

## 献血者における化学発光免疫測定法を用いた新ヒトパルボウイルス B19 抗原スクリーニングの遺伝子型検出に関する性能評価

岸本 信一<sup>1)\*</sup> 小林 悠<sup>1)\*</sup> 坂田 秀勝<sup>1)</sup> 松林 圭二<sup>2)</sup> 佐藤進一郎<sup>1)</sup>  
生田 克哉<sup>3)</sup> 紀野 修一<sup>1)</sup>

伝染性紅斑の原因ウイルスであるヒトパルボウイルス B19 (B19) の輸血用血液製剤や血漿分画製剤原料への混入リスクを減らすため、2008年に血液センターでは化学発光酵素免疫測定法による B19 抗原検査 (CLEIA-B19; 従来法) を導入した。その後、感染症検査システムの更新に伴い 2019 年 4 月から化学発光免疫測定法による新 B19 抗原検査 (CLIA-B19) に変更したため各遺伝子型の検出感度を評価した。Real-time PCR により B19 DNA を定量した遺伝子型 1, 2, 3 型の B19 パネルを CLIA-B19 で測定した。また CLIA-B19 で検出した B19 DNA 陽性検体を系統的に解析した。CLIA-B19 はすべての B19 遺伝子型を検出でき、平均検出感度は約 6.4log IU/ml と算出され従来法とほぼ同等であった。2019 年度の北海道献血者検体 252,956 本中 CLIA-B19 により 237 本 (0.09%) が陽性となり、このうち 26 本 (0.01%) が B19 DNA 陽性で、解析できた 25 本はすべて 1 型であった。CLIA-B19 は、献血血液における B19 抗原スクリーニングに有用と考えられた。

キーワード：ヒトパルボウイルス B19, 遺伝子型, 化学発光免疫測定法, real-time PCR

\*本論文に関して同等に貢献した。

### はじめに

ヒトパルボウイルス B19 (以下 B19) は、主に小児にみられる伝染性紅斑の原因ウイルスである。成人における B19 感染症は不顕性感染の他に、重篤な症例では急性赤芽球癆、妊婦における胎児水腫、慢性骨髄不全等を生ずる場合があり、B19 感染後の臨床像は多様である<sup>1)</sup>。また、B19 は飛沫感染あるいは接触感染により伝播し、感染約 1 週間後から一過性にウイルス血症を呈するため、その時期の献血により輸血用血液製剤や血漿分画製剤用原料血漿に B19 が混入する可能性がある。さらに、B19 は非常に小さくエンベロープがないため、血漿分画製剤の製造工程における完全な除去や不活化は困難であり B19 感染伝播 (transfusion-transmitted B19, TT-B19) 症例も報告されている<sup>2)3)</sup>。

血液センターでは、1997 年 9 月から receptor-mediated hemagglutination assay (RHA) による全献血血液の B19 抗原スクリーニング検査<sup>4)5)</sup>を、2008 年から chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) による B19 抗原スクリーニング検査 (CLEIA-B19; 従来法)<sup>6)</sup>を導

入したことで輸血用血液製剤および血漿分画製剤への B19 混入リスクが大幅に減少した<sup>7)</sup>。さらにわれわれは従来法が米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration; FDA) の勧告した検査基準：1) 分画製剤原料用プール血漿への B19 DNA 混入量を 4log IU/ml 以下とする、2) 血漿分画製剤製造工程中の検査基準として既知の全 B19 遺伝子型 (1 型, 2 型および 3 型)<sup>8)</sup>を検出できる核酸増幅検査 (nucleic acid amplification test; NAT) を導入すること<sup>9)</sup>を、満たす代替法であることを報告した<sup>7)</sup>。その後、CLEIA-B19 における測定機器が耐用年数を迎えたため、日赤本社主導で数社の測定機器および試薬を評価した結果、chemiluminescent immunoassay (CLIA) を測定原理とする ARCHITECT i2000 SR (アボットジャパン合同会社) を 2019 年 4 月より順次導入することに決定した。しかし、遺伝子型に関する検出能については遺伝子型パネルの制約もあり、評価対象外であった。CLIA による新たな B19 抗原スクリーニング (CLIA-B19) が FDA の勧告した検査基準を満たすのかについては遺伝子型別の検出感度を算出する

