

発症から検査までの時間がインフルエンザ迅速抗原検査に 与える影響：前向き観察研究

¹⁾ 筑波メディカルセンター病院感染症内科, ²⁾ 同 臨床検査医学科, ³⁾ 同 臨床検査科, ⁴⁾ 同 総合診療科,
⁵⁾ 同 小児科, ⁶⁾ 同 呼吸器内科

明石 祐作¹⁾²⁾ 鈴木 広道¹⁾²⁾ 竹内 優都¹⁾ 上田 淳夫³⁾
廣瀬 由美⁴⁾ 今井 博則⁵⁾ 石川 博一⁶⁾

(令和元年12月16日受付)

(令和2年10月22日受理)

Key words: influenza, point of care testing, rapid influenza diagnostic test, sensitivity and specificity,
time course

要 旨

日本ではインフルエンザの診断に、迅速抗原検査が広く用いられている。しかし、40～50%で偽陰性が見られるとされ、正確に結果を解釈するためには、検査性能に影響する要因を把握する必要がある。今回、インフルエンザ様症状（37℃以上の体温上昇、寒気・体熱感、咳、喀痰、倦怠感、咽頭痛、筋肉痛・関節痛、頭痛、鼻汁・鼻閉のいずれか）の発症から検査までの時間経過により、インフルエンザ迅速抗原検査の感度・特異度が異なるか、単施設前向き研究で調査した。当施設がある地域のインフルエンザ流行期間に（2017年12月～2018年2月および2018年12月～2019年3月）、臨床的にインフルエンザの疑いがあり、担当医がインフルエンザ迅速抗原検査を必要と判断した患者を対象とした。基準検査法はリアルタイムPCR法とした。期間中の累計322名（2017年度：159名、2018年度：163名）のうち、313名を最終対象者とした。リアルタイムPCR法を用い129名（41.2%）でインフルエンザウイルスを検出した（A型：88名、28.1%；B型：41名、13.1%）。インフルエンザ迅速抗原検査の感度は、全体で54.3%（95%信頼区間（CI）：45.3～63.1）、特異度は100%（95%CI：98.0～100）だった。感度はインフルエンザ様症状の発症からインフルエンザ迅速抗原検査までの時間の経過により有意な上昇を示した（ $p=0.03$ ）：12時間未満、38.9%（95%CI：17.3～64.3）；12～24時間、40.5%（95%CI：25.6～56.7）；24～48時間、65.2%（95%CI：49.8～78.6）；48時間以降、69.6%（95%CI：47.1～86.8）。本検討より、インフルエンザ迅速抗原検査の感度は、インフルエンザ様症状の発症から時間が経過するに連れて上昇する可能性が示された。

〔感染症誌 95：9～16, 2021〕

序 論

インフルエンザは冬季に流行する気道感染症として、多い疾患の一つとされる¹⁾。インフルエンザは通常自然軽快するが、併存症のある患者では重症化することがあり²⁾、入院患者や医療従事者が罹患すると院内感染の原因となるため²⁾³⁾、確実な診断は重要である。

インフルエンザを正確に診断可能な単一の病歴や症状はなく⁴⁾、症状や身体所見を用いた予測ルールも診

断能は高くないことから⁴⁾⁵⁾、臨床診断は難しいとされる。日常診療では臨床症状に加え、抗原抗体反応を利用したイムノクロマト法によるインフルエンザ迅速抗原検査（以下インフルエンザ迅速抗原検査）が広く用いられている。近年、日本から迅速抗原検査の感度は97%と報告されたが⁶⁾、130の研究を対象としたメタアナリシスでは40～50%に偽陰性を認めるとしている⁷⁾⁸⁾。研究によって迅速抗原検査の感度が異なっており、結果を適切に解釈するため、検査性能に影響する要因を把握することは重要である。

インフルエンザ迅速抗原検査の感度に与える要因として、発症から検査までの時間による感度の変化が検

責任著者：(〒305-8558) 茨城県つくば市天久保1-3-1
筑波メディカルセンター病院感染症内科

明石 祐作

E-mail: yusaku-akashi@umin.ac.jp

討されている⁸⁾。メタアナリシスで対象とされた7報のうち3報で、発症から24時間経過すると感度が20~30%上昇するとされる⁸⁾。一方、残りの4報では感度は上昇しておらず、研究によって結果が一定していないこと、発症時の定義がない研究も含まれること、といった限界がある。また、症状が軽微な患者ではウイルス排出量が少ないと示唆されており⁹⁾、症状の違いがインフルエンザ迅速抗原の感度に影響する可能性があるが、過去の検討はない。

