

HBs 抗原検査陽性検体の HBs 抗原抑制試験の廃止について

日本赤十字社では、献血血液に対する B 型肝炎ウイルス（HBV）スクリーニングとして、HBs 抗原検査、HBc 抗体検査及び核酸増幅検査（NAT）を実施し、いずれかの検査で陽性の場合には輸血用血液製剤や原料血漿としては使用していない。HBc 抗体または NAT が陽性の場合、献血者へ結果が通知され、必要に応じ遡及調査が行われる。HBs 抗原検査が陽性の場合、確認試験として HBs 抗原抑制試験（以下、「抑制試験」という。）を実施し、それが陽性の場合に HBs 抗原陽性と確定し、当該献血者への検査結果通知と遡及調査が実施される。今般、HBc 抗体検査の判定基準が強化され、また全検体について個別 NAT が導入されたことに伴い、抑制試験を廃止することを検討した。

1. 抑制試験を廃止した場合の献血者への通知と遡及調査について

（1）スクリーニング検査結果等からの検証（2014 年 8 月 1 日～2015 年 1 月 31 日）

6 カ月間に全国で行われた 250 万 4 千本余りの検体の HBV スクリーニングの結果、HBs 抗原陽性は 1,083 本（0.04%）で、その約半数が抑制試験陽性であった。そのうち、抑制試験陽性・個別 NAT 陰性であったものが 24 例であった。抑制試験を廃止し個別 NAT 結果に基づいて献血者への通知・遡及調査を実施することとすると、これら 24 例がもれることになる。しかし、24 例のうち 19 例（79.2%）は HBc 抗体陽性であり、HBc 抗体陽性結果に基づく通知、遡及調査が開始される。5 例は HBc 抗体陰性であったが、そのうち 4 例は別法による HBs 抗原検査が陰性であり、当初の HBs 抗原検査と抑制試験の両方が非特異反応であったと考えられる。残る 1 例は別法による HBs 抗原検査と HBc 抗体検査が陽性であったが、初回献血者であり遡及調査の必要はなかった。一方、抑制試験判定不能とされた 91 例のうち、88 例は個別 NAT が陰性であり、HBs 抗原スクリーニング検査の非特異反応であったと考えられる。残る 3 例は個別 NAT が陽性であり、通知及び遡及調査が行われた。（別紙 1）

（2）HBs 抗原検査と個別 NAT の感度についての文献等調査

個別 NAT は、HBs 抗原検査よりも感度が高いことが知られている。HBV 感染初期連続血漿パネルによる評価において、個別 NAT が HBs 抗原よりも早い時期に陽性となる例を示した。（別紙 2）

2. 結論

6 カ月間の調査において抑制試験と個別 NAT の検査結果の一致率は 97.6%であり、これらは個別 NAT の結果にもとづいて献血者への通知や遡及調査が実施できた。結果が不一致の検体のうち、献血者への通知や遡及調査に影響を及ぼす可能性のある 24 本については、HBc 抗体陽性または個別 NAT 陽性の結果に基づいて適切に通知、遡及調査を行うことができた。

以上のように、HBc 抗体検査の判定基準の強化と個別 NAT が導入された現状においては、HBs 抗原抑制試験を実施しなくても献血者への通知及び遡及調査への影響はないことが確認されたため、当該抑制試験を廃止することとしたい。

HBs抗原「陽性」検体（1,083本）のHBs抗原抑制試験結果

調査期間:20140801～20150131

検査実施本数:2,504,190本, HBs抗原陽性数:1,083本(0.04%)

		HBs抗原抑制試験			
		陽性	陰性	判定不能※	計
個別 N A T	陽性	486	0	3	489
	陰性	24	482	88	594
	計	510	482	91	1,083

※HBs抗原抑制試験実施時の対象検体と抑制検体の検査値がともに陰性の場合に「判定不能」となる。

HBs抗原抑制試験「陽性」・個別NAT「陰性」24検体のHBc抗体検査結果

No	年代・性別	HBc抗体 (COI)	HBs抗体 (mIU/mL)
1	10歳代・男性	0.2	0.2
2	30歳代・男性	0.3	0.4
3	40歳代・男性	0.1	0.4
4	20歳代・女性	0.1	0.2
5	50歳代・女性	0.8	3.9
6	30歳代・男性	35.5	0.6
7	40歳代・男性	40	30
8	40歳代・男性	15.9	0.5
9	40歳代・男性	40	0.5
10	40歳代・男性	40	1
11	40歳代・男性	40	0.7
12	50歳代・男性	40	0.4
13	50歳代・男性	40	0.5
14	50歳代・男性	31.0	0.6
15	50歳代・男性	20.6	152.3
16	50歳代・男性	40	27.1
17	60歳代・男性	40	0.9

