

## 高感度インフルエンザ抗原迅速検査システムの有用性

<sup>1)</sup>長崎大学病院検査部, <sup>2)</sup>長崎大学大学院医歯薬学総合研究科病態解析・診断学,  
<sup>3)</sup>同 医歯薬学総合研究科臨床感染症学, <sup>4)</sup>同 医歯薬学総合研究科呼吸器内科学  
 岩永 祐季<sup>1)</sup> 小佐井康介<sup>1)</sup> 松田 淳一<sup>1)</sup> 賀来 敬仁<sup>2)</sup>  
 森永 芳智<sup>2)</sup> 長谷川寛雄<sup>1)</sup> 宮崎 泰可<sup>3)</sup> 泉川 公一<sup>3)</sup>  
 迎 寛<sup>4)</sup> 柳原 克紀<sup>1)2)</sup>

(平成29年1月5日受付)

(平成29年3月27日受理)

Key words: immunochromatography, silver amplification, neuraminidase inhibitor

## 要 旨

インフルエンザウイルスの検出において銀増幅により感度を高めたイムノクロマト法 (IC法) の有用性を検討した。2014年12月から2015年1月までに長崎大学病院においてインフルエンザ抗原検査が依頼された検体を対象に、従来法と銀増幅IC法で測定を行い、結果を比較した。解析対象となった203検体に対して両検査法の一致率は94.1% (191/203) であった。陽性率は銀増幅法15.8% (32/203)、従来法10.8% (22/203) であり前者で有意に高かった。本検討では従来法の結果のみを依頼者へ返却し、その結果に基づいて実施される診療を観察することにより、従来法と銀増幅IC法との結果の乖離が診療に与える影響を検討した。銀増幅IC法が陽性となった32症例 (従来法陽性21症例、陰性11症例) が実際はインフルエンザであったとして、それらを従来法の結果によって2群に分類して比較検討を行った。銀増幅IC法が陽性となった32症例のうち、ノイラミニダーゼ阻害薬が投与されたのは、従来法が陰性の場合には9.1% (1/11) であったのに対し、陽性の場合には90.5% (19/21) と後者で有意に高かった。抗菌薬が投与された割合は、従来法が陰性の場合45.5% (5/11) であったのに対し、陽性の場合には19.0% (4/21) と後者で低い傾向であった。院内感染対策に与える影響についても検討したところ、銀増幅IC法が陽性であったにもかかわらず従来法が陰性となった6名はインフルエンザの診断に至らず、適切にノイラミニダーゼ阻害薬が投与されないまま入院もしくは入院継続となった。

銀増幅IC法により高感度にインフルエンザウイルスを検出できれば、適切なノイラミニダーゼ阻害薬の投与や不要な抗菌薬投与の抑制、および適切な感染対策の実施に貢献できる可能性が示唆された。

〔感染症誌 91:747~751, 2017〕

## 序 文

インフルエンザは毎年、主に冬季に流行する。その多くは自然に軽快するが、基礎疾患を有する場合には重篤化する可能性がある。ノイラミニダーゼ阻害薬は発症から48時間以内に開始することが原則であるため、早期に適切な治療を実施するためには迅速・正確な診断が求められる<sup>1)2)</sup>。

インフルエンザウイルスの検出は、通常、イムノクロマト法 (IC法) を用いて行われる。簡便・迅速に

検査を実施できるキット製品が広く普及しており、インフルエンザの早期診断に貢献している。しかし、検出感度が低いことが欠点であり、偽陰性の際に適切な治療が実施されない可能性が指摘されている<sup>3)~5)</sup>。

近年、銀増幅技術を応用した高感度のIC法が開発された<sup>6)</sup>。我々は、これまで当院で使用してきたインフルエンザ抗原検査キットと、この新たな検出法の性能を比較した。また、それらの結果の相違が、臨床および感染対策に及ぼす影響を調査した。

