

# A型, B型の鑑別が可能なインフルエンザ迅速診断キット改良型「ポクテム インフルエンザ A/B」の評価

高橋 和郎<sup>\*1</sup>, 加瀬 哲男<sup>\*1</sup>, 森川 佐依子<sup>\*1</sup>, 岡本 健治<sup>\*2</sup>,  
浜本 芳彦<sup>\*3</sup>, 馬場 宏一<sup>\*4</sup>, 奥野 良信<sup>\*1</sup>

\*1 大阪府立公衆衛生研究所感染症部：大阪市東成区中道1丁目3-69 (〒537-0025)

\*2 岡本医院

\*3 浜本小児科

\*4 医療法人宏知会ばば小児科

## SUMMARY

A型, B型の鑑別が可能なインフルエンザ迅速診断キット改良型「ポクテム インフルエンザ A/B」について基礎的および臨床検体を用いた性能を評価した。その結果, 改良キットは現行キットに比べ発色強度が向上し, 判定に必要な所要時間が短縮されていることが確認された。市販の5種のキットを対象に, A, B型のワクチン株を用いた検出感度の比較では, 同等あるいはやや優れた感度を示した。また, 改良キットは現行キットと同様に, すべてのHA亜型ウイルス(27株)とB型ウイルス(5株)に型特異的に反応し, これら以外の21種のウイルスや25種の細菌類とは交差反応性を認めなかった。インフルエンザ様症状を示した患者からの臨床検体計281検体を用いて, 市販キットAを対照に結果の相関性を検討し, A, B型ともに両キット間に高い一致性を認めた。同じ臨床検体を用いて, ウイルス分離との相関性を検討した。3種(鼻腔吸引液, 鼻腔拭い液, 咽頭拭い液)の臨床検体において, 改良キットはA型, B型ともに高い感度を示した。特異性も全般に高い値を示したが, 一部の場においては, 改良キットで陽性, ウイルス分離が陰性の検体がみられ, やや低い値を示した。しかし, これらの不一致例をnested RT-PCR法で確認したところ, すべての検体で型特異的にウイルス遺伝子を検出し, 改良キットの結果が偽陽性でなく型特異的に正確に検出していることが判明した。以上より, 改良キットは感度, 特異性ともに他の市販キットと同等か, やや優れた性能を有し, 臨床領域でのインフルエンザの迅速診断法として有用であると考えられる。

**Key Words** インフルエンザ, 迅速診断キット, イムノクロマトグラフィ, ポクテム

## はじめに

現在, インフルエンザの診断には数種類の迅速診断キットが外来診療において使用されており, その発売より現在に至るまで患者の診断に威力を発揮してきた<sup>1-11)</sup>。我々は2002年に, 迅速診断キットの1つであるポクテム インフルエンザ A/B(シスメックス社, 以下ポクテム)の性能を評価し報告した<sup>12)</sup>。その後, 同キットの改良がなされ, 今回性能を再評価したので報告する。

## 材料と方法

### 1. 検体

#### 1) インフルエンザウイルス株

インフルエンザA型ウイルス(以下, A型)27株及びインフルエンザB型ウイルス(以下, B型)5株のストックウイルス液を, Madin-Darby Canine Kidney(MDCK)cellに感染させ, 細胞全体に細胞変性効果(CPE)を認めた時点で回収, 遠心し細胞上清

を採取して - 80 に保存した。ストックウイルス液の感染価は、ペルオキシダーゼ・抗ペルオキシダーゼ染色法を用いたフォーカス計数法<sup>13)</sup>により決定した(単位：Focus Forming Unit；FFU)。

2) A型およびB型以外のウイルス株及び細菌類

A型およびB型以外のウイルス21株(表1)を細胞培養にて増殖させストックウイルス液を調整した。また細菌類25株(表1)を各々の増殖培地で増殖させ、ストック液を調製し実験に供した。

3) 臨床検体

対象患者

2004年～2005年シーズンに岡本医院、浜本小児科およびばば小児科の3施設に、かぜ様症状を呈して受診し、次の3点の基準を満たす患者を対象患者とした。

- ・ 38 以上の発熱がある。
- ・ 発症(発熱)から3日以内である。
- ・ 臨床的所見からインフルエンザウイルス感染の

疑いがある。

本研究課題は大阪府立公衆衛生研究所の倫理委員会において承認されている。本人あるいは保護者に対して研究内容を説明し、インフォームドコンセントの承諾が得られた患者から検体を採取した。

検体採取

採取した臨床検体は、鼻腔吸引液180例、鼻腔拭い液84例、咽頭拭い液17例である。

鼻腔吸引液は、吸引トラップにキット付属の綿棒を浸漬して、綿棒に採取した。鼻腔拭い液および咽頭拭い液は、キット添付文書に従いキット付属の綿棒に採取した。綿棒に採取した検体を、操作法に従いポクテムの検体抽出試薬で抽出してポクテム測定用検体(抽出試料)とした。対照検査キット用検体として、それぞれキット毎に1本ずつ綿棒を使用した。

