



TOSOH

テクニカルレポート

酵素免疫測定試薬

Eテスト「TOSOH」Ⅱシリーズ

HBsAg

HBsAb

HBeAg

HBeAb

HBcAb

B型肝炎マーカー (Ver.2)

(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb)

酵素免疫測定結果Eテスト「TOHSO」IIシリーズは、お客様のニーズにお応えすべく、随時改良を行っています。今回、B型肝炎マーカー項目パネルに関して、以下の改良を行いました。試薬改良に伴って、B型肝炎マーカーテクニカルレポートを（Ver.2）へ改訂致しました。

- ① 正確性を要求される HBs 抗原測定において、更なる高感度化と、国際単位への切り替え。
（従来の測定系から単位・カットオフ値の変更を伴います。）

—STHBsAg2 試薬：2005年 5月発売—

- ② HBs 抗体、HBe 抗原の2項目の短時間測定化。
（B型肝炎マーカー5項目全てが迅速測定試薬（ST試薬）となりました。）

—STHBsAb 試薬：2005年 4月発売—

—STHBeAg 試薬：2005年10月発売—

1. はじめに

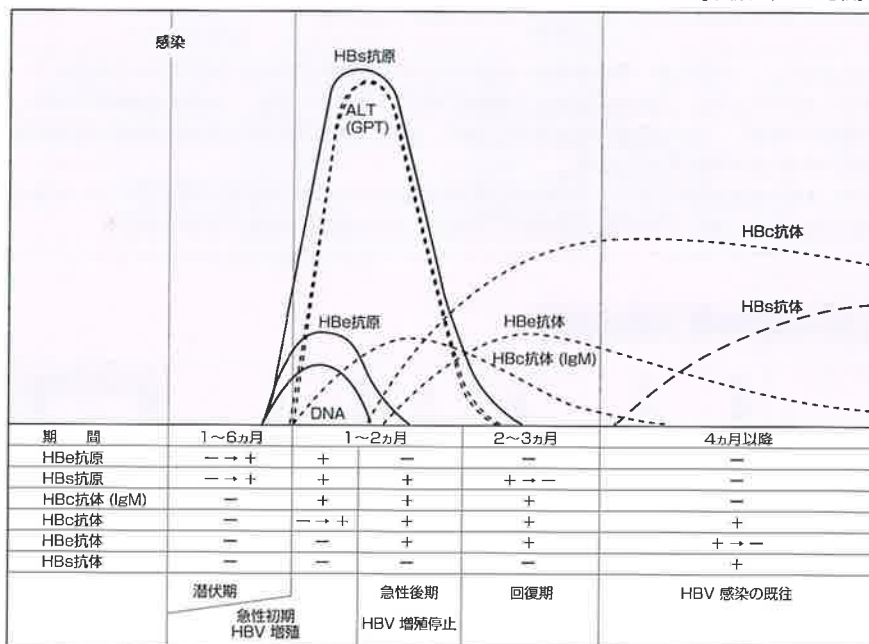
B型肝炎ウイルス（以下HBV）は1964年にBlumbergらによりAustralia抗原として発見され、その後、数多くの研究がなされてきました。今日では感染経路も明らかにされ、B型肝炎の予防法さらには治療法の開発が進められています。

HBVの一過性感染の大部分は不顕性感染を経て治癒しますが、一部は急性肝炎、劇症肝炎になります。また、持続性感染の大部分は無症候性キャリアとして経過しますが、この中から急性肝炎として発症し、慢性肝炎に移行し、さらに、肝硬変、肝細胞癌へと進展する場合があります。

HBV感染に関連した抗原・抗体系には、外被抗原であるHBs抗原、コア抗原であるHBc抗原、HBe抗原、そしてこれらに対する抗体として、それぞれHBs抗体、HBc抗体、HBe抗体が知られています。これらのHBVマーカー（HBc抗原を除く）の測定は、HBV感染の診断、病態把握、感染予防等に有用となっています。

