

イムノクロマトグラフィー法による A, B 型インフルエンザウイルス迅速診断キットの検討

横浜市衛生研究所¹⁾, 川崎市衛生研究所²⁾, 神奈川県衛生研究所³⁾, 日本鋼管病院小児科⁴⁾

川上 千春¹⁾ 清水 英明²⁾ 渡邊 寿美³⁾ 七種美和子¹⁾

宗村 徹也¹⁾ 三田村敬子⁴⁾ 菅谷 憲夫⁴⁾ 今井 光信³⁾

(平成 13 年 6 月 25 日受付)

(平成 13 年 7 月 17 日受理)

Key words : influenza virus, rapid diagnosis, immunochromatography

要 旨

イムノクロマトグラフィー法を用いて A, B 型インフルエンザウイルスを検出する迅速診断キット QuickVue Influenza test (Quidel Corporation, USA) について基礎および臨床的検討を行った。

ブランク定量したインフルエンザウイルス 6 株を用いた検出限界は, ウイルス分離法が 5 ~ 30pfu/ml, 1stPCR が $1.0 \times 10^3 \sim 6.0 \times 10^4$ pfu/ml, nested PCR が 1 ~ 50pfu/ml, 迅速キットでは QuickVue Influenza test が $3.0 \times 10^5 \sim 6.0 \times 10^6$ pfu/ml, ディレクティジェン Flu A が $1.5 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6$ pfu/ml, インフルエンザ OIA が $7.5 \times 10^5 \sim 5.0 \times 10^6$ pfu/ml であった。

インフルエンザ様疾患患者 92 名の咽頭拭い液を用いて感染価ウイルス量を測定し, ウイルス分離, RT-PCR と QuickVue Influenza test を比較した。

ウイルス分離と比較したキットの感度は 75.5% (37/49), 特異性 93.0% (40/43) であった。また, RT-PCR と比較したキットの感度は 72.2% (39/54), 特異性 97.4% (37/38) であった。

ワンステップで A, B 型インフルエンザウイルスを迅速に検出できる QuickVue Influenza test は従来キットと同等の感度と特異性を示し, 臨床での診断に有用と考える。

(感染症誌 75 : 792 ~ 799, 2001)

序 文

近年, インフルエンザに対する治療薬が開発され, ベットサイドでの迅速診断の必要性が高まった。インフルエンザのウイルス学的な診断は, ウイルス分離や血清抗体検査, RT-PCR による遺伝子検査を中心に行われてきた。しかし, これらの検査は診断結果までに時間を要し, 特別な施設や装置を必要とすることから, 直接治療には結びつかなかった。インフルエンザウイルスの迅速診断

キットとしては, これまで酵素抗体法 (enzyme immunoassay : EIA) を原理としたキット¹⁾⁻⁷⁾ やノイラミニダーゼ活性を利用したキット⁸⁾ が評価され, 臨床での有用性が示されている。今回, イムノクロマトグラフィー法を用い, さらに簡便な A, B 型インフルエンザウイルスを検出するキット QuickVue Influenza test (Quidel Corporation, USA) について基礎および臨床的検討を行った。

材料と方法

1) 使用ウイルス

インフルエンザウイルスとして A (H1N1) 型 4

株 (A/Yamagata/32/89 ,A/Beijing/262/95 ,A/Moscow/13/98 ,A/NewCaledonia/2/99) , A (H3N2) 型 3 株 (A/Kitakyusyu/159/93 ,A/Akita/1/94 ,A/Panama/2007/99) , A (H5N1) 型 1 株 (A/Hong Kong/156/97) , B 型 4 株 (B/Mie/1/93 ,B/Guangdong/5/94 ,B/Shangdong/07/97 ,B/Yamanashi/166/98) , および神奈川県内で分離されたパラインフルエンザウイルス 1~3 型 , ムンプスウイルス , RS (A・B) ウイルス , アデノウイルス 1~7 型 , 単純ヘルペス 1 型ウイルスについて感度と特異性を検討した .

