白金—金コロイドイムノクロマトグラフ法を使用した アデノウイルス検査キットの有用性

¹⁾ 川崎市衛生研究所, ²⁾ 国立感染症研究所感染症情報センター

清水 英明¹⁾ 石丸 陽子¹⁾ 藤本 嗣人²⁾

(平成 20 年 8 月 15 日受付)

(平成 20 年 11 月 5 日受理)

Key words: adenovirus, immunochromatography, rapid diagnosis

序 文

アデノウイルスは咽頭結膜熱などの呼吸器疾患, 流行性角結膜炎などの眼疾患, また, 感染性胃腸炎および出血性膀胱炎等, 多彩な臨床症状を引き起こすウイルスである。現在, A から F の 6 種に分類され, 51 血清型が確認されている。近年, イムノクロマトグラフ法による検査キットがアデノウイルスの診断に用いられ, 臨床現場において汎用されている。現在, 市販されているアデノウイルス検査キットのほとんどが金コロイド標識抗体を使用している¹⁾²⁾。今回, 新たに開発された白金—金コロイド標識抗体を用いたイムノクロマトグラフ法の検査キットであるイムノエース アデノ (タウンズ) について, 検出感度の基礎的検討を行ったので報告する。

材料と方法

川崎市で分離・同定された Ad1 型~8 型, 11 型, 19 型および 37 型の 11 血清型について, Karber の方法³⁾により TCID₅₀/mL を算定し, 10 段階 ($\times 10^{-1} \sim \times 10^{-5}$) および 2 段階 ($\times 2$, $\times 4$ および $\times 8$) 希釈したアデノウイルス希釈液を用いて最小検出感度を測定した。イムノエースアデノの比較対照として, 金コロイド標識抗体を使用しているアデノウイルス検査キットであるキャピリアアデノ (日本ベクトンディッキンソン) およびチェック Ad (アルフレッサファーマ) についても同様に最小検出感度測定した。最小検出感度を求めるにあたり 2 回以上の測定を行った。なお, 各検査キットへのウイルス液の滴下量は 100 μ L とし, 滴下後 15 分後に判定した。

成績と考察

イムノエース アデノは検査に供したすべてのアデノ

Fig. 1 ImunoAce Adeno results

Table 1 ImunoAceAdeno vs. CapiliaAdeno vs. CheckAd

Adenovirus type	ImunoAceAdeno	CapiliaAdeno	CheckAd
1	8.0×10^2	3.2×10^3	1.6×10^3
2	8.0×10^2	3.2×10^3	3.2×10^3
3	1.4×10^2	5.6×10^2	5.6×10^2
4	5.0×10^2	1.0×10^3	1.0×10^3
5	1.6×10^3	3.2×10^3	3.2×10^3
6	1.6×10^3	3.2×10^3	3.2×10^3
7	5.6×10^2	1.4×10^3	1.4×10^3
8	2.5×10^2	1.0×10^3	1.0×10^3
11	1.8×10^3	9.0×10^3	9.0×10^3
19	8.0×10^2	3.2×10^3	3.2×10^3
37	8.0×10^2	3.2×10^3	3.2×10^3

(TCID₅₀/100 μ L)

ノウイルスの血清型で反応し, 白金—金コロイド標識抗体の特徴である黒色のラインが認められた (Fig. 1). 各検査キットの検出限界について, Table 1 に示した。イムノエースアデノでは, 検体中に $1.4 \times 10^2 \sim 1.8 \times 10^3$ TCID₅₀/100 μ L のウイルス量があれば検出可能であった。その値は, 血清型によって異なる (抗原エピトープの差, または目視判定誤差による 2 倍程度

の誤差が見られた)が、キャピリアアデノおよびチェック Ad に比べて2～5 倍検出感度が高かった。この検出感度の上昇がキットの添付文書に記載されたとおり、咽頭ぬぐい液で約 10% 検出率 (57/52 例) が既発品と比べ高い理由と考えられた。別のより感度が高い既発品と比較しても 1.8% (57/56) 感度が高い。交差反応性は、既発のキャピリアアデノ (タウンズ) と同等であった。後者のデータをより詳細に述べると 182 例の咽頭拭い液で陽性一致率 98.1% (不一致例は PCR で陽性を確認)、陰性一致率 96.1%、全体一致率 96.7% であった。

アデノウイルス感染症の検体採取部位は咽頭ぬぐい液あるいは結膜ぬぐい液が主で、検体採取者の手技によって検出感度に差が出る可能性がある。そのため、検査キットの検出感度は高いほうがよく、陽性ラインの色が強いほど、確実な判定が期待できる。今回検討したアデノウイルス検査キットのイムノエースアデノが使用している白金—金コロイドは従来の金コロイドに白金イオンをコーティングしたもので、黒色を呈している。白金—金コロイド溶液 (3.3×10^{10} コロイド粒子/mL) および金コロイド溶液 (9.1×10^{10} コロイド粒子/mL) について、分光光度計 (日立 U-2900) を使用し、波長 340nm～700nm の範囲の波長をスキャンした場合、白金—金コロイドは全領域において金コロイドの吸光度を上回っていた (Fig. 2)。すなわち、白金—金コロイドは従来の金コロイドと比べて発色強度が高く、標識物としての視認性に優れているため、キットの感度も大幅に向上したと考えられる。また、色の違いだけでなく、白金—金コロイドの粒形が大きいことが検出感度に影響していると考えられる。Fig. 1 に示したとおり、結果は明瞭であった。なお、Fig. 1 の陽性で抗原量が多い検体であるため、抗原と結合したコロイド粒子がテストラインでトラップされ、コントロールラインがやや薄くなる従来と同じ現象が見られた。

本邦において、イムノクロマトグラフ法は各種感染症の検査キットとして広く使用されている。白金—金

コロイド粒子を用いることは、現在市販されているイムノクロマトグラフ法の検査キットの検出感度を高める可能性が高く、今後、期待される手法であると考えられた。

文 献

- 1) Fujimoto T, Okafuji T, Okafuji T, Ito M, Nukuzuma S, Chikahira M, *et al.* : Evaluation of a Bedside Immunochromatographic Test for Detection of Adenovirus in Respiratory Samples, by Comparison to Virus Isolation, PCR, and Real-Time PCR. *J Clin Microbiol* 2004 ; 42 : 5489—92.
- 2) 原三千丸：アデノウイルス気道感染症の診断における免疫クロマトグラフィー法を用いたキットの有効性. *日小児会誌* 2002 ; 106 : 42—5.
- 3) 北村 敬：ウイルス検査のための組織培養技術. 近代出版, 東京, 1976 ; p. 186—8.

Evaluation of Immunochromatographic Detection Kit Using Adenovirus Pt-Au Colloid

Hideaki SHIMIZU¹⁾, Yoko ISHIMARU¹⁾ & Tsuguto FUJIMOTO²⁾

¹⁾Kawasaki City Institute of Public Health,

²⁾Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases

[J.J.A. Inf. D. 83 : 64—65, 2009]