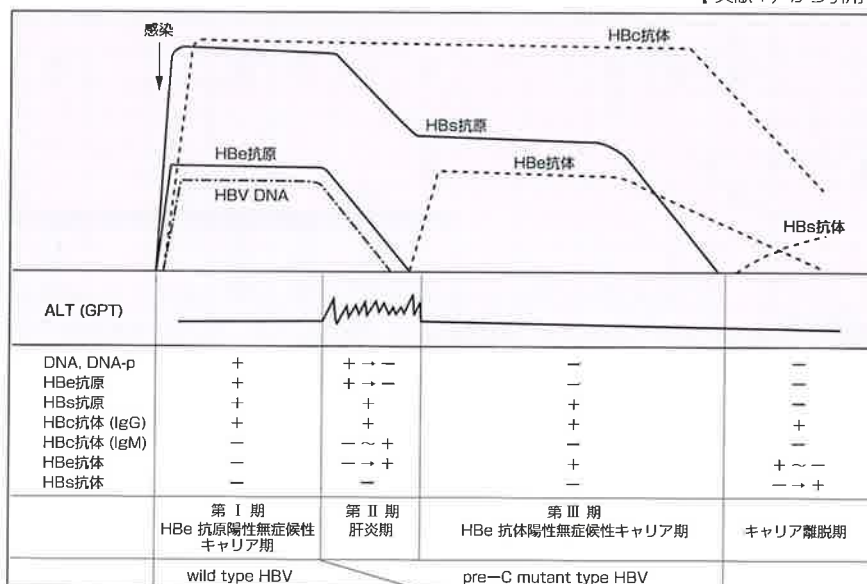
B型肝炎急性肝炎（一過性肝炎）時のウイルスマーカーの推移

【文献1）から引用】



B型肝炎ウイルス（HBV）キャリアの自然経過時のHBVマーカーの推移

【文献1）から引用】



2. 臨床的意義

項目	特徴
HBs抗原	HBs抗原は、B型肝炎ウイルス（HBV）の表面抗原であり、HBVが肝細胞内で増殖する際に血中に放出されます。血中での存在状態は多様で、感染性のあるHBV(Dane粒子)の他、感染性の無い小型球形粒子および管状粒子としても存在しています。HBs抗原が陽性であれば、現在HBVに感染していることを意味します。
HBs抗体	HBs抗体はHBs抗原に対する抗体で、HBVに対する感染防御抗体でもあります。過去の自然感染あるいはワクチンの接種によって獲得されます。
HBe抗原 および HBe抗体	HBe抗原はHBVのコアを構成する蛋白であると同時に、可溶性抗原としてHBV感染肝細胞から血中に分泌されています。一方、HBe抗体はHBe抗原が減少・陰性化した後で検出されるようになります。一般にHBe抗原陽性の場合には肝炎の活動性が高く、血中にはHBVが多く存在するため感染性が高いとされています。また、HBe抗原陰性/HBe抗体陽性の場合には、血中にHBVが存在しないか存在してもごくわずかであり、肝炎は鎮静化し、非活動的であるとされています。
HBc抗体	HBc抗体は、HBc抗原（B型肝炎ウイルスのコア部分を形成する抗原）に対する抗体で、感染の比較的早期から血中に出現し、長期間にわたり血中に存在します。一般に、低抗体価陽性ではほとんどの例が過去の感染を意味し、HBs抗体が陽性を示します。また、高抗体価陽性はHBV感染状態を意味し、ほとんどの場合HBs抗原が陽性を示します。 なお、HBV感染状態であってもHBs抗原の産生量が少なくHBs抗原が検出されない場合もありますので、HBs抗原陰性であってもHBc抗体陽性であれば、HBV感染の可能性ががあります。