1) 日本赤十字社北海道ブロック血液センター

2) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

3) 北海道赤十字血液センター

[受付日：2020 年 10 月 20 日, 受理日：2020 年 12 月 18 日]

必要があったため、今回 CLIA-B19 について遺伝子型検出に関する性能評価を行った。

## 対象と方法

### 1. CLIA-B19 における各 B19 遺伝子型の検出感度

WHO B19 パネル(NIBSC 09/100 ; CBER Parvovirus B19 Genotype Panel 1)<sup>10)</sup>と同一血漿由来の高濃度 B19 パネル (M1S, M2S および M3S) を使用した<sup>11)</sup>。高濃度パネルの B19 DNA 量 (遺伝子型) は、既報<sup>7)</sup>に従い後述の universal real-time PCR (U-PCR) により、各 7.68log IU/ml (1 型)、8.36log IU/ml (2 型) および 7.91 log IU/ml (3 型) と算出された。各高濃度パネル検体を、陰性血漿 (B19 DNA 陰性かつ抗 B19 抗体陰性) を用いて 0.5log 倍連続希釈した後、各希釈液を ARCHITECT i2000SR を使用して CLIA-B19 により測定した (n=3)。また、遺伝子型が 1 型で B19 DNA 濃度既知の献血者由来血漿<sup>7)</sup>の 10 倍連続希釈パネル (DNA 濃度 5.7~11.7log IU/ml) について、CLIA-B19 測定を行った。

### 2. CLIA を用いた B19 抗原スクリーニング

CLIA-B19 によるスクリーニングを開始した 2019 年 4 月から 2020 年 3 月までに検査を実施した北海道の献血者を対象とした。初回測定結果 1.0S/CO 以上の検体は再検査 (N=2) を行い、再検査結果で 1 回または 2 回とも陽性だった検体を CLIA-B19 陽性と判定した。

### 3. U-PCR 法および抗 B19 抗体の検出

CLIA-B19 で陽性となった検体について、U-PCR により B19 DNA を検出した。U-PCR の検出感度は、1 型、2 型および 3 型に対して、それぞれ 13.6, 9.4 および 14.6 IU/ml であった<sup>11)</sup>。QIAamp MinElute Virus Spin Kit (QIAGEN) を用いて血漿 200 $\mu$ l から溶出量 30 $\mu$ l で核酸を抽出後、このうち 20 $\mu$ l を PCR 鋳型として使用した。U-PCR および B19 DNA の定量値の算出は、既報<sup>7)</sup>に従って実施した。また、B19 DNA 陽性検体について、ウイルス抗体 EIA「生研」パルボ IgM および IgG (デンカ生研) を用いて、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) により抗 B19-IgM 及び IgG 抗体を検出した。なお本研究は、日本赤十字社血液事業研究倫理審査委員会の承認 (倫理審査番号: 2019-033) を受け実施した。

### 4. 伝染性紅斑報告数と B19 陽性数との比較

北海道感染症情報センターより得られた全国および北海道における定点当たりの伝染性紅斑報告数<sup>12)</sup>と北海道献血者における B19 DNA 陽性数を 2007 年 1 月~2020 年 3 月のデータで比較した。2008 年 1 月までは RHA<sup>5)</sup>、2008 年 2 月から 2019 年 3 月までは従来法<sup>7)</sup>、それ以降は CLIA-B19 によるスクリーニングで検出し、その後 U-PCR により B19 DNA 陽性と確認された献血者を、検出された週ごとにプロットした。

