

別紙 5-2

HIV-RNA 国内標準品評価試験結果

機関名

測定責任者名

試験実施日

第 回目試験

試料	希釈率	陰性/陽性	備考
国際標準品 ( Code97/656 )			
候補品 ( HIV-00047C )			
陰性コントロール			
陽性コントロール			

備考

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合事業）分担研究報告書  
「安全な血液を確保するためのウイルス標準品の確立とその応用」

国内で市販されている B 型肝炎ウイルス外被抗原（HBs 抗原）検出用  
体外診断用医薬品の再点検

分担研究者： 国立感染症研究所 細菌・血液製剤部 輸血病態室 水落利明

A. 研究目的

我が国においては母子感染あるいは性感染を主な感染経路として、全人口の約1%が B 型肝炎ウイルス（HBV）の感染者であると推定されている。このような B 型肝炎ウイルス感染の迅速かつ正確な診断は、医療および公衆衛生上非常に重要な課題である。現在 HBV キャリアーの診断に関しては、HBV 外被抗原（HBs 抗原）の検出が多く用いられている。このような HBs 抗原検出を目的とする体外診断用医薬品は、およそ 20 年前から現在に至るまでの間に約 40 の製品が厚生省（現厚生労働省）の認可を受けて市販され臨床現場で使用されている。近年における測定法の格段の進歩から、これらの HBs 抗原検出キットにおいて開発初期のものと最近開発されたものとの間にはかなりの開きがあることが懸念されていた。今回の再点検は、現在国内市場に流通している HBs 抗原検出キットの検出感度や特異性についての情報を収集し、それらを医療関係者に提供することが高い検査技術水準の保持に必須であると考え、厚生労働省医薬局審査管理課と協議のうえ、各キッ

トの製造／輸入／販売企業の協力のもとに行われた。

B. 研究方法

今回の再点検に供されたキットの一覧を表 1 に示す。これらのキットはその原理／手技によって（ア）凝集法（用手法）、（イ）凝集法（全自動）、（ウ）イムノクロマト法、（エ）EIA 法／CLEIA（化学発光）法（TR-FIA, EV-FIA を含む）に分類された。表 1 では各キットの販売名、製造／輸入業者名および添付文書に記載されている検査対象等を示してある。なお、この表は現在未発売、または既に販売中止（予定）した製品、及びカットオフ値の再検討が現在なされている製品を含んでいる。

本再点検検査に用いた試験検体は以下のとおりである。

(1) 陰性検体(N)：国立感染症研究所（以下「感染研」）にて以前より依頼検査に用いている HBsAg 陰性血清 18 検体、および米国 Boston Biomedica Inc.（以下「BBI」）より購入した Accurun 1 multi-marker negative control serum 1 検体の計 19 検体。

(2) BBI より購入した HBsAg Low Titer panel : Lot PHA-103 (13 検体)、および Lot PHA-105 (15 検体) の 2 種類。

(3) BBI より購入した HBsAg Mixed Titer panel : Lot PHA-203 (25 検体)、Lot PHA-204 (25 検体)、Lot PHA-204M (PHA-204 の 11 番、17 番、23 番、24 番が欠番。但し欠番を×印で表示。21 検体) の 3 種類。

(4) BBI より購入した HBsAg Seroconversion panel (SC) : Lot PHM-929 (9 検体) 番号 1~9 は経時的に採血された検体を示す。

(5) 感染研で保有する HBs 抗原国内標準品 (ST) (102 I.U./ml) を陰性血清 (BBI) を用いて 16 I.U./ml に調整し、さらに 2 倍希釈系列を作成したもの (最低濃度は 0.125 I.U./ml)。

用手法である凝集法とイムノクロマト法については 2 種類の異なるパネル (例 : Low Titer panel においては Lot PHA-103 および PHA-105, Mixed Titer panel においては Lot PHA-203 および PHA-205) を含むセット (残りは(1)、(4)、(5)の検体) を用いて検査した (検査結果図表を参照)。凝集法においてはより正確を期するため、可能なかぎり、抗 HBsAg 抗体を添加して抑制効果を判定する「確認法」を実施して最終判定 (陰性 vs 陽性) を記述した。