本研究では、インフルエンザ様症状(37℃以上の体温上昇、寒気・体熱感、咳、喀痰、倦怠感、咽頭痛、筋肉痛・関節痛、頭痛、鼻汁・鼻閉のいずれか)を発症してからの時間経過が、インフルエンザ迅速抗原検査の感度・特異度の結果に与える影響を調査した。基準検査法として、リアルタイムPCR法による核酸増幅法遺伝子検査(以下リアルタイムPCR)を用いた。また、症状ごとに層別化し、インフルエンザ迅速抗原検査の検査性能を評価した。なお、凍結保存がウイルス量に与える影響を減らすため、リアルタイムPCRは検体採取直後に行った。

対象と方法

本研究は前向き観察研究であり、筑波メディカルセンター病院(453床)を対象とし、インフルエンザ流行期(茨城県定点あたりの患者報告数が1.0以上の時期¹⁰⁾、2017年度:2017年12月28日から2018年2月2日、2018年度:2018年12月17日から2019年3月26日)に行った。本研究は、筑波メディカルセンター病院倫理委員会の承認(倫理委員会承認番号:2017-055)を経て、UMINに試験登録(UMIN登録ID:UMIN000035281)し、実施した。

(1) 対象患者

臨床的にインフルエンザの疑いがあり、担当医がインフルエンザ迅速抗原検査を必要と判断し、本人もしくは代諾者より研究参加の文書同意が得られた小児・成人患者を連続的に全例対象とした。研究担当者および研究協力医(感染症内科・総合診療科・小児科)が診療した、当院職員、救急外来患者、入院患者を主な対象者とした。

(2) 臨床情報の収集

患者背景として、年齢、性別、1年以内のインフルエンザ予防接種歴、インフルエンザ罹患者との濃厚接触歴、職業、入院を調査した。入院患者について、入院4日目以降でインフルエンザ様症状を発症した場合は院内発症とした¹¹⁾。インフルエンザ合併症のリスクとなる併存症として²⁾、気管支喘息、神経疾患、血液疾患、慢性肺疾患、代謝・内分泌疾患、心血管疾患、腎疾患、肝疾患、高度肥満、免疫抑制状態、妊娠または産褥期の有無について記録した。症状は、37.8℃以

上の発熱、正常体温(37℃)以上の体温上昇¹²⁾¹³⁾、寒気・体熱感、咳、喀痰、倦怠感、咽頭痛、筋肉痛・関節痛、頭痛、鼻汁・鼻閉の有無について調べた。身体所見は、眼球結膜充血、咽頭発赤、扁桃白苔、扁桃腫脹、後咽頭壁リンパ濾胞、頸部リンパ節腫脹、呼吸音異常の有無について調査した。

先行研究を基に、37.8℃以上の発熱および咳または咽頭痛を認める場合をInfluenza-like illness(以下ILI)、37.8℃以上の発熱、咳、喀痰、咽頭痛、筋肉痛・関節痛、頭痛、鼻汁・鼻閉のうち2つ以上認める場合をAcute respiratory illness(以下ARI)、1つ以下の場合をpaucisymptomatic illnessと定義した⁹⁾。

加えて、インフルエンザ様症状の発症時から受診までの時間を測定した。インフルエンザ様症状の発症時は、37℃以上の体温上昇、寒気・体熱感、咳、喀痰、倦怠感、咽頭痛、筋肉痛・関節痛、頭痛、鼻汁・鼻閉のいずれかの出現時と定義した。

(3) インフルエンザウイルス検査

インフルエンザ迅速抗原検査およびリアルタイムPCRを、検体採取直後に院内検査室で行った。インフルエンザ迅速抗原検査はラピッドテスト カラーFLUスティック(積水メディカル)で行い、付属の滅菌綿棒で採取した鼻咽頭検体を用いた。リアルタイムPCRは、cobas Liatシステム および専用試薬(以下Liat;2017年度:cobas Influenza A/B,2018年度:cobas Influenza A/B&RSV,ロシユ・ダイアグノスティックス)を先行研究に準じた手順で行い¹⁴⁾、フロックスワブで採取した鼻咽頭検体を用いた。鼻咽頭検体の採取は、3名の研究者(明石、鈴木、竹内)が実施または立会いし、正しく行われていることを確認した。

(4) 統計解析

感度・特異度はClopper and Pearsonの方法で95%信頼区間を求めた。インフルエンザ迅速抗原検査の感度・特異度は、インフルエンザ様症状の発症時から受診までの時間ごとに求めた(12時間未満,12~24時間,24~48時間,48時間以降)。さらに、ARI,ILI,paucisymptomatic illnessに該当する患者群で層別化し、インフルエンザ迅速抗原検査の感度・特異度をそれぞれ測定した。インフルエンザ様症状の発症時から受診までの時間による、インフルエンザ迅速抗原検査の感度・特異度の変化をFisher正確確率検定で比較し、 $p<0.05$ を統計的に有意な変化とした。欠損値は除外した。統計ソフトはR 3.3.1を用いた。