## 対象と方法

2014年12月から2015年1月までに長崎大学病院

別刷請求先: (〒852-8501) 長崎市坂本1-7-1

長崎大学病院検査部

小佐井康介

Table 1 Concordant results between the clearline and the FUJI DRI-CHEM

		FUJI DRI-CHEM			
		A positive	B positive	Negative	Total
Clearline	A positive	21	0	0	21
	(H1N1) pdm09 positive	0	0	1	1
	B positive	0	0	0	0
	Negative	9	2	170	181
Total		30	2	171	203

においてインフルエンザ抗原検査が依頼された 204 検体（同一患者で複数回測定した場合を含む）を対象にした。日常検査として IC 法を原理とするクリアライン Influenza A/B/(H1N1)2009(Meiji Seika ファルマ、販売終了）（以下、従来法）を実施し、その後、銀増幅 IC 法を原理とする富士ドライケム IMMUNO AG カートリッジ FluAB（富士フィルム）（以下、銀増幅 IC 法）を実施した。具体的には、従来法に付属している希釈液を用いて検体を処理した後に従来法で測定を行い、その残液を用いて速やかに銀増幅 IC 法による測定を実施した。そのため、銀増幅 IC 法による測定については、テストカートリッジに滴下するまでの検体処理の過程が添付文書に従っていない<sup>7)</sup>。判定については、従来法は目視により、銀増幅 IC 法は自動分析測定機器である富士ドライケム IMMUNO AG1（富士フィルム）により行った。検査の依頼者には従来法の結果のみを報告し、銀増幅 IC 法の結果は報告しなかった。すなわち依頼者は従来法の結果に基づき診療を行った。

従来法と銀増幅 IC 法の結果の一致率を算出し、陽性率の比較を行った。また、結果の乖離が、治療および院内感染対策に与える影響について調査した。陽性率の比較は正確な McNemar 検定により、ノイラミニダーゼ阻害薬および抗菌薬が投与された割合の比較は Fisher の直接法により行い、有意水準 5% 未満の場合に有意とした。

本研究は、長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得て実施した。

## 成 績

### 1. 従来法との比較

測定エラーで結果が得られなかった 1 検体を除外し、203 検体を解析対象とした。Table 1 に従来法と銀増幅 IC 法を比較した結果を示す。従来法では A 型陽性 21 検体、A (H1N1) pdm09 陽性 1 検体、いずれも陰性 181 検体であった。一方、銀増幅 IC 法では A 型陽性 30 検体、B 型陽性 2 検体、いずれも陰性 171 検体であった。結果が乖離したものとして、従来法陰性かつ銀増幅 IC 法陽性となった検体は A 型 9 検体、B 型 2 検体、従来法陽性かつ銀増幅 IC 法陰性となっ

た検体は A (H1N1) pdm09 型 1 検体であった。従来法と銀増幅 IC 法の一致率は 94.1% (191/203) であった。2 法の陽性率は、従来法 10.8% (22/203)、銀増幅 IC 法 15.8% (32/203) であり、銀増幅 IC 法において有意に高かった ( $p=0.006$ )。

