

インフルエンザ患者における 迅速診断での陽性率の経時的検討

高橋 和郎^{*1}, 川淵 貴子^{*1}, 西村 公志^{*1}, 加瀬 哲男^{*1},
森川 佐依子^{*1}, 馬場 宏一^{*2}, 奥野 良信^{*1}

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所感染症部：大阪市東成区中道1-3-69（〒537-0025）

^{*2} 医療法人宏知会ばば小児科

SUMMARY

経験的に小児インフルエンザ患者における病初期の迅速診断の陽性率が低い印象があり、この点を明確にするため、経時的に陽性率を検討した。2005年～2006年シーズンの2006年1月12日～3月1日にB小児科を受診し、典型的なインフルエンザが疑われた238名を対象にした。インフルエンザ感染のゴールドスタンダード診断法としてnested RT-PCR法を用い、迅速診断法として「ポクテム インフルエンザ A/B」を用いた。迅速診断の陽性者は165名（すべてA型、全対象者に対する陽性率69%）であり、PCR陽性は173名（すべてH3亜型、陽性率73%）であった。迅速診断の陽性者165名は全例H3亜型が陽性であった。PCR陽性者における、経時的な迅速診断陽性率は、発熱の出現を発症として、発症6時間未満まで、6時間から12時間未満まで、12時間から24時間未満まで、24時間から36時間未満まで、36時間から48時間未満まで、それぞれ92 (46/50), 100 (32/32), 98 (51/52), 91 (30/33), 100 (6/6)%であった。以上より、典型的な症状を示す患者においては、迅速診断陽性率は6時間未満でも比較的高値であることが判明し、日常診療での迅速診断の適応を判断する上で有意義な情報になると考えられる。

Key Words インフルエンザ, 迅速診断, 経時的陽性率, PCR法

はじめに

外来診療において、インフルエンザの診断には迅速診断キットが汎用され、診断、治療に威力を発揮している¹⁻¹¹⁾。しかし、外来診療での使用に関しての問題点の一つは、特に病初期において、臨床症状や家族内感染の状況から判断し、インフルエンザが疑われるにも関わらず、迅速診断では陰性となる場合がしばしば経験されることである。この原因は迅速診断法の感度がウイルス感染の有無の標準診断法とされるウイルス分離法やPCR法に比べ低いことによるものと考えられ、検出感度をさらに向上させる必要がある。発熱の出現を発症時点として、発症24時

間以内における迅速診断での陽性率についてはあまり報告がないが、あるキットでは3時間以内で77%、3～12時間以内で100%という報告がみられる¹²⁾。今回、外来診療への医療情報の一助とすることを目的として、迅速診断キットの一つであるポクテムインフルエンザA/B（以下ポクテム、シスメックス社）を用いて、2005/2006シーズンのインフルエンザ患者における迅速診断の陽性率を発熱出現（発症0時間）から経時的に検討した。本報告では、インフルエンザ感染のゴールドスタンダード診断法としてnested RT-PCR法（以下PCR法）を用いた。これは以前の我々の報告において、PCR法がウイルス分離法より感度が高く、特異性も十分であることによる¹³⁾。

材料および方法

1. 対象患者

2005年～2006年シーズンの2006年1月12日～3月1日にB小児科（大阪府門真市）にかぜ様症状を呈して受診し、以下の3点の基準を満たす1歳から15歳の患者を対象とした。

- 1) 突然の発症で38℃以上の発熱，上気道炎および全身症状を有する
- 2) 発症（発熱）から48時間以内である
- 3) 1)のうちすべてを満たさないが，家族内感染があり担当医がインフルエンザを疑った場合

本研究課題は大阪府立公衆衛生研究所の倫理委員会において承認されており，本人あるいは保護者に対して研究内容を説明し，インフォームドコンセントの承諾が得られた患者から検体を採取した。

・対象患者の区分

主治医は問診により保護者から発熱時点を確認し，検体採取までの時間を確認して診療録に記載した。発熱時点を0時間とした発熱からの経過時間を表1のように区分し，各区分に対して表に記載した症例数を目標とした。

表1. 対象患者の発症後経時的時間区分

区分	症例数
0時間以上，6時間未満	50
6時間以上，12時間未満	50
12時間以上，24時間未満	50
24時間以上，36時間未満	25
36時間以上，48時間未満	25