採取した検体は速やかに検査に供し、保存する場合は綿棒に採取した状態で冷蔵24時間以内とし

表1. ポクテムとの交差反応性の検討に用いたウイルス株と細菌類

ウイルス	細菌類
Adenovirus Type 1	Candida albicans
Adenovirus Type 2	Escherichia coli
Adenovirus Type 3	Enterococcus faecalis
Adenovirus Type 4	Haemophilus influenzae
Adenovirus Type 5	Klebsiella pneumoniae
Adenovirus Type 6	Listeria monocytogenes
Adenovirus Type 7	Moraxella catarrhalis
Coxsackievirus Type A9	Proteus vulgaris
Coxsackievirus Type B5	Pseudomonas aeruginosa
Coxsackievirus Type B6	Serratia marcescens
Echovirus Type 2	Staphylococcus aureus
Echovirus Type 3	Staphylococcus epidermidis
Echovirus Type 6	Streptococcus agalactiae
Echovirus Type 9	Streptococcus group C
Echovirus Type 11	Streptococcus group F
Echovirus Type 25	Streptococcus group G
Echovirus Type 30	Streptococcus mutans
Enterovirus Type 71	Streptococcus pneumoniae
Influenza virus C/JJ/50	Streptococcus pyogenes A
Mumps virus	Streptococcus sanguis
Respiratory syncytial virus	Mycoplasma pneumoniae
	Mycoplasma fermentans
	Mycoplasma hominis
	Corynebacterium diphtheriae
	Bordetella pertussis

た。同時に別の綿棒に採取した検体を生理食塩水またはハンス液で抽出して2分割し、一部をウイルス分離・タイピング検査に供した。残る一部を-20℃に凍結保存してnested RT-PCR検査に供した。その内、鼻腔拭い液4例はウイルス分離試験が成立しなかった。

## 2. 迅速診断方法

### 1) ポクテム(評価キット)

ポクテムは着色ラテックスを用いたイムノクロマト法を原理とするA型およびB型インフルエンザウイルス抗原検出キットである。今回、我々は従来キットおよび改良キットの評価を行った。改良キットの操作法を図1に示す。

### 2) 対照検査

対照キットとして市販の5キットを使用した。対照キットは、それぞれのキットのマニュアルに従って抗原検出検査を行った。

## 3. ウイルス分離

臨床検体からのウイルス分離は定法に従って行った。鼻腔吸引液および鼻腔拭い液をMDCK細胞に感染させて培養し、CPEが出現すればウイルスをさらに増殖させストックウイルス液を作製した。ウイルスの型は、型特異抗体を用いて酵素抗体法による染色法で決定した。

## 4. nested RT-PCR法

臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検出は、定法に従って nested RT-PCR法を用いて行った<sup>14)</sup>。プライマーにはA、B型のヘマグルチニン遺伝子に特異的な配列を用いた。増幅産物はアガロース電気泳動を行い、A、B型特異プローブを用いてサザンブロットを行って確認した。この方法の検出感度は、ワクチン株を用いた場合 $10^0 \sim 10^1$  FFU/mLである。

