

# イムノクロマトグラフィー法と酵素免疫法を組み合わせた 原理によるインフルエンザ迅速検査キットの検討

<sup>1)</sup>川崎市立川崎病院小児科, <sup>2)</sup>座間小児科診療所, <sup>3)</sup>伊勢原協同病院小児科, <sup>4)</sup>横浜市衛生研究所,  
<sup>5)</sup>川崎市衛生研究所, <sup>6)</sup>神奈川県衛生研究所, <sup>7)</sup>慶應義塾大学医学部小児科, <sup>8)</sup>神奈川県警友会けいゆう病院小児科

三田村敬子<sup>1)</sup> 山崎 雅彦<sup>2)</sup> 市川 正孝<sup>3)</sup> 木村 和弘<sup>3)</sup>  
川上 千春<sup>4)</sup> 清水 英明<sup>5)</sup> 渡邊 寿美<sup>6)</sup> 今井 光信<sup>6)</sup>  
新庄 正宜<sup>7)</sup> 武内 可尚<sup>7)</sup> 菅谷 憲夫<sup>8)</sup>

(平成 16 年 2 月 17 日受付)

(平成 16 年 6 月 18 日受理)

---

Key words : influenza, rapid diagnosis, immunochromatography, enzyme immunoassay

---

## 要 旨

イムノクロマトグラフィー法と酵素免疫法を組み合わせた原理により, A 型および B 型インフルエンザウイルスを鑑別して検出する迅速検査試薬の改良試作品: エスプラインインフルエンザ A & B-N (富士レビオ) について検討した. 基礎的検討では種々のインフルエンザウイルスに対する反応は問題なく, ウイルス液の最小検出濃度は  $5.8 \times 10^2 \sim 5.8 \times 10^3$  pfu/assay で, 検出感度は従来製品より 2~10 倍上昇していた. 臨床的検討は, 2002/2003 年のインフルエンザシーズンにインフルエンザ様疾患の患者から採取した 715 検体 (小児 79.4%, 成人 18.5%, 不明 2.1%, ウイルス分離陽性率 68.3%) について, ウイルス分離および nested RT-PCR を対照検査として感度と特異度を評価した. A 型での感度は鼻腔吸引液で 95.4%, 鼻腔ぬぐい液 96.8%, 咽頭ぬぐい液 85.1% であった. B 型での感度は鼻腔吸引液で 91.2%, 鼻腔ぬぐい液 88.1%, 咽頭ぬぐい液 71.6% と A 型よりやや低かった. 従来製品と比べると, 特に咽頭ぬぐい液の A 型に対する感度の上昇が顕著であった. 検体別の感度では, 鼻腔吸引液と鼻腔ぬぐい液の感度は咽頭ぬぐい液よりも有意に高く, 小児では鼻腔検体の信頼性が高いことが改めて確認された. 偽陽性は 223 検体中 2 検体のみで, 特異度は鼻腔吸引液で 100%, 鼻腔ぬぐい液 97.6%, 咽頭ぬぐい液 100% と検体による差はなく, 全体で 99.1% であった.

[感染症誌 78: 597~603, 2004]

## 序 文

インフルエンザはその感染性と病原性の特性から, 医療のあらゆる現場で適切な対応が必要となる重要な呼吸器感染症の一つである. 近年わが国のインフルエンザ対策では, ワクチンによる予防と, 早期診断に基づく抗インフルエンザ薬による

治療という明確な診療方針が認められるまでになった<sup>1)2)</sup>. このような状況で, インフルエンザの診断はより早くて確実であることが求められ, その補助検査としてインフルエンザ迅速検査キットが使用されている. 迅速検査の導入によって他の検査や抗菌薬の使用が減り, 抗インフルエンザ薬の適切な使用につながっていることが報告されている<sup>3)</sup>.