2. 検体採取

主治医は患者の鼻腔吸引液を採取し，外来にて迅速診断を行い，一部の鼻腔吸引液は核酸検査のため-20℃に凍結保存した。

3. 迅速診断法

全ての鼻腔吸引液に対してポクテムを用い，その検査マニュアルに従い検査を行った。

4. Nested RT-PCR法

臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検出は，定法に従ってnested RT-PCR法を用いて行った¹⁴⁾。プライマーにはA型のH1，H3亜型，B型のそれぞれのヘマグルチニン遺伝子に特異的な配列を用い，マルチプレックスとしてPCRを行った。増幅産物の大きさの確認はアガロース電気泳動による目視で行い，それぞれの増幅産物を特異的にカサ切断する制限酵素で切断し，電気泳動でその大きさを確認して陽性と判断した。この方法の検出感度は，2004年～2005年シーズンのワクチン株を用いた場合，H1，H3，B型についてそれぞれ 10^{-1} ， 10^{-3} ， 10^{-3} Focus forming unit (FFU，1FFU = 1感染性ウイルス粒子)/mLである。

結果

1. 対象患者と迅速診断の陽性率

表2に研究結果のまとめを示す。対象患者総数は238名で，発症6時間未満（以後6時間）まで，6時間から12時間未満（以後12時間）まで，12時間から24時間未満（以後24時間）まで，24時間から36時間未

表2. インフルエンザ患者における経時的な迅速診断陽性率

時間経過	A型迅速診断陽性		A型迅速診断陰性		総数	A型迅速診断陽性/ 患者総数 (%)	A型迅速診断陽性/ H3亜型 PCR陽性 (%)
	46	H3亜型 PCR陽性	26	H3亜型 PCR陽性			
6時間未満	46	46	26	4	72	64	92
6～12時間未満	32	32	11	0	43	74	100
12～24時間未満	51	51	20	1	71	72	98
24～36時間未満	30	30	10	3	40	75	91
36～48時間未満	6	6	6	0	12	50	100
合計	165	165	73	8	238	平均69%	平均95%

満(以後36時間)まで,36時間から48時間未満(以後48時間)の患者数は,それぞれ72,43,71,40,12名であり,数にばらつきが見られた。特に発症48時間では12名と少数であった。

迅速診断陽性者は165名であり,それぞれの経過時間帯における迅速診断の陽性率は,64,74,72,75,50%,平均69%であった。迅速診断陽性者165名は全例A型が陽性であった。

2. PCR 陽性者における迅速診断陽性率

表2に示すように,迅速診断陽性者は全例PCRでH3が陽性であった。迅速診断陰性者73名中,PCR陽性者は8名認められ,すべてH3でありH1,B型は検出されなかった。ゆえに,H3のPCR陽性者は全例で173名であり,A型の迅速診断陽性率は95%(165/173)であった。経時的に迅速診断陽性率をみると,発症6,12,24,36,48時間でそれぞれ92,100,98,91,100%であった。

考 察

2005年~2006年シーズンにおいて,本研究で調査を行った期間,地域ではインフルエンザの流行の大部分がH3亜型によるものであり,H1亜型は認められず,B型も1例のみであった。したがって,本研究の経時的な迅速診断陽性率の検討についてはH3亜型のみを対象に解析する。発症6時間未満での迅速診断陽性率は92%と比較的高値であり,発症6時間以降はほぼ100%に達し,発症24から36時間でやや低下する傾向であった。6時間未満ではまだウイルス抗原量が検出感度以下である症例が約10%にみられ,また,36時間では抗原量が検出感度以下に減少してくる場合も約10%にみられると考えられる。6時間未満で迅速診断陽性率が比較的高値であった理由の一つとして,臨床的にインフルエンザの診断をある程度絞り込んだことが考えられる。実際シーズン中に,突然の発症で38以上の発熱,上気道炎および全身症状を有するという範疇で絞り込むと,これら患者の約70%がインフルエンザ患者であった。インフルエンザに感染しても通常のかぜの症状と差が無い軽症例も多数存在する。そのような例を含め

ると,おそらく迅速診断での陽性率は低下するであろうと考えられる。外来診療において,上記臨床症状の範疇を満たす患者に対しては,迅速診断陽性率は6時間未満でも比較的高値であることが判明し,日常診療での迅速診断の適応を判断する上で有意義な情報になると考えられる。