2) 咽頭拭い液

2001 年 2 月から 4 月に横浜市内の小児科・内科医院でインフルエンザ様疾患と診断された , 生後 5 カ月から 69 歳までの患者 92 名を対象とした . 咽頭拭い液は患者咽頭を拭った綿棒を 4ml のウイルス輸送培地 (抗生物質 , 5% ウシ血清アルブミン添加ブレインハートインフュージョン) に混合し , 冷蔵搬送した . 3,000rpm 15 分間遠心後この上清を用いた .

3) ウイルス分離

希釈ウイルス液および咽頭拭い液 100 μ l を MDCK 細胞に接種し , 37 $^{\circ}$ C 30 分吸着後 , トリプシン加イーグル強化培養液を加え , 34 $^{\circ}$ C 5% CO $_2$ ふ卵器で 7 日間を 1 代として 2 代まで継代観察した . 細胞変性効果 (cytopathogenic effect : CPE) が認められた検体は , 赤血球凝集試験 (hemadsorption : HAD) によりインフルエンザウイルスを確認し , フェレット抗血清を用いて赤血球凝集抑制試験 (hemagglutination inhibition : HI) により同定を行った .

4) ウイルスの定量と検出限界測定

ブランク定量は飛田らの方法を改変して行った⁹⁾ . インフルエンザ分離株 A/Yamagata/32/89 (H1N1) , A/Beijing/262/95 (H1N1) , A/Kitakyusyu/159/93 (H3N2) , A/Akita/1/94 (H3N2) , B/Mie/1/93 , B/Guangdong/5/94 の培養ウイルス液および咽頭拭い液を PBS (-) で 10 段階希釈し , MDCK 細胞を単層にした 6 穴プレートに 100 μ l 接種した . 37 $^{\circ}$ C 1 時間吸着後 0.6% アガロース加培養液を加え 3 日間培養した . 10% ホルマリン

固定後 1% クリスタルバイオレットで染色し , ブランク数を測定した .

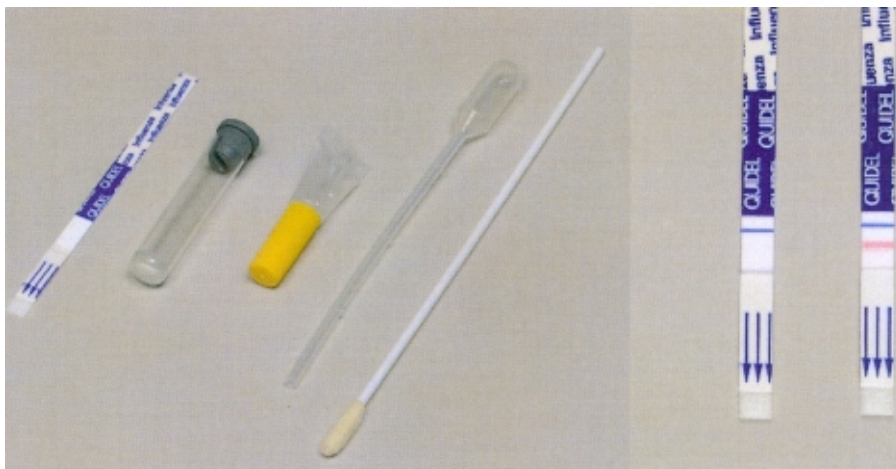
定量したウイルスの希釈液 100 μ l を用いて , ウイルス分離 , RT-PCR , QuickVue Influenza test の検出限界を調べた . また , 比較対象としてディレクティジェン Flu A (日本ベクトンディッキンソン) , インフルエンザ OIA (第一化学薬品) も同様にを行った .