全自動測定である凝集法と EIA 法/CLEIA 法のキットについては検体(2)、(3)において 1 種類のパネル(PHA-105, PHA205)および

(1)、(4)、(5)の検体を含むセットを用いて検査を実施した。結果には実際の測定値、および各キットで定められている「cut-off 値」による判定 (陰性 vs 陽性) を記述した (図①、②を参照)。

### C. 研究結果

図①に凝集法スクリーニング及びイムノクロマト法、EIA 法及び化学発光法の 105/204 パネルを用いた検査結果を示す。用手法、凝集法のいくつかの製品で偽陽性と思われる結果が観察されたため、可能な限り確認試験を行った (図②、③、④、⑤、⑥参照)。また凝集法の検査にあたって非感作担体凝集のためスクリーニング、確認試験ともに判定不可能となる例も認められた。

図②に 105/204 パネルを用いた確認試験結果を示す。この結果から、凝集法とイムノクロマト法の感度はほぼ同程度であることが示唆された。機器を用いた凝集法では low titer パネルのいくつかの検体が陽性と判定されたが、国内標準品を用いて測定された感度から考慮すると微妙な結果と考えられる。また特異性に関し、陰性検体に反応する製品もあった。

さらに図③、④に異なったパネル検体を用いた凝集法 (用手法) のスクリーニングと確認試験の結果を示した。確認試験では感度から考え偽陽性と考えられる検体を対象に行った。多くの製品での感度は 1ng/ml 以下あるいは 1I.U./ml 前後であるが、感度以下の抗原量を含む検体に偽陽性として反応する場合もあった。図③、④の検査では、low titer

及び mixed titer パネルは相互に異なるが、陰性検体、SC 検体、ST 検体は二回の検査で同一の検体を使用した。従って、これらの検体については 2 度同じ検査をしたこととなったが、相互の結果で多少の差が認められた。

図⑤、⑥に表示した結果は、一部図①、②の結果と重複するが、確認試験後の凝集法とイムノクロマト法の検査結果を比較した。総じて言えることは、異なったパネルを用いても凝集法（用手法）とイムノクロマト法はほぼ同等の感度を有することが認められた。また各製品において感度に関してある程度の差があることが認められた。

#### D. 考察

多くの製品は血清と血漿を対象とした診断薬であるが、41 製品中 8 製品（凝集法 8, 9, 11, 12 及び EIA、化学発光法 23, 33, 34, 39）が血清中の HBs 抗原測定を目的としている。従って BBI 検体が、ほとんどが「血漿」であることから、「検査目的」に「血清中の HBs 抗原測定／検出」と記載してあるキットについては血清を用いた場合の判定結果と異なる可能性もあり得る。また機器使用製品に対する検査結果は、一回の測定による検査結果であることを考慮する必要もあるかもしれない。

今回の結果から、一般的に EIA 法及び化学発光法は感度と特異性に関し凝集法とイムノクロマト法よりも優れている傾向を示したが、EIA 及び化学発光法の製品内でも感度に関して差が認められた。

今回の国内標準品を用いた検査結果から、凝

集法は約 4 I.U./ml、イムノクロマト法は約 2 I.U./ml、EIA 法及び化学発光法では感度の低いものでは約 1 I.U./ml、感度の高いものでは約 0.1 I.U./ml の感度を持つことが示唆された。HBV 感染者の血中には感染性のある粒子（デーン粒子）に比べ大量の非感染性の粒子が検出される。HBs 抗原の定性的、定量的測定は、その検査目的に応じた感度を持つことが必要である。