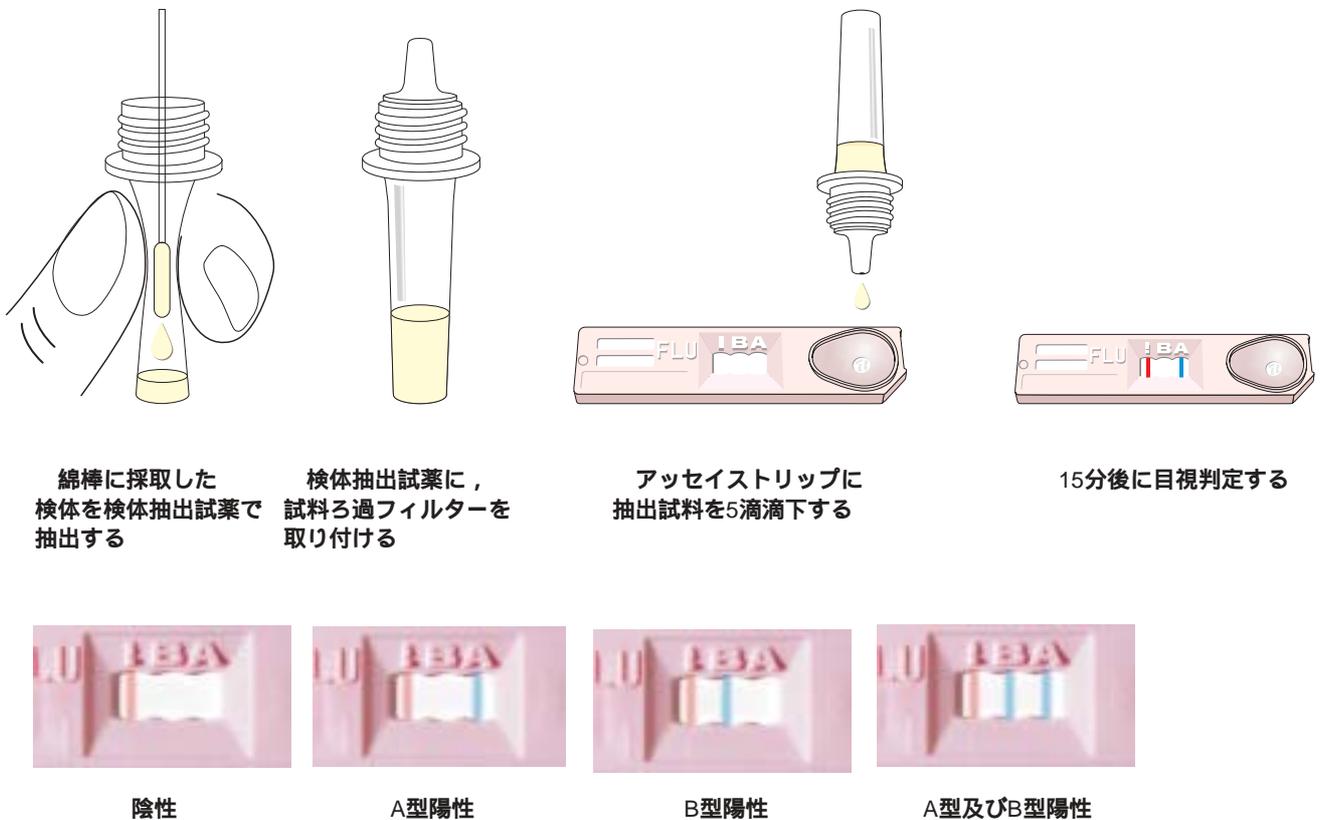


図1. ポクテムの標準操作法

## 5. 性能評価方法

### 1) 発色強度の検討

臨床検体(A型1例, B型1例)の抽出試料を検体として, 操作法に従ってポクテムで測定し, 従来キットと改良キットの陽性ラインの発色強度を肉眼的に比較した。

### 2) 結果判定に必要な反応時間の検討

臨床検体(A型12例, B型14例)の抽出試料を検体として, 操作法に従ってポクテムで測定し, 従来キットと改良キットの陽性ラインの出現時間を比較した。出現時間は反応開始後, 最初に肉眼的に発色を認めた時間とした。また, ポクテムは反応開始直後に濾紙上が青く染色され, 時間と共に青みが消え, 明瞭な陽性ラインが出現する。そこで同時に, 臨床検体40例の抽出試料を検体として, 操作法に従ってポクテムで測定し, 従来キットと改良キットの青いバックグラウンドの反応開始からの消失時間を比較した。

### 3) インフルエンザウイルスに対する検出感度の決定

A型2株及びB型2株のストックウイルス液を2倍系列希釈した検体を, 改良キットと市販5キットの操作法に従い, 付属の綿棒で採取して測定し検出限界を決定し比較した。この検出感度の決定は2回行い確認した。

### 4) インフルエンザウイルス株との反応性の検討

A型のすべての亜型27株及びB型5株のストックウイルス液を $2 \times 10^6$ FFU/mLに調製し, その150 $\mu$ Lをポクテムの検体抽出試薬0.8mLに加えてよく混和し, ポクテム測定の検体(抽出試料)とした。抽出試料を操作法に従って改良キットで測定した。

### 5) A型およびB型以外のウイルスと細菌類に対する交差反応性の検討

主に咽頭炎や上気道炎を起こすA型およびB型以外のウイルス21株, および細菌類25株(表1)のストック液を $1 \times 10^6$ 個/mL以上に調製し, その150 $\mu$ Lをポクテムの検体抽出試薬0.8mLに加え, よく混和してポクテム測定の検体(抽出試料)とした。抽出試料を操作法に従って改良キットで測定した。

### 6) 臨床性能評価

臨床検体(鼻腔吸引液180例, 鼻腔拭い液84例, 咽頭拭い液17例)を改良キットおよび

市販対照キットAを用いて, 各診断キットの操作法に従って測定し判定結果を比較した。

## 結果

### 1. 改良キットの発色強度の検討

鼻腔拭い液の臨床検体(A型, B型各1検体)について改良キットと従来キットで検査し, 発色強度を肉眼的に比較した(図2)。A, B型双方について, 改良キットは従来キットより発色強度が強くなり, 目視判定がより容易となった。

