インフルエンザ抗原迅速検査における 鼻かみ検体の有用性

梅 田 悦 生

Clinical Usefulness of Nasal Mucus Specimen for Rapid Influenza Antigen Test

Yoshio Umeda

(Akasaka Sanno Clinic)

During the 2004-2005 influenza season, a clinical study was conducted to evaluate the utility of nasal mucus collected by nose blowing as a specimen for the rapid influenza antigen test. In this study, nasal swab specimens and nasal mucus specimens were respectively collected from 136 patients who were suspected of having influenza infection. The nasal specimens were collected by existing standard methods and nasal mucus specimens were collected by the method that patients themselves blew their own noses. Then, both specimens were tested with a rapid influenza antigen detection kit (QuickVue rapid SP influ) and the results were compared. These results were also compared with the results of a culture test, which was performed as a gold standard.

Out of 40 influenza patients (type A: 9; and type B: 31) who were diagnosed by the culture test, 7 nasal swab specimens were A positive (sensitivity: 77.8%) and 13 were B positive (sensitivity: 41.9%) and 7 nasal mucus specimens were A positive (sensitivity: 77.8%) and 18 were B positive (sensitivity: 58.1%) with the rapid test. On the other hand, out of 96 influenza negative patients, all specimens of both types showed negative results (specificity: 100%) with the rapid test.

These results indicate that nasal mucus specimens collected by patients blowing their own nose have an equal or superior performance (sensitivity and specificity) to existing nasal swab specimens for the influenza antigen rapid test. Considering the easier and safer sampling practice of the nasal mucus specimen, we concluded that nasal mucus specimens collected by nose blowing have a clinical usefulness in the rapid influenza antigen test.

Key words : clinical usefulness, nasal mucus specimen, rapid influenza antigen test

はじめに

従来、インフルエンザの診断には不確実な部分が山積していた。インフルエンザが流行している事実と、いわゆる通常の感冒よりも激しい自覚症状・他覚所見のみからインフルエンザと臨床的に診断されてきたのである。インフルエンザと診断された患者は、保温と安静を保ち体力を温存しながら、治癒を待った。そして診療側も、対症療法と余病の併発の予防に専念した。軽微なインフ

ルエンザが見逃されていたのは、間違いない事実であろう。

そのインフルエンザの臨床が、このところ大きく様変わりしつつある。

日常の臨床において、インフルエンザが疑われればその場で迅速診断キットを用いて検査し、インフルエンザか否かを短時間で診断することが可能となった。インフルエンザ流行の初期や自覚症状・他覚所見が典型的でな

い患者において、この診断キットの有用性には目を見張るものがある。

高熱を主として来院した患者が、インフルエンザとほぼ正確に診断されることで、仕事・学業を休まねばならなくなる不安を感じると同じくらいに、他の重大な疾患でないことを知り安心するのである。とりわけ多くの国で SARS が流行しているときには、インフルエンザと診断が付くことが患者の不安解消に有用であった。

そして確定診断がつけば、抗インフルエンザ薬を積極的に用いて治療することが一般的となった。抗インフルエンザ薬に対する評価にはまだ一定していない部分もあるが、少なくとも有効性は間違いなくある。このように、インフルエンザの臨床は様変わりした。

その一方で、迅速キットは検体を採取する部位やその方法により、検査精度への影響が知られており、検体採取の手法には依然改善の余地が残されている。

従来の検体としては、(綿棒を用いた)鼻腔拭い液、鼻腔吸引液、咽頭拭い液が指定されているが、鼻腔拭い液および鼻腔吸引液の採取は耳鼻咽喉科以外の医師では、現実には操作が困難であることや、咽頭拭い液では鼻腔検体に比較して検出感度が低い傾向があることが指摘されている¹⁾。

筆者は従来の方法よりも簡便でより高い精度が期待できる手法として、「鼻かみ」鼻汁液を用いる検体採取法の有用性について検討したので以下に報告する。また、迅速キットで偽陰性となる場合の要因についても、いくつかの項目について検討を行ったので併せて報告する。

対象と方法

2004年12月17日から2005年3月31日までの期間に、赤坂山王クリニックの内科および耳鼻咽喉科を受診した外来患者のうち、上気道感染症症状を呈してインフルエンザが疑われた128人の患者に対して、試験参加の同意を得て合計136回の検査を実施した。患者の年齢分布は17～69歳で平均年齢36.7歳、標準偏差は9.7歳だった。男女の内訳は、男性65人(17～69歳、平均38.0歳±標準偏差9.1歳)、女性63人(19～69歳、平均35.3歳±標準偏差10.3歳)であった。また診療科別の検査実施回数は、内科30例、耳鼻咽喉科106例であった。