## 5. 分子系統樹解析

CLIA-B19 により検出された B19 DNA 陽性検体を対象として前述の方法で核酸を抽出後、溶出液のうち 10  $\mu$ l を鋳型として使用した。B19 ゲノムの可変領域である NS1-VP1u 領域の 684 塩基をターゲットとして、既報<sup>7)</sup>のプライマーと増幅試薬 (PrimeSTAR HS DNA Polymerase, TaKaRa) およびサーマルサイクラー (LifeECO, 日本ジェネティクス) を用いて、98 $^{\circ}$ C/1 分の後、98 $^{\circ}$ C/10 秒、55 $^{\circ}$ C/30 秒、72 $^{\circ}$ C/1 分を 50 サイクルで PCR を実施した。得られた増幅産物は、ABI PRISM 3130xl (Thermo Fisher Scientific) を使用して、direct sequencing により塩基配列を決定した。その後、ソフトウェア MEGA6<sup>13)</sup> を用いて、Neighbor-joining method による分子系統樹を作成し、遺伝子型を決定した。また、CLIA-B19 導入以前の過去 3 回の伝染性紅斑流行期 (2007 年、2011 年および 2015~2016 年) と 2000 年以前に検出された北海道献血者由来株から各 5 本 (計 20 本) を抽出し比較対象とした。

## 結 果

### 1. CLIA-B19 における各 B19 遺伝子型の検出感度

各遺伝子型の高濃度 B19 パネルの連続希釈検体について、横軸に CLIA-B19 測定値、縦軸に B19 DNA 量をそれぞれプロットし、累乗近似による回帰直線を作成した結果、全ての遺伝子型において両者の間には正の相関が認められた (図 1a)。また、各遺伝子型の回帰直線が CLIA-B19 のカットオフ値 (1.0S/CO) と交差した点から、検出感度は 1 型で 6.46log IU/ml、2 型で 6.39 log IU/ml および 3 型で 6.39log IU/ml 以上と推定された。

### 2. CLIA-B19 のダイナミックレンジ

図 1b に示したグラフから、B19 DNA 濃度 10.7log IU/ml 以上を除く、5.7~9.7log IU/ml の 5 濃度の範囲において、累乗近似による回帰直線を作成した結果、相関が認められた ( $R^2=0.996$ )。また、1.0S/CO と交差する B19 DNA 量は 6.55log IU/ml であった。

### 3. CLIA-B19 スクリーニングおよび陽性検体の解析

北海道の献血者検体 252,956 本中、CLIA-B19 陽性であった検体は 237 本 (0.094%) であった。これらについて U-PCR を実施した結果、26 本 (0.010%) が B19 DNA 陽性であった。CLIA-B19 で検出した B19 DNA 陽性 26 本を、IgM および IgG 抗体の検査結果により 4 つのグループに分類したところ、IgM 陰性/IgG 陰性: 18 本、IgM 陽性/IgG 陰性: 4 本、IgM 陽性/IgG 陽性: 3 本、および IgM 陰性/IgG 陽性: 1 本であった。CLIA-B19 および U-PCR の測定値を各グループに分けてプロットした (図 1c)。前述のダイナミックレンジより B19 DNA 量が 10log IU/ml 未満の 11 検体による回帰直線