2001/2002 インフルエンザシーズンに我々は,

---

別刷請求先: (〒210-0017) 川崎市川崎区新川通 12-1  
川崎市立川崎病院小児科 三田村敬子

平成 16 年 7 月 20 日

イムノクロマトグラフィー法と酵素免疫法 (enzyme immunoassay: EIA) を組み合わせた測定原理による, A 型・B 型インフルエンザ鑑別迅速検査キット: エスプライン インフルエンザ A & B (富士レビオ, 以下 Espline) の評価を行い報告した<sup>4)5)</sup>. 今回は Espline の改良試作品: エスプライン インフルエンザ A & B-N (富士レビオ, 以下 N-Espline) について, 基礎的検討と臨床検体における評価を行った.

## 材料と方法

### 1. 基礎的検討

N-Espline のインフルエンザウイルスに対する反応性について, 2002/2003 シーズンのワクチン株 3 株 {A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/Panama/2007/99 (H3N2), B/Shangdong/7/97}, 臨床検体から分離された A (H1N2) 型 1 株 (A/Yokohama/22/2002)<sup>6)</sup>, および, 以前報告した Espline の検討で使用した National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) より入手したヒト由来のインフルエンザウイルス抗原 31 種 (AH1N1 が 8 種, AH3N2 が 14 種, B が 10 種)<sup>4)</sup>を用いて, 反応性を確認した. また交差反応性の有無について, 横浜市衛生研究所で分離・同定したインフルエンザウイルス以外のウイルス 30 株 (Adenovirus type 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, Coxsackievirus type A16, B1, B2, B3, B4, B5, B6, Echovirus type 3, 4, 7, 22, 30, Enterovirus type 71, Herpes simplex virus type 1, Mumps virus, Parainfluenza virus type 1, 2, 3, Poliovirus type 1, 2, 3, Respiratory syncytial virus subgroup A, B) に対する反応を調べた.

さらに, ワクチン株と H1N2 株のプラーク定量を行い, その段階希釈列を調製し, 1 テストあたり 100 $\mu$ l を用いて新旧キットの検出限界を比較した.

### 2. 臨床検体での検討

2003 年 1 月から 3 月のインフルエンザシーズンに, 神奈川県内の 4 施設 (川崎市立川崎病院, 神奈川県警友会けいゆう病院, 伊勢原協同病院, 座間小児科診療所) をインフルエンザ様症状で受

診した小児および成人患者を対象として, 初診時に上気道からの検体を採取し, N-Espline の臨床検体での成績を検討した.

検体の種類は, 鼻腔吸引液 (nasal aspirate 以下 NA), 鼻腔拭い液 (nasal swab 以下 NS), 咽頭拭い液 (throat swab 以下 TS) の 3 種類を採取した. ウイルス分離を対照検査として N-Espline および Espline の結果を比較し, ウイルス分離陰性でキット陽性であった検体については nested RT-PCR による確認試験を行った.

ウイルス分離および nested RT-PCR 用検体は, ウイルス輸送培地 2ml に調製して  $-80^{\circ}\text{C}$  に保存し, 解凍した後 3,000rpm 15 分間遠心しその上清を用いた. 検体 100 $\mu$ l を MDCK 細胞および CaCo-2 細胞に接種し, 細胞変性効果を確認後, 赤血球凝集抑制試験により同定した. nested RT-PCR (以下 PCR) は以前報告したプライマー<sup>7)</sup>を用いて行った.

臨床検体の成績に関してはカイ二乗検定にて有意差検定を行い,  $p < 0.05$  を有意とした.

### 3. N-Espline の測定原理と操作法

本キットはイムノクロマトグラフィー法と酵素免疫法 (EIA) を組み合わせた原理により, A 型および B 型インフルエンザウイルスを鑑別して検出する試薬である. N-Espline に使用されているインフルエンザウイルス A 型と B 型それぞれの核蛋白抗原に対するモノクローナル抗体は, Espline と異なる新たに作成された抗体で, 反応性の改良が行われている. 操作法は Espline と同様であり, 綿棒に採取した検体を抽出液で調製後, 反応カセットに滴下した後基質パッドを押し, 15 分後に目視で判定した. Espline と N-Espline は同じ抽出液で調製した検体を両キットに分けて検査した.

