

[治 験 論 文]

レジオネラ尿中抗原検出キットの比較検討  
—リボソームタンパク質 L7/L12 を検出する新規キットを含めて—

村上日奈子<sup>1) 2)</sup>・石井良和<sup>2) 3)</sup>・濱口雄太<sup>4)</sup>・館田一博<sup>1) 2) 3)</sup>

<sup>1)</sup> 東邦大学医療センター大森病院臨床検査部

<sup>2)</sup> 東邦大学医療センター大森病院感染管理部

<sup>3)</sup> 東邦大学医学部微生物・感染症学講座

<sup>4)</sup> 旭化成ファーマ株式会社診断薬製品部

(令和元年12月7日受付, 令和2年1月17日受理)

レジオネラ症の迅速診断法の一つとして尿中抗原検査が使われている。しかし、尿中抗原検査で陰性と判定されても *Legionella* spp. による感染を否定できない。本研究は *L. pneumophila* 血清群 1 のリボ多糖体に対する抗体と *L. pneumophila* のリボソームタンパク質 L7/L12 を認識する抗体を併用して *L. pneumophila* の全ての血清群を検出する尿中抗原検査 LAC-116 (旭化成ファーマ株式会社) と、BinaxNOW レジオネラ (アボット ダイアグノスティクス メディカル株式会社) および Q ライン極東レジオネラ (極東製薬工業株式会社) の性能を評価した。レジオネラ症と診断された 57 症例の尿検体を使用し、尿中抗原検査の陽性率は LAC-116 が 86.0% (49/57), Binax が 80.7% (46/57), Q ラインが 77.2% (44/57) であった。*L. pneumophila* 血清群 1 が単独で分離された症例に対する LAC-116, Binax, Q ラインの陽性率はいずれも 96.6% (28/29) であった。3 種類の尿中抗原検査の結果が一致しなかったのは 6 症例であった。この内、4 症例は血清群 1 以外の *L. pneumophila* が分離され、LAC-116 のみが陽性を示した。LAC-116 は血清群 1 以外の *L. pneumophila* の検出にも有用であると考えられた。

**Key words:** 感染症診断, レジオネラ症, 尿中抗原, リボソームタンパク質 L7/L12

序 文

レジオネラ症は重篤な呼吸器感染症であり、1999 年に 4 類感染症に指定された。レジオネラ症の中で、レジオネラ肺炎は症状が急速に進行することから迅速な診断と適切な抗菌薬の投与が必要となる。尿を使用して 15 分間で抗原を検出するイムノクロマト法に基づくレジオネラ症の診断キットが開発され、2003 年から保険適用となった。また 2005 年に日本呼吸器学会の成人肺炎診療ガイドライン<sup>1)</sup>に尿中レジオネラ抗原検査が診断に有用であることが記載されたことで、2003 年に 146 症例であったレジオネラ症の報告数は、2016 年には 1592 症例と約 10 倍に増加した<sup>2)</sup>。

レジオネラ症の起因菌である *Legionella* spp. は、土壌・河川などの自然環境に広く生息している<sup>3)</sup>。2019 年現在、3 亜種を含む 62 菌種の *Legionella* spp. が登録されている。このうち、ヒトへの感染が報告されているのは 20 菌種ほどである<sup>4)</sup>。*L. pneumophila* はさらに 15 種類の血清群に細分され、この内血清群 1 がレジオネラ肺炎の起因菌として最も多

い。

レジオネラ症の検査法には尿中抗原検査をはじめ、培養検査、遺伝子検査、血清抗体価などがある。この内、培養検査では菌が検出されれば確実にレジオネラ症と診断できるが、特殊な培地と 3 日以上の日数を要するため迅速性に欠ける。遺伝子検査は感度が高い検査法であり、LAMP 法は 2011 年に保険適用された。血清抗体価は尿中抗原検査や LAMP 法の普及により現在ではほとんど行われておらず、臨床診断の価値が低くなっている。