●肝炎ウイルスマーカーの選択基準（2000年）

【文献1）から引用】

	急性肝炎の型別診断		B型急性肝炎		C型急性肝炎		慢性肝炎疾患の型別診断		慢性肝炎疾患の急性増悪期		B型慢性肝炎		C型慢性肝炎		無症候性キャリア		HBワクチン接種対象者選別	集検・ドックなどのスクリーニング
	経過観察（注1）	治療判定	経過観察（注3）	治療判定	経過観察（注2）	抗ウイルス剤の適応判定	経過観察（注3）	抗ウイルス剤の適応判定	B型	C型								
IgM・HA抗体	○								○									
HBs抗原	○	○	○				○	○									○	○
HBs抗体		○															○	
HBc抗体定性判定							○										○	
HBc抗体高抗体価判定							○											
IgM・HBc抗体	○								○									
HBe抗原		○					○	○	○							○		
HBe抗体		○					○	○	○							○		
HBV DNA/DNA-p		○	○				○	○	○							○		
HCVセロタイプ（ゲノタイプ）														○				
HCVコア抗体					○	○							○	○				
HCV抗体	○						○	○										○
HCV-RNA・HCVコア抗原	○				○	○	○	○					○	○				○
HD抗体	○						○	○										
HE抗体	○																	

○必須、○必要に応じて行う

注1：検査間隔は通常週1回

注2：検査間隔は通常2～4週に1回

注3：検査間隔は通常3～4ヶ月に1回

注4：HBs抗原陰性化の判定はEIA、RIA法などの鋭敏な方法で行う

注5：HBs抗体出現時の判定はEIA、RIA法などの鋭敏な方法で行う

注4
注5

3. 試薬構成／検体種別

● HBVマーカー測定試薬

項目(略号)	検査対象	試薬名称	免疫反応時間
#HBsAg2	HBs抗原	ST Eテスト「TOSOH」Ⅱ (HBsAg)	10分
#HBsAb	HBs抗体	ST Eテスト「TOSOH」Ⅱ (HBsAb)	10分
#HBeAg	HBe抗原	ST Eテスト「TOSOH」Ⅱ (HBeAg)	10分
#HBeAb	HBe抗体	ST Eテスト「TOSOH」Ⅱ (HBeAb)	10分
#HBcAb	HBc抗体	ST Eテスト「TOSOH」Ⅱ (HBcAb)	10分

● 試薬構成

項目(略号)	免疫反応試薬	標準品セット	検体希釈液
#HBsAg2	100回測定分／箱	液状, 2濃度, 各2本／箱	4mL x 4本／箱
#HBsAb	100回測定分／箱	液状, 6濃度, 各2本／箱	4mL x 4本／箱
#HBeAg	100回測定分／箱	液状, 2濃度, 各2本／箱	4mL x 4本／箱
#HBeAb	100回測定分／箱	液状, 2濃度, 各2本／箱	—
#HBcAb	100回測定分／箱	液状, 2濃度, 各2本／箱	4mL x 4本／箱

精度管理には別売の東ソーコントロールのご使用をお勧めします。

● 測定範囲および検体種別

項目(略号)	測定原理	測定範囲	検体量	検体種別
#HBsAg2	1ステップ サンドイッチ法 (FEIA)	0.05 ~ 60 IU/mL	100 μL	血清、ヘパリン血漿
#HBsAb	1ステップ サンドイッチ法 (FEIA)	6.4 ~ 1280 mIU/mL	50 μL	血清、ヘパリン血漿
#HBeAg	1ステップ サンドイッチ法 (FEIA)	1.0 ~ 140 CI	40 μL	血清、ヘパリン血漿
#HBeAb	1ステップ 競合法 (FEIA)	(INH%で表示) *	100 μL	血清、ヘパリン血漿
#HBcAb	1ステップ 競合法 (FEIA)	(INH%で表示) *	50 μL	血清、ヘパリン血漿

* 測定結果はINH% (インヒビション%) で表示されます。

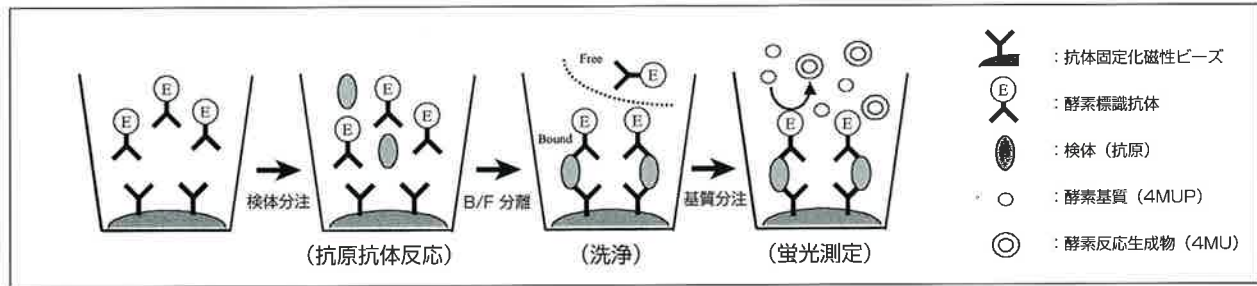
EDTA血漿では、測定値に影響を与えることが確認されており、偽陽性を示す可能性があります。