## 成 績

### 1. 基礎的検討

N-Espline は, ワ ク チ ン 株 3 株, H1N2 株, NIBSC より入手したインフルエンザウイルス抗原 31 種すべてに対して, A 型あるいは B 型の一致した陽性反応を示した. 交差反応性の確認試験では, 検査材料として用いたインフルエンザウイ

Table 1 Detection limits of diluted samples with Espline Influenza A&amp;B-N and Espline Influenza A&amp;B

Influenza virus	Original titer (pfu/ml)	Detection limits (pfu/assay)	
		Espline Influenza A&B-N	Espline Influenza A&B
A/New Caledonia/20/99 (H1N1)	$5.8 \times 10^7$	$5.8 \times 10^3$	$1.2 \times 10^4$
A/Panama/2007/99 (H3N2)	$2.8 \times 10^7$	$2.8 \times 10^3$	$2.8 \times 10^4$
B/Shandong/7/97	$2.9 \times 10^7$	$5.8 \times 10^2$	$2.9 \times 10^3$
A/Yokohama/22/2002 (H1N2)	$3.2 \times 10^7$	$3.2 \times 10^3$	$6.4 \times 10^3$

Table 2 Positive ratio of cell culture in clinical specimens

Cell culture	Nasal aspirates	Nasal swabs	Throat swabs	Total
type A positive	47.5% (131/276) *	38.0% (93/245)	38.1% (74/194)	41.7% (298/715)
type B positive	20.7% (57/276)	26.9% (66/245)	34.0% (66/194)	26.4% (189/715)
type A and B positive	—	—	0.5% (1/194)	0.1% (1/715)
Total	68.1% (188/276)	64.9% (159/245)	72.7% (141/194)	68.3% (488/715)

( ) \* indicates sample numbers.

ルス以外のウイルスに対して、N-Espline は全て陰性の反応を示した。

ワクチン株希釈列による検出限界の検討では、N-Espline は Espline に比べて 2 倍から 10 倍の検出感度であった (Table 1)。

## 2. 臨床検体での検討

### 1) 臨床検体の内訳とウイルス分離陽性率

採取した検体数の合計は 715 検体で、検体種類の内訳は、鼻腔吸引液 (NA) 276 検体、鼻腔拭い液 (NS) 245 検体、咽頭拭い液 (TS) 194 検体であった。年齢別では、小児 (15 歳以下) が 79.4% (568 検体)、成人 (16 歳以上) が 18.5% (132 検体)、不明 2.1% (15 検体) であった。全 715 検体のウイルス分離陽性率は、A 型インフルエンザウイルスが 41.7% (298 検体)、B 型が 26.4% (189 検体) であり、A 型と B 型の重複感染が 0.1% (1 検体) 認められた。A 型と B 型あわせたウイルス分離陽性率は 68.3% (488 検体) であった (Table 2)。分離された A 型の亜型はすべて AH3 型で AH1 型の陽性例はなかった。

### 2) ウイルス分離および PCR と N-Espline の相

関

全 715 検体をウイルス分離の結果で A 型のみ陽性、B 型のみ陽性、A 型と B 型の両方が陽性、A 型と B 型とも陰性に分けて検討を行った (Table 3)。ウイルス分離で A 型陽性の 298 検体中 278 検体 (93.3%) は N-Espline でも A のみ陽性反応 (以下 A+)、ウイルス分離で B 型陽性の 189 検体中 157 検体 (83.1%) は N-Espline でも B のみ陽性反応 (以下 B+) であった。ウイルス分離で A 型と B 型の両方が分離された 1 検体は、N-Espline も同様に A と B が陽性反応 (以下 A+B+) を示し、PCR でも A 型と B 型のインフルエンザウイルスが確認され、重複感染と考えられた。この 1 検体を除き N-Espline で (A+B+) の検体は認められなかった。

