

インフルエンザウイルス抗原迅速診断検査利用法

最適な検査時期についての1考案

財団法人田附興風会医学研究所北野病院小児科

羽田 敦子 浅田 純子 水本 洋
上松あゆ美 高原 賢守 吉村 文秀
長藤 洋 秦 大資

(平成15年11月25日受付)

(平成16年6月30日受理)

Key words : influenza virus, rapid diagnosis, oseltamivir, amantadine

要 旨

2002年インフルエンザ流行期に、発症早期、抗原検査が陰性で、後日、陽性となった症例を経験した。2003年の流行期には877名の鼻腔拭い液965検体が検査され、その約半数は救急時間帯に施行された。発熱出現後12時間以内に初回陰性であったため、12時間以降に再検査した31名のうち陽性に転じたのは10名で偽陰性率は29%であった。一方、12時間以降に初回検査陰性の13名は、再検査も陰性で12時間以降ならば診断は確実であるといえた。治療は原則として抗原検査結果に基づき抗ウイルス薬が開始された。発症12時間以内に初回陽性の患者群は、12時間以内初回陰性12時間以降陽性の患者群と12時間以降初回陽性の患者群に対して発症から投薬までの期間($p=0.0001$, $p<0.0001$)と有熱期間($p=0.0003$, $p<0.0001$)は有意に短く、入院は有意に低率($p<0.0001$, $p=0.0406$)であった。12時間以降でも48時間以内であれば、12時間以内に初回陽性の患者群に対し有熱期間に有意差がみられた($p<0.0001$)が平均2.3日と短く、入院率に有意差はなかった。インフルエンザ流行期には多数の患者が来院しとりわけ救急外来は混雑をきわめる。インフルエンザ迅速診断を活用し治療に役立てるためには、確実に診断された患者に比較的不利益を与えずに治療できる発症12時間以降48時間以内の施行が最適であると考えられた。

〔感染症誌 78 : 846 ~ 852 2004〕

序 文

インフルエンザ抗原迅速診断キットは2000年の発売より臨床現場で使用されるようになった。迅速診断キットを使った抗原検出はキットの種類に関わらず検体中に $10^3 \sim 10^5$ pfu/ml以上のウイルス量を必要とするとされている¹⁾。実際はインフルエンザウイルス感染があるにも拘らず、検体

に含まれるウイルス量が検出限界付近であれば弱陽性あるいは陰性、検出限界以下の場合には陰性と判定される場合がある²⁾。2002年インフルエンザ流行期に当院でインフルエンザ抗原検査を行ったところ、検査が発症早期に行われ抗原陰性であったため診断が確定できず、抗ウイルス薬開始時期を逸した症例が見受けられた。早期に行った検査結果は陰性であっても後日陽性になる可能性は否定できない。しかしながら抗ウイルス薬は発症48時間以内に開始すれば症状軽減できるとさ

別刷請求先 : (〒530 8480) 大阪市北区扇町2 4 20
財団法人田附興風会医学研究所北野病院
小児科 羽田 敦子

れている³⁾ため、確実な診断による早期治療が望まれる。そこで2003年シーズンにおいても2002年と同様の危険性がみられたか否かについて検討し、インフルエンザ抗原迅速診断検査の最適な検査時期について考察した。

対象と方法

2002年シーズンの対象は2002年1月14日から3月29日の間に当院を受診した3カ月から16歳のインフルエンザ抗原陽性患者61名である。検体は鼻腔ぬぐい液を用い、インフルエンザ抗原迅速診断キットは、インフルエンザOIA(第一化学薬品)、以下OIAとキャピリアFluA, B(日本ベクトン・ディッキンソン社)以下FluA, Bを使用した。2003年シーズンにおいては2002年11月1日から4月15日の期間に当院で抗原検査を施行された0カ月から15歳の877名の965検体である。このうち抗原陽性者は337名であったが、AB両抗原が陽性の場合、疑陽性例の報告もあるため⁵⁾、両抗原陽性の2名を除外した。抗原陰性者は540名であった。検体はすべて鼻腔ぬぐい液を用い、キットの違いによる差を除外するため試薬はFluA, Bを統一使用した。いずれの年もインフルエンザウイルス感染であることを裏付けるウイルス分離あるいはPCR法、抗体検査などは実施していない。当院に来院した患者を、抗原検査実施を38度以上の発熱出現より12時間以内とそれ以降に分けて後方視的に検討した。12時間で分けた理由として、夕方から夜間にかけてしばしば熱発する小児が夜間の救急外来を受診するとすれば12時間以内、翌日の通常外来を受診するとすれば12時間以降に検査することになると考えたからである。抗原検査の結果について、発症12時間以内の検査で初回陰性であった場合、どの程度の患者が後に陽性になるのか、また発症12時間以降に陰性の場合どの程度の患者が後に陽性になるのかについて検討した。さらに、これら検査実施時期の異なる2群において年齢差、性差、A型とB型インフルエンザの差、ワクチン接種の有無による差があるか否かについて検討した。抗原検査結果が判明した後、原則として抗原陽性であれば抗ウイルス薬を開始した。抗ウイルス薬による治療及び臨