4. 特長

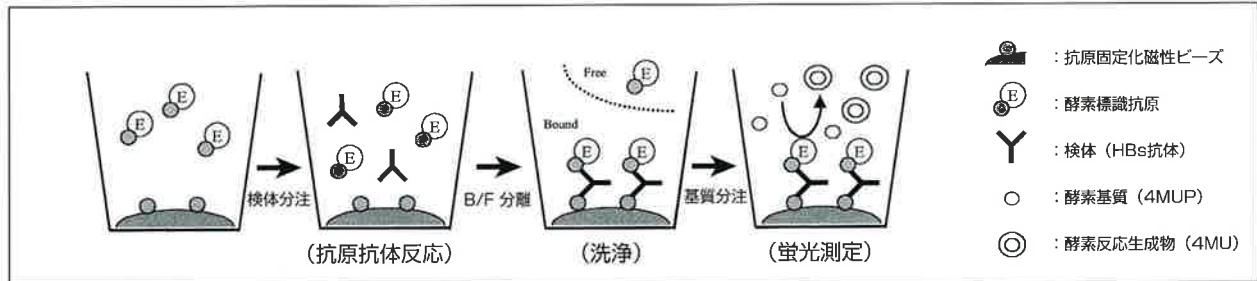
1. 高親和性抗体を用いた1ステップサンドイッチFEIA法または競合FEIA法です。
2. 磁性ビーズに固定化された抗体 (または抗原) と酵素標識された抗体 (または抗原) が試薬カップに凍結乾燥状態で封入されているため、試薬調製の必要はありません。
3. 抗原抗体反応から蛍光測光まで専用の試薬カップ内で行なわれるため、コンタミネーションやキャリーオーバーがありません。
4. 測定開始から短時間で結果が得られます。抗原抗体反応時間は10分、約20分後に結果が得られます。
5. 放射性同位元素を使用していないので、特殊な設備を必要としません。

5. 測定原理図

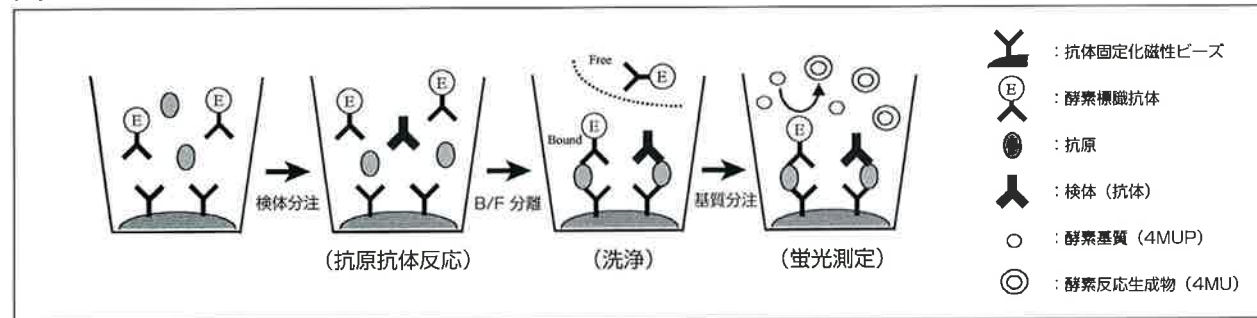
(1) HBsAg, HBeAg (1ステップ サンドイッチ法)