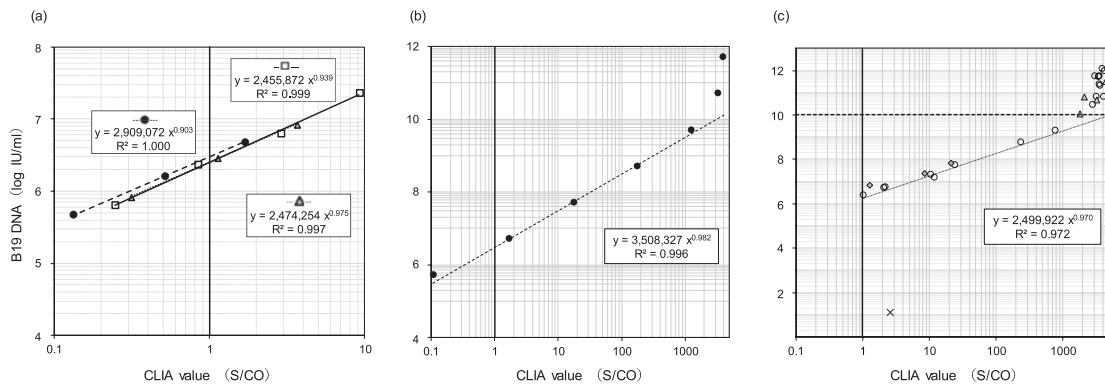


図1 CLIA-B19とB19 DNA測定値との相関  
 グラフ内に回帰直線式と相関係数 (R<sup>2</sup>) を表記した. (a) B19 各遺伝子型パネル検体の測定. (●) 1型, (□) 2型, (△) 3a型. (b) CLIA-B19におけるダイナミックレンジ. 累乗近似による回帰直線式および相関係数は, 5.7 ~ 9.7 log IU/mlの範囲にて算出した. (c) CLIA-B19陽性かつB19 DNA陽性検体の散布図. (○) IgM陰性/IgG陰性, (△) IgM陽性/IgG陰性, (◇) IgM陽性/IgG陽性, (×) IgM陰性/IgG陽性. 累乗近似による回帰直線式および相関係数は, 10log IU/ml未満の検体 (n=11) の測定値から算出した.

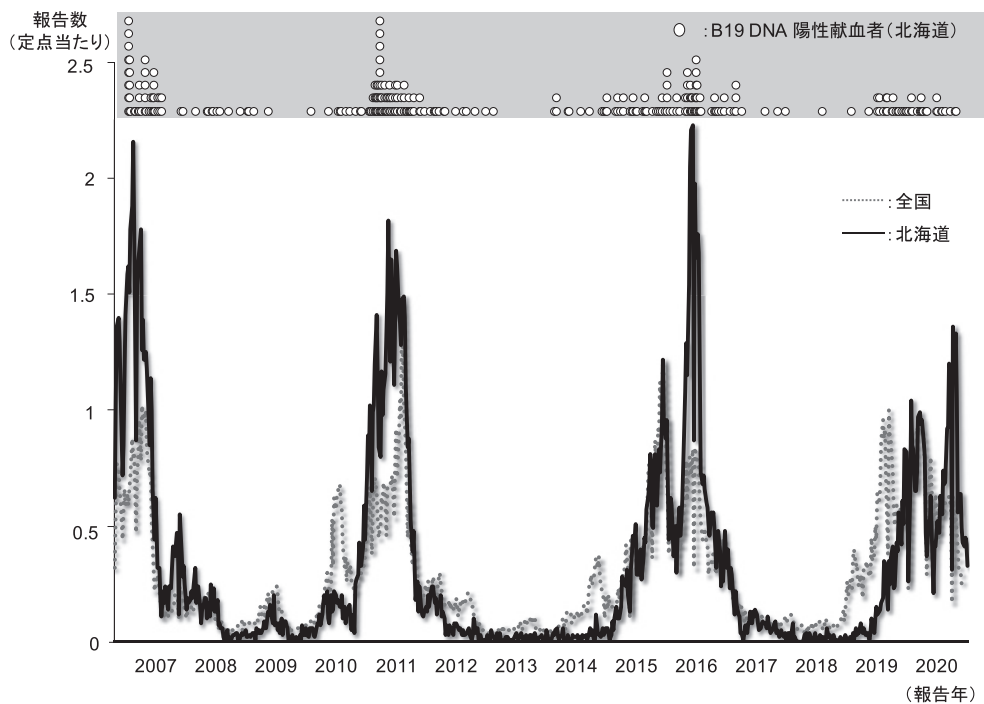


図2 北海道および全国における伝染性紅斑報告数の推移  
 全国および北海道における伝染性紅斑の定点当たり報告数を週ごとに示した. また, 北海道内B19 DNA陽性献血者を, 検出された週ごとに (○) でプロットし陽性数を示した.

は相関が認められ (R<sup>2</sup>=0.972), 1.0S/CO との交差する B19 DNA 量は 6.40log IU/ml であった.