ウイルス分離陰性は 227 検体で、そのうち 221 検体 (97.4%) は N-Espline でも陰性反応 (以下-) で一致した。不一致 6 検体 (2.6%) の PCR の結果は、2 検体は AH3 型が陽性、2 検体は B 型が陽性で N-Espline の結果と一致し、偽陽性は 2 検体 (0.9%) のみであった。

Table 3 Correlations between cell culture and Espline Influenza A&amp;B-N

		Cell culture				Total
		A +	B +	A + B +	—	
Espline Influenza A&B-N	A +	278 (93.3%)	—	—	4 <sup>a)</sup> (1.8%)	282
	B +	—	157 (83.1%)	—	2 <sup>b)</sup> (0.9%)	159
	A + /B +	—	—	1 (100%)	—	1
	—	20 (6.7%)	32 (16.9%)	—	221 (97.4%)	273
Total		298	189	1	227	715

a) 2 were positive by nested RT-PCR

b) 2 were positive by nested RT-PCR

Table 4 Comparison of Espline Influenza A&amp;B-N and Espline Influenza A&amp;B with cell culture and nested RT-PCR

		Nasal aspirates		Nasal swabs		Throat swabs		Total	
Sensitivity	A +	N-Espline	95.4% (125/131)*	96.8% (92/95)	85.1% (63/74)	93.3% (280/300)			
		Espline	91.6% (120/131)	90.5% (86/95)	62.2% (46/74)	84.0% (252/300)			
	B +	N-Espline	91.2% (52/57)	88.1% (59/67)	71.6% (48/67)	83.2% (159/191)			
		Espline	89.5% (51/57)	86.6% (58/67)	70.1% (47/67)	81.7% (156/191)			
	A + B +	N-Espline	—	—	100% (1/1)	100% (1/1)			
		Espline	—	—	100% (1/1)	100% (1/1)			
Specificity		N-Espline	100% (88/88)	97.6% (81/83)	100% (52/52)	99.1% (221/223)			
		Espline	98.9% (87/88)	98.8% (82/83)	100% (52/52)	99.1% (221/223)			

( ) \* indicates sample numbers.

### 3) 検体採取部位別のウイルス分離および PCR と N-Espline の相関

全 715 検体を検体採取部位別に分類し、ウイルス分離に PCR を加えた結果と比較し、N-Espline の (A +), (B +), (A + B +), (—) の一致率を集計した (Table 4)。

感度は、A 型の NA で 95.4%, NS 96.8%, TS 85.1% で、B 型の NA では 91.2%, NS 88.1%, TS 71.6% であった。A 型と B 型のどちらにおいても、NA と NS の感度に差を認めなかったが、NA および NS での感度が、TS での感度より有意に高かった。また、同じ種類の検体のなかでは、B 型は A 型に比して感度が低い傾向で、NS では有意差を認めた。

特異度については、検体による差を認めなかつ

た。

### 4) Espline と N-Espline の比較

従来の製品である Espline とその改良品である N-Espline について、PCR の結果を加えたウイルス分離を対照として感度と特異度の比較を行った (Table 4)。感度は、いずれの種類の検体でも Espline に比べ N-Espline において高い値であった。特に TS の A 型では Espline が 62.2% であったのに比べ N-Espline では 85.1% と最も顕著であった。特異度は、同等の成績であり全検体種の合計ではどちらも 99.1% であった。

### 5) 発病からの日数と感度

N-Espline の感度を、発病日を第 1 病日として病日毎に集計した (Table 5)。A 型の NA と NS では第 1 病日から第 3 病日までの差は認められな

Table 5 Sensitivities of Espline Influenza A&amp;B-N compared with cell culture and nested RT-PCR in specimens based on disease day

	Cell culture	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4
Nasal aspirates	A+	95.8% (23/24) *	95.4% (62/65)	100% (18/18)	80.0% (8/10)
	B+	100% (10/10)	79.2% (19/24)	93.8% (15/16)	100% (6/6)
Nasal swabs	A+	100% (19/19)	96.6% (56/58)	100% (11/11)	100% (3/3)
	B+	84.6% (11/13)	87.9% (29/33)	85.7% (12/14)	100% (6/6)
Throat swabs	A+	75.0% (12/16)	91.1% (41/45)	62.5% (5/8)	75.0% (3/4)
	B+	58.3% (7/12)	65.6% (21/32)	84.2% (16/19)	—

( ) \* indicates sample numbers.