検査方法は、患者から標準法により鼻腔拭い液検体を採取すると同時に、患者自身に鼻をかんでもらうことにより「鼻かみ」鼻汁液を採取し、それぞれを検体として

インフルエンザ迅速キットで検査を実施した。「鼻かみ」検体の試験方法は、得られた鼻汁の一部をキット添付の拭い棒で拭い、鼻腔拭い液検体の場合の操作法に基づき検査を実施した。さらに、「鼻かみ」検体については、ウイルス分離培養法での検査も実施し、その結果を Gold Standard として、迅速検査キットにおける各検体の有用性の比較検討を行った。

インフルエンザ抗原迅速検査は、2004～2005年のシーズンに新たに市場に導入されたディップスティックタイプのイムノクロマト法キット「QuickVue ラピッド SP influ」(住友製薬バイオメディカル株式会社販売)を用い、キット添付の使用説明書の方法に従って検査を実施した。一方、ウイルス分離培養試験は SRL 社に委託し、先方の専用輸送培地に懸濁した状態で搬送後、シエル・バイアル法にてインフルエンザ A 型あるいは B 型の鑑別検査が実施された。

〈QuickVue ラピッド SP influ の概要〉

QuickVue ラピッド SP influ は、イムノクロマトグラフィ法の原理に基づくディップスティックタイプの検査キットで、検体を懸濁した抽出液が入った試験管にスティック試薬を挿入するだけの操作で、10分後に結果を判定する。結果は、ラインの出現位置により、A/Bの鑑別ができるようになっている(図1)。

結 果

今回試験した136症例において、ウイルス分離培養試験で陽性を示したのは、A型が9例(6.6%)、B型が31例(22.8%)、合計40例(29.4%)であった。これら症例から採取された鼻腔拭い液検体および鼻かみ検体に対する迅速検査キットの成績は表1に示すとおり、A型陽性9例に対しては鼻腔拭い液、鼻かみ検体ともに陽性を示した例が7例、ともに陰性を示した例が2例で、B型陽性31例については、鼻腔拭い液、鼻かみ検体ともに陽性を示した例が13例、鼻かみ検体のみ陽性を示した例が5例、ともに陰性を示した例が13例であった。

ウイルス分離培養試験でB型陽性を示した症例のうち、迅速キットで鼻腔拭い液のみに陽性を示した症例はなかった。また、A、B型ともに、迅速キットが陽性でウイルス分離培養法が陰性となった症例も、いずれの検体種においても認められなかった。また、この結果から計算される迅速検査キットのそれぞれの感度は、A型が鼻腔拭い液、鼻かみ検体ともに77.8%(7/9)、B型が鼻

図1 QuickVue ラピッド SP influ の操作概略と判定方法

表1 インフルエンザ陽性症例における迅速キットの検体別結果比較

A 型インフルエンザ陽性症例					
		鼻腔拭い液検体			
		陽性	陰性	計	
鼻かみ検体	陽性	7	0	7	鼻腔拭い液感度： 77.8% (7/9)
	陰性	0	2	2	鼻かみ検体感度： 77.8% (7/9)
	計	7	2	9	
B 型インフルエンザ陽性症例					
		鼻腔拭い液検体			
		陽性	陰性	計	
鼻かみ検体	陽性	13	5	18	鼻腔拭い液感度： 41.9% (13/31)
	陰性	0	13	13	鼻かみ検体感度： 58.1% (18/31)
	計	13	18	31	

腔拭い液 41.9% (13/31), 鼻かみ検体 58.1% (18/31), 特異度は, いずれの検体の AB 型ですべて 100% という成績だった。

表2は, インフルエンザ陽性症例における, 迅速キットの検体別判定結果のグループごとの診療科の内訳を示したものである。迅速キットの検出率(感度)は, 鼻腔拭い液検体については, 内科の医師が採取した場合は 35.7% (5/14), 耳鼻咽喉科の医師が採取した場合は 57.7% (15/26) であり, 鼻かみ検体については, 内科の医師が採取した場合は 57.1% (8/14), 耳鼻咽喉科の医師が採取した場合は 65.4% (17/26) であった。