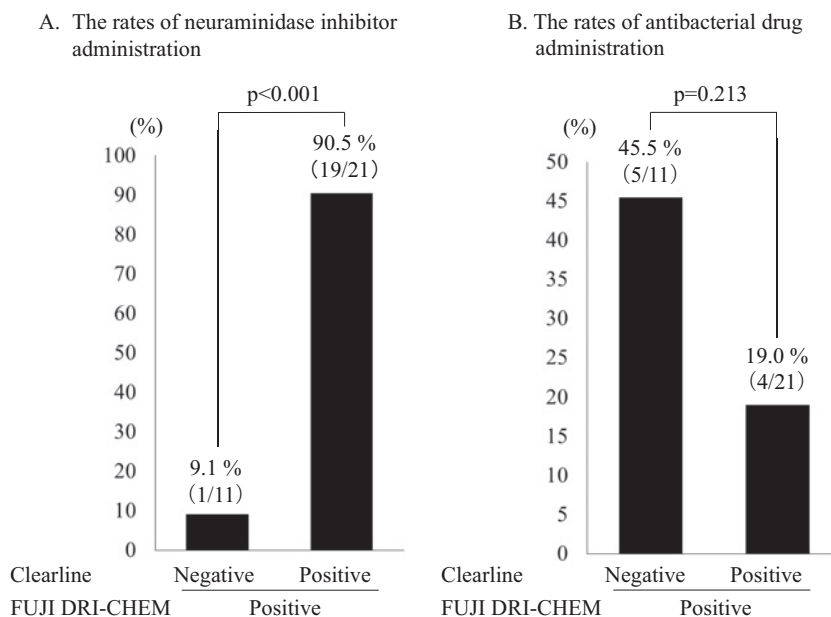
### 2. 検査結果の乖離が治療および感染対策に与える影響

検査結果の乖離が治療および感染対策に与える影響を検討するために、銀増幅 IC 法が陽性となった 32 症例（従来法陽性 21 症例、陰性 11 症例）を実際はインフルエンザであったものとし、それらを従来法の結果によって 2 群に分類して比較検討を行った。Fig. 1 に従来法の結果で分けられた各群において、ノイラミニダーゼ阻害薬と抗菌薬が投与された割合を示す。ノイラミニダーゼ阻害薬が投与された割合は、従来法が陰性の場合には 9.1% (1/11) であったのに対し、陽性の場合には 90.5% (19/21) であり、後者で有意に高かった。また、抗菌薬が投与された割合は、従来法が陰性の場合 45.5% (5/11) であったのに対し、陽性の場合には 19.0% (4/21) であり、有意差は認めなかったものの後者で低い傾向であった。院内感染対策に与える影響としては、従来法が陰性であった 11 例中、1 名が外来より入院となり、5 名が既に入院中であった。結果として 6 名はインフルエンザの確定診断に至らず、適切なノイラミニダーゼ阻害薬の投与が実施されなかった。隔離については、2 例は従来法が陰性であったもののインフルエンザが否定できなかったため、それぞれ個室隔離とカーテン隔離が実施されたが、残りの 4 名は隔離が実施されないまま入院もしくは入院継続となった。この 6 名は自然に軽快もしくは退院し、6 名から伝播して発症した症例は確認されなかった。

## 考 察

銀増幅 IC 法は、標識である金コロイド粒子を銀粒子を用いて増幅することによって、従来の IC 法と比べて高感度にインフルエンザウイルスを検出することが可能となっている<sup>8)</sup>。本検討でも既報と同様に従来法と比較して高い陽性率を認めた。ウイルス感染価が既に測定された株を用いて、ウイルス分離法と PCR

Fig. 1 The differences between drug administration according to the test results



法、各種迅速検査キットの検出限界を比較した検討では、銀増幅IC法は、ウイルス分離やPCR法には劣るものの、他の多くの迅速キットより検出能力が高いことが示されている<sup>8)</sup>。銀増幅IC法では、非特異的な吸着箇所を除去した抗体が標識抗体として使用されている。更に洗浄工程を加えることで、偽陽性を抑制する工夫がなされている<sup>6)</sup>。臨床検体を用いた検討においても特異度を保ったまま感度が向上していることが示されている<sup>9)</sup>。本検討では、特に結果が乖離した検体に対して、ウイルス分離やPCR法などによる確認試験を行うことはできなかったが、これまでの報告を考慮すると本検討の結果は概ね妥当であると考えられる。