### 2. 改良キットの結果判定に必要な反応時間の検討

A型12例, B型14例の臨床検体を用いて, キットの検査反応開始後の陽性ラインが出現する割合を経時的に算出し(図3)に示した。A型については(図3-a), 検討に用いたすべての臨床検体を結果判定するのに必要な反応時間は, 現行キットの場合少なくとも18分を要したが, 改良キットでは10分に短縮され相当な改善が認められた。B型についても(図3-b), 15分から7分に短縮された。また, ポクテムは反応直後, る紙全体が青色を帯び, 反応時間が経つにつれ, その青色のバックグラウンドは消失していき, 陽性ラインが出現してくる。図3-cに示すように, 改良キットでは従来キットよりバックグラウンドの消失時間が20分から14分と早くなり陽性の確認がより短時間で可能となった。

### 3. インフルエンザウイルスに対する検出感度の決定

改良キットおよび市販の5種のキットにおける4種のインフルエンザウイルスに対する検出感度の測定結果を表2に示す。改良キットでは, A型においてはA/Panama/2007/99(H3N2)およびA/New Caledonia/20/99(H1N1)を被検ウイルスとして用いた場合, 検出限界はそれぞれ $1.3 \times 10^3$ ,  $2.5 \times 10^3$ FFU/mLであった。また, B型においてはピクトリア系統株のB/Shandong/7/97および山形系統株のB/Yamanashi/166/98を被検ウイルスとして用いた場合, 検出限界はそれぞれ $3.8 \times 10^2$ ,  $5.0 \times 10^3$ FFU/mLであった。対照のキットとの比較については, A型のA/Panama/2007/99において,



図2. 改良キットと現行キットの発色強度の比較  
同一の臨床検体 (A, B型それぞれ1検体) を用いて改良キットと現行キットで反応させ、陽性ラインの発色強度を示す。

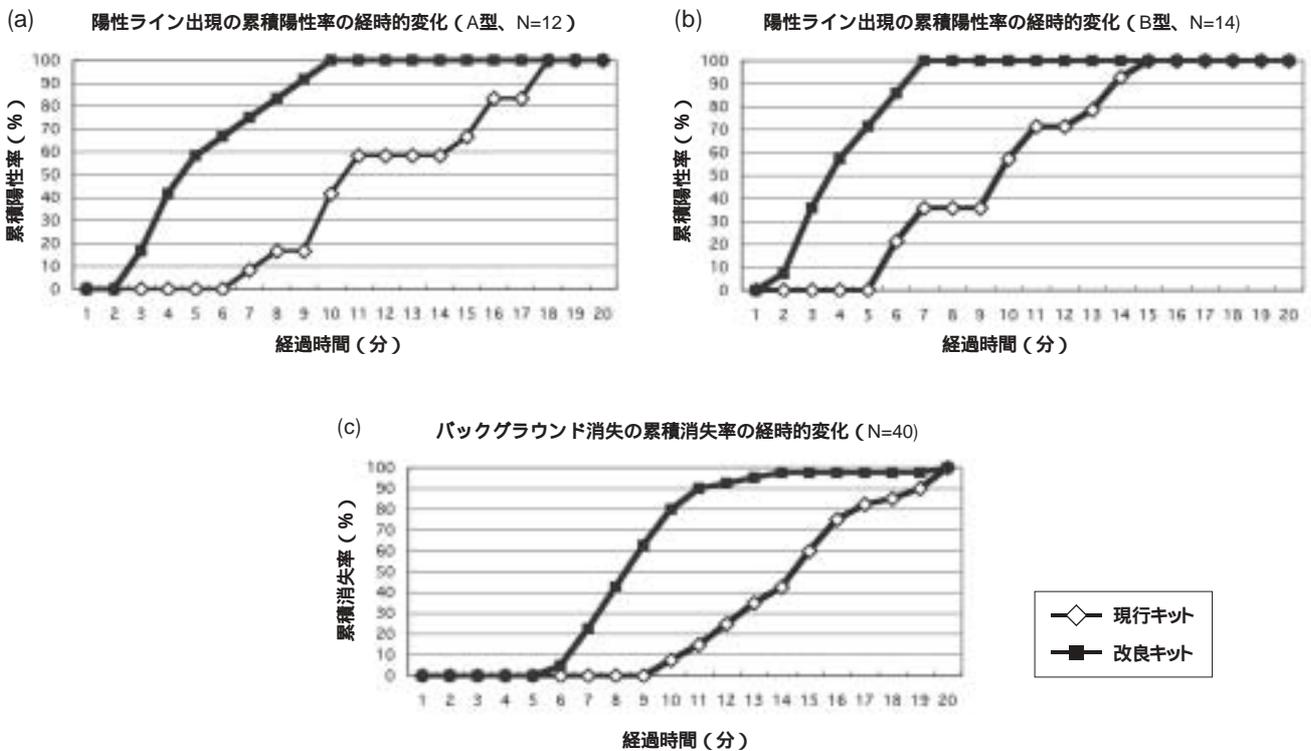


図3. ポクテムの結果判定に必要な反応時間の検討

ポクテム改良キットでA型 (a) あるいはB型 (b) が陽性であった鼻腔吸引液または鼻腔拭い液の検体それぞれ12あるいは14検体を用いて、改良キットおよび現行キットで同時に反応させ、経時的に陽性と判定した検体の累積陽性率を示す。また、鼻腔吸引液または鼻腔拭い液40検体 (A型12検体、B型14検体、陰性14検体) を用いて、反応後のバックグラウンドが消失した検体の累積消失率を経時的に示す (c)。