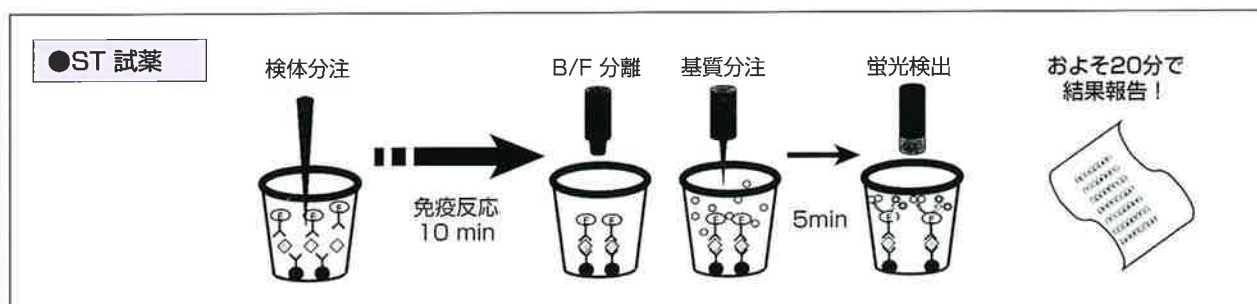
(2) HBsAb (1ステップ サンドイッチ法)



(3) HBeAb, HBcAb (1ステップ競合法)



6. アッセイプロトコール



7. 参考データ

●検出感度

項目 (略号)	感 度	備 考
#HBsAg2	0.05 IU/mL	濃度単位は WHO 標準品 (Int-std. 00/588) に準拠
#HBsAb	6.4 mIU/mL	濃度単位はWHO標準品 (Lot 26-1-77) に準拠
#HBeAg	3 PEI U/mL	1.0 CI に相当 Paul Ehrlich Institute(PEI)製の参照血清を用いて評価
#HBeAb	0.15 PEI U/mL	30 (INH%) に相当 Paul Ehrlich Institute(PEI)製の参照血清を用いて評価
#HBcAb	0.85 PEI U/mL	40 (INH%) に相当 Paul Ehrlich Institute(PEI)製の参照血清を用いて評価

●同時再現性

N=10

	#HBsAg2 (IU/mL)		#HBsAb (mIU/mL)			#HBeAg (CI)	
	L	H	L	M	H	L	H
Mean	0.4	39.6	29.4	33.9	631.7	6.4	107.6
SD	0.01	1.6	0.8	0.8	16.5	0.2	2.8
CV (%)	3.6	4.2	2.5	2.3	2.6	3.0	2.6

N=10

	#HBeAb (INH %)						#HBcAb (INH %)					
	L		M		H		L		M		H	
1	-7.7	-	53.7	±	100	+	0.7	-	50.1	±	98.3	+
2	-10.0	-	55.9	±	100	+	-11.3	-	50.0	±	98.3	+
3	-8.2	-	50.9	±	100	+	-7.1	-	53.6	±	98.8	+
4	-7.8	-	47.9	±	100	+	-5.2	-	53.7	±	98.7	+
5	-12.1	-	55.0	±	100	+	-7.1	-	55.6	±	98.9	+
6	-4.0	-	49.5	±	100	+	-1.4	-	55.5	±	98.2	+
7	-4.4	-	51.4	±	100	+	-9.5	-	52.0	±	99.1	+
8	-9.7	-	47.7	±	100	+	-14.4	-	55.4	±	98.7	+
9	-14.4	-	48.3	±	100	+	-9.8	-	51.9	±	98.9	+
10	3.6	-	54.3	±	100	+	-16.2	-	53.9	±	99.3	+
Mean	-7.5	-	51.5		100		-8.1	-	53.2		98.7	
SD	—	-	3.10		—		—	-	2.10		—	
CV (%)	—	-	6.0		—		—	-	4.0		—	

●日差再現性

N=20

	#HBsAg2 (IU/mL)			#HBsAb (mIU/mL)			#HBeAg (CI)	
	L	M	H	L	M	H	L	H
Mean	0.2	4.0	39.0	29.0	33.0	629.2	6.9	113.6
SD	0.01	0.08	0.56	0.8	1.0	19.1	0.2	3.6
CV (%)	2.7	2.0	1.4	2.6	3.2	3.0	3.4	3.2