4. 伝染性紅斑報告数と B19 陽性数との比較

図2に示した伝染性紅斑報告数の推移から, 2007年, 2011年, 2015~2016年および2019~2020年に流行が認められ, この傾向は全国と北海道ではほぼ近似していた. これらの流行期には北海道献血者由来B19 DNA陽性例も多数検出された.

5. 北海道の献血者における B19 遺伝子型分布

2019年度にB19 DNA陽性であった北海道献血者検体26本中, 低濃度であった1検体を除く25本について分子系統樹解析を実施した結果, 献血者から分離されたB19株は全て1型に分類され, 2型および3型はいずれも検出されなかった(図3). また, 2019年度に検出されたB19株は他のB19株とは別にクラスターを形成していた.

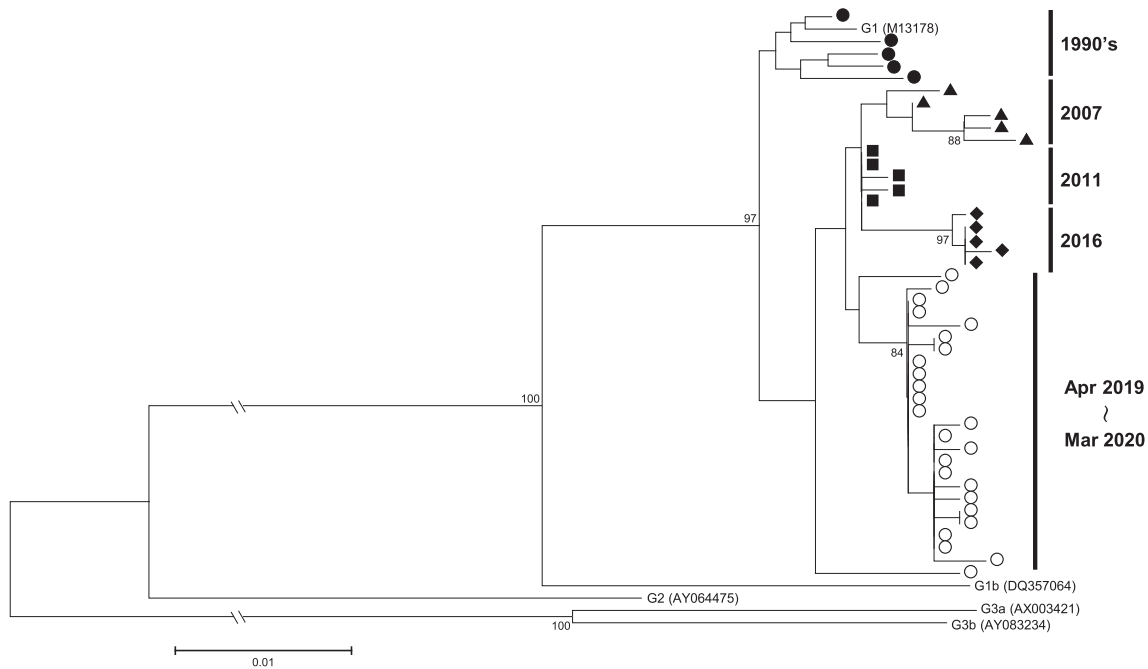


図3 北海道の献血者から検出されたB19株の分子系統樹

B19 ゲノムの NSI-VP1u 領域 (684 塩基) に基づく分子系統樹を示した。CLIA-B19 により、2019 年 4 月から 2020 年 3 月までに B19 DNA 陽性となった北海道献血者 26 名のうち、低濃度 1 名を除く 25 名から検出された B19 株を (○) で示した。CLIA-B19 導入以前に検出された献血者由来株<sup>7)</sup>の一部と比較した (●: 1990 年代, ▲: 2007 年, ■: 2011 年, ◆: 2016 年), 括弧はアクセッション番号を示す。