Table 1 Profiles of patients with positive Influenza virus antigen during the 2001/2002 flu-season

When the first test was performed	12h	> 12h
year (mean ± S.D.)	2.9 ± 2.8	4.6 ± 3.5
The ratio of male and female patients	7/10=0.70	26/18=1.44
Number of patients	17	44
Number of the patients with negative results at the first test	4	0

床経過との関連については、抗原検査実施時期によって投薬開始までの期間、有熱期間、入院率に違いがないかについて検討した。入院基準項目は定めていない。抗ウイルス薬はA型ではアマンタジン又はオセルタミビル、B型ではオセルタミビルを投与した。統計ソフトウェアStatview4.5を用いて、Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis testにより統計学的処理を行った。

成績

2002年においてインフルエンザ抗原陽性患者は61名であった。発症12時間以内に初回検査を行った患者17名のうち13名は陽性、4名は12時間以内には陰性であったが12時間以降に陽性となった。初回検査を12時間以降に施行し陽性であった患者は44名であった(Table 1)。発症12時間以降に2回検査を施行された患者2名は2回とも陰性であった。発症12時間以内に陰性で後日陽性となった患者は4名であった。うち1名は発症2日目の再検時に陽性と診断され、アマンタジンの投与を受け入院には至らなかった。他の3名のうち1名は発症2日目に脱水を伴い、他2名は発症4日目に気管支炎を併発して入院となった。いずれも初回陰性であったためインフルエンザと確定できず抗インフルエンザ薬の開始が遅れた。

2003年においては0カ月から15歳の患者877名の鼻腔拭い液965検体が検査された(Fig. 1)。426検体が救急時間帯に、539検体が平日通常勤務時間帯に実施されそれぞれ全体の44%、56%を占めた。これらのうち検査陽性は328検体あり、救急時間帯に118検体、平日通常勤務帯に210検体が検査され、陽性率はそれぞれ27.7%、39.0%

Fig. 1 Number of samples performed Influenza virus antigen test during the 2002-2003 flu-season.

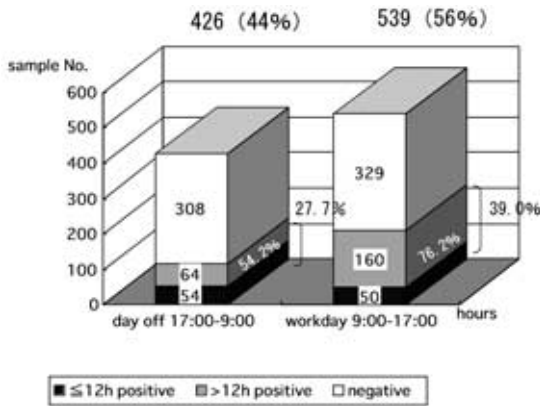


Table 2 Profiles of patients tested with Influenza virus antigen test twice because of negative results at the first test during the 2002-2003 flu-season

When the first test was performed	12h	12h	> 12h
When the second test was performed	12h	> 12h	> 12h
Number of patients tested twice	0	34	13
Number of the patients with positive results at the second test	0	10	0
Number of the patients with negative results at the second test	0	24	13
Percentages of patients with false negative results	0	29	0

であった。陽性検体のうち発症 12 時間以降に検査された検体は救急時間帯では 118 中 64、平日通常勤務時間帯では 210 中 160 でそれぞれ 54.2%、76.2% を占めた。