成 績

(1) 対象者

累計322名(2017年度:159名,2018年度:163名)の患者から文書によるインフォームド・コンセントを

Table 1 Demographic and clinical characteristics of the enrolled patients

	Patients with confirmed molecular diagnosis of influenza			Overall n = 313 100%
	Total n = 129 41.2%	Type A n = 88 28.1%	Type B n = 41 13.1%	
Age, yrs (median [IQR])	35.0 [26.0 43.0]	34.5 [26.8 41.3]	37.0 [23.0 44.0]	34.0 [26.0 43.0]
<18 years	3 (2.3)	1 (1.1)	2 (4.9)	18 (5.8)
18-64 years	118 (91.5)	81 (92.0)	37 (90.2)	266 (85.0)
≥65 years	8 (6.2)	6 (6.8)	2 (4.9)	29 (9.3)
Sex (Female)	86 (66.7)	64 (72.3)	22 (53.7)	202 (64.5)
Close contact with influenza patients	39 (30.2)	29 (33.0)	10 (24.4)	59 (18.8)
Healthcare worker	81 (62.8)	62 (70.5)	19 (46.3)	206 (65.8)
Inpatient	8 (6.2)	4 (4.5)	4 (9.8)	33 (10.5)
Nosocomial onset (≥4 days after admission)	3 (2.3)	2 (2.3)	1 (2.4)	18 (5.8)
Comorbidities	18 (14.0)	12 (13.6)	6 (14.6)	57 (18.2)
Immunosuppressive state	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (1.3)
Asthma	12 (9.3)	9 (10.2)	3 (7.3)	29 (9.3)
Chronic lung disease other than asthma	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (1.6)
Neurological disease	1 (0.8)	1 (1.1)	0 (0.0)	7 (2.2)
Heart disease	2 (1.6)	0 (0.0)	2 (4.9)	6 (1.9)
Renal disease	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)
Diabetes mellitus	1 (0.8)	1 (1.1)	0 (0.0)	8 (2.6)
Pregnancy	1 (0.8)	1 (1.1)	0 (0.0)	3 (1.0)
Influenza immunization	85 (65.9)	63 (71.6)	22 (53.7)	227 (72.5)
Prior use of anti-influenza drug	1 (0.8)	1 (1.1)	0 (0.0)	7 (2.2)
Acute respiratory illness (ARI) *	122 (94.6)	85 (96.6)	37 (90.2)	269 (85.9)
Influenza-like illness (ILI) †	78 (60.5)	59 (67.0)	19 (46.3)	136 (43.5)
Paucisymptomatic illness ‡	7 (5.4)	3 (3.4)	4 (9.8)	44 (14.1)
Signs and symptoms				
Fever (Temperature ≥37.8°C)	87 (67.4)	63 (71.6)	24 (58.5)	185 (59.1)
Elevated body temperature ≥37°C	115 (89.1)	79 (89.8)	36 (87.8)	264 (84.3)
Chills or subjective fever	99 (76.7)	68 (77.3)	31 (75.6)	210 (67.1)
Cough	105 (81.4)	74 (84.1)	31 (75.6)	179 (57.2)
Sputum production	26 (20.2)	17 (19.3)	9 (22.0)	45 (14.4)
Fatigue §	94/127 (74.0)	67/87 (77.0)	27/40 (67.5)	192/299 (64.2)
Sore throat §	80/127 (63.0)	56/87 (64.4)	24/40 (60.0)	168/299 (56.2)
Myalgia or arthralgia §	77/127 (60.6)	53/87 (60.9)	24/40 (60.0)	159/299 (53.2)
Headache §	78/127 (61.4)	61/87 (70.1)	17/40 (42.5)	160/299 (53.5)
Runny nose or nasal obstruction	82 (63.6)	53 (60.2)	29 (70.7)	178 (56.9)
Diarrhea	4 (3.1)	2 (2.3)	2 (4.9)	11 (3.5)
Hypoxia (SpO ₂ <95%)	4 (3.1)	2 (2.3)	2 (4.9)	6 (1.9)
Conjunctivitis	2 (1.6)	2 (2.3)	0 (0.0)	5 (1.6)
Pharyngeal erythema	92 (71.3)	62 (70.5)	30 (73.2)	185 (59.1)
Follicles on the posterior pharyngeal wall	32 (25.2)	23 (26.7)	9 (22.0)	53 (17.3)
Tonsillar swelling or exudate	4 (3.1)	3 (3.4)	1 (2.4)	16 (5.1)
Cervical lymphadenopathy	7 (5.4)	6 (6.8)	1 (2.4)	23 (7.3)
Wheeze on chest auscultation	2 (1.6)	1 (1.1)	1 (2.4)	3 (1.0)

Categorical data are presented as the number of patients (proportion, %). Continuous data are presented as the medians (interquartile range, IQR).