## 考 察

2009 年に FDA は血漿分画製剤の製造工程における B19 検査基準として、既知の全 B19 遺伝子型が検出可能である NAT を導入すること、および原料血漿プール中の B19 DNA 量が  $4\log \text{ IU/ml}$  を超えないこと、と勧告した<sup>9)</sup>。また、代替的アプローチでも、適用される要件を充足するものであれば用いることができるとしている。われわれは、2008 年に導入した従来法が全 B19 遺伝子型を検出可能で検出感度が約  $6.4\log \text{ IU/ml}$  であること、および従来法導入から流行期を含む 4 年間で、血漿分画製剤原料約 10,000 本で構成された原料血漿プール 772 バッチをスクリーニングした結果、全バッチで B19 DNA が  $4\log \text{ IU/ml}$  を超えなかったことから、上記の基準を満たす代替法となり得ることを以前報告した<sup>7)</sup>。その一方で、2019 年 4 月より導入した CLIA-B19 がこの基準を満たすのかについては遺伝子型別の検出感度を算出する必要があった。本検討で、われわれは B19 WHO 遺伝子型パネルを対象として CLIA-B19 により全ての B19 遺伝子型が検出可能であること、さらに、各遺伝子型の検出感度  $6.4\sim 6.5\log \text{ IU/ml}$  が従来法の感度<sup>7)</sup>とほぼ同等であったことから、CLIA-B19 は FDA が勧告した基準をいずれも満たしていると考えられた。

本検討において、B19 IgG 抗体のみ陽性の検体が 1 本検出されたが、B19 DNA 量が約  $10\text{ IU/ml}$  と CLIA-B19 の感度を大きく下回っていたことから、非特異的に

検出されたと考えられた。B19 感染後に IgG 抗体が産生されてからも、血中から長期間に渡り微量な B19 DNA が検出されることが報告されている<sup>14)</sup>。しかし、血中から長期間検出される B19 DNA はウイルス様粒子中ではなく露出された状態で存在することが示されており<sup>15)</sup>、また検体中には中和抗体である IgG 抗体が共存することから、この検体が TT-B19 の原因となる可能性は低いと考えられた。また本検討での CLIA-B19 の非特異率は 0.083% (211/252,956) であった。抗原抗体反応を用いた検査系において、一般的に検査数に対して真の陽性数が少ないほど、偽陽性の割合 (非特異率) は増える傾向がある。非特異反応の原因として、試薬中のモノクローナル抗体と献血者血液中に含まれる何らかの物質が交差反応を起こす場合や、標識二次抗体が十分に分離されなかったために反応液中に残存し、非特異的発光が測定された可能性などが考えられた。献血血液有効利用の観点からも、今後 CLIA-B19 における特異性の向上が望まれる。

CLIA-B19 により得られた B19 DNA 陽性献血者 26 名中 B19 IgG 抗体が検出されなかった献血者 22 名は感染初期と考えられた。一方、IgM 抗体および IgG 抗体共に陽性の 3 名は、抗体の産生とともにウイルス量が減少してくる時期と考えられた。2008 年の従来法導入後 TT-B19 は 2011 年<sup>16)</sup>、2015 年<sup>17)</sup>および 2019 年<sup>18)</sup>に各 1 例報告された。CLIA-B19 導入後においても TT-B19

は少なくとも1例発生した<sup>18)</sup>。いずれも原因となった献血者血液はB19 IgM抗体とIgG抗体が共に陽性であり、B19 DNA濃度は検出感度以下であったためスクリーニングで検出できなかったと考えられた。従来法と同様に、CLIA-B19は血漿分画製剤の安全性に大きく寄与しているが、輸血用血液によるTT-B19防止のためには更なる高感度化が必要と考えられる。

B19は小児を中心としてみられる伝染性紅斑の原因ウイルスであり、伝染性紅斑報告数は約4~6年の周期で増加することが報告されている<sup>19)20)</sup>。日本において2007年から2020年にかけて少なくとも4回の流行が確認されたが、この流行期には小児を含まない献血者からもB19 DNAが検出され、両者の推移はほぼ一致していた。B19 DNA陽性率は伝染性紅斑の流行によって大きく変動するため、調査期間により差が出るものと思われる。CLIA-B19における本検討期間は2019年の流行期を含んでおり、B19 DNA陽性率は0.01%で、以前報告した2011年の流行期を含む従来法の陽性率<sup>7)</sup>とほぼ同等であった。伝染性紅斑の学校や幼稚園等の施設内感染を考慮すると、同施設内での学童・園児の入れ替わりによる影響がこうした流行間隔の一因となっている可能性がある。流行期には献血者においてもB19陽性率は上昇することから、事前に情報を把握しておくことは重要である。