同時期の発熱で初回検査にて陰性であったが、臨床症状よりインフルエンザが疑われたため、2 回以上検査が行われた患者は 44 名であった。その内訳は発症 12 時間以内に陰性で以降陽性となった患者が 10 名、12 時間以内と 12 時間以降の 2 回とも陰性であった患者が 24 名、12 時間以降 2 回以上陰性であった患者が 13 名であった。以上より発症 12 時間以内は陰性で 12 時間以降に陽性となる偽陰性率は 29% であった。また、12 時間以降に初回陰性で 2 回目に陽性となった症例はなく、偽陰性率は 0% であった (Table 2)。

全抗原陽性患者 337 名のうち A、B 抗原共に陽性であった 2 名を除外し 335 名について検討した。初回検査実施時期より I 群を 12 時間以内に陽性、II 群を 12 時間以内初回陰性以降陽性、III 群を 12 時間以上初回陽性に分けたところ、それぞれ 104、9、222 名であった。3 群間には男女比、年齢、予防接種率、AB 抗原比において統計学的有意差はみられなかった (Table 3)。原則として検査結果に基づいて抗ウイルス薬による治療を開始した。II 群患者のうちの 3 名と III 群患者のうちの 7 名は抗原陽性判明前に投薬を受けていた。発症から

抗ウイルス薬投与までの日数は、I 群平均 0.21 日と II 群平均 1.98 日の間 ($p=0.0003$)、及び I 群平均と III 群平均 1.39 日の間 ($p<0.0001$) に有意差がみられた (Table 3)。同様に有熱期間は I 群平均 1.65 日と II 群平均 3.30 日の間 ($p=0.0003$) 及び I 群と III 群平均 2.65 日の間に有意差 ($p<0.0001$) がみられた (Table 3)。入院率においては I 群 11.3% II 群 90.0% の間 ($p<0.0001$)、I 群と III 群 20.5% の間 ($p=0.0406$) 及び II 群 III 群間 ($p=0.0003$) に統計学的有意差がみられた (Table 3)。さらに抗ウイルス薬の効力があるとされる発症 48 時間以内の投薬が患者の有熱期間や入院率に影響を及ぼすか否かについて検討した。Table 3 のうち 12 時間以降に検査陽性であった III 群を 48 時間以内の III-A 群 158 名、48 時間以降の III-B 群 61 名に分けて比較した。有熱期間は I 群平均 1.65 日、III-A 群平均 2.27 日、III-B 群平均 3.62 日であり、I~III-A 群間、I~III-B 群間、III-A~III-B 群間にそれぞれ有意差 ($p<0.0001$) がみられた。入院率は I 群 10.3%、III-B 群は 24.6% で両者に有意差 ($p=0.0253$) がみられた (Table 4)。

考 察

2002 年シーズンにおいて、発症 12 時間以内に抗原検査を実施した患者 17 名のうち 23.5% にあたる 4 名が初回陰性で後日 A 抗原陽性になったことは、発症早期のウイルス量が不十分で検出で

Table 3 Profiles of patients with positive Influenza virus antigen during 2002-2003 flu-season

group	12h positive	12h negative > 12h positive	> 12h positive
Test results			
Number of patients	106	10	219
The ratio of male and female patients	62/44=1.41	6/4=1.50	128/96=1.33
year (mean ± S.D.)	5.5 ± 3.8	3.8 ± 4.0	5.5 ± 4.1
No. of immunized patients (percentages)	22 (20.8)	1 (10.0)	25 (11.4)
The ratio of patients with A Ag positive and patients with B Ag positive	71/35=2.03	8/2=4.00	146/73=2.00
The ratio of hospitalized patients with A Ag positive and hospitalized patients with B Ag positive	9/3=3.0	5/2=2.5	30/15=2.0
Days from onset until starting antiviral medication ± S.D.	0.21 ± 0.11	1.98 ± 1.85	1.39 ± 1.04
Febrile duration (days ± S.D.)	1.65 ± 1.07	3.30 ± 1.89	2.65 ± 1.22
Number of hospitalized patients	12	9	45
Percentage of hospitalized patients out of patients in the group	11.3	90.0	20.5