検査結果の乖離が診療や感染対策に与える影響については、2法間で結果が乖離した症例、特に従来法陰性かつ銀増幅IC法陽性であった症例を対象に、依頼者が従来法の結果に基づいてどのような方針をとったか、更に高感度な検査によりその方針がどのように変化しうるかを検討した。依頼者に報告された従来法の検査結果が陽性であればノイラミニダーゼ阻害薬が投与される割合が高く、陰性であれば抗菌薬が投与されやすい傾向であった (Fig. 1)。本検討は銀増幅IC法の結果を返却せずに行った観察研究であるため、直接的な結果は得られていないが、銀増幅IC法により感度よく確実に検出されることで、適切にノイラミニダーゼ阻害薬が投与され、不要な抗菌薬の投与が減少することが期待される。ノイラミニダーゼ阻害薬は発症から早期に使用することで発熱期間が短くなること

が報告されているが、発症早期の検査結果が偽陰性になった場合は治療開始の遅れが懸念される<sup>10)</sup>。既報では、ウイルス量が少ないと考えられる発症から6時間未満と48時間以降における感度が、他のIC法であるエスプラインインフルエンザA&B-N (富士レビオ) (それぞれ69.2%, 50.0%) より銀増幅IC法 (それぞれ84.6%, 100%) において高かったと報告されており、早期の適切な治療開始に貢献できる可能性がある<sup>11)</sup>。また、実際はインフルエンザであったとしても、検査の感度が低いために検査結果が陰性となった場合、インフルエンザの確定診断に至らず、適切なノイラミニダーゼ阻害薬の投与や十分な感染対策が実施されないまま入院が継続される可能性がある。今回は従来法陰性かつ銀増幅IC法陽性であった6名の患者からの院内伝播は確認されなかったものの、検出感度が高い銀増幅IC法は、十分な院内感染対策を実施する上においても有用性が期待される。

上述したように、本検討では銀増幅IC法による測定は添付文書に従って実施していないため、添付文書に従って測定した結果と異なる可能性がある。その影響の程度について検討できなかったことは、本研究の限界と考える。また、本検討で使用した分析測定機器である富士ドライケムIMMUNO AG1は自動で判定されるため、従来法の目視判定と比べて判定時の個人差を少なくすることができる利点がある。一方、1台あたり1検体しか測定できないという欠点がある。流行期には、インフルエンザの検査依頼が増加するため、測定時間の短縮や複数検体を同時に測定できるように

するなどの改善を期待したい。

高感度にインフルエンザウイルスを検出できる銀増幅 IC 法は、適切な治療および感染対策の実施に貢献できる可能性がある。

謝辞：統計解析に協力いただいた長崎大学病院臨床研究センター佐藤 俊太郎先生に深謝する。

利益相反自己申告：本研究では、富士フィルムメディカル株式会社より、富士ドライケム IMMUNO AG カートリッジ FluAB (200 テスト) および富士ドライケム IMMUNO AG1 [3 台 (レンタル)] の提供を受けた。

#### 文 献

- 1) 高橋篤史, 木村泉美, 樋口貴洋, 伊藤克彦, 向山弘昭, 譚 策, 他: 銀増幅技術を用いたインフルエンザ迅速検査キットの有用性. 医学検査 2015; 64: 737—42.
- 2) 社団法人日本感染症学会・インフルエンザ委員会: 社団法人日本感染症学会提言 2012~インフルエンザ病院内感染対策の考え方について~ (高齢者施設も含めて). [http://www.kansensho.or.jp/guidelines/1208\\_teigen.html](http://www.kansensho.or.jp/guidelines/1208_teigen.html)
- 3) Chartrand C, Leeflang MM, Minion J, Brewer T, Pai M: Accuracy of rapid influenza diagnostic tests: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 2012; 156: 500—11.
- 4) González-Del Vecchio M, Catalán P, de Egea V, Rodríguez-Borlado A, Martos C, Padilla B, *et al.*: An algorithm to diagnose influenza infection: evaluating the clinical importance and impact on hospital costs of screening with rapid

antigen detection tests. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015; 34: 1081—5.