尿中抗原検査で用いる尿は患者に対する侵襲性や負担も少ない検査材料である。また、イムノクロマト法は、簡便・迅速、かつ特別な機器を必要としないことも相まって、98.7% (297/301) の医師がレジオネラ症の診断に尿中抗原検査を用いると回答した<sup>5)</sup>。これまでの尿中抗原検査は、いずれも *L. pneumophila* 血清群 1 のリボ多糖体を認識する抗体を使用しているため、*L. pneumophila* 血清群 1 以外の *L. pneumophila* を含む *Legionella* spp. を検出することはできない。感染源の一つとして重要な温泉に生息する *Legionella* spp. に *L. pneumophila* 血清群 1 が占める割合は 21.5% (54/251) であったと報告されている<sup>6)</sup>。したがって、*L. pneumophila* 血清群 1 以外の *Legionella* spp. によるレジオネラ症の診断法の開発が必要である。

旭化成ファーマ株式会社は、*L. pneumophila* 血清群 1 のリボ多糖体に対する抗体と *L. pneumophila* のリボソームタンパク質 L7/L12 に対する抗体を併用した尿中抗原検査

著者連絡先：(〒143-8541) 東京都大田区大森西 6-11-1  
東邦大学医療センター大森病院臨床検査部  
村上日奈子  
TEL: 03-5763-6652  
FAX: 03-5763-6569  
E-mail: hina@med.toho-u.ac.jp

LAC-116を開発した。LAC-116は、すでに医薬品医療機器等法に従って、厚生労働省からリボテスト レジオネラとして製造販売承認を得ている。リボソームタンパク質 L7/L12の構造は全ての *L. pneumophila* に共通しており、この特異抗体を利用した LAC-116 は原理上、*L. pneumophila* を血清群に関わらず検出できる。そこで、臨床検体を用いて尿中抗原検査である BinaxNOW レジオネラ、Qライン極東レジオネラとの LAC-116 の相関性を評価した。

### 材料と方法

東邦大学医学部微生物・感染症学講座に保存されているレジオネラ症患者の尿 29 検体および 2013 年 3 月から 2016 年 7 月に倉敷中央病院、山形済生病院、天理よろづ相談所病院、および三宿病院で発生したレジオネラ症患者の尿 28 検体の計 57 検体を使用した。検体は本研究に必要な量が残っている冷凍保存された尿検体を使用した。通常の診療で培養を実施したのは 55 検体であり、*Legionella* spp. が分離された割合は 67.3% (37/55) であった。分離された *Legionella* spp. の内訳を表 1 に示す。

尿中抗原検査として、LAC-116 (旭化成ファーマ株式会社)、BinaxNOW レジオネラ (アボット ダイアグノスティクス メディカル株式会社)、および Q ライン極東レジオネラ (極東製薬工業株式会社) を使用した。LAC-116 は、検体希釈液が含まれたチューブに尿検体 500 $\mu$ L を滴下して混和した試料をテストプレートに 5 滴滴下し、15 分後に目視で判定した。BinaxNOW レジオネラおよび Q ライン極東レジオネラの操作方法および判定方法は、添付文書に従い行った<sup>7)8)</sup>。

表 1. 分離された *Legionella* spp. の内訳

| Species                          | rate (%)     |
|----------------------------------|--------------|
| <i>L. pneumophila</i> SG 1       | 78.4 (29/37) |
| <i>L. pneumophila</i> SG 5       | 2.7 (1/37)   |
| <i>L. pneumophila</i> SG 6       | 2.7 (1/37)   |
| <i>L. pneumophila</i> SG 9       | 2.7 (1/37)   |
| <i>L. pneumophila</i> SG 10      | 2.7 (1/37)   |
| <i>L. longbeachae</i>            | 2.7 (1/37)   |
| More than two species and/or SGs | 8.1 (3/37)   |