* Acute respiratory illness: ≥2 of the following 7 signs or symptoms: Fever ≥37.8°C, cough, sputum production, sore throat, myalgia/arthralgia, headache, and runny nose/nasal blockage

† Influenza-like illness: A cough or sore throat in addition to fever ≥37.8°C

‡ Pauci-symptomatic illness: ≤1 sign/symptom of the above 7 signs/symptoms

§ Data were not available for infants and unconscious patients.

取得し、インフルエンザ迅速抗原検査、リアルタイムPCRによるインフルエンザウイルス検査を連続的に実施した。8名はインフルエンザ迅速抗原検査とリアルタイムPCRの検体採取を同時に行っておらず、1名はインフルエンザ様症状の発症時が不明のため除外

し、最終的に313名を対象とした。

Table 1に対象者の背景を示した。対象者のうち202名(64.5%)が女性だった。年齢中央値は34.0歳、最少年齢は日齢9、最高年齢は95歳、65歳以上は29名(9.3%)だった。また、医療従事者は206名(65.8%)、

Table 2 Timing of examination and the sensitivities/specificities of the antigen test

A) All patients (n = 313)				
	Antigen testing			
	Sensitivity	p-value*	Specificity	p-value*
Time after the onset of symptoms to the PCR testing				
<12 h	38.9 (17.3-64.3)	0.03	100 (91.4-100)	1.00
12-24 h	40.5 (25.6-56.7)		100 (92.9-100)	
24-48 h	65.2 (49.8-78.6)		100 (93.2-100)	
>48 h	69.6 (47.1-86.8)		100 (91.4-100)	
Overall	54.3 (45.3-63.1)		100 (98.0-100)	
B) Patients who met the diagnostic criteria for acute respiratory illness (ARI) (n = 269)				
	Antigen testing			
	Sensitivity	p-value*	Specificity	p-value*
Time after the onset of symptoms to the PCR testing				
<12 h	40.0 (16.3-67.7)	0.04	100 (85.2-100)	1.00
12-24 h	42.5 (27.0-59.1)		100 (91.4-100)	
24-48 h	64.4 (48.8-78.1)		100 (92.5-100)	
>48 h	72.7 (49.8-89.3)		100 (90.3-100)	
Overall	55.7 (46.5-64.7)		100 (97.5-100)	
C) Patients who met the diagnostic criteria on influenza-like illness (ILI) (n = 136)				
	Antigen testing			
	Sensitivity	p-value*	Specificity	p-value*
Time after the onset of symptoms to the PCR testing				
<12 h	50.0 (15.7-84.3)	0.45	100 (54.1-100)	1.00
12-24 h	60.9 (38.5-80.3)		100 (81.5-100)	
24-48 h	74.2 (55.4-88.1)		100 (80.5-100)	
>48 h	75.0 (47.6-92.7)		100 (80.5-100)	
Overall	67.9 (56.4-78.1)		100 (93.9-100)	

Sensitivities and specificities are provided with 95% confidence intervals.

*Fisher's exact test was used to analyze the significance of the changes in the sensitivity and specificity of antigen testing with the passage of time after the onset of symptoms.

インフルエンザ予防接種者は227名(72.5%)だった。入院患者は33名(10.5%)であり、院内発症は18名(5.8%)となった。併存症は57名(18.2%)に認め、気管支喘息が29名(9.3%)と最も多く、続いて糖尿病8名(2.6%)、神経疾患7名(2.2%)、心血管疾患6名(1.9%)、慢性肺疾患5名(1.6%)、免疫抑制状態4名(1.3%)、妊娠3名(1.0%)、腎疾患1名(0.3%)だった。

(2) インフルエンザウイルス陽性者の特徴

313名中129名(41.2%)で、リアルタイムPCRにてインフルエンザウイルスを検出した(A型:88名, 28.1%; B型:41名, 13.1%; Table 1)。同129名のうち、医療従事者は81名(62.8%)、8名(6.2%)は入院中の患者(うち3名が院内発症)だった。インフルエンザ罹患患者との濃厚接触歴は39名(30.2%)、インフルエンザ予防接種歴は85名(65.9%)に認めた。最多の症状は37°C以上の体温上昇(89.1%)で、続い

て咳嗽(81.4%)で、寒気・体熱感(76.7%)、倦怠感(74.0%)、37.8°C以上の発熱(67.4%)だった。ARI基準に合致したのは122名(94.6%)で、ILIは78名(60.5%)、paucisymptomatic illnessは7名(5.4%)で該当した。

(3) インフルエンザ様症状の発症時間がインフルエンザ迅速抗原検査の感度・特異度に与える影響 (Table 2A)

リアルタイムPCRを基準検査としたインフルエンザ迅速抗原検査の感度は、全体で54.3%(95%信頼区間(CI):45.3~63.1)、特異度は100%(95%CI:98.0~100)だった(Table 2-A)。感度はインフルエンザ様症状の発症時から、インフルエンザ迅速抗原検査までの時間が長いほど上昇した(p=0.03)。12時間未満が38.9%(95%CI:17.3~64.3)に対し、12~24時間で40.5%(95%CI:25.6~56.7)、24~48時間で65.2%(95%CI:49.8~78.6)、48時間超で69.6%(95%CI:47.1~

86.8) だった (Table 2-A).