続いて, インフルエンザ陽性患者 40 例において, 鼻か

み検体での迅速検査結果が正しく陽性となった群25症例と, 偽陰性となった群 15 症例について検査時体温や発症から検査までの病日の比較検討を実施した(一部欠損データあり)。結果は図2に示したように, 体温比較では, 迅速検査陽性群が $37.4 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$, 陰性群が $36.9 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$, 病日比較では, 迅速検査陽性群が 3.6 ± 1.6 日, 陰性群が 2.8 ± 1.0 日と, 陽性群で体温が高く病日が高い傾向が示されたが, いずれも群間で有意差は認められなかった。

また, 今回試験した症例の中には, 短期間に続けて 2 回検査が実施された症例が数例含まれているが, そのうち, 1 回目に迅速検査陰性で, 2~4 日後に再測定した際

表2 インフルエンザ陽性症例における迅速キット結果をグループ分けした場合の検体別診療科内訳

グループ	診療科		計
	内科	耳鼻咽喉科	
鼻腔拭い液と鼻かみ検体ともに陽性	5	15	20
鼻腔拭い液陰性、鼻かみ検体のみ陽性	3	2	5
鼻腔拭い液と鼻かみ検体ともに陰性	6	9	15
全体	14	26	40

迅速キット陽性群 : 37.4 ± 0.8 °C (平均 $\pm$ SD)

迅速キット陰性群 : 36.9 ± 0.7 °C

($p = 0.10$)

(A) 検査時体温の比較

迅速キット陽性群 : 3.6 ± 1.6 日 (平均 $\pm$ SD)

迅速キット陰性群 : 2.8 ± 1.0 日

($p = 0.12$)

(B) 発症から検査までの日数 (病日)

図2 迅速検査陽性群と陰性群の体温 (A) および病日 (B) の比較

表3 迅速キットを2回実施し、1回目陰性、2回目に陽性化した症例

症例	性別	年齢	病日	体温 (°C)	迅速キット (鼻かみ検体)
1	男	47	2	36.0	陰性
			6	—	B 陽性
2	女	24	1	37.5	陰性
			4	37.5	B 陽性
3	女	57	1	38.0	陰性
			3	36.1	A 陽性

— 未測定

に陽性化した症例が3例みられた (表3)。いずれも1回目の検査が1,2病日に実施されているのに対して2回目検査の実施は、3病日以降であった。

考 察

インフルエンザウイルス迅速検査キットは、1999年に初めて本邦に導入されて以来、毎年各メーカーより新製

品が発売され、導入当初に比べると操作性や性能の面で飛躍的に改良が進んできている。今回試験に用いた QuickVue ラピッド SP influ も当該シーズン中に新たに市場に導入されたもので、イムノクロマトグラフィーの原理に基づき、検体中のインフルエンザウイルスの有無を、A、B 別々に検出するタイプのキットである。

一方、インフルエンザウイルス迅速検査キットに用いられる検体は、一般に鼻腔拭い液、鼻腔吸引液および咽頭拭い液の3種類であるが、これまでさまざまな迅速検査キットを用いて実施された臨床試験の結果では、咽頭拭い液検体は鼻腔拭い液検体や鼻腔吸引液検体に比べて臨床感度が劣る傾向があることが報告されている^{2)~7)}。さらに、山崎ら⁸⁾や川上ら⁹⁾は、実際にインフルエンザ患者から採取された咽頭拭い液、鼻腔吸引液および鼻腔拭い液それぞれに含まれるウイルス量を定量して、鼻腔吸引液>鼻腔拭い液>咽頭拭い液の順でウイルス量が多かったことを報告している。

これらの情報に基づくと、より正確に検査を行うには鼻腔から検体を採取することが好ましいと考えられるが、たとえば、鼻腔拭い液採取の場合、患者が抵抗して結果的に鼻孔付近しか擦れなかったり、あるいは無理して採取しようとして鼻腔粘膜を傷つけて出血させてしまったりするケースも少なくなく、適切に検体を採取するのは容易ではない。これは、普段このような経験のない内科や小児科の医師の場合に、より顕著である。さらには、鼻腔吸引液検体も指定されているが、この検体の採取には、通常のキットに添付されていない特殊な器具や装置を必要とするため、一般の開業医レベルではルーチンに使用するのは困難である。