表 2 . 各種迅速診断キットにおけるインフルエンザウイルスに対する検出感度

+ : 陽性 , - : 陰性 , NT: 未検査

インフルエンザウイルス株	感染力価 (FFU/mL)	ボクテム	A	B	C	D	E
A/Panama/2007/99 (H3N2)	$2.1 \times 10^4$	+	NT	NT	+	+	NT
	$1.0 \times 10^4$	+	+	NT	+	+	+
	$5.2 \times 10^3$	+	+	NT	-	-	+
	$2.6 \times 10^3$	+	+	NT	-	-	-
	$1.3 \times 10^3$	+	-	+	-	NT	-
	$6.5 \times 10^2$	-	-	-	-	NT	-
	$3.3 \times 10^2$	-	NT	-	NT	NT	NT
A/NewCaledonia/20/99 (H1N1)	$4.0 \times 10^4$	+	NT	NT	+	+	NT
	$2.0 \times 10^4$	+	+	NT	+	+	+
	$1.0 \times 10^4$	+	+	NT	+	+	+
	$5.0 \times 10^3$	+	+	+	+	+	-
	$2.5 \times 10^3$	+	+	+	-	-	-
	$1.3 \times 10^3$	-	-	-	-	NT	-
	$6.3 \times 10^2$	-	NT	-	NT	NT	NT
B/Shandong/7/97 (ピクトリア系)	$3.0 \times 10^3$	NT	NT	NT	+	NT	NT
	$1.5 \times 10^3$	+	+	NT	-	+	+
	$7.6 \times 10^2$	+	+	NT	-	+	+
	$3.8 \times 10^2$	+	+	+	-	+	-
	$1.9 \times 10^2$	-	-	+	-	-	-
	$9.5 \times 10^1$	-	-	-	-	NT	-
	$4.8 \times 10^1$	-	-	-	-	NT	-
B/Yamanashi/166/98 (山形系)	$4.0 \times 10^4$	+	+	NT	+	+	+
	$2.0 \times 10^4$	+	+	NT	-	+	+
	$1.0 \times 10^4$	+	+	+	-	+	-
	$5.0 \times 10^3$	+	-	-	-	-	-
	$2.5 \times 10^3$	-	-	-	-	NT	-
	$1.3 \times 10^3$	-	-	-	-	NT	-

対照キットで最も高い検出感度であったBキットと同程度の感度であり, A/New Caledonia/20/99についても対照キットで最も高い検出感度であったA, Bキットと同程度の検出感度を示した。B型のB/Shandong/7/97については, 対照キットで最も高い

検出感度であったキットBよりは2倍検出感度が低かったが, キットA, Dとは同程度の高い検出感度であった。B/Yamanashi/166/98については, 対照キットで最も高い検出感度であったキットA, B, Dよりさらに2倍の高検出感度を示した。

表3. ポクテムと種々のインフルエンザウイルス株との反応性

インフルエンザ A 型ウイルス株	判定
A/Beijing/262/95(H1N1)	A
A/New Caledonia/20/99(H1N1)	A
A/Bangkok/10/83(H1N1)	A
A/Yamagata/120/86(H1N1)	A
A/Yamagata/32/89(H1N1)	A
A/PR/8/34(H1N1)	A
A/Okuda/57(H2N2)	A
A/Wyoming/3/03(H3N2)	A
A/Aichi/2/68(H3N2)	A
A/Sydney/5/97(H3N2)	A
A/Panama/2007/99(H3N2)	A
A/Fukuoka/C29/85(H3N2)	A
A/Sichuan/2/87(H3N2)	A
A/Kitakyusu/159/93(H3N2)	A
A/Budgreiger/Aichi/1/77(H3N8)	A
A/Duck/Czechoslovakia/1/56(H4N6)	A
A/Turkey/Ontario/7732/66(H5N9)	A
A/Shearwater/Australia/1/72(H6N5)	A
A/Tufted duck/Shimane/124R/80(H7N7)	A
A/Turkey/Ontario/6118/68(H8N4)	A
A/Turkey/Wisconsin/66(H9N2)	A
A/Chicken/Germany/N/49(H10N7)	A
A/Duck/England/56(H11N6)	A
A/Duck/Alberta/60/76(H12N5)	A
A/Gull/Maryland/704/77(H13N6)	A
A/Mallard/Astrakhan/263/82(H14N5)	A
A/Duck/Australia/341/83(H15N8)	A

インフルエンザ B 型ウイルス株	判定
B/Lee seed/40	B
B/Shandong/7/97	B
B/Yamanashi/166/98	B
B/Johannesburg/5/99	B
B/Shanghai/361/02	B