N=21

	#HBeAb (INH %)						#HBcAb (INH %)					
	L		M		H		L		M		H	
1	4.4	-	63.5	±	100	+	3.6	-	47.3	±	99.9	+
2	7.8	-	57.3	±	100	+	4.5	-	45.9	±	99.9	+
3	3.9	-	60.0	±	100	+	0.7	-	44.9	±	99.9	+
4	5.4	-	60.7	±	100	+	-4.6	-	43.3	±	99.9	+
5	4.0	-	51.3	±	100	+	-4.8	-	43.9	±	99.8	+
6	9.5	-	56.8	±	100	+	-3.7	-	46.5	±	99.9	+
7	9.9	-	55.4	±	100	+	1.8	-	46.8	±	99.8	+
8	6.1	-	60.8	±	100	+	2.1	-	46.7	±	99.8	+
9	7.4	-	52.3	±	100	+	2.2	-	45.7	±	99.9	+
10	1.0	-	55.2	±	100	+	-5.7	-	43.8	±	99.8	+
11	4.9	-	56.2	±	100	+	1.7	-	44.8	±	99.9	+
12	5.1	-	58.2	±	100	+	1.0	-	47.0	±	99.9	+
13	4.4	-	57.3	±	100	+	2.6	-	44.9	±	99.9	+
14	3.8	-	60.0	±	100	+	1.2	-	44.2	±	99.8	+
15	4.4	-	59.7	±	100	+	-1.3	-	47.2	±	99.8	+
16	1.3	-	59.3	±	100	+	-0.7	-	46.1	±	99.9	+
17	8.5	-	58.9	±	100	+	-1.9	-	44.7	±	99.9	+
18	0.2	-	58.7	±	100	+	3.5	-	43.8	±	99.9	+
19	6.3	-	58.7	±	100	+	2.2	-	46.9	±	99.9	+
20	2.7	-	52.0	±	100	+	-1.6	-	45.9	±	99.8	+
21	3.5	-	53.1	±	100	+	-1.7	-	46.1	±	99.8	+
Mean	5.0		57.4		100		0.1		45.5		99.9	
SD	—		3.24		—		—		1.27		—	
CV (%)	—		5.6		—		—		2.8		—	

●共存物質の影響

測定系への共存物質の影響を調べました。以下の濃度まで影響は認められませんでした。

項目	ヘモグロビン (mg/dL)	遊離型ビリルビン (mg/dL)	抱合型ビリルビン (mg/dL)	脂質 (mg/dL)	アスコルビン酸 (mg/dL)	ヘパリン (U/mL)
#HBsAg2	412	17.1	18.4	1660	20	100
#HBsAb	425	16.8	19.6	1660	20	100
#HBeAg	440	17.4	17.8	1660	20	100
#HBeAb	454	15.5	19.1	1600	20	100
#HBcAb	454	15.5	19.1	1600	20	100

●相関性

(1) HBs 抗原

n = 100		AIA	
		陰性	陽性
他社 CLIA	陰性	71	0
	陽性	0	29

(2) HBs 抗体

n = 198		AIA	
		陰性	陽性
他社 EIA	陰性	125	2*
	陽性	4*	67

(不一致例)

* 吸収試験で全例陽性であることを確認。なお、これらの検体は両キット共に、カットオフ値附近のデータが得られています。HBs抗体の多様性によって、キット間で若干の差が生じたものと推察されます。

(3) HBe 抗原

n = 245		AIA	
		陰性	陽性
他社 RIA	陰性	137	1*
	判定保留	0	11
	陽性	1**	95

(不一致例)