5) QuickVue Influenza test の原理と操作法

QuickVue Influenza test はイムノクロマトグラフィー法を原理としたキットで EIA 法の酵素の代わりに着色粒子を標識体として用いる方法である . 抗体は A , B 型インフルエンザウイルス核蛋白に対するマウスモノクローナル抗体を用いている . テストストリップの下部には赤色ラテックス標識した抗体と青色ラテックス標識したコントロール蛋白が置かれている . 陽性の場合にはウイルス抗原が赤色ラテックス標識抗インフルエンザ抗体と複合体を形成しながら毛细管現象により上部へ移動する . 判定ラインには別の抗インフルエンザウイルス抗体が固定化されており , 複合体と結合すると赤色ラテックス標識抗インフルエンザ抗体 ウイルス抗原 固定化抗インフルエンザ抗体のサンドイッチを形成し , 赤色の帯として確認される . 一方 , ウイルス抗原陰性の場合赤色帯は形成されず , 青色ラテックス標識コントロール蛋白が , コントロールラインに固定されたコントロール蛋白結合物質に捕捉され , 青色ラインが認められるのみである (Fig. 1) . このキットは A , B 型両方の抗原を検出することはできるが , 区別することはできない .

操作は抗原蛋白を抽出したチューブにテストストリップを入れるだけのワンステップ法である . 抗原蛋白の抽出には検体採取法により 2 つの操作方法がある . 拭い棒を用いる場合は最初に添付の反応試薬溶解液 (約 300 μ l) で反応試薬チューブ内の凍結乾燥試薬を溶解しておく . この中に検体採取した拭い棒を浸し , 混和後液を絞りながら拭い棒を抜き取る方法である . 鼻腔洗浄液および鼻腔吸引液を用いる場合は添付のスポイトで検体液から規定量 (約 300 μ l) を吸い , 反応試薬チューブ内

Fig. 1 QuickVue Influenza test device showing positive and negative results



の凍結乾燥試薬を溶解する．今回は比較条件を揃えるため希釈ウイルス液および咽頭拭い液 100 μ l を用いて抗原蛋白を抽出した．判定はチューブにテストストリップを入れ 10 分間反応後目視で赤色帯の有無を判定した．

6) RT-PCR

RNA の抽出は希釈ウイルス液および咽頭拭い液 100 μ l を用いて High Pure Viral RNA Kit (Boehringer Mannheim) により実施し，50 μ l に調製した．RT-PCR は cDNA 合成と PCR を組み合わせた Access RT-PCR System Kit (PROMEGA) を用いた．プライマーは HA 遺伝子領域で設定したもの¹⁰⁾を用いた．1stPCR は反応溶液 48 μ l (添付の AMV/Tfl Reaction Buffer ,1 mM MgSO₄ , 200 μ M dNTP Mixture , 各 0.4 μ M primer , 5U AMV reverse transcriptase , 5U Tfl DNA polymerase) に RNA 2 μ l を加えた．48 45 分逆転写反応させた後，逆転写酵素を 94 2 分で失活させ，94 1 分，60 2 分，68 2 分 30 秒の PCR サイクルを 40 回行い，68 7 分間処理した．

nested PCR は Gene Taq Kit (Wako NIPPON GENE) を用いた．1st PCR 産物 5 μ l に反応液 45 μ l (添付の Universal Buffer , 1.25 U Gene-Taq DN-A polymerase , 200 μ M dNTP Mixture , 各 0.4 μ M primer) を加え，94 5 分後 94 1 分，55 2 分，71 3 分の PCR サイクルを 35 回行い，71 7 分

間処理した．

結 果

1) QuickVue Influenza test の特異性

インフルエンザ A (H1N1 , H3N2 , H5N1) 型および B 型すべてが陽性と判定された．その他の呼吸器由来ウイルス株はすべて陰性であった．

2) 検出限界の比較

ブランク定量したインフルエンザ分離株のウイルス量は A/Yamagata/32/89 (H1N1) が 3.0×10^8 pfu/ml , A/Beijing/262/95 (H1N1) が 1.0×10^8 pfu/ml , A/Kitakyushu/159/93 (H3N2) が 6.0×10^8 pfu/ml , A/Akita/1/94 (H3N2) が 3.0×10^8 pfu/ml , B/Mie/1/93 が 5.0×10^8 pfu/ml , B/Guangdong/5/94 が 1.0×10^8 pfu/ml であった．これらのウイルス希釈液を用いた各検査法の検出限界を Table 1 に示した．分離法では 5 ~ 30pfu/ml , nested PCR では 1 ~ 50pfu/ml のウイルス量があれば検出することができた．1stPCR は 1.0×10^3 ~ 6.0×10^4 pfu/ml が検出限界で，迅速キットは 1.5×10^5 ~ 5.0×10^6 pfu/ml のウイルス量が必要であった．