参考文献

- 1) 池松秀之,他:一般成人及び高齢者におけるインフルエンザ迅速診断キットの有用性についての検討. 感染症学雑誌,73:1153~1158,1999.
- 2) 後藤郁男,他:A型インフルエンザ迅速診断キット(ディレクティジェンFluA)の検出感度と特異性に関する研究. 臨床とウイルス,28:248~252,2000.
- 3) 山崎雅彦,他:鼻咽頭吸引液を検体としたOptical Immunoassay法によるインフルエンザ迅速診断. 感染症学雑誌,73:1064~1068,1999.
- 4) 三田村敬子,他:Optical ImmunoassayによるA,B型インフルエンザウイルス迅速診断キットの臨床的研究. 感染症学雑誌,73:1069~1073,1999.
- 5) 渡邊寿美,他:インフルエンザウイルス迅速診断キットの検討. 感染症学雑誌,73:1199~1204,1999.
- 6) 山崎雅彦,他:インフルエンザウイルスA,B型を区別して検出可能な迅速診断キットの臨床的検討. 感染症学雑誌,74:1032~1037,1999.
- 7) 清水英明,他:A型・B型を鑑別できるインフルエンザウイルス迅速診断キットの感度と特異性. 感染症学雑誌,74:1038~1043,1999.
- 8) 三田村敬子,他:ノイラミニダーゼ活性を利用したA,B型インフルエンザウイルス迅速診断キットの臨床的検討. 感染症学雑誌,74:12~16,2000.
- 9) 川上千春,他:イムノクロマトグラフィー法によるA,B型インフルエンザウイルス迅速診断キットの検討. 感染症学雑誌,75:792~799,2001.
- 10) 山崎雅彦,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. 感染症学雑誌,75:1047~1053,2001.
- 11) 三田村敬子,山崎雅彦,川上千春: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評価. インフルエンザ,3:105~109,2002.

- 12) 伊藤正寛 : インフルエンザの分子疫学 衛生微生物技術協議会 第27回研究会 講演抄録集 平成18年6月 札幌 A/B」の評価. *Sysmex Journal*, 28 : 3 ~ 13, 2005.
- 13) 高橋和郎, 他 : A型, B型の鑑別が可能なインフルエンザ迅速診断キット改良型「ポクテムインフルエンザ 14) Zhang W, et al (Eds) In : *Diagnostic Molecular Microbiology : Principle and Applications*, 381 ~ 382, Washington DC American Society for Microbiology, USA, 1993.

Sequential Analysis of Positive Rate of Rapid Diagnosis in Pediatric Patients with Influenza

Kazuo TAKAHASHI^{*1}, Takako KAWABUCHI^{*1}, Hiroshi NISHIMURA^{*1}, Tetsuo KASE^{*1}, Saeko MORIKAWA^{*1}, Koichi BABA^{*2}, and Yoshinobu OKUNO^{*1}

^{*1} Department of Infectious Diseases, Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025

^{*2} Baba Children's Clinic

SUMMARY

The present study was conducted to elucidate sequential positive rate of rapid diagnosis of influenza in the early phase of the disease in pediatric patients. Pediatric patients with suspected influenza who visited B pediatric clinic in 2005/2006 season were tested with rapid diagnosis (POCTEM INFLUENZA A/B) and nested RT-PCR as the gold standard. The rapid diagnosis detected 165 cases of A type (positive rate : 69%) and none of B type, PCR assay detected 173 cases of H3 subtype (positive rate : 71%) and none of other types. All of the positive cases of rapid diagnosis showed positive PCR results. In the positive PCR cases the sequential positive rates of rapid diagnosis within 6 hr after onset of influenza (emergence of fever), during 6 to 12 hr, 12 to 24 hr, 24 to 36 hr, and 36 to 48 hr were 92%(46/50), 100%(32/32), 98%(51/52), 91%(30/33), 100%(6/6), respectively. This study demonstrated the relatively high positive rate of rapid diagnosis even within 6 hr after onset of influenza, giving valuable information in consideration of the performing rapid diagnosis in the influenza treatment.

Key Words Influenza, Rapid Diagnosis, Positivity after Onset of Disease, PCR Assay