1 : p=0.0001, 2 : p < 0.0001, 3 : p=0.0003, 4 : p < 0.0001, 5 : p < 0.0001, 6 : p=0.0003, 7 : p=0.0406

Table 4 Comparison of patients treated with antivirals within 48 hours after onset and patients not treated with antivirals

group	-A	-B
Test results	12h positive	> 12h 48h positive
When antiviral drugs were started	12h	48h
No. of patients	106	158
Febrile duration (days ± S.D.)	1.65 ± 1.07	2.27 ± 0.89
No. of hospitalized patients	11	31
Percentage of hospitalized patients	10.3	19.6

1 : P < 0.0001, 2 : P < 0.0001, 3 : P < 0.0001, 4 : p=0.0253

きなかった可能性があると考えられた (Table 1)。検査結果に基づいてインフルエンザと診断し抗ウイルス薬を開始する場合、発症 12 時間以内であれ

ばそれ以降に陽性になることもあり、診断は慎重になされるべきであると考えられた。一方、12 時間以降では初回抗原陰性であれば後日陽性に転

じた患者はいなかった．よって検査結果に基づいて治療を行う際には抗原検査を発症 12 時間以降に行うことが望ましいと予想された．そこで 2003 年シーズンにおいても同様の傾向がみられるか否かについて検討した．

2003 年において、全 965 検体のうち約半数の検体が人手の少ない救急時間帯に処理されていることは、インフルエンザ迅速診断検査導入により、特に救急時間帯検査体制の負担が増大していると推察された．救急時間帯の検査陽性率は 27.2% と平日通常勤務帯の 39.0% に比べて低かった．この理由の一つとして、救急時間帯は発症 12 時間以降に検査を受けた患者の割合が 54.2% と平日通常勤務帯の 76.2% に比べて少ないためであると考えられた (Fig. 1)．インフルエンザ流行期において検査の負担は増大しており、特に救急時間帯に多数の検体検査がなされていることは、救急時間帯に優先されるべき業務に支障を来す可能性があるという点で社会的にも問題があると考えられた．

発症 12 時間以内の検査実施には診断に問題が残る．発熱出現後 2 回以上抗原検査を施行した患者の発症 12 時間以内の偽陰性率は 29% であったが、発症 12 時間以降は 0% であった (Table 2)．従って発症 12 時間以内では偽陰性が含まれるが 12 時間以降であれば診断は確定的であると考えられた．これまでにインフルエンザ抗原検査時期について考察された文献はなく、わずかに学会報告の抄録で散見されるのみであるが、他施設においても、また別の迅速診断キットにおいても発症 12 時間以内の診断は確定的でないことが示されている．稲川らは平日時間帯にはデンカ生研のインフル A・B クイック生研、救急日当直時間帯には FluA, B を使用し、発症後 9 時間未満に陰性であった症例の 20.9% が最終的に陽性であったと報告している⁶⁾．鈴木らはデンカ生研のインフル A・B クイック生研を使用し偽陰性となった検体は 12 時間以内の検体に多く、12 時間以内の鼻汁抗原検査ではインフルエンザの確定診断は困難な可能性があるとしている⁷⁾．以上のことから 12 時間以内の抗原検査が陰性的場合、インフルエンザと診断されずに適切な治療のタイミングを逸す

る危険性を孕んでいると考えられた．診断は抗原検査の結果のみに依存することなく、臨床症状や流行状況なども加味してなされるべきである．今回の検討では鼻腔拭い液を用いているが、鼻腔吸引液など別の検体を使用した場合には異なる結果が得られた可能性がある．

治療に関しては、原則として抗原陽性と判明した段階で抗ウイルス薬が投与された．尚、12 時間以内は陰性で 12 時間以降に陽性であった患者 3 名と 12 時間以降初回陽性の患者 7 名には、抗原陽性が判明する以前に臨床的にインフルエンザが疑われたため、抗ウイルス薬が投与されていた．発症 12 時間以内に初回陽性の患者群は 12 時間以降に初回陽性の患者と較べて発症から投薬までの期間、有熱期間は有意に短く、入院も有意に低率であった (Table 3)．発症 12 時間以内では検査陽性と判明した直後より全例抗ウイルス薬が開始されているため、早期投与が有熱期間の短縮を促した可能性があると考えられた．同じ 12 時間以内に検査を行いながら、初回陰性で 12 時間以降に陽性と判明した群は初回に陽性となった患者群に較べて発症から投薬までの期間、有熱期間は有意に長く、入院も有意に高率であった (Table 3)．以上より検査結果に基づいて治療を行う場合、発症 12 時間以内に検査陽性と判定され、抗ウイルス薬による治療を開始できれば、12 時間以降に開始されるよりも症状を軽減できるが、陰性であった場合にその判断は慎重になされるべきであると考えられた．