表 2. レジオネラ尿中抗原検出キットの特徴

| Products               | LAC-116 (Ribotest <i>Legionella</i> )  | BinaxNOW <i>Legionella</i>   | Q-line Kyokuto <i>Legionella</i>  |
|------------------------|--|--|---|
| Sample volume          | 500 $\mu$ L  | 50 $\mu$ L   | 200 $\mu$ L   |
| Time to result         | 15 min   | 15 min   | 15 min  |
| Detection limit        | <i>Legionella pneumophila</i> SG 1~15<br>4.0 $\times$ 10 <sup>3</sup> CFU/test   | <i>Legionella pneumophila</i> SG 1<br>7.5 $\times$ 10 <sup>5</sup> CFU/mL  | <i>Legionella pneumophila</i> SG 1<br>5 $\times$ 10 <sup>4</sup> CFU/mL |
| Cross-reactivity       | <i>Legionella dumoffii</i> , <i>Legionella bozemanae</i><br>4.0 $\times$ 10 <sup>3</sup> CFU/test  | <i>Legionella pneumophila</i> SG 7, SG 9<br>1 $\times$ 10 <sup>9</sup> CFU/mL  | <i>Legionella pneumophila</i> SG 7<br>3 $\times$ 10 <sup>8</sup> CFU/mL |
| Interfering Substances | Bilirubin 15 mg/dL<br>Bovine blood hemoglobin 4,000 mg/dL<br>D (+) Glucose 5,000 mg/dL<br>L (+) Ascorbic acid 750 mg/dL<br>Urea 7,500 mg/dL<br>Calcium chloride 800 mg/dL<br>Human serum albumin 800 mg/dL | White blood cells 10 <sup>6</sup> /mL<br>Red blood cells 10 <sup>6</sup> /mL<br>Protein 500 mg/dL<br>Glucose 2,000 mg/dL | Glucose 4,000 mg/dL<br>Urea 3,000 mg/dL<br>Ascorbic acid 1,000 mg/dL    |

LAC-116 は現在、リボテスト レジオネラとして製造販売承認を得ている<sup>9)</sup>。リボテスト レジオネラ、BinaxNOW レジオネラおよび Q ライン極東レジオネラの特徴を表 2 に示す。リボテスト レジオネラは、血清群の特定まではできないが、全ての血清群の *L. pneumophila* を検出できる。

LAC-116、BinaxNOW レジオネラ、および Q ライン極東レジオネラを使用した検査は東邦大学医療センター大森病院で実施し、各キットによる結果の一致率を算出した。

本研究は、東邦大学医学部 (承認番号: 27122)、倉敷中央病院 (承認番号: 2123)、山形済生病院 (承認番号: 283)、天理よろづ相談所病院 (承認番号: 763)、および三宿病院 (承認番号: 2016-03) の倫理委員会の承認を得て実施した。

### 結 果

#### 1. 各キットの陽性率

レジオネラ症患者の尿 57 検体に対する各キットの陽性率は、LAC-116 が 86.0% (49/57)、BinaxNOW レジオネラが 80.7% (46/57)、Q ライン極東レジオネラが 77.2% (44/57) であった。LAC-116 と BinaxNOW レジオネラの陽性率に有意差は認められず (McNemar 検定;  $P = 0.375$ )、また LAC-116 と Q ライン極東レジオネラの陽性率に有意差は認められなかった (McNemar 検定;  $P = 0.063$ )。培養で *L. pneumophila* 血清群 1 が単独で分離された症例の尿 29 検体に対する各キットの陽性率は、LAC-116、BinaxNOW レジオネラ、および Q ライン極東レジオネラのいずれも 96.6% (28/29) であった。

#### 2. LAC-116 と BinaxNOW レジオネラおよび Q ライン極東レジオネラの一致率

LAC-116 の BinaxNOW レジオネラおよび Q ライン極東レジオネラに対する全体一致率は、いずれも 91.2% (52/57) であった (表 3)。