3) 咽頭拭い液における成績

咽頭拭い液 92 検体のうち，ウイルス分離陽性は 49 検体 (AH 1 型 20 株，AH 3 型 7 株，B 型 22 株) であった．これら分離陽性検体は 2.5 pfu/ml ~ 7.0×10^5 pfu/ml の感染価ウイルス量があり，QuickVue Influenza test は 4.0×10^6 pfu/ml の検

Table 1 Comparison of detection limit(pfu/ml) of cell culture, RT-PCR, QuickVue Influenza test, Directigen Flu A and Influenza OIA

Ditection limit(pfu/ml)	Virus isolate	RT-PCR		Detection Kit		
		nested	1st	QuickVue Influenza test	Directigen Flu A	Influenza OIA
A/Yamagata/32/89(H1N1)	30	3	3.0 × 10 ⁴	3.0 × 10 ⁵	3.0 × 10 ⁵	7.5 × 10 ⁵
A/Beijing/262/95(H1N1)	10	1	1.0 × 10 ⁴	5.0 × 10 ⁵	1.0 × 10 ⁶	1.0 × 10 ⁶
A/Akita/1/94(H3N2)	30	3	3.0 × 10 ⁴	3.8 × 10 ⁵	1.5 × 10 ⁵	7.5 × 10 ⁵
A/Kitakyusyu/159/93(H3N2)	6	6	6.0 × 10 ⁴	6.0 × 10 ⁵	6.0 × 10 ⁵	1.5 × 10 ⁶
B/Gangdong/07/95	10	10	1.0 × 10 ³	5.0 × 10 ⁵	ND*	5.0 × 10 ⁶
B/Mie/1/93	5	50	5.0 × 10 ³	4.8 × 10 ⁵	ND*	4.8 × 10 ⁶

* Not Detected

Table 2 Results of influenza tests(plaque assay, QuickVue Influenza test and RT-PCR) in 27 throat swab samples(influenza A viruses)

Specimen number	Age	Virus type	Plaque assay (pfu/ml)	QuickVue Influenza test	RT-PCR
1	4	AH1	2.5	-	+
2	41	AH1	2.5	-	+
3	1	AH1	10	-	-
4	6	AH1	20	-	+
5	2	AH1	20	-	+
6	4	AH1	4 × 10 ²	-	+
7	2	AH1	4 × 10 ²	+*	+
8	37	AH3	9 × 10 ²	+*	+
9	2	AH1	1 × 10 ³	+*	+
10	0	AH3	1.1 × 10 ³	+	+
11	36	AH1	1.9 × 10 ³	-	+
12	31	AH3	3.7 × 10 ³	+	+
13	6	AH1	4 × 10 ³	-	+
14	20	AH3	5 × 10 ³	+*	+
15	69	AH3	5.6 × 10 ³	+	+
16	3	AH1	8 × 10 ³	+	+
17	0	AH1	1 × 10 ⁴	+	+
18	27	AH3	2 × 10 ⁴	+*	+
19	22	AH1	2.5 × 10 ⁴	+	+
20	18	AH1	3 × 10 ⁴	+	+
21	7	AH1	4 × 10 ⁴	+	+
22	3	AH1	8 × 10 ⁴	+	+
23	39	AH1	1.1 × 10 ⁵	+	+
24	49	AH1	1.7 × 10 ⁵	+	+
25	37	AH1	2 × 10 ⁵	+	+
26	1	AH3	4 × 10 ⁵	+	+
27	6	AH1	7 × 10 ⁵	+	+