#### 4. 種々のインフルエンザウイルス株との反応性の検討

A型27株及びB型5株に対するポクテムの反応性の結果を表3に示す。改良キットはA型のH1からH15までのすべての亜型27株とB型の5株について型特異的に検出可能であった。

#### 5. A型およびB型以外のウイルスと細菌類に対する交差反応性の検討

A型およびB型以外の主に咽頭炎や上気道炎を起こすウイルス21株及び細菌類25株(表1)に対しては、ポクテムの反応性はすべて陰性であり、交差反

応性は認められなかった。

## 臨床性能評価

### 1. 市販キットとの相関

臨床検体(鼻腔吸引液180例, 鼻腔拭い液84例及び咽頭拭い液17例)に対する改良キットと市販キットAの判定結果の相関を表4に示す。改良キットでの結果は3種の臨床検体において, 市販キットAの結果と高い一致率を示した。双方の結果が一致しない検体についてはより検出感度の高いnested RT-PCR法により確認検査を行った。その結果, 鼻腔吸引液について, ポクテムでB型陽性であり対照キットで陰性である5検体は, nested RT-PCR法ですべてB型陽性であった。また, 鼻腔拭い液について, ポクテムでB型陽性であり対照キットで陰性である1検体は, nested RT-PCR法でB型陽性であった。

### 2. ウイルス分離との相関

上記臨床検体における, 改良キットとウイルス分離との結果の相関を表5に示す。ウイルス分離陽性は, 鼻腔吸引液180検体で, A型, B型それぞれ27株, 49株であった。ウイルス分離陰性は104検体であった。鼻腔拭い液80検体では, A, B型それぞれ11, 44株が分離され, 25検体が陰性であった。咽頭拭い液17検体では, A, B型それぞれ3, 7株が分離され, 7検体が陰性であった。ポクテムとウイルス分離との相関を比較すると, 鼻腔吸引液ではA型の感度, 特異性はそれぞれ96.3%, 96.7%であり, B型のそれらは100%, 80.2%であった。鼻腔拭い液ではA型の感度, 特異性はそれぞれ100%, 87.0%であり, B型のそれらは97.7%, 91.7%であった。咽頭拭い液ではA型の感度, 特異性はそれぞれ100%, 92.9%であり, B型のそれらは100%, 60.0%であった。ポクテムで陽性を示しウイルス分離が陰性であった検体について, 偽陽性であるのか, あるいは真に陽性であるのかを確認するために, それらの検体についてnested RT-PCR法を用いてインフルエンザウイルス遺伝子の検出を行った。その結果, すべての不一致例(鼻腔吸引液でのA, B型それぞれ4, 26検体, 鼻腔拭い液でのA, B型それぞれ9, 3検体, 咽頭拭い液

表4．ポクテムと市販キットAとの相関性

鼻腔吸引液		対照キットA				計
		A	B	A + B	-	
ポクテム	A	30	0	0	0	30
	B	0	69	0	5	74
	A + B	0	0	1	0	1
	-	0	0	0	75	75
計		30	69	1	80	180

鼻腔拭い液		対照キットA				計
		A	B	A + B	-	
ポクテム	A	20	0	0	0	20
	B	0	46	0	1	47
	A + B	0	0	0	0	0
	-	0	0	0	17	17
計		20	46	0	18	84

咽頭拭い液		対照キットA				計
		A	B	A + B	-	
ポクテム	A	4	0	0	0	4
	B	0	11	0	0	11
	A + B	0	0	0	0	0
	-	0	0	0	2	2
計		4	11	0	2	17

表5．ポクテムとウイルス分離との相関性

1．鼻腔吸引液		ウイルス分離				計	A型感度 : 96.3%(26/27) A型特異性 : 96.7%(148/153) A型一致率 : 96.7%(174/180) B型感度 : 100%(49/49) B型特異性 : 80.2%(105/131) B型一致率 : 85.6%(154/180) 全体一致率 : 82.2%(148/180)
		A	B	A + B	-		
ポクテム	A	26	0	0	4	30	
	B	0	48	0	26	74	
	A + B	0	1	0	0	1	
	-	1	0	0	74	75	
計		27	49	0	104	180	

2．鼻腔拭い液		ウイルス分離				計	A型感度 : 100%(11/11) A型特異性 : 87.0%(60/69) A型一致率 : 88.8%(71/80) B型感度 : 97.7%(43/44) B型特異性 : 91.7%(33/36) B型一致率 : 95.0%(76/80) 全体一致率 : 83.8%(67/80)
		A	B	A + B	-		
ポクテム	A	11	0	0	9	20	
	B	0	43	0	3	46	
	A + B	0	0	0	0	0	
	-	0	1	0	13	14	
計		11	44	0	25	80	