#### E. 結論

以下に今回の再点検の結果を要約した。

(1)個々の製品の性能に関し、HBs 抗原検査の性能のみでその臨床的意義の評価を行うことはできないが、今回の再点検により、凝集法及び簡便法であるイムノクロマト法は、EIA 法や化学発光法等に比較して HBs 抗原検出感度が低いことが確認された。(2)凝集法についてはスクリーニング検査で偽陽性を生じることがあるので、陽性検体については添付文書にあるように確認試験を行う、あるいは EIA 法等により再検査することが必要不可欠である。(3)HBV 感染の診断は、HBs 抗原検出試薬の検査結果のみにより行わず、HBc 抗体測定等、他の検査結果及び臨床経過を考慮して総合的判断に基づき行うべきである。特に凝集法やイムノクロマト法のように、簡便ではあるが感度が低い検査方法については適正な使用を行うよう注意すべきである。(4)同一原理に基づいて作成された検査薬においても明らかな感度の高低が見られた。この点については cut-off 値設定の見直しを含めて検討する余地があると考えられる。

F. 研究発表

(1) 論文発表

① Re-evaluation of HBsAg detection kits approved for marketing in Japan: Committee for Evaluation of In Vitro Diagnostic Devices.

Jpn. J. Infect. Dis., 54:201-207 (2001).

(2) 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表1：再点検を行ったHBsAg検出キット一覧

(ア) 凝集法 (用手法)

連番	販売名	製造/輸入業者名	検査対象	最小検出感度
1	セロディア-HBs	富士レビオ	血清及び血漿	50-60 ng/ml
2	セロディア-HBs・PA	富士レビオ	血清及び血漿	30-40 ng/ml
3	マイセル HBsAg	特殊免疫	血清、血漿	5 I.U./ml
4	マイセルII HBsAg	特殊免疫	血清又は血漿	5 I.U./ml
5	ニューセロクリット-HBs	三光純薬	血清または血漿	10 I.U./ml
6	ラファセル	目黒研究所	血清・血漿またはその他の検体	50 ng/ml
7	クイックビーズ	シノテスト	血清又は血漿	4-8 I.U./ml

(イ) 凝集法 (全自動)

連番	販売名	製造/輸入業者名	検査対象	最小検出感度
8	エクステル-HBs抗原-H	協和メデックス	血清	3 ng/ml
9	マイセルラテックス II HBsAg	特殊免疫	血清	5 I.U./ml
10	LPIA HBs抗原テストG	ユカ・メデアス	血清及び血漿	5 I.U./ml
11	ランリーム HBsAg	シスメックス	血清	0.5 U/ml
12	ランピアラテックス HBsAg	極東製薬	血清	5-8 I.U./ml
13	メディエースHBs抗原	積水化学	血清及び血漿	5-8 I.U./ml

(ウ) イムノクロマト法

連番	販売名	製造/輸入業者名	検査対象	最小検出感度
14	アドバンストクオリティ-HBs	オリエンタル酵母	血清	5 ng/ml
15	エスブラインHBsAg	富士レビオ	血清	5-10 ng/ml
16	オリゴファストHBsAg「ニッスイ」	日水製薬	血清及び血漿	5 ng/ml
17	ダイナスクリン・HBsAg II	ダイナポット	血漿、血清又は全血	約2 ng/ml
18	クイックチェイサーHBsAg	ミズホメディー	血清及び血漿	20 ng/ml
19	バイオクリット-HBs	アドテック	血清又は血漿	3.2 I.U./ml

(エ) EIA法/化学発光法 (TR-FIA, EV-FIAを含む)