* : Weak-positive

体でも陽性を示したものがあつた(Table 2 ,3). ウイルス分離陽性 49 検体中, キット陽性は 37 検体 (AH 1 型 12 株, AH 3 型 7 株, B 型 18 株), 陰性は 12 検体であつた . ウイルス分離陰性 43 検体中,

40 検体はキットも陰性で一致し, 3 検体は陽性を示した . この結果, ウイルス分離を基準とした感度は 75.5%(37/49), 特異性 93.0%(40/43), 陽性的中率 92.5%(37/40), 陰性的中率 76.9%(40/52),

Table 3 Results of influenza tests (plaque assay, QuickVue Influenza test and RT-PCR) in 22 throat swab samples (influenza B viruses)

Specimen number	Age	Virus type	Plaque assay (pfu/ml)	QuickVue Influenza test	RT-PCR
1	3	B	<2.5	-	+
2	25	B	<2.5	-	+
3	12	B	20	-	-
4	1	B	8×10^2	+*	+
5	5	B	1.9×10^3	+	+
6	7	B	2×10^3	+	+
7	12	B	3×10^3	+*	+
8	4	B	4×10^3	+*	+
9	22	B	5×10^3	-	+
10	53	B	1×10^4	+	+
11	1	B	1.4×10^4	+	+
12	1	B	2×10^4	+	+
13	7	B	2.2×10^4	+	+
14	6	B	4×10^4	+	+
15	12	B	4×10^4	+	+
16	40	B	6.5×10^4	+	+
17	55	B	1.1×10^5	+	+
18	2	B	1.2×10^5	+	+
19	6	B	2.1×10^5	+	+
20	6	B	2.4×10^5	+	+
21	4	B	4.3×10^5	+	+
22	3	B	6.5×10^5	+	+

* : Weak-positive

Table 4 Comparison of QuickVue Influenza test and cell culture results (n = 92)

		Cell culture		
		A	B	-
QuickVue	+	19	18	3*
Influenza test	-	8	4	40

* 2 samples were RT-PCR positive

Sensitivity A	70.4%
B	81.8%
Total	75.5%
Specificity	93.0%
Positive Predictive Value	92.5%
Negative Predictive Value	76.9%
Efficiency	83.7%

Table 5 Comparison of QuickVue Influenza test and RT-PCR results (n = 92)

		RT-PCR		
		A	B	-
QuickVue	+	19	20	1
Influenza test	-	10	5	37

Sensitivity A	65.5%
B	80.0%
Total	72.2%
Specificity	97.4%
Positive Predictive Value	97.5%
Negative Predictive Value	71.2%
Efficiency	82.6%

一致率 83.7% (77/92) となった (Table 4)。

インフルエンザウイルス以外ではアデノウイルス (1型, 2型, 3型, 4型, 6型) 7株, 単純ヘルペスウイルス 1型 1株, エコーウイルス 25型 1株が分離されたが, QuickVue Influenza test は陰性で

あった。

一方, RT-PCR 陽性は 54 検体 (AH1 型 19 株, AH3 型 10 株, B 型 25 株) であった。このうち 6 検体は分離陰性で, その内訳は AH3 型が 3 株, B 型が 3 株であった。RT-PCR 陽性 54 検体中, キッ

ト陽性は39検体(AH1型12株, AH3型7株, B型20株), 陰性は15検体であった。RF-PCR陰性38検体中, キットでは37検体が陰性で一致し, この結果, RT-PCRを基準とした感度は72.2%(39/54), 特異性97.4%(37/38), 陽性的中率97.5%(39/40), 陰性的中率71.2%(37/52), 一致率82.6%(76/92)となった(Table 5)。型別の感度を比較したところ, ウイルス分離に対してA型70.4%(19/27), B型81.8%(18/22), RT-PCRに対してはA型65.5%(19/29), B型80.0%(20/25)であった。