3．咽頭拭い液		ウイルス分離				計	A型感度 : 100%(3/3) A型特異性 : 92.9%(13/14) A型一致率 : 94.1%(16/17) B型感度 : 100%(7/7) B型特異性 : 60%(6/10) B型一致率 : 76.5%(13/17) 全体一致率 : 70.6%(12/17)
		A	B	A + B	-		
ポクテム	A	3	0	0	1	4	
	B	0	7	0	4	11	
	A + B	0	0	0	0	0	
	-	0	0	0	2	2	
計		3	7	0	7	17	

でのA,B型それぞれ1,4検体)においてインフルエンザウイルス遺伝子をすべて型特異的に検出した。また,鼻腔吸引液においてポクテムでA,B型両陽性,ウイルス分離でB型陽性であった1例はnested RT-PCR法でAH3およびB型両方のインフルエンザウイルス遺伝子が検出された。

## 考 察

本研究の結果より,改良キットは現行キットより結果判定がより容易であることが示された。臨床検体を用いた場合(図2)発色強度が増強し,また,陽性ラインの出現時間は,現行キットが20分必要であるのに対して,改良キットでは長くとも10分でラインが確認できた(図3)。これらの実験結果は,改良キットで新たに採用されたモノクローナル抗体の親和性(結合力)が,現行キットで使用されている抗体より強いことを示唆している。

改良キットの検出感度は,A型においてはH3N2のワクチン株であったA/Panama/2007/99と昨シーズンのH1N1のワクチン株であるA/New Caledonia/20/99を被検ウイルスとして用いた場合,それぞれ $1.3 \times 10^3$ と $2.5 \times 10^3$ FFU/mLであり(表2),また,B型においてはビクトリア系統株のB/Shandong/7/97と山形系統株のB/Yamanashi/166/98を被検ウイルスとして用いた場合,それぞれ $3.8 \times 10^2$ と $5.0 \times 10^3$ FFU/mLであった。FFU表示の感染価がプラーク法による感染価の約1/10になることを考慮しても,これら検出限界の感染価は既報の種々迅速キットの検出限界値<sup>7)</sup>と比較しても遜色ない値であると考えられる。実際,表2においてA型に関しては対照キットと同等あるいは2~8倍優れた感度を有している。B型のB/Shandong/7/97に関しては,B社のキットには2倍劣るものの,他のキットと比較しても同等あるいは優れた結果である。また,B/Yamanashi/166/98に対しては最も検出感度が高く,山形株は2005/2006シーズンのB型の流行予測株であるので本キットの有効性が期待される。

改良キットのインフルエンザ特異性についても,現行キットと同様優れた結果であった(表3)<sup>12)</sup>。すなわち,A型のH1からH15までのすべての亜型27株

とB型の5株について型特異的に検出可能であった。また,AおよびB型以外の21種の主に上咽頭に感染するウイルスと細菌25種に対しては反応が認められなかった。改良キットは現行キット同様にH5亜型を検出可能であり,近年,我が国や東南アジア,中国で勃発しているH5亜型のトリインフルエンザに対する診断にも有用性が期待される。

臨床検体を用いた性能評価試験では,対照キットとして市販キットAを用いた。このキットは医療現場で優れた評価を受けているイムノクロマト法による迅速診断キットである。両キットの性能を各種検体(鼻腔吸引液,鼻腔拭い液,咽頭拭い液)について評価した結果,表4に示すように,A,B型ともに高い一致率を示した。鼻腔吸引液,鼻腔拭い液によるB型に対する検査結果において,改良キットで陽性,対照キットで陰性を示した不一致例,それぞれ5あるいは1検体についてnested RT-PCR法を用いて確認を行った。その結果6検体すべてB型陽性であった。以上の結果より,改良キットは対照キットと比較して同等あるいはやや優れた性能を有すると考えられる。

同じ臨床検体を用いて,ポクテム改良キットとウイルス分離との結果の相関性を検討した(表5)。3種(鼻腔吸引液,鼻腔拭い液,咽頭拭い液)のいずれの臨床検体においても,A型,B型ともに高い検出感度を示した。特異性については,鼻腔吸引液でのA型,鼻腔拭い液でのB型,咽頭拭い液でのA型では高い特異性を示したが,残りの場合は満足できる特異性ではなかった。この原因を明らかにするために,ポクテムで陽性でありウイルス分離が陰性であった検体について,偽陽性であるのか,あるいは真に陽性であるのかを確認するために,nested RT-PCR法を用いてウイルス遺伝子の検出を行った。その結果,すべての不一致例において,型特異的にウイルス遺伝子を検出した。この結果により,ポクテムでの結果が正しく,偽陽性ではないことが明確となった。結果的にウイルス分離よりポクテムの検出感度が高い結果となったが,この理由は不明である。可能性として検体中の感染性のあるウイルスが少量である(死滅したウイルスを含めた抗原量は相対的に多い),検体の移送中の温度変化,培養状態の変化などが考

えられる。nested RT-PCR法がより感度が高く Gold standardとなりえるので、今後はnested RT-PCR法での結果との相関性を検討する必要があると考えられる。