Table 6 Sensitivities of Espline Influenza A&amp;B-N compared with cell culture and nested RT-PCR in specimens of age groups

		Age groups (y.o.)									
Cell Culture		0-5	Average day	6-10	Average day	11-15	Average day	16-64	Average day	≥ 65	Average day
Nasal aspirates	A+	100% (53/53) *	2.5	88.9% ( 8/ 9)	2.1	100% (13/13)	1.8	91.1% (41/45)	2.5	90.0% (9/10)	2.4
	B+	100% (19/19)	2.3	85.2% (23/27)	2.7	83.3% ( 5/ 6)	1.5	100% ( 5/ 5)	3.0	—	—
Nasal swabs	A+	100% (31/31)	2.3	91.7% (22/24)	1.9	95.7% (22/23)	2.1	100% (17/17)	2.0	—	—
	B+	92.9% (13/14)	2.4	87.5% (21/24)	2.3	81.0% (17/21)	2.3	100% ( 8/ 8)	1.9	—	—
Throat swabs	A+	88.1% (37/42)	2.3	80.0% (12/15)	1.9	80.0% ( 8/10)	1.6	83.3% ( 5/ 6)	1.8	100% (1/ 1)	2.0
	B+	77.8% (14/18)	2.5	47.1% (16/34)	2.3	46.2% ( 6/13)	2.0	100% ( 2/ 2)	2.5	—	—

( ) \* indicates sample numbers.

かったが、A 型の TS では、第 1 から第 2 病日にかけて 75.0% から 91.9% に感度が上昇していた。特異度には病日ごとの差は認められなかった。

#### 6) 年齢群による感度の比較

対象患者を年齢別のグループに分け、感度を計算した (Table 6)。3 種類の検体とも 5 歳以下の年齢群で感度が高い傾向であったが、小児と成人での感度の差は認められなかった。特異度には年齢群での差を認めなかった。

#### 考 察

2001/2002 インフルエンザシーズンに検討をした Espline は、イムノクロマトグラフィー法の簡便さに加えて EIA の原理を用いて感度と特異性を高めたインフルエンザウイルス抗原検出用の迅

速検査キットであり、評価の結果では感度・特異性に良好な結果が得られていた。今回評価を行った改良試作品 N-Espline は、新しいモノクローナル抗体<sup>®</sup>を使うことによってさらに検出感度を上昇させ、また特異性の改善も行われたキットである。

N-Espline の基礎検討では、種々のインフルエンザ抗原およびインフルエンザウイルス株に対する反応は問題なく、他のウイルスに対する非特異反応も認められなかった。また、検出限界の測定では Espline の 2～10 倍の感度を示したが、特に A/Panama/2007/99 (H3N2) での感度の上昇が今回の臨床検体での結果に反映していたと考えられた。

N-Espline とウイルス分離および PCR との比較では、B 型より A 型に対して高い感度を示した。Espline と N-Esplin の比較では、A 型と B 型、検体種類別の感度はどれも、N-Espline のほうが Espline より高い値であった。従来でも検出率の高い鼻腔検体では有意差を認めなかったが、A 型の咽頭ぬぐい液では 62.2% から 85.1% に有意な上昇を認めた ( $p < 0.01$ )。しかしそれでも、TS より NA や NS での感度がなお高い値であることはこれまでの検討と同様で<sup>9)10)</sup>、小児における鼻腔検体の信頼性が高いことが改めて確認された。

特異度に関しては、PCR 結果を含めると偽陽性検体は 223 検体中 2 検体のみであり、新旧両キットとも特異度 99.1% と非常に特異性の高いキットであった。Espline の治験時には (A+B+) の非特異反応を 4.4% に認めたが、本研究では (A+B+) は混合感染が証明された 1 検体のみで、非特異反応は極めて少なく、しかも A 型 B 型の混合感染も正確に判定可能であることが示唆された。