考 察

インフルエンザの治療および診断は抗ウイルス剤の開発に伴いここ数年で様変わりした。1998年11月にA型インフルエンザ治療薬として塩酸アマンタジンが追加承認され¹¹⁾, また, 2001年2月にはA, B型インフルエンザ治療薬として吸入薬ザナミビル(グラクソ・スミスクライン)と経口薬リン酸オセルタミビル(日本ロッシュ)が保険適用された¹²⁾。いずれの治療薬も感染初期に投与しなければ効果が低く¹³⁾⁻¹⁵⁾, 迅速診断キットによるインフルエンザの診断は有用性が高い。現在商品化されている診断キットはEIA法を原理としたキットが最も多い¹⁾⁻⁷⁾。しかし, 簡略化されているとはいえ判定には何段階かの操作が必要である。一方, イムノクロマトグラフィー法を原理としたQuickVue Influenza testは1999年11月に米国で発売され, ワンステップ操作を特徴としたキットとしてさらに簡便な操作となっている。

今回行った基礎検討では, QuickVue Influenza testの検出限界は $3.0 \times 10^5 \sim 6.0 \times 10^5$ pfu/mlで, A型についてはEIA法による他の診断キットとの大きな差は見られなかった。B型についてはインフルエンザOIAとの比較のみであるが, 10倍程度感度が高かった。

咽頭拭い液における検討では, $10^2 \sim 10^3$ pfu/mlでも検出することができ, 基礎検討における検出限界と差が生じた。この理由として咽頭拭い液中に感染性のない不完全粒子が存在しこれらが反応していることや, 培養を阻害する抗体等の物質が感染価ウイルス量を低く抑えている可能性が考

えられた。基礎検討の結果から 10^5 pfu/ml以上のウイルス量があれば明瞭に判定できることを考えると, 希釈に用いる液量を最少にするなど咽頭拭い液の採取手技を工夫することでさらに検出率が上がるものと思われた。

感度の比較では分離を基準とした場合75.5%, PCRを基準とした場合72.2%であった。QuickVue Influenza testの検体には鼻腔拭い液と鼻腔洗浄液および鼻腔吸引液が指定されているが, 添付書記載の鼻腔拭い液(感度73%・特異性96%)や鼻腔吸引液(感度81%・特異性99%)に劣らず, 咽頭拭い液でも十分な感度・特異性を示した。各種迅速キットの検討における咽頭拭い液の感度は10.4~92.3%という報告^{12) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10)}があり, 遜色のない結果と思われる。A型とB型を検出できる他の迅速キットでは, A型を検出する場合の方がB型より感度が良いとの報告がある^{4) (8)}。今回の実験では同じ感染価ウイルス量の咽頭拭い液でも, B型を検出する場合の方がより強い陽性を示す傾向が見られ, A型より判定が容易であった。分離に対するB型の感度(81.8%)は添付書記載の鼻腔吸引液の感度(81%)と同等であり, B型インフルエンザの流行期では高い検出率が期待できると思われた。

分離陽性49検体中8検体, 分離陰性43検体中3検体は判定に迷うほどの弱陽性であった。分離陽性8検体中の感染価ウイルス量をみると $4.0 \times 10^2 \sim 2.0 \times 10^4$ pfu/mlのウイルスが存在し, これらが検出限界ぎりぎりでも反応したものと考えられた。一方, 分離陰性3検体のうち2検体はRT-PCRで陽性となった。感染性を失活したウイルスでは分離陰性となるので, この2検体中にはキットで反応できるウイルスが存在していたと考えられた。したがって, ウイルス分離とRT-PCRのどちらも陰性で, QuickVue Influenza testが陽性を示した偽陽性は1検体のみとなり, 高い特異性を示した。このキットの反応は時間の経過とともに反応液がテストストリップの上部ろ紙に吸い込まれる仕組みになっている。反応が進むにつれ背景が白くきれいになり, 判定ラインでの赤色帯が見やすくなる傾向があった。弱陽性例については判定