このような状況下、筆者は耳鼻咽喉科医の立場で、内科や小児科の医師も含めて、より簡単かつ安全に採取でき、しかも感度が高い検体として「鼻かみ」鼻汁液が有用であろうと考えて今回の試験を実施した。手法は、患者からまず従来の方法として、キットの添付文書記載の方法で鼻腔拭い液検体を採取し、続いて同じ患者に鼻をかんでもらって鼻汁を採取し、それぞれを検体として迅速キットで検査を実施するとともに、鼻かみ検体についてはウイルス分離培養試験を行い、その結果を Gold Standard として、迅速キットにおける各検体の成績を評価するものである。

結果は、表2に示すように、ウイルス分離培養試験で陽性を示した患者40例のうち、鼻腔拭い液検体の迅速検

査で陽性を示した症例は20例(50.0%, 20/40)、鼻かみ検体の迅速検査で陽性を示した症例は25例(62.5%, 25/40)であった。内訳は、両方の検体で陽性を示した例が20例、鼻かみ検体のみで陽性を示した例が5例で、鼻腔拭い液検体のみで陽性を示した例は1例もなかった。この事実は、鼻かみ検体の方が、鼻腔拭い液検体よりも感度(陽性検出率)が高いことを示唆している。一方、いずれの検体においても、ウイルス分離試験で陰性であった症例で、迅速キット陽性となった症例はなく、迅速キットにおける特異度はともに100%であった。

インフルエンザウイルスは、通常、上咽頭の細胞に多く増殖しており、拭い液検体を採取する場合はこの部分を拭うことが感度を向上させるポイントであるが、耳鼻咽喉科以外の医師では、その部分から的確に検体を採取することは容易ではない。今回の試験でも、耳鼻咽喉科と内科の医師が検体採取を実施したが、鼻腔拭い液検体の場合、B型に対する迅速検査の感度が、耳鼻咽喉科医師が検体採取した場合57.7%であるのに対し内科医師では35.7%と大きな乖離がみられた。一方、鼻かみ検体を用いた場合は、耳鼻咽喉科医師の感度が65.4%に対して内科医師で57.1%とその差はかなり接近しており、このことは内科や小児科においては、臨床感度という点で特に鼻かみ検体を用いることの有用性が高い可能性を示唆している。

さらに、鼻腔からの検体採取において、適切に実施されない場合に臨床感度が低下するだけでなく、患者の安全面でも懸念が残る。前述の鼻腔拭い液検体採取時の出血例の他にも昨シーズンあるキットにおいて、鼻腔拭い液検体採取時に拭い棒が折損し、先の部分が患者の鼻腔内に残ってしまった事例があった。キットメーカーのホームページに掲載されており、医療事故につながりかねない。患者に鼻をかんでもらい、それを検体として使用する方法は安全かつ簡便で、しかも検査の精度も既存の検体と同等以上であることが今回の検討により確認できた。

さらに、今回の著者の試験では鼻かみ鼻汁検体の感度が鼻腔拭い液検体に比べて高い傾向を示したが、その要因として、鼻かみ検体が前述の山崎ら⁸⁾により、鼻腔拭い液検体よりもウイルス量が多いと報告した鼻腔吸引液検体により近い検体であることが考えられる。特殊な器具・装置を用いなくとも鼻腔吸引液に近い検体が採取できるならばますますメリットが大きい。患者任せで鼻を

かんでもらった場合、患者によってはウイルス量が少ない鼻孔近くの鼻汁しか採取できず、それゆえ検出感度が低下する可能性も懸念された。しかし、今回の試験でも、特に患者に鼻のかみ方を指示するようなことはしなかったが、インフルエンザ患者で鼻腔拭い液陽性、鼻かみ検体陰性となった症例が1例もなかったことは、鼻をかむことに特殊な技術は必要ではないことを示唆している。もちろん、高齢者などにしばしばみられるように、インフルエンザに罹患しても鼻汁がほとんど出ないケースや、あるいは自力で鼻をかむことができない乳幼児への適用は難しく、本方式は万能ではないが、通常の診療においては有用な検体採取法であると考えられる。