(4) ARI, ILI, paucisymptomatic illness に該当した患者における, インフルエンザ迅速抗原検査の感度 (Table 2-B, 2-C)

ARI, ILI, paucisymptomatic illness の基準に該当する患者群でのインフルエンザ迅速抗原検査の感度は, ARI に該当した患者では 55.7% (95% CI: 46.5~64.7, Table 2-B), ILI では 67.9% (95% CI: 56.4~78.1, Table 2-C), paucisymptomatic illness では 28.6% (95% CI: 3.7~71.0%) だった. ARI に該当した患者では時間経過に伴いインフルエンザ迅速抗原検査の感度は向上したが ($p=0.04$, Table 2-B), ILI では有意な上昇を認めなかった ($p=0.45$, Table 2-C).

考 察

インフルエンザ迅速抗原検査の感度は全体で 54.3% であり, インフルエンザ様症状の発症から時間が経過するにつれ上昇した. ILI に該当した患者では感度 67.9% だったが, paucisymptomatic illness に該当した患者では 28.6% と低かった.

インフルエンザ迅速抗原検査の感度/特異度は, メタアナリシスで A 型: 54.4%/99.4%, B 型: 53.2%/99.8% とされ⁸⁾, 本研究でも同様の結果だった. 一方, 2020 年になり, Seki らはインフルエンザ迅速抗原検査 (イムノエース Flu, タウンズ) の感度/特異度を 97.1%/89.2% と報告しており⁶⁾, 研究によって報告される検査性能は異なる. インフルエンザ迅速抗原検査は $6\log_{10}$ コピー/mL とウイルス量の検出限界があり¹⁵⁾, 検査性能は検体中のウイルス量に影響を受ける¹⁴⁾. 検体採取量に影響を与える要因として, 検体採取部位, 採取手技, 検体採取に用いるスワブの種類が指摘されている¹⁶⁾¹⁷⁾. 本研究では, 研究者が検体採取の正確な実施を確認しており, 検体採取部位や採取手技の影響は小さいと考える. 一方, 今回用いたインフルエンザ迅速抗原検査は滅菌綿棒を用いるため, フロックスワブで採取した場合に比べて検体採取量が少なく¹⁷⁾, 感度が低下した可能性がある. また, インフルエンザ迅速抗原検査の検査特性を評価するに当たり, 基準検査の信頼性は重要である. PCR でのインフルエンザウイルスの検出は, 保存状態に影響を受けるため¹⁸⁾, 国立感染症研究所はウイルス輸送用培地での検体保管と, PCR を行うまで 1 週間以上かかる際は -70°C 以下での冷凍保管を推奨している¹⁹⁾²⁰⁾. しかし, 適切な冷凍保管でも, 解凍や長期保存の影響により PCR の検出率は低下する. 我々の以前の検討では, Universal Transport Media に -80°C で検体を冷凍保管したところ, 検体採取直後の PCR でインフルエンザウイルス陽性だった 77 検体のうち, 4 検体 (5%) で冷凍保管後の PCR が陰性となった¹⁴⁾. 今回の研究

は院内で検体採取直後に行ったりリアルタイム PCR を基準としているため, 基準検査として信頼性の高い結果を得られたと考える. 一方, 非常に高いインフルエンザ迅速抗原検査の感度を報告した Seki らの研究では, インフルエンザ迅速抗原検査の残検体を -20°C で冷凍保管しており, 保管条件は最適でない可能性がある⁶⁾. インフルエンザ迅速抗原検査で陰性となるようなウイルス量の少ない検体は, 保存培地や冷凍保管の影響により PCR でも偽陰性となりやすいため, 結果としてインフルエンザ迅速抗原検査の感度を高く見積もる可能性がある.

インフルエンザのウイルス排出量は, インフルエンザ様症状の発症から 1~2 日間かけて上昇し⁹⁾, 2~3 日経過した後に漸減する. 本研究ではインフルエンザ様症状の発症から時間が経過するに連れ, インフルエンザ迅速抗原検査の感度は上昇しており, ウイルス排出量の増加に応じた結果と考える. さらに, 症状の程度や発熱の有無もウイルス排出量に関連すると知られている²¹⁾. そのため, 37.8°C 以上の発熱を基準に含む ILI の患者でインフルエンザ迅速抗原検査の感度が高く, paucisymptomatic illness に該当した患者は低くなったと考える. また, 予防接種を受けた医療従事者では, インフルエンザに罹患しても半数で発熱がないとされ²²⁾, ウイルス排出量が少ないと予想される. 本研究のインフルエンザウイルス陽性者では, 予防接種歴のある医療従事者が 6 割を占めており, 37.8°C 以上の発熱を 3 割以上に認めなかったため, 全体として迅速抗原検査の感度が低下したかもしれない.