* 確認試験で陽性であることを確認。

** HBe抗体が陽性であることから、HBe抗原は陰性である可能性が高いと考えられます。

(4) HBe 抗体

n = 171		AIA		
		陰性	判定保留	陽性
他社 RIA	陰性	39	4	0
	判定保留	0	21	3
	陽性	0	6	98

n = 119		AIA		
		陰性	判定保留	陽性
他社 EIA	陰性	47	3	0
	陽性	0	4	65

(5) HBc 抗体

n = 124		AIA		
		陰性	判定保留	陽性
他社 RIA	陰性	45	1	0
	判定保留	0	2	3
	陽性	0	0	73

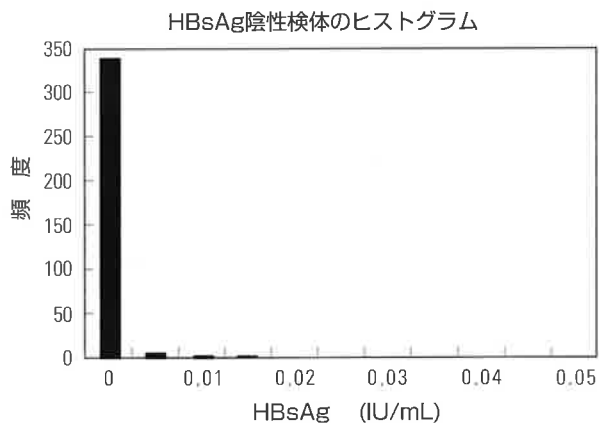
n = 68		AIA		
		陰性	判定保留	陽性
他社 EIA	陰性	5	1	0
	陽性	0	1	61