連番	販売名	製造/輸入業者名	検査対象	最小検出感度
20	イムニスHBsAg EIAキット	特殊免疫	血清、血漿又はその他の検体	0.63 I.U./ml
21	バイダスアッセイキットHBsAg	日本ビオメリュー	血清及び血漿	0.4-0.5 ng/ml
22	エルジアF-HBs抗原	国際試薬	血清又は血漿	0.2 I.U./ml
23	E-テスト「TOSOH」II(HBsAg)	東ソー	血清	0.2-0.3 ng/ml
24	モノリサHBsAg	バイオラッド富士レビオ	血清	0.1 ng/ml
25	HBsAg CLIA「アポット」	ダイナポット	血漿または血清	0.2 ng/ml
26	アーキテクトHBsAg QT	ダイナポット	血清及び血漿	0.05 I.U./ml
27	オースザイム II	ダイナポット	血漿または血清	0.8 ng/ml
28	アキシムHBsAgダイナバック	ダイナポット	血漿または血清	1 ng/ml
29	HBsAgダイナバック	ダイナポット	血漿または血清	1 ng/ml
30	ルミパルス II HBsAg	富士レビオ	血清	0.2-0.4 ng/ml
31	LPIA-F HBs抗原テスト	ユカ・メデアス	血清及び血漿	0.2 I.U./ml
32	エクルーシスHBsAg	ロシュ	血清及び血漿	0.024 U/ml
33	コバスコアHBsAgII-EIA	ロシュ	血清	0.062 U/ml
34	エンザイグノストHBsAg 5.0	デイド・ベーリング	血清	0.05 U/ml
35	スフィアライトHBs抗原	和光純薬	血清及び血漿	0.18 I.U./ml
36	エバテスト HBsAg	日水製薬	血清、血漿及び全血	1 I.U./ml
37	ルミスポット「栄研」HBsAg	栄研化学	血清及び血漿	0.5 ng/ml
38	オーソHBsAg ELISAテスト	オーソ	血清及び血漿	0.1-0.3 ng/ml
39	クオルタスシリーズHBsAg	カイノス	血清	0.48 I.U./ml
40	アクセスHBsAg	ベックマンコールター	血漿または血清	0.5 ng/ml
41	オートエースN HBsAg	アズウェル	血清及び血漿	0.03-0.06 PEIU/ml

## 各図（①、②、③、④、⑤、⑥）の説明

①凝集法（用手法及び全自動）スクリーニング試験、イムノクロマト法、EIA 法及び化学発光法の測定結果を示す。図表上段の番号 1 より 41 は検査対象製品を示し、表 1 の連番と一致する。■は陽性、■は弱陽性（±）、□は凝集法においてコントロール群の凝集により判定が不可能であった検体を示す。但し、イムノクロマト法における■の表示は陽性か陰性か困難であるため、判定保留とした検体を示す。□は凝集法スクリーニングで弱陽性を示したが確認試験を行わなかった検体、⊗は、欠番のため検査を行えなかったパネルの検体番号を示す。パネル 105 と 204 における(-)、パネル 103, 203 における-の表示は陰性検体を示す。

②凝集法で偽陽性と思われる結果が多かったので確認試験を行った。しかし、全自動については確認試験を行っていない。図表は凝集法（用手法）の確認試験、凝集法（全自動）スクリーニング試験結果、イムノクロマト法、EIA 法及び化学発光法の測定結果を示す。凝集法（全自動）、イムノクロマト法、EIA 法及び化学発光法の測定結果は①と同一のものである。

③凝集法（用手法）のスクリーニング試験と確認試験の判定結果の比較を示す。検査は N/103/203/SC/ST パネルを用いて行った。パネル 103, 203 欄内には BBI パネルの情報より得た抗原のサブタイプを、また枠外には抗原量 (ng/ml) を示す。パネル 103, 203 における-の表示は陰性検体を示す。

④凝集法（用手法）のスクリーニング試験と確認試験の判定結果の比較を示す。検査は N/105/204/SC/ST パネルを用いて行った。

⑤凝集法（用手法）確認試験とイムノクロマト法判定結果の比較を示す。検査は N/103/203/SC/ST パネルを用いて行った。凝集法確認試験結果は②及び③と④で示した結果と共通である。パネル 103, 203 欄内には BBI パネルの情報より得た抗原のサブタイプを、また枠外には抗原量 (ng/ml) を示す。

⑥凝集法（用手法）確認試験とイムノクロマト法判定結果の比較を示す。検査は N/105/204/SC/ST パネルを用いて行った。凝集法確認試験結果は②及び③と④で示した結果と共通である。











## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Takemori, T. 他 13 名	Re-evaluation of HbsAg detection kits approved for marketing in Japan.	Jpn.J.Dis.	Vol.54	201-207	2001
Saldanha, J., 他 29 名	Establishment of the first World Health Organization International standard for human parvovirus B19 DNA nucleic acid amplification techniques.	Vox Sanguinis	Vol.82	24-31	2002
水沢左衛子他 6 名	血漿分画製剤の安全性をめぐる最近の動向	Biomedical Perspectives	Vol.10	227-232	2001

20010991

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。