以前われわれは、北海道献血者由来のB19株はすべて1型に分類され、2007年と2011年の流行期で検出された主要な株はそれぞれ異なるクラスターを形成していたと報告した<sup>7)</sup>。本検討で検出され解析できたB19株25本もすべて1型であり、さらに、これまでの株とは別のクラスターを形成していた。したがって、B19株は僅かな変異を重ねながら感染循環していると考えられた。これまで献血者から遺伝子型の2型および3型は検出されていないが、将来輸入感染症として伝播する可能性も否定できないため、今後も継続してB19株の変遷を注視していく必要がある。

## 結 論

2019年4月より順次導入されたCLIA法を用いたB19抗原検査システムは、献血血液におけるB19スクリーニング検査として有用であると考えられた。

著者のCOI開示：著者らは日本赤十字社職員である。

## 文 献

- 1) Blümel J, Burger R, Drosten C, et al: Parvovirus B19-revised. *Transfus Med Hemother*, 37: 339—350, 2010.

- 2) Blümel J, Schmidt I, Effenberger W, et al: Parvovirus B19 transmission by heat-treated clotting factor concentrates. *Transfusion*, 42: 1473—1481, 2002.
- 3) Wu CG, Mason B, Jong J, et al: Parvovirus B19 transmission by a high-purity factor VIII concentrate. *Transfusion*, 45: 1003—1010, 2005.
- 4) Sato H, Takakura F, Kojima E, et al: Screening of blood donors for human parvovirus B19. *Lancet*, 346: 1237—1238, 1995.
- 5) Sakata H, Ihara H, Sato S, et al: Efficiency of donor screening for human parvovirus B19 by the receptor mediated hemagglutination assay method. *Vox Sang*, 77: 197—203, 1999.
- 6) 武田尋美, 坂田秀勝, 松林圭二, 他: 化学発光酵素免疫測定法を用いた献血者における高感度ヒトパルボウイルスB19抗原スクリーニング. *日本輸血細胞治療学会誌*, 53: 467—472, 2007.
- 7) Sakata H, Matsubayashi K, Ihara H, et al: Impact of chemiluminescent enzyme immunoassay screening for human parvovirus B19 antigen in Japanese blood donors. *Transfusion*, 53: 2556—2566, 2013.
- 8) Servant A, Laperche S, Lallemand F, et al: Genetic Diversity within Human Erythroviruses: Identification of Three Genotypes. *J Virol*, 76: 9124—9134, 2002.
- 9) U.S. Food and Drug Administration: Nucleic acid testing (NAT) to reduce the possible risk of parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. Rockville (MD): FDA Center for Biologics Evaluation and Research: 2008, FDA draft guidance for industry.
- 10) Baylis SA, Ma L, Padley DJ, et al: Collaborative study to establish a World Health Organization International Genotype Panel for parvovirus B19 DNA nucleic acid amplification technology (NAT)-based assays. WHO ECBS report, 2009. WHO/BS/09.2122.
- 11) 坂田秀勝, 松林圭二, 武田尋美, 他: 化学発光酵素免疫測定法を用いたヒトパルボウイルスB19抗原スクリーニングにおける遺伝子型検出の評価. *日本輸血細胞治療学会誌*, 57: 146—152, 2011.
- 12) 北海道感染症情報センター: 伝染性紅斑 (データ). <http://www.iph.pref.hokkaido.jp/kansen/606/data.html> (2020年10月現在).
- 13) Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al: MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*, 30: 2725—2729, 2013.
- 14) Matsukura H, Shibata S, Tani Y, et al: Persistent infection by human parvovirus B19 in qualified blood donors. *Transfusion*, 48: 1036—1037, 2008.