なお、今回の鼻かみ鼻汁検体を用いた迅速検査の感度は、A型 77.8% (7/9)、B型 58.1% (18/31) と、これまで既存検体を用いた各種迅速検査キットの性能として報告されている成績に比べると少し低い値であった。この要因としては、流行の主流がもともとキットによる検出感度が低いB型であったことに加えて、今回試験を行った当クリニックは都市の商業区域に立地していることが考えられる。当クリニックを受診する患者の大部分は、近隣の会社や店舗で働いている従業者であるため比較的重症度が低く、発症からの時間も短い患者が多かったことに加え、今回の試験の対象がすべて、もともとB型で重症化しにくく、また鼻汁の分泌そのものも少ない成人(16歳以上)の患者であったことなどの条件がいくつか重なった結果と捉えられる。実際、インフルエンザ陽性患者で検査時に体温測定を行った36例のうち、38°Cを越えていた症例がわずか4例であったことから、患者全体の症状が軽度であったことを示している。この点に関しては、今後試験の条件をこれまでの報告例にできるだけ合わせて再度検討を実施したい。

そのような中でもさらに、ウイルス分離培養試験で陽性となったインフルエンザ患者のうち、鼻かみ検体を用いた迅速検査で正しく陽性となった群(25例)と陰性(偽陰性)となった群(15例)の違いについて検討するために、検査時の体温や発症からの時間について比較した。有意差こそ示されなかったものの、迅速キット偽陰性群では体温が低く、発症からの病日が短い傾向ははっきりと示された。これまでもインフルエンザ迅速検査の1つの課題として、発症してから検査までの時間が短いと、たとえインフルエンザであっても陽性と出にくいことが指摘されている。今回の試験もそのことを示唆して

おり、さらには今回の試験で1回目に迅速検査で陰性となったものの、数日後の試験で陽性となった症例も認められたことから、発症後1病日あるいは2病日の迅速検査において陰性となった場合の対応については、慎重を要することが再確認された。

以上、インフルエンザ迅速検査に関しては、その限界や今後改良すべき課題もあるが、いつ新型インフルエンザが出現してもおかしくない昨今の情勢において、臨床現場における役割は今後ますます高まっていくと思われる。より適切な方法で検体を採取し、より適切なタイミングで検査を実施することが、その性能を最大限に生かす上で重要であると考えられた。

ま と め

1. 筆者は、2004/2005年シーズンにインフルエンザが疑われた128例に対して、従来の方法で採取した鼻腔拭い液検体と、患者自身が鼻をかむ方法で採取した鼻汁液検体について、インフルエンザ抗原迅速検査キットにおける臨床性能を比較検討した。

2. 結果は、患者が鼻をかんで得られる鼻汁液は、従来の鼻腔拭い液と同等かそれ以上の検査の臨床性能(感度および特異度)を有することが示された。

3. 鼻かみ検体は鼻腔拭い液検体と比較して、採取方法がより簡便かつ安全であることから、臨床の現場でインフルエンザ抗原迅速検査キットに用いる検体として有用性が高いと考えられた。

参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局：医薬品・医療用具等安全情報 194, 2003.
- 2) 原三千丸, 清水浩志：発熱を伴う冬季の小児呼吸器感染症の原因ウイルス検索。日小児会誌 102 : 29 ~ 33, 1998.
- 3) 原三千丸, 高尾信一, 福田伸治, 他：A型インフルエンザに対する3種類のイムノクロマト法迅速診断キットの比較検討。感染症誌 78 : 935 ~ 942, 2004.
- 4) 三田村敬子, 山崎雅彦, 市川正孝, 他：イムノクロマトグラフィー法と酵素免疫測定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。感染症誌 78 : 597 ~ 603, 2004.
- 5) 新藤静生, 高崎好生, 山下祐二, 他：インフルエンザの診断—小児科領域における臨床診断と迅速診断キットによる診断について。インフルエンザ 5 : 227 ~ 233, 2004.
- 6) Covalcius KA, Webb KH and Carlson CA : Comparison of four clinical specimen types for detection of influenza A and B

viruses by optical immunoassay (FLU OIA Test) and cell culture methods. J Clin Microbiol 37 : 3971 ~ 3974, 1999.

- 7) Kaiser L, Briones MS and Hayden FG : Performance of virus isolation and Directigen Flu A to detect influenza A virus in experimental human infection. J Clin Virol 14 : 191 ~ 197, 1999.
- 8) 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 4 : 43 ~ 50, 2003.
- 9) 川上千春, 三田村敬子, 木村和弘 : 迅速診断キットの基礎

検討. インフルエンザ 4 : 317 ~ 324, 2003.

原稿受付 : 平成18年 2 月10日

原稿採択 : 平成18年 4 月27日 急載

別刷請求先 : 梅田悦生

〒100-0014 東京都千代田区永田町2-14-3

赤坂東急ビル 4 F

赤坂山王クリニック