インフルエンザウイルスの検出に関し, 迅速遺伝子検査は感度 87.9%, 特異度 97.4% と報告されており²³⁾, 導入によって入院日数, 診療コスト²³⁾, 院内感染²⁴⁾を減らすとされる. 呼吸器感染症の迅速遺伝子検査は point-of-care testing (POCT) として普及しつつあり, 米国感染症学会のガイドラインはインフルエンザの診断に同検査を優先して用いるよう推奨している²⁾. 迅速遺伝子検査は, 海外を中心に複数の機器や試薬が開発されている²³⁾. 本研究で用いた Liat は卓上に置くことのできる小型装置で, インフルエンザウイルス A 型, B 型, RS ウイルスを検出できる. 検査手順は 3 段階のみと簡便であり, turnaround time (TAT) は 30 分と短く¹⁴⁾, 他機種より検出感度が高いといった特徴がある²⁵⁾²⁶⁾. Liat は感度・特異度ともに 98~100% と報告されており²⁵⁾²⁶⁾, 我々の検討でも nested-PCR と 97.5% の一致率を示した¹⁴⁾. 複数病原体を検出可能なマルチプレックス PCR も POCT として用いられており, 日本では Filmarray 呼吸器パネル (バイオメリュー・ジャパン) が, 重症者を対象とし 2019 年に保険収載された. FilmArray 呼吸器パネルは, 代表

的呼吸器感染症病原ウイルス9種と非定型病原体3種に対して網羅的検査が可能で、TATは3時間程度と報告されている²⁷⁾。同試薬は、個々の病原体に対して、他の遺伝子検査と同等の検出能が示されている²⁸⁾。気道症状を有する449名の医療従事者を対象とした研究では、対象者の約半数(54%)で原因病原体を検出可能であったとされる²⁹⁾。米国感染症学会(IDSA)インフルエンザガイドラインは、免疫不全者に対する検査として、マルチプレックスPCRの実施を推奨している²⁾。

本研究の限界を以下に述べる。最初に、単施設の観察研究であり、研究対象者は担当医がインフルエンザを疑い迅速抗原検査を行った患者のため、選択バイアスが存在する可能性がある。外的妥当性を検証するため、他施設や複数施設での検討が必要である。また、本研究での対象者は、検査が最も推奨される合併症患者や入院患者が少ないため、今後これらの患者を対象とした検証が望ましいと考える。次に、インフルエンザ迅速抗原検査の結果は目視判定のため、より感度の高いデジタル免疫測定法を用いた検討が望ましい²⁹⁾。最後に、cobas Liatシステムの機能上、本研究ではインフルエンザウイルスのサブタイプは評価できなかった。

本研究の結語として、インフルエンザ迅速抗原検査の感度はインフルエンザ様症状の発症から時間が経過するに連れて上昇した。また、ILIやpaucisymptomatic illnessなど呈した症状によっても、インフルエンザ迅速抗原検査の感度は変化する可能性が示された。インフルエンザ迅速抗原検査の結果は、これら要因を踏まえ解釈する必要があると考えた。

謝辞：本研究に関連した発表が、第68回日本感染症学会東日本地方会学術集会で奨励賞(臨床)を受賞し、論文投稿の推薦を受けた。

利益相反自己申告：筑波メディカルセンター病院は『インフルエンザウイルス検出に対するcobas Liat PCRシステムおよびcobas Influenza A/Bの臨床性能評価』に関し、ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社より、2017年度に研究費の供与、cobas Liatシステムの無償貸与および検査試薬の供与を受けた。また、『インフルエンザウイルス抗原検出試薬の臨床性能試験』に対して、積水メディカル株式会社より2017~2019年度に研究費の供与を受けた。研究者の内、鈴木広道は研究費の用途について決定できる立場にあった。

文 献

1) Kaku N, Hashiguchi K, Iwanaga Y, Akamatsu N, Matsuda J, Kosai K, *et al.* : Evaluation of FilmArray respiratory panel multiplex polymerase

chain reaction assay for detection of pathogens in adult outpatients with acute respiratory tract infection. *J Infect Chemother.* 2018 ; 24 : 734-8.

2) Uyeki TM, Bernstein HH, Bradley JS, Englund JA, File TM Jr, Fry AM, *et al.* : Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America : 2018 Update on Diagnosis, Treatment, Chemoprophylaxis, and Institutional Outbreak Management of Seasonal Influenza. *Clin Infect Dis.* 2018 ; 68 : e1-e47.