●健常人の測定値分布

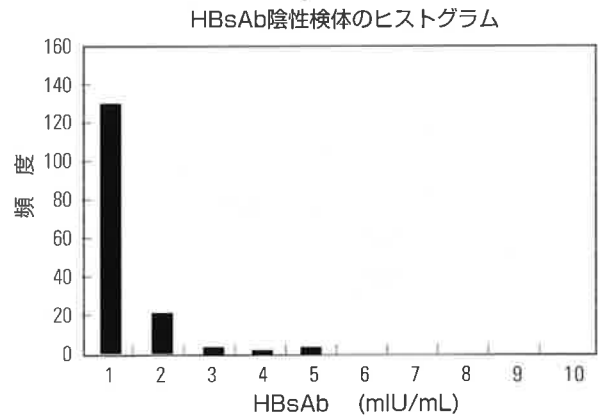
健常人（陰性例）の測定値の分布を示します。

HBeAb、HBcAbでは、陰性検体を測定した場合、図のように0 (INH%) 附近を平均として正規分布しているため、負の測定結果が得られることがあります。

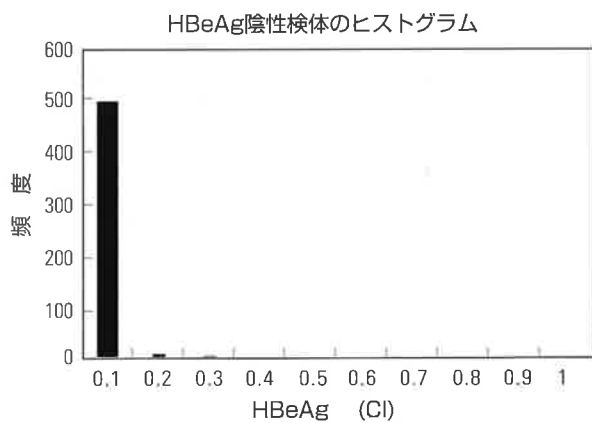
(1) HBs 抗原



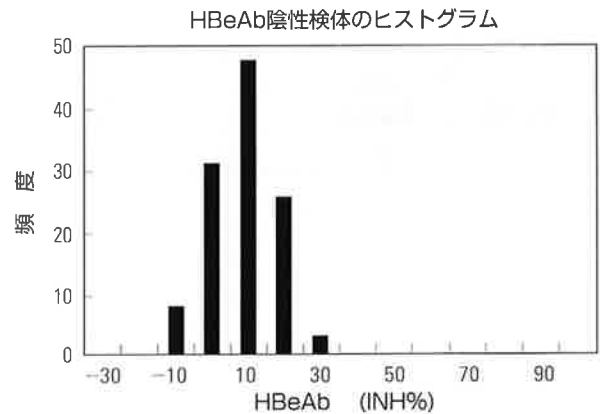
(2) HBs 抗体



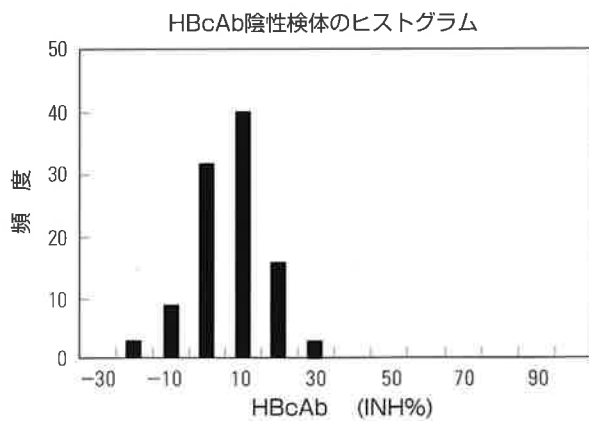
(3) HBe 抗原



(4) HBe 抗体



(5) HBc 抗体



●測定結果の判定法

各項目の測定結果の判定法と留意点を以下に示します。

なお、それぞれの測定結果に基づく臨床診断は、他の検査（他の肝炎マーカーの検査、肝機能検査など）の結果、および臨床症状と合わせて総合的に判断してください。

(判定法)

項目	陰性 (-)	判定保留 (±)	陽性 (+)
#HBsAg2	0.05 IU/mL未満	—	0.05 IU/mL以上
#HBsAb	6.4 mIU/mL未満	—	6.4 mIU/mL以上
#HBeAg	1.0 CI 未満	—	1.0 CI 以上
#HBeAb	30 (INH%) 未満	30 (INH%) 以上、70 (INH%) 未満	70 (INH%) 以上
#HBcAb	40 (INH%) 未満	40 (INH%) 以上、60 (INH%) 未満	60 (INH%) 以上

(留意点)

項目	留意点
#HBsAg2	B型肝炎ウイルス (HBV) 感染の診断は、HBs抗原の検査結果のみで行わず、HBe抗体測定等、他の検査結果および臨床経過を考慮して総合的に判断してください。
#HBsAb	HBワクチン接種の場合には、一般的にHBV感染を防御しうるHBs抗体価は10mIU/mLとされ、それ以下に抗体価が低下した時点で追加接種を行なうことが望ましいとされています。文献 ²⁾ 、 ³⁾
#HBeAb #HBcAb	判定保留域の結果が得られた場合は、再検査すると共に、経時的に検査を行なって判断してください。
#HBcAb	一般に、200倍希釈検体を測定して90%以上のインヒビション% (INH%) を示した場合には、高抗体価陽性と判断されます。文献 ⁴⁾

8. 参考文献

- 1) 日本消化器病学会 肝機能研究班：肝疾患における肝炎ウイルスマーカーの選択基準（3版）. **日本消化器病学会誌** **98**：206-213, 2001
- 2) 小坂義種, 山舖昌由：HBV感染と予防対策. **医学のあゆみ** **151**：881-885, 1989
- 3) 小島秀男, 吉川明：B型肝炎—予防. **治療** **72**：94-96, 1990
- 4) 和田武雄,他：RIA法(CORAB)による血中HBe抗体測定法の検討. **医学と薬学** **3**,105-110,1980



TOSOH

製造販売元

東ソー株式会社

バイオサイエンス事業部

東京本社 営業部 ☎(03) 5427-5181 〒105-8623 東京都港区芝3-8-2
大阪支店 バイオサイエンス ☎(06) 6344-3857 〒530-0004 大阪市北区堂島浜1-2-6
名古屋支店 バイオサイエンス ☎(052) 211-5730 〒460-0003 名古屋市中区錦1-17-13
福岡支店 ☎(092) 781-0481 〒810-0001 福岡市中央区天神1-13-2
仙台支店 ☎(022) 266-2341 〒980-0014 仙台市青葉区本町1-11-1
カスタマーサポートセンター ☎(0467) 76-5384 〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川2743-1
バイオサイエンス事業部ホームページ <http://www.tosoh.co.jp/science/>



R100 環境・資源保護のため100%再生紙を使用しています。

3511MU-[品番 992200] B