迅速検査試薬の検出感度および特異性に影響を与える要素<sup>11)12)</sup>のなかで、発病から検体採取までの病日および患者年齢に関する分析を行った。おののグループの検体数が十分でないため確定的とはいえないが、TS については、A 型で第 1 病日から第 2 病日に、B 型で第 1、第 2、第 3 病日と感度が上昇する傾向を認めた。この傾向は、我々の行ったインフルエンザ症例での経時的なウイルス排泄量の計測で、病初期はウイルス量が増加傾向を示す症例があることと相関していると推測された<sup>13)</sup>。年齢による分析での小児と成人の間では、感度と特異度とも差はなく、成人の鼻腔検体での検出率に問題はないと思われた。小児のなかでは、6 歳以上 15 歳以下の年齢群では 5 歳以下の年齢群に比して感度が低い傾向を認め、特に TS の B 型で差が大きかった。その原因としてはウイルス排泄量の差や検体採取の問題などが考えられるが特定はできなかった。

インフルエンザ迅速検査キットは、短期間に急速に普及しさまざまな医療機関で使用されるようになったが、偽陽性・偽陰性が問題となり 2002/2003 シーズンには一斉に再評価が行われた。キッ

トの評価に際しては、試薬の性能だけでなく、患者や検体の条件などの要素が関係するため、再評価でも一定した数値は得られず<sup>14)</sup>、また、キットの評価論文をまとめた Uyeki のレポートでも<sup>15)</sup>、感度や特異度の数値は広い範囲にばらついている。今回の検討では、AH1 型の症例での検討はできなかったが、715 検体という多数の検体で新旧のキットを同時に比較することができた。その結果、N-Esplin は特異性が高く、また、臨床的インパクトの強い AH3 型に対して比較的良好な感度を有しており、より有用であると思われた。

謝辞：今回の検討にご協力いただいた川崎市立川崎病院小児科部長長秀男先生、同小児救急センター長山下行雄先生、伊勢原協同病院小児科込山修先生、伊勢原協同病院検査室の前沢民子氏、萩原紀子氏、川崎市衛生研究所の平位芳江氏、奥山恵子氏に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 武内可尚：予防接種「インフルエンザへの対応」。日医雑誌 1997；118 (6)：825—9.
- 2) 菅谷憲夫：新型インフルエンザ対策。日本医事新報 2003；4142：26—30.
- 3) Esposio S, Marchisio P, Morell P, Crovari P, Principi N：Effect of a rapid influenza diagnosis. Arch Dis Child 2003；88：525—6.
- 4) 市川正孝，三田村敬子，山崎雅彦，木村和弘，込山 修，山本敬一，他：イムノクロマトグラフィ法と酵素免疫法を組み合わせた原理による新しいインフルエンザ迅速診断キット（エスプラインインフルエンザ A & B）の検討。医学と薬学 2003；49：469—78.
- 5) 山崎雅彦，三田村敬子，川上千春：インフルエンザ迅速診断キットの現況。インフルエンザ 2003；4：43—50.
- 6) Kawakami C, Saito T, Nakaya Y, Nakajima S, Munemura T, Saikusa M, et al.：Isolation of influenza A H1N2 viruses from an outbreak in Yokohama city during the 2001—2002 influenza season in Japan. Jpn J Infect Dis 2003；56：110—3.
- 7) 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.
- 8) 白 貴蓉，迫田義博，鈴木義和，長谷川見，喜田宏：エスプラインを用いたインフルエンザウイルスの抗原検出。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会 2003；IP122.
- 9) 三田村敬子，菅谷憲夫，荻澤真理，高橋浩治，清水英明，平位芳江：小児科入院患者から見た A 香港型インフルエンザの流行と迅速診断。感染症