#### 3. LAC-116、BinaxNOW レジオネラ、および Q ライン極東レジオネラの結果の不一致例

LAC-116、BinaxNOW レジオネラ、および Q ライン極東レジオネラの結果が全て一致しなかった検体は 6 検体であった (表 4)。この内、4 検体は血清群 1 以外の *L. pneumophila* が分離された症例であり、LAC-116 で陽性、BinaxNOW レジオネラおよび Q ライン極東レジオネラで陰性と判定され

表3. LAC-116 と BinaxNOW レジオネラおよび Q ライン極東レジオネラの一致率

| LAC-116 | BinaxNOW <i>Legionella</i> |    | Total         | LAC-116 | Q-line Kyokuto <i>Legionella</i> |    | Total         |
|---------|----------------------------|----|---------------|---------|----------------------------------|----|---------------|
|         | +                          | -  |               |         | +                                | -  |               |
| +       | 45                         | 4  | 49            | +       | 44                               | 5  | 49            |
| -       | 1                          | 7  | 8             | -       | 0                                | 8  | 8             |
| Total   | 46                         | 11 | 57            | Total   | 44                               | 13 | 57            |
|         | Positive concordance rate  |    | 97.8% (45/46) |         | Positive concordance rate        |    | 100% (44/44)  |
|         | Negative concordance rate  |    | 63.6% (7/11)  |         | Negative concordance rate        |    | 61.5% (8/13)  |
|         | Concordance rate           |    | 91.2% (52/57) |         | Concordance rate                 |    | 91.2% (52/57) |

表4. LAC-116, BinaxNOW レジオネラ, および Q ライン極東レジオネラの結果の不一致例

| Sample number | LAC-116 | BinaxNOW <i>Legionella</i> | Q-line Kyokuto <i>Legionella</i> | Culture                         |
|---------------|---------|----------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| 1             | +       | -                          | -                                | <i>L. pneumophila</i> SG 9      |
| 2             | -       | +                          | -                                | -                               |
| 3             | +       | +                          | -                                | -                               |
| 4             | +       | -                          | -                                | <i>L. pneumophila</i> SG 6      |
| 5             | +       | -                          | -                                | <i>L. pneumophila</i> SG 10, 13 |
| 6             | +       | -                          | -                                | <i>L. pneumophila</i> SG 10     |

た。残りの2検体はいずれも培養で陰性と判定された。この内、1検体はLAC-116およびBinaxNOWレジオネラで陽性、Qライン極東レジオネラで陰性と判定され、もう1検体はBinaxNOWレジオネラで陽性、LAC-116およびQライン極東レジオネラで陰性と判定された。

## 考 察

LAC-116の陽性率は、BinaxNOWレジオネラおよびQライン極東レジオネラと比較して高かった。本研究の対象となった症例は医療機関で尿中抗原検査または培養で陽性と判定されたため、尿中抗原検査の陽性率は高いと考えられる。陽性率が最も高かったLAC-116は臨床現場で有用であると考えられる。

LAC-116の*L. pneumophila*血清群1に対する検出感度はBinaxNOWレジオネラおよびQライン極東レジオネラと同等であり、良好と考えられる。LAC-116が検出できる血清群1以外の*L. pneumophila*は、喀痰を使用したLAMP法でも検出できる。しかし、レジオネラ症患者の中で臨床所見として喀痰のある割合は約50%と報告されており、LAMP法を利用できない場合がある<sup>10)</sup>。

各キットの結果が全て一致しなかった6検体の内、2検体は培養で陰性と判定されたため、培養の偽陰性、あるいはキットの偽陽性が考えられる。キットが検出する*L. pneumophila*のリポ多糖体は発症後数週間にわたり尿に排出され、治療後約300日経過した後に排出されたことが報告されている<sup>11)</sup>。

本研究の限界として、レジオネラ症の報告数は年間約1,700症例と少なく、尿中抗原検査の性能を評価するために必要なレジオネラ症患者