3) Centers for Disease Control and Prevention : Strategies for Seasonal Influenza in Healthcare Settings. *Infection Control in Health Care Facilities* [Internet]. [cited 2020 Apr]. Available from : <https://www.cdc.gov/flu/professionals/infection-control/healthcaresettings.htm>

4) Call SA, Vollenweider MA, Hornung CA, Simel DL, McKinney WP : Does this patient have influenza? *JAMA.* 2005 ; 293 : 987-97.

5) Dugas AF, Valsamakis A, Atreya MR, Thind K, Alarcon Manchego P, Faisal A, *et al.* : Clinical diagnosis of influenza in the ED. *Am J Emerg Med.* 2015 ; 33 : 770-5.

6) Seki Y, Oda Y, Sugaya N : Very high sensitivity of a rapid influenza diagnostic test in adults and elderly individuals within 48 hours of the onset of illness. *PLoS One.* 2020 ; 15 : e0231217.

7) Merckx J, Wali R, Schiller I, Caya C, Gore GC, Chartrand C, *et al.* : Diagnostic Accuracy of Novel and Traditional Rapid Tests for Influenza Infection Compared With Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction : A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2017 ; 167 : 394-409.

8) 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.

9) Ip DK, Lau LL, Leung NH, Fang VJ, Chan KH, Chu DK, *et al.* : Viral Shedding and Transmission Potential of Asymptomatic and Paucisymptomatic Influenza Virus Infections in the Community. *Clin Infect Dis.* 2017 ; 64 : 736-42.

10) 茨城県感染症情報センター : インフルエンザ流行情報 [Internet]. [cited 2020 Apr]. Available from : <https://www.pref.ibaraki.jp/hokenfukushi/eiken/idwr/index.html>

11) Centers for Disease Control and Prevention : Identifying Healthcare-associated Infections (HAIs) in NHSN [Internet]. [cited 2020 Apr]. Available from : https://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/2PSC_IdentifyingHAIs_NHSNcurrent.pdf

12) Marui S, Misawa A, Tanaka Y, Nagashima K : Assessment of axillary temperature for the evaluation of normal body temperature of healthy young adults at rest in a thermoneutral

- environment. *J Physiol Anthropol.* 2017 ; 36 : 18.
- 13) Sund-Levander M, Forsberg C, Wahren LK : Normal oral, rectal, tympanic and axillary body temperature in adult men and women : a systematic literature review. *Scand J Caring Sci.* 2002 ; 16 : 122-8.
- 14) Akashi Y, Suzuki H, Ueda A, Hirose Y, Hayashi D, Imai H, *et al.* : Analytical and clinical evaluation of a point-of-care molecular diagnostic system and its influenza A/B assay for rapid molecular detection of the influenza virus. *J Infect Chemother.* 2019 ; 25 : 578-83.
- 15) 徳野 治, 藤原美樹, 中上佳美, 山之内すみか, 足立昌代, 池田明子, 他 : 各種インフルエンザ迅速診断キットの評価 — 検出感度の比較検討 —. *感染症誌* 2009 ; 83 : 525-33.
- 16) 三田村敬子, 菅谷憲夫 : インフルエンザの診断と治療 : 臨床症例のウイルス排泄からの考察. *ウイルス* 2006 ; 56 : 109-16.
- 17) Daley P, Castriciano S, Chernesky M, Smieja M : Comparison of Flocked and Rayon Swabs for Collection of Respiratory Epithelial Cells from Uninfected Volunteers and Symptomatic Patients. *J Clin Microbiol.* 2006 ; 44 : 2265-7.
- 18) Granados A, Petrich A, McGeer A, Gubbay JB : Measuring influenza RNA quantity after prolonged storage or multiple freeze/thaw cycles. *J Virol Methods.* 2017 ; 247 : 45-50.
- 19) 厚生労働省 : 新型インフルエンザウイルス 診断検査の方針と手引き [Internet]. 2009 May [cited 2020 Jul]. Available from : <https://www.mhlw.go.jp/kinkyu/kenkou/influenza/dl/090501-02b.pdf>
- 20) 厚生労働省 : インフルエンザ診断マニュアル (第3版) [Internet]. 2016 Sep [cited 2020 Jul]. Available from : <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Influenza2014.pdf>
- 21) Lau LL, Cowling BJ, Fang VJ, Chan KH, Lau EH, Lipsitch M, *et al.* : Viral shedding and clinical illness in naturally acquired influenza virus infections. *J Infect Dis.* 2010 ; 201 : 1509-16.
- 22) Ridgway JP, Bartlett AH, Garcia-Houchins S, Carino S, Enriquez A, Marrs R, *et al.* : Influenza among afebrile and vaccinated healthcare workers. *Clin Infect Dis.* 2015 ; 60 : 1591-5.
- 23) Vos LM, Bruning AHL, Reitsma JB, Schuurman R, Riezebos-Brilman A, Hoepelman AIM, *et al.* : Rapid Molecular Tests for Influenza, Respiratory Syncytial Virus, and Other Respiratory Viruses : A Systematic Review of Diagnostic Accuracy and Clinical Impact Studies. *Clin Infect Dis.* 2019 ; 69 : 1243-53.
- 24) Nesher L, Tsaban G, Dreier J, Rolston KVI, Ifergane G, Shemer Y, *et al.* : The impact of incorporating early rapid influenza diagnosis on hospital occupancy and hospital acquired influenza. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2019 ; 40 : 897-903.
- 25) Chen L, Tian Y, Chen S, Liesenfeld O : Performance of the Cobas[®] Influenza A/B Assay for Rapid Pcr-Based Detection of Influenza Compared to Prodesse ProFlu+ and Viral Culture. *Eur J Microbiol Immunol.* 2015 ; 5 : 236-45.
- 26) Banerjee D, Kanwar N, Hassan F, Essmyer C, Selvarangan R : Comparison of Six Sample-to-Answer Influenza A/B and Respiratory Syncytial Virus Nucleic Acid Amplification Assays Using Respiratory Specimens from Children. *J Clin Microbiol.* 2018 ; 56 : e00930-18.
- 27) Pettit NN, Matushek S, Charnot-Katsikas A, Tesic V, Boonlayangoor S, Brielmaier B, *et al.* : Comparison of turnaround time and time to oseltamivir discontinuation between two respiratory viral panel testing methodologies. *J Med Microbiol.* 2015 ; 64 : 312-3.
- 28) Loeffelholz MJ, Pong DL, Pyles RB, Xiong Y, Miller AL, Bufton KK, *et al.* : Comparison of the FilmArray Respiratory Panel and Prodesse real-time PCR assays for detection of respiratory pathogens. *J Clin Microbiol.* 2011 ; 49 : 4083-8.
- 29) 岩永祐季, 小左井康介, 松田淳一, 賀来敬仁, 森永芳智, 長谷川寛雄, 他 : 高感度インフルエンザ抗原迅速検査システムの有用性. *感染症誌* 2017 ; 91 : 747-51.