時間後もう一度陰性コントロールと比べるなど確認することを推奨する。

これまでの報告では鼻腔検体の方が咽頭ぬぐい液検体よりキットの検出感度・特異度が高く推奨されているが⁴⁾、成人特に高齢者においては鼻腔の乾燥や鼻腔検体を得ることが困難な場合があることが指摘されている¹⁶⁾。また、ウイルス分離を目的とした検体は咽頭拭い液やうがい液が多く、鼻腔検体に限ることは難しい。今回検討した咽頭拭い液は4mlの輸送培地で希釈したものを使用しているが、実際にはキット添付の希釈液300μlに拭い棒を直接混和するので、今回の約10倍の濃度を検体に使用することになり、より高い感度が期待できると考える。

イムノクロマトグラフィー法を原理としたキットはHIV、アデノ、ロタ、B型肝炎ウイルスの抗原・抗体検出、腸管出血性大腸菌の毒素検出等インフルエンザ以外の感染症分野に広く使用されており^{17)~19)}、高い特異性、迅速性、操作性の簡便さを特徴としている。この原理を利用したQuick-Vue Influenza testは従来のインフルエンザ迅速キットと同等の感度、特異性を備え、ワンステップで検出できる簡便なキットとして臨床サイドでの有用性は高いと考える。

文 献

- 1) 清水英明, 渡邊寿美, 川上千春, 平位芳江, 木村和弘, 菅谷憲夫, 他: ELISAを用いたA型インフルエンザウイルス迅速診断キットの検討. 感染症誌 1998; 72: 522-6.
- 2) 渡邊寿美, 清水英明, 川上千春, 今井光信: インフルエンザウイルス抗原迅速検出キットの検討. 感染症誌 1999; 73: 1199-204.
- 3) 山崎雅彦, 木村和弘, 渡邊寿美, 込山 修, 御宿百合子, 山本敬一, 他: 鼻咽頭吸引液を検体としたOptical Immunoassay法によるインフルエンザ迅速診断. 感染症誌 1999; 73: 1064-8.
- 4) 三田村敬子, 菅谷憲夫, 清水英明, 菲澤真理, 高橋浩治, 平位芳江, 他: Optical ImmunoassayによるA, B型インフルエンザウイルス迅速診断キットの臨床的検討. 感染症誌 1999; 73: 1069-73.
- 5) 武内可尚, 清水英明: A型インフルエンザウイルス検出EIA試薬キットの評価. 感染症誌 2000; 74: 841-4.
- 6) 清水英明, 渡邊寿美, 川上千春, 平位芳江, 三田村敬子, 菅谷憲夫, 他: インフルエンザウイルスA型・B型を鑑別できる迅速診断キットの感度と特異性. 感染症誌 2000; 74: 1038-43.
- 7) 山崎雅彦, 木村和弘, 三田村敬子, 渡部寿美, 込山修, 山本敬一, 他: A, B型を区別して検出可能な迅速診断キットの臨床的検討. 感染症誌 2000; 74: 1032-7.
- 8) 三田村敬子, 山崎雅彦, 菅谷憲夫, 木村和弘, 菲澤真理, 高橋浩治, 他: ノイラミニダーゼ活性性を利用したA, B型インフルエンザウイルス迅速診断キットの臨床的検討. 感染症誌 2000; 74: 12-6.
- 9) 飛田清毅: MDCK細胞によるインフルエンザウイルスの分離. 臨床とウイルス 1976; 4: 58-61.
- 10) 清水英明, 渡邊寿美, 今井光信: Nested-PCR法によるインフルエンザウイルスの検出. 感染症誌 1997; 71: 522-6.
- 11) 菅谷憲夫: これからの日本のインフルエンザ対策. 日本医事新報 2000; 3994: 1-7.
- 12) 厚生労働省告示第24号: 官報第3047号.
- 13) Mont AS, Fleming DM, Henry D, Groot R de, Makela M, Klein T, et al.: Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza A and B virus infections. J Infect Dis 1999; 180: 254-61.
- 14) Treanor JJ, Hayden FG, Vrooman PS, Barbarash R, Bettis R, Riff D, et al.: Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor oseltamivir in treating acute influenza. JAMA 2000; 283: 1016-24.
- 15) 松本慶蔵: ノイラミニダーゼ阻害薬. 総合臨床 2000; 49: 294-9.
- 16) 池松秀之, 鍋島篤子, 鍋島茂樹, 角田恭治, 前田尚康, 鄭 湧, 他: 一般成人及び高齢者におけるインフルエンザ迅速診断キットの有用性についての検討. 感染症誌 1999; 73: 1153-8.
- 17) 今井敏彦, 小林栄治, 飯沼一茂, 茗荷昭夫: イムノクロマト法. 臨床と微生物 1998; 25: 803-9.
- 18) 柏木征三郎, 林 純, 有山 巖, 沢山泰典, 古庄憲浩: イムノクロマトグラフィー法を利用した血中抗HIV-1/2抗体検出用キット「ダイナスクリーン・HIV-1/2」の基礎的、臨床的検討. 新薬と臨床 1999; 48: 111-8.
- 19) 黒川 学, 宮田 勉, 村瀬 稔, 仲西寿男: イムノクロマト法を用いたシガ毒素の迅速検出法の検討. 感染症誌 2001; 75: 270-5.