抗ウイルス薬使用についての小児における報告は少ない．アマンタジンの無作為化比較試験はされていないが⁸⁾、オセルタミビルにおける唯一の無作為化比較試験で発症後 48 時間以内の投薬が有熱期間の短縮など症状軽減に効果がある⁴⁾との報告がある．成人においては 48 時間以降の投与でも呼吸器症状を短縮させる傾向があるという報告も散見される⁹⁾．オセルタミビルの投与開始が発症 48 時間よりも 12 時間あるいは 24 時間以内では、より症状期間を短縮できるという報告があり¹⁰⁾、早期投与が一般的に推奨されている．検査実施時期すなわち抗ウイルス薬投与開始が 48 時間以内に行われた患者群と、48 時間以降に結果が判明し

たため無投薬となった患者群を比較した (Table 4). 小児インフルエンザ患者に対するオセルタミビルの効果については、発症 48 時間以内に投与された場合に投与開始から解熱する迄の日数は平均 1.7 日であったと報告されている¹¹⁾. 本研究では有熱期間を発症から解熱する迄の期間とした. 従って 12 時間以内に治療を開始した群では、投与開始から平均 1.2 日以内に解熱していると換算でき、先の報告より短期間に解熱していることが示唆された. 12 時間以上 48 時間以内に治療開始した群においても、投与開始から平均 1.8 日以内に解熱していたと換算でき、先の報告同様比較的短期間であると考えられた. 以上より 12 時間以降 48 時間以内の結果に基づき治療を開始できれば、患者に比較的不利益を与えずに治療ができると考えられた. 小児においてオセルタミビルの投与は非投与やアマンタジン投与よりも有熱期間と入院期間が有意に短縮したという報告がある¹²⁾. 今回の検討では、オセルタミビルとアマンタジンを比較しての解析は行っていないが、抗ウイルス薬投与群は非投与群より症状期間を短縮させており、48 時間以内の治療は有益であると考えられた.

インフルエンザ流行期における診断と治療は、迅速診断キットと抗ウイルス薬の出現で近年大きく変化した. 抗原検査は感受性、特異度共に 100% でないにも関わらず、症状診断より抗原検査結果を信頼して診断を下す傾向にある. 多くの小児インフルエンザ患者を診る小児科医師はこれらの適切な使用を心がけるべきである. 今回の結果で、発症 12 時間以内の検査結果が確実でないことが示されたが、後日陽性となることを危ぶむあまり対象外の患者への投薬が必要以上になされれば、ひいてはシーズン中に抗ウイルス薬の不足を招きかねない. 大流行したとはいえ実際 2003 年 1 月下旬にはオセルタミビルは枯渇状態になってしまった. 不必要な投薬を最小限にし、検査結果を適切な治療に役立てるためには、発症 12 時間以降の判定に基づいて治療を開始又は継続するべきであり、48 時間以内に治療が開始されるのが理想的であると考えられた. 実際の診療現場においては、発症 12 時間以内の場合 12 時間以降の診断が確実

であることを説明し、抗ウイルス薬を 1 日のみの処方として発症 12 時間以降の検査結果により継続治療を行うことが望ましいと考えられた.

本論文の要旨は第 46 回日本感染症学会中日本地方会総会 (平成 15 年 11 月 8 日京都市) にて発表した.