- 誌 1998 ; 72 : 119—24.
- 10) 山崎雅彦, 三田村敬子, 木村和弘, 荏澤真理, 小宮山修, 市川正孝, 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. 感染症誌 2001 ; 75 : 1047—53.
  - 11) 加地正英, 渡邊 文, 福田孝昭, 相澤久道: インフルエンザ迅速診断キットの臨床的問題点の検討. 臨床と研究 2003 ; 80 : 138—41.
  - 12) 三田村敬子: インフルエンザの迅速診断. 最新医学 2004 ; 59 : 288—94.
  - 13) 三田村敬子, 市川正孝, 川上千春: インフルエンザの迅速診断. 小児内科 2003 ; 35 : 1697—701.
  - 14) 厚生労働省医薬食品局: インフルエンザウイルス抗原の検出を目的とする対外診断用医薬品の自主点検結果及び適正使用について. 医薬品・医療用具等安全性情報 No. 194, 2003.
  - 15) Uyeki T : Influenza diagnosis and treatment in children : a review of studies on clinically useful tests and antiviral treatment for influenza. *Pediatr Infect Dis J* 2003 ; 22 : 164—77.

### Evaluation of an Immunochromatography Test Using Enzyme Immunoassay for Rapid Detection of Influenza A and B Viruses

Keiko MITAMURA<sup>1)</sup>, Masahiko YAMAZAKI<sup>2)</sup>, Masataka ICHIKAWA<sup>3)</sup>,  
Kazuhiro KIMURA<sup>3)</sup>, Chiharu KAWAKAMI<sup>4)</sup>, Hideaki SHIMIZU<sup>5)</sup>,  
Sumi WATANABE<sup>6)</sup>, Mitsunobu IMAI<sup>6)</sup>, Masayoshi SHINJO<sup>7)</sup>,  
Yoshinao TAKEUCHI<sup>7)</sup> & Norio SUGAYA<sup>8)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Pediatrics, Kawasaki Municipal Hospital

<sup>2)</sup>Zama Children's Clinic

<sup>3)</sup>Department of Pediatrics, Isehara Kyodo Hospital

<sup>4)</sup>Yokohama City Institute of health

<sup>5)</sup>Kawasaki City Institute of Public Health

<sup>6)</sup>Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory

<sup>7)</sup>Department of pediatrics, Keio University

<sup>8)</sup>Department of Pediatrics, Keiyu Hospital

We evaluated the performance of an improved version of Espline Influenza A & B-N (Fujirebio Inc., Japan), an immunochromatography test using enzyme immunoassay for rapid diagnosis of influenza A and B. The test produced positive results for four strains of influenza viruses and thirty-one influenza viral antigens and negative results for all of thirty strains of other respiratory viruses that were tested. The detection limit of this test was  $5.8 \times 10^2$  to  $5.8 \times 10^3$  pfu/assay, which is more sensitive than the old version of Espline. Furthermore, 715 respiratory specimens collected from the patients (children, 79.4% ; adults, 18.5% ; unknown, 2.1%) with influenza-like illnesses during the 2002/2003 influenza season in Japan were tested as part of a clinical evaluation of this test. The relative performance of this test compared to cell culture and nested RT-PCR results were examined. In the cell cultures, influenza viruses were detected in 488 of the 715 specimens (overall, 68.3% ; AH3, 41.7% ; B, 26.4% ; AH3 and B, 0.1%). For influenza A, the sensitivity of this test was 95.4% (125/131) for nasal aspirates, 96.8% (92/95) for nasal swabs, and 85.1% (63/74) for throat swabs. For influenza B, the sensitivity of this test was 91.2% (52/57) for nasal aspirates, 88.1% (59/67) for nasal swabs, and 71.6% (48/67) for throat swabs. The new test exhibited a remarkably higher sensitivity to influenza A in throat swabs than the old version of Espline. Only two false positive results were obtained out of a total of 223 virus negative specimens ; the specificity of the test was 100% (88/88) for nasal aspirates, 97.6% (81/83) for nasal swabs, and 100% (52/52) for throat swabs. We conclude that the new Espline Influenza A&B-N rapid diagnostic test is easy to use and has a high sensitivity and specificity, especially for influenza A.