## 参考文献

- 1) 池松秀之, 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, 感染症学雑誌 . 73 : 1153 ~ 1158, 1999 .
- 2) 後藤郁男, 他: A型インフルエンザ迅速診断キット(ディレクティジェンFluA)の検出感度と特異性に関する研究, 臨床とウイルス . 28 : 248 ~ 252, 2000 .
- 3) 山崎雅彦, 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, 感染症学雑誌 . 73 : 1064 ~ 1068, 1999 .
- 4) 三田村敬子, 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研究, 感染症学雑誌 . 73 : 1069 ~ 1073, 1999 .
- 5) 渡邊寿美, 他: インフルエンザウイルス迅速診断キットの検討, 感染症学雑誌 . 73 : 1199 ~ 1204, 1999 .
- 6) 山崎雅彦, 他: インフルエンザウイルス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, 感染症学雑誌 . 74 : 1032 ~ 1037, 1999 .
- 7) 清水英明, 他: A型・B型を鑑別できるインフルエンザウイルス迅速診断キットの感度と特異性, 感染症学雑誌 . 74 : 1038 ~ 1043, 1999 .
- 8) 三田村敬子, 他: ノイラミニダーゼ活性を利用した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, 感染症学雑誌 . 74 : 12 ~ 16, 2000 .
- 9) 川上千春, 他: 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, 感染症学雑誌 . 75 : 792 ~ 799, 2001 .
- 10) 山崎雅彦, 他: イムノクロマトグラフィー法によるインフルエンザ迅速診断キットの臨床的検討, 感染症学雑誌 . 75 : 1047 ~ 1053, 2001 .
- 11) 三田村敬子, 他: イムノクロマトグラフィー法によるインフルエンザ迅速診断キットの評価, インフルエンザ . 3 : 105 ~ 109, 2002 .
- 12) 奥野良信, 他: A型, B型の鑑別が可能なインフルエンザ迅速診断キット「ポクテムインフルエンザA/B」の評価, 医学と薬学 . 48 : 895 ~ 904, 2002 .
- 13) Okuno Y, et al : Rapid focus reduction neutralization test of influenza A and B viruses in microtiter system, J Clin. Microbiol. 28 : 1308 ~ 1313, 1990.
- 14) Zhang W, et al (Eds) In : Diagnostic Molecular Microbiology: Principle and Applications , 381 ~ 382 , Washington DC American Society for Microbiology, USA , 1993.

---

# Evaluation of the Improved Rapid Influenza Detection Kit “POCTEM Influenza A/B” with the Ability of Typing the Influenza Virus Type A and B

Kazuo TAKAHASHI<sup>\*1</sup>, Tetsuo KASE<sup>\*1</sup>, Saiko MORIKAWA<sup>\*1</sup>, Kenji OKAMOTO<sup>\*2</sup>,  
Yoshihiko HAMAMOTO<sup>\*3</sup>, Koichi BABA<sup>\*4</sup> and Yoshinobu OKUNO<sup>\*1</sup>

<sup>\*1</sup>Department of Infectious Diseases, Osaka Prefectural Institute of Public Health,  
3-69, Nakamichi 1-chome, Higashinari-ku, Osaka, Japan 537-0025.

<sup>\*2</sup>Okamoto Clinic.

<sup>\*3</sup>Hamamoto Children's Clinic.

<sup>\*4</sup>Baba Children's Clinic

---

## S U M M A R Y

We evaluated the ability of an improved rapid influenza detection kit “POCTEM Influenza A/B” (new kit) which can distinguish influenza virus type A and B. The new kit in comparison with a present kit showed a more distinct positive line and needed less time for development of a positive line. Compared with other 5 kits on the market the new kit also demonstrated an equivalent or even higher sensitivity with the use of vaccine strains of A and B type. Similarly with the present kit it reacted with 27 strains of all HA subtypes of influenza A viruses and all 5 strains of influenza B viruses in a type-specific manner, and exhibited no cross-reactivity with other 21 viruses and 25 bacteria which mainly infect pharynx and upper respiratory tract. With 281 specimens collected from patients with influenza-like illness, the new kit showed a high concordance in both A and B type viruses with the kit A on the market. The performance of the new kit was evaluated by comparison with virus isolation in clinical specimens (180 nasal aspirates, 84 nasal swabs, 17 throat swabs). The kit showed high sensitivity in detecting both A and B viruses. It also exhibited high specificity, however, in some cases of positive POCTEM and negative virus isolation the specificity was not high. Confirmation test of these inconsistent cases by nested RT-PCR demonstrated type-specific influenza virus genomes in all cases, suggesting that the new kit did not show false-positive, but it could correctly identify type-specific influenza virus. These findings suggest that the new kit has an equivalent or better ability in the sensitivity and specificity in comparison with other commercially available kit and useful for rapid diagnosis for influenza.

**Key Words** Influenza, Rapid Detection Kit, Immunochromatography, POCTEM.

---