No	年代・性別	HBc抗体 (COI)	HBs抗体 (mIU/mL)
18	30歳代・女性	40	1
19	40歳代・女性	40	5.9
20	40歳代・女性	40	2.3
21	40歳代・女性	40	93.1
22	40歳代・女性	40	1
23	50歳代・女性	40	1.3
24	50歳代・女性	9.7	3.3

■ : HBc抗体検査陰性

No. 6 – 24 (19本)

→ HBc抗体陽性による通知

→ HBc抗体陽性による遡及調査

HBsAg抑制試験陽性・個別NAT陰性 かつHBcAb陰性5検体のHBs抗原検査の再評価結果

		スクリーニング検査			追加検査(別法)	
No	年代・性別	HBs抗原 (COI)	HBc抗体 (COI)	HBs抗体 (mIU/mL)	HBs抗原	HBc抗体
1	10歳代・男性	陽性(2.8)	陰性(0.2)	0.2	陰性	N.T.
2	30歳代・男性	陽性(17.3)	陰性(0.3)	0.4	陰性	
3	40歳代・男性	陽性(1.0)	陰性(0.1)	0.4	陰性	
4	20歳代・女性	陽性(2.2)	陰性(0.1)	0.2	陰性	
5	50歳代・女性	陽性(3.1)	陰性(0.8)	3.9	陽性	陽性

非特異反応

N.T= not test

○No. 1－4 ; HBs抗原検査法による 非特異反応
→通知、遡及調査必要なし

○No. 5 ; 感染既往の初回献血者
→通知(HBs抗原検査陽性)

5 感染してから HBs 抗原検査で「陽性」と判定できるまでの期間は？

HBs 抗原検査法の感度にもよりますが、ヒトでの解析結果をもとにした外国からの報告によれば、感染後約 59 日経てば HBs 抗原検査で HBV に感染したことがわかるとされています (Schreiber GB 他、N. Engl. J. Med. 1996)。

我が国で過去に行われたチンパンジーによる感染実験の結果をみると、 10^7 感染価の血清 (HBV 量の多い血清) を 1ml 接種した場合、約 1 か月後に HBs 抗原が検出できたのに対して、同じ血清を最小感染価近くにまで希釈した血清 (HBV 量が極めて少ない血清：1 感染価相当) を 1ml 接種した場合、HBs 抗原が検出できるようになるまでに接種後約 3 か月かかったと記録されています。(志方他、厚生省研究班 昭和 51 年度報告書)

感染時に生体に侵入した HBV の量や、経過観察時に選択した HBs 抗原検査法の感度などにより HBs 抗原が陽性となるまでの期間に多少の差はみられますが、ごく最近になって、チンパンジーにごく少量の HBV (感染成立に必要な最少ウイルス量：10 コピー相当のジェノタイプ C の HBV) を感染させた場合には、50～64 日、増殖速度の遅いジェノタイプ A の HBV を同様に感染させた場合でも、69～97 日で血中の HBs 抗原が検出できるようになることがわかりました。(Komiya Y 他、Transfusion. 2008)

6 感染してから核酸増幅検査で HBV DNA が検出できるまでの期間は？

ヒトでの解析結果をもとにした外国からの報告によれば、感染後、約 34 日経てば HBV DNA 検査でウイルスに感染したことがわかるとされています。(Schreiber GB 他、N. Engl. J. Med. 1996)

感染してから HBs 抗原が検出されるまでの期間に差がみられることと同様に、感染時に生体に侵入した HBV 量によって HBV DNA が検出されるまでの期間が異なることは容易に想定されます。ごく最近になって、チンパンジーにごく微量の HBV (感染に必要な最少 HBV 量：HBV DNA 量に換算した「絶対量」として 10 コピー相当のジェノタイプ C の HBV) を感染させた場合には、35～50 日、増殖速度が遅いジェノタイプ A の HBV を同様に感染させた場合でも、55～76 日で血中の HBV DNA が検出できるようになることがわかりました。(Komiya Y 他、Transfusion. 2008)

TABLE 1 (continued)