Influence of Illness Duration on the Sensitivity and Specificity of Influenza Antigen Testing :
A Prospective Observational Study Using Real-time PCR

Yusaku AKASHI¹⁾²⁾, Hiromichi SUZUKI¹⁾²⁾, Yuto TAKEUCHI¹⁾, Atsuo UEDA³⁾, Yumi HIROSE⁴⁾,
Hironori IMAI⁵⁾ & Hiroichi ISHIKAWA⁶⁾

¹⁾Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, ²⁾Department of Clinical Laboratory Medicine, ³⁾Department of Clinical Laboratory, ⁴⁾Department of General Medicine and Primary Care, ⁵⁾Department of Pediatrics and ⁶⁾Department of Respiratory Medicine, Tsukuba Medical Center Hospital

Rapid antigen testing is widely employed for the diagnosis of influenza in Japan. The results, however, should be cautiously interpreted because the false-negative rate of the test is reported to be high, in the range of 40%-50%. Therefore, the investigation of factors that influence the diagnostic performance of the test is crucial. We conducted a single-center, prospective observational study in two influenza-epidemic seasons at the study site (December 2017 to February 2018 and December 2018 to March 2019). All patients clinically suspected as having influenza in whom rapid antigen testing was performed according to the clinical-care needs were included in the study. Real-time PCR was employed as the gold standard for the detection of the influenza virus. A total of 322 patients were screened (2017-2018 : 159 ; 2018-2019 : 163), and 313 patients were finally included in this study. The results revealed that of the 313 patients, 129 (41.2%) tested positive for real-time PCR (typeA : 88, 28.1% ; typeB : 41, 13.1%). The overall sensitivity and specificity of the antigen test were 54.3% (95% confidence interval [CI] : 45.3-63.1) and 100% (95% CI : 98.0-100), respectively. The sensitivity improved with the interval from the onset of the influenza-like symptoms, namely, elevated body temperature $\geq 37^{\circ}\text{C}$, chills or subjective fever, cough, sputum production, fatigue, sore throat, myalgia/arthritis, headache, runny nose, or nasal blockage (interval to testing : <12 h, 38.9% [95% CI : 17.3-64.3] ; 12-24 h, 40.5% [95% CI : 25.6-56.7] ; 24-48 h, 65.2% [95% CI : 49.8-78.6] ; >48 h, 69.6% [95% CI : 47.1-86.8], $p=0.03$). We conclude that the sensitivity of the antigen testing possibly improves with the passage of time over the course of the illness.