- 5) Tsushima Y, Uno N, Sasaki D, Morinaga Y, Hasegawa H, Yanagihara K: Quantitative RT-PCR evaluation of a rapid influenza antigen test for efficient diagnosis of influenza virus infection. *J Virol Methods* 2015; 212: 76—9.
- 6) 森 幹永, 片田順一, 知久浩之, 中村健太郎, 小山田孝嘉: 銀増幅技術による高感度インフルエンザ診断薬の開発. *FujiFilm Res & Dev* 2012; 57: 5—10.
- 7) 富士ドライケム IMMUNO AG カートリッジ FluAB 添付文書.
- 8) 川上千春, 渡邊寿美, 清水英明, 山崎雅彦, 市川正孝, 三田村敬子, 他: インフルエンザウイルス. *臨床とウイルス* 2012; 40: 104—12.
- 9) 三田村敬子, 山崎雅彦, 市川正孝, 中島関子, 清水英明, 川上千春: 銀増幅イムノクロマトグラフィ法を用いた高感度インフルエンザ迅速診断システム改良品の臨床検討. *医学と薬学* 2013; 70: 399—405.
- 10) 河村研一, 山田俊博, 川森文彦, 杉山寛治: 新型インフルエンザ A (H1N1) 2009 小児患者に対する桂枝湯, ザナミビルおよびオセルタミビルの有効性の検討. *小児科臨床* 2011; 64: 439—44.
- 11) 三田村敬子, 山崎雅彦, 片田順一, 小山田孝嘉, 市川正孝, 石丸陽子, 他: 銀増幅イムノクロマトグラフィ法を用いた高感度インフルエンザ迅速診断システムの臨床検討. *医学と薬学* 2012; 67: 307—14.

## Usefulness of a Highly Sensitive Detection System for the Influenza Virus

Yuki IWANAGA<sup>1)</sup>, Kosuke KOSAI<sup>1)</sup>, Junichi MATSUDA<sup>1)</sup>, Norihito KAKU<sup>2)</sup>, Yoshitomo MORINAGA<sup>2)</sup>,  
Hiroo HASEGAWA<sup>1)</sup>, Taiga MIYAZAKI<sup>3)</sup>, Koichi IZUMIKAWA<sup>3)</sup>,  
Hiroshi MUKAE<sup>4)</sup> & Katsunori YANAGIHARA<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Laboratory Medicine, Nagasaki University Hospital, <sup>2)</sup>Department of Laboratory Medicine,

<sup>3)</sup>Department of Infectious Diseases and <sup>4)</sup>Department of Respiratory Medicine,

Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

FUJI DRI-CHEM is a highly sensitive immunochromatographic detection system using silver amplification for the influenza virus (silver amplification method). We compared the results between clearline as a conventional immunochromatographic method (conventional method) and the silver amplification method using 203 specimens obtained between December 2014 and January 2015 in Nagasaki University Hospital. The concordance rate between the two methods was 94.1% (191/203). The positive rate was higher in the silver amplification method (15.8%, 32/203) than in the conventional method (10.8%, 22/203). In this study, physicians decided treatment option based on the result of the conventional method, because we did not report the result of the silver amplification method. Among 32 positive cases in the silver amplification method which were considered to be true positive, a neuraminidase inhibitor was administered to 9.1% (1/11) of the negative cases and 90.5% (19/21) of the positive cases in the conventional method. Conversely, an antibacterial drug was administered to 45.5% (5/11) of the negative cases and 19.0% (4/21) of the positive cases in the conventional method. Furthermore, 6 cases, which were negative in the conventional method and positive in the silver amplification method, were hospitalized without diagnosis of influenza and appropriate administration of neuraminidase inhibitors. These results suggested that the silver amplification method with high sensitivity can contribute to the appropriate use of neuraminidase inhibitors, reduction of unnecessary use of antibacterial drugs, and appropriate infection control.