Panel ID	Days since first bleed	CLIA-HBsAg		Detectable pool size by nested PCR							Detectable limit pool size*	HBV DNA (copies/mL)†
		S:CO	Result	1	10	25	50	100	250	500		
PHM932-15	83	472.70	+	+	+	+	+	+	+	+	>500	2,000,000
PHM932-16	85	512.20	+	+	+	+	+	+	+	+	>500	3,000,000
PHM933-1	0	0.77	—	+	+	+	+	—	—	—	50	<400
PHM933-2	2	1.11	+	+	+	+	+	+	—	—	100	2,000
PHM933-3	7	3.61	+	+	+	+	+	+	+	+	500	9,000
PHM933-4	9	6.72	+	+	+	+	+	+	+	+	500	20,000
PHM933-5	16	32.58	+	+	+	+	+	+	+	+	>500	100,000
PHM933-6	144	1129.23	+	+	+	+	+	+	+	+	>500	40,000,000

* Detection limit of the sample dilution by nested PCR.

† Viral concentration was based on the BBI data sheet (Amplicor HBV Monitor).

Comparison of the sensitivity of NAT using pooled donor samples for HBV and that of a serologic HBsAg assay

Shinichiro Sato, Wataru Ohhashi, Hiromi Ihara, Shinichi Sakaya, Toshiaki Kato, and Hisami Ikeda

TABLE 3. Performance of AMPLINAT MPX assay on HBV seroconversion panels

Specimen ID	Day of bleed	EIA HbAg	AMPLINAT MPX assay
PHM919-1	0	0.1	—
PHM919-2	5	0.1	+ ^{a*}
PHM919-3	14	0.7	+
PHM919-4	19	2.6^a	+
PHM915-1	0	0.3	+*
PHM915-2	7	0.2	+
PHM915-3	21	0.5	+
PHM915-4	33	1.0	+
PHM911-1	58	0.1	—
PHM911-2	63	0.1	+*
PHM911-3	77	0.7	+
PHM911-4	79	1.3	+
PHM909-01	0	0.4	+*
PHM909-02	4	0.2	+
PHM909-03	9	1.2	+
PHM909-04	14	4.2	+
PHM922-01	0	0.1	—
PHM922-02	2	0.1	+*
PHM922-03	7	0.3	+
PHM922-04	16	2.1	+
6284-01	0	0.16	—
6284-02	40	0.25	+*
6284-03	47	0.66	+
6284-04	49	2.46	+
6284-05	53	8.99	+
6290-01	0	0.44	+*
6290-02	2	0.55	+
6290-03	16	0.71	+
6290-04	21	1.92	+
6289-01	11	0.50	—
6289-02	16	0.21	+*
6289-03	18	0.22	+
6289-04	30	2.15	+
6287-01	44	0.32	—
6287-03	51	0.30	+*
6287-09	60	0.67	+
6287-11	77	57.24	+
6286-01	0	0.23	—
6286-02	22	0.24	+*
6286-03	29	0.76	+
6286-04	33	1.82	+
6292-01	2	0.27	—
6292-02	21	0.31	+*
6292-03	23	0.35	+
6292-04	29	0.51	+
6292-05	42	7.87	+
6272-01	0	0.49	+*
6272-18	72	0.64	+
6272-19	74	0.61	+
6272-20	94	1.60	+
6272-21	97	2.23	+

^a Boldface numbers represent the first positive result by serological test.

^{a*}, the first positive result by AMPLINAT MPX assay.

TABLE 4. HBV seroconversion window closure by AMPLINAT MPX assay

Seroconversion panel ID	Days of closure
BBi PHM 919	14
BBi PHM 915	33
BBi PHM 911	16
BBi PHM 922	14
BBi PHM 909	9
BCP 6290	21
BCP 6284	9
BCP 6289	14
BCP 6287	26
BCP 6286	11
BCP 6292	21
BCP 6272	94
Avg	24

Automated Multiplex Assay System for Simultaneous Detection of Hepatitis B Virus DNA, Hepatitis C Virus RNA, and Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA

Q. MENG,^{1*} C. WONG,¹ A. RANGACHARI,¹ S. TAMATSUKURI,² M. SASAKI,² E. FISS,¹ L. CHENG,¹ T. RAMANKUTTY,¹ D. CLARKE,¹ H. YAWATA,² Y. SAKAKURA,² T. HIROSE,² AND C. IMPRAIM^{1†}

Roche Molecular Systems, Inc., Pleasanton, California 94588,¹ and Roche Diagnostics, K. K., Tokyo, Japan²