文 献

- 1) 三田村敬子, 山崎雅彦, 市川正孝: インフルエンザの迅速診断. 小児科臨床 2002; 55: 503-9.
- 2) 山崎雅彦, 三田村敬子: インフルエンザ迅速診断キットの信頼性と使い分け. 日医新報 2002; 4101: 108-9.
- 3) 武田紳江, 黒崎知道, 中村 明: A 型インフルエンザ流行期の小児における塩酸アマンタジンの使用経験. 感染症誌 2000; 74: 6-11.
- 4) Whitley RJ, Hayden FG, Reisinger KS, Young N, Dutkowski R, Ipe P, et al.: Oral oseltamivir treatment of influenza in children. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 127-33.
- 5) 岩城紀男, 河合直樹, 池松秀之, 柏木征三郎: 2002 年から 2003 年にかけてのインフルエンザの流行を振り返って. 臨床と研究 2003; 80: 1921-30.
- 6) 稲川直浩, 本田昭仁, 前本達男, 小林裕之, 仙田昌義, 小林宏伸, 他: インフルエンザ症例における, ウイルス抗原陽性化に要する発症後経過時間についての検討. 第 17 回日本小児救急医学学会 2003 年 6 月 21-22 日.
- 7) 鈴木里香, 鈴木葉子, 本間 哲, 仲田真己代, 杉原茂孝: インフルエンザ抗原検査時期についての検討. 第 35 回日本小児感染症学会 2003 年 11 月 7-8 日.
- 8) Uyeki TM: 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.
- 9) 中村久美子, 小野昭浩, 樋口清一, 三輪好浩, 中村和己, 角田 毅, 他: インフルエンザ治療戦略新展開に向けての臨床的検査. *Kitasato Med J* 2000; 50: 503-9.
- 10) Gillissen A, Hoffken G: Early therapy with the neuraminidase inhibitor oseltamivir maximizes its efficacy in influenza treatment. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 2002; 191: 165-8.
- 11) 三田村敬子, 菅谷憲夫, 蕨沢真理, 新庄正宜, 武内可尚: 小児の A 型及び B 型インフルエンザに対する oseltamivir の効果. 感染症誌 2002; 76: 946-52.
- 12) 今村 孝, 細矢光亮, 大西周子, 佐藤 敬, 片寄雅彦, 川崎幸彦, 他: 小児の A 型インフルエンザに対するオセルタミビルの有用性に関する検討. 感染症誌 2003; 77: 971-5.

Appropriate Use of Rapid Diagnostic Testing for Influenza

Atsuko HATA, Junko ASADA, Hiroshi MIZUMOTO, Ayumi UEMATSU,
Tadamori TAKAHARA, Midori IIDA, Tomohide YOSHIMURA,
Hiroshi NAGAFUJI & Daisuke HATA

Department of Pediatrics, Kitano Hospital The Tazuke Kofukai Medical Research Institute

To determine a more timely acquisition of accurate results for influenza patients, a rapid diagnostic testing for influenza were studied on 877 pediatric patients performed during the 2002-2003 flu season in our hospital. Of these, 337 patients were finally diagnosed as influenza based on the test results and treated with antiviral agents, amantadine or oseltamivir. Ten (29%) of the 34 patients whose tests were negative within 12 hours after onset became positive over 12 hours after onset. On the other hand, diagnoses based on antigen tests over 12 hours after onset were reliable because all 13 patients first confirmed negative were unchanged when tested afterward. These 10 patients missed the opportunity to take antivirals early, which possibly caused them to have significantly longer ($p = 0.0003$) febrile duration and higher frequency of admission ($p < 0.0001$) than the 106 patients first confirmed positive within 12 hours after onset. Days from onset until starting antivirals (mean 1.4 days), the febrile duration (mean 2.7 days) and frequency of hospitalization (20.5%) of the 219 patients who tested positive over 12 hours after onset were significantly worse ($p < 0.0001$, $p < 0.0001$ and $p = 0.0406$, respectively) than those of patients testing positive within 12 hours after onset (mean 0.2 days, mean 1.7 days and 11.3%, respectively). The febrile duration (mean 2.3 days) of the patients confirmed positive even over 12 hours, but within 48 hours, of onset was tolerable but significantly longer ($p < 0.0001$) than that of patients confirmed positive within 12 hours after onset. The frequency (19.6%) of hospitalization of the patients confirmed positive even over 12 hours, but within 48 hours, of onset was not significantly different from that of patients confirmed positive within 12 hours after onset. These results suggested that over 12 hours but within 48 hours after onset of illness is the best period for the rapid diagnosis to correctly determine whether a patient should be treated with antiviral agents based on the result.