- 15) Molenaar-de Backer M.W.A, Russcher A., Kroes A.C.M, et al: Detection of parvovirus B19 DNA in blood: Viruses or DNA remnants? J Clin Virol, 84: 19—23, 2016.
- 16) 日本赤十字社：輸血情報 1209-133「輸血用血液製剤との関連性が高いと考えられた感染症症例—2011年—」。  
[http://www.jrc.or.jp/mr/relate/info/pdf/yuketsuj\\_1209-133.pdf](http://www.jrc.or.jp/mr/relate/info/pdf/yuketsuj_1209-133.pdf) (2020年10月現在)。
- 17) Nagaharu K, Sugimoto Y, Hoshi Y, et al: Persistent symptomatic parvovirus B19 infection with severe thrombocytopenia transmitted by red blood cell transfusion containing low parvovirus B19 DNA levels. Transfusion, 57: 1414—1418, 2017.
- 18) 日本赤十字社：輸血情報 2009-171「輸血用血液製剤との関連性が高いと考えられた感染症症例—2019年—」。  
[http://www.jrc.or.jp/mr/news/pdf/yuketsuj\\_2009\\_171.pdf](http://www.jrc.or.jp/mr/news/pdf/yuketsuj_2009_171.pdf) (2020年10月現在)。
- 19) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課：伝染性紅斑 (ヒトパルボウイルス B19 感染症)。病原微生物検出情報 (IASR), 37: 1—12, 2016。  
<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/iasr/37/431j160303.pdf> (2020年10月現在)。
- 20) Infectious Diseases Weekly Report (IDWR)：「感染症の話」。2004年第23週号。P12。  
<http://idsc.nih.go.jp/idwr/kanja/idwr/idwr2004-23.pdf> (2020年10月現在)。

## NEWLY INTRODUCED CHEMILUMINESCENT IMMUNOASSAY IN BLOOD DONOR SCREENING FOR HUMAN PARVOVIRUS B19 CAN DETECT ALL THREE GENOTYPES OF IT

*Shinichi Kishimoto*<sup>1)\*</sup>, *Yu Kobayashi*<sup>1)\*</sup>, *Hidekatsu Sakata*<sup>1)</sup>, *Keiji Matsubayashi*<sup>2)</sup>, *Shinichiro Sato*<sup>1)</sup>, *Katsuya Ikuta*<sup>3)</sup> and *Shuichi Kino*<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Japanese Red Cross Hokkaido Block Blood Center

<sup>2)</sup>Central Blood Institute, Blood Service Headquarters, Japanese Red Cross Society

<sup>3)</sup>Japanese Red Cross Hokkaido Blood Center

### **Abstract:**

To reduce the risk of transmission of human parvovirus B19 (B19), the causative virus of erythema infectiosum, through contaminated blood products, the Japanese Red Cross Blood Center introduced chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) screening for B19 antigen (CLEIA-B19) in 2008. CLEIA-B19 was then replaced in April 2019 with a novel chemiluminescent immunoassay (CLIA) for B19 antigen (CLIA-B19). Here, we evaluated the sensitivity of CLIA-B19 regarding B19 genotypes. Panels of all three genotypes, 1, 2 and 3, which were quantified for DNA concentration by real-time PCR, were tested. Donor samples that were positive by CLIA-B19 screening were tested for B19 DNA and their B19 isolates were phylogenetically analyzed. CLIA-B19 could detect all three genotypes of B19, with inferred sensitivity for the genotype samples of approximately 6.4log IU/ml. From April 2019 to March 2020, of 237 (0.09%) CLIA-B19-positive samples from 252,956 donations in Hokkaido, Japan, 26 (0.01%) were positive for B19 DNA and clustered exclusively with genotype 1. Our data indicate that CLIA-B19 is a useful method for the screening of blood donations having all genotypes of B19.

### **Keywords:**

human parvovirus B19, genotype, chemiluminescent immunoassay (CLIA), real-time PCR

\*These authors contributed equally to this work.