clin Microbiol* 2008 ; 46 (5) : 1716—23.
- 14) Wilchek M, Bayer EA : The avidin-biotin complex in bioanalytical applications. *Analytical Biochemistry* 1988 ; 171 (1) : 1—32.
- 15) Kurstak E : Progress in enzyme immunoassays : production of reagents, experimental design, and interpretation. *Bulletin of World Health Organization* 1985 ; 63 (4) : 793—811.
- 16) Bayer EA, Wilchek M : Application of avidin-biotin technology to affinity-based separations. *J. Chromatogr* 1990 ; 5 : 3—11.
- 17) Sakamaki H, Sato Y, Mori SL, Ohashi K, Tanikawa S, Akiyama H, *et al.* : Hepatitis B virus reactivation in a patient with chronic GVHD after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Int J Hematol* 2001 ; 74 (3) : 342—6.
- 18) 楠本 茂 : 癌化学療法による B 型肝炎ウイルス再活性化の対策と問題点. 別冊医学のあゆみ. 医歯薬出版, 東京, 2013 ; p. 69—74.

Evaluation of a Newly Developed Immunochromatographic Assay, for the Detection of HBsAg with Sensitivity and Specificity Equivalent to Those of Chemiluminescent Immunoassays

Itsuhiro NAKAGIRI¹⁾, Hideho WADA¹⁾²⁾, Hirotoishi TOKUNAGA²⁾, Taizo TASAKA²⁾ & Takashi SUGIHARA²⁾

¹⁾Division of Transfusion, Kawasaki Medical School Hospital, ²⁾Department of Hematology, Kawasaki Medical School

We evaluated a new immunochromatographic assay (ICA) for the detection of hepatitis B surface antigen (HBsAg) (Alere HBsAg ; Alere Medical Co., Ltd) using 275 serum and 40 whole blood (EDTA) samples screened in our hospital. Five seroconversion panels and a reference panel according to the WHO International Standard for HBsAg were also tested. The performance of the ICA was compared with that of the conventional ICA (ICA2), chemiluminescent enzyme immunoassay (qualitative CLEIA), and chemiluminescent assay (quantitative CLIA). The sensitivity of the ICA in 54 HBV DNA positive specimens with a RT-PCR (TaqMan assay) was 98.1% (53/54), better than the ICA2 -92.6%- (50/54) and the CLEIA -96.3%- (52/54), and equivalent to the CLIA -98.1%- (53/54). The specificity in 221 HBV DNA negative specimens was 100%, better than the ICA2 -99.5%- (220/221), and equivalent to the CLEIA and CLIA. The ICA indicated a detectability superior to the ICA2 and CLEIA, and equivalent to the CLIA in the seroconversion panels. The limit of detection of the assay was calculated as 0.1IU/mL based on the results of the CLIA assay with the seroconversion panels. This assay using an avidin-biotin format demonstrated to show an excellent sensitivity and specificity in the clinical specimens and the panels. We conclude that this simple and rapid assay with a capability for whole blood sample application is suitable and applicable for use in risk management in patients with resolved HBV infection as well as in emergency and resource-limited settings.