Evaluation of Immunochromatography Method for Rapid Detection of Influenza A and B Viruses

Chiharu KAWAKAMI¹⁾, Hideaki SHIMIZU²⁾, Sumi WATANABE³⁾, Miwako SAIKUSA¹⁾,
Tetsuya MUNEMURA¹⁾, Keiko MITAMURA⁴⁾, Norio SUGAYA⁴⁾ & Mitsunobu IMAI³⁾

¹⁾Yokohama City Institute of Health

²⁾Kawasaki City Institute of Public Health

³⁾Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory

⁴⁾Department of Pediatrics, Nippon Kokan Hospital

We have evaluated a new rapid detection kit for influenza A and B viruses, known as the QuickVue Influenza test (Quidel Coporation, USA); which is based on immunochromatography using virus isolates and clinical specimens.

Twelve strains of influenza A and B were tested for evaluate the reactivity and detection limits of this test. The QuickVue Influenza test showed a positive result for all twelve strains of influenza virus and a negative result for fourteen different kinds of other respiratory viruses. The detection limits for six strains were 5 to 30 pfu/ml for a cell culture, 1.0×10^3 to 6.0×10^4 pfu/ml for 1st PCR, 1 to 50 pfu/ml for nested PCR, 3.0×10^5 to 6.0×10^5 pfu/ml for the QuickVue Influenza test, 1.5×10^5 to 1.0×10^6 pfu/ml for the Directigen Flu A, and 7.5×10^5 to 5.0×10^6 pfu/ml for the FLU OIA.

Furthermore, the QuickVue Influenza test were clinically evaluated using 92 throat swab specimens collected from patients with influenza-like illnesses.

By cell culture, influenza viruses were detected in 49 of the 92 specimens (AH1N1 : 20, AH3N2 : 7, B : 22); the titers of the influenza viruses were between 2.5 pfu/ml and 7.0×10^5 pfu/ml. Compared to cell culture, the QuickVue Influenza test showed a sensitivity of 75.5%, a specificity of 93.0%, a positive predictive value of 92.5%, a negative predictive value of 76.9%, and an efficiency value of 83.7%. On the other hand, influenza viruses were detected in 54 of the 92 specimens (AH1N1 : 19, AH 3N2 : 10, B : 25) by RT-PCR. Compared to RT-PCR, the QuickVue Influenza test showed a sensitivity of 72.2%, a specificity of 97.4%, a positive predictive value of 97.5%, a negative predictive value of 71.2%, and an efficiency value of 82.6%. Overall, only one throat swab specimen produced a false positive result using the QuickVue Influenza test ; thus, this test appears to have a high specificity.

We conclude that the QuickVue Influenza test is a simple one-step test with a sensitivity and specificity equivalent to those of other conventional diagnostic kits. The test is useful and suitable for the diagnosis of influenza and for identifying influenza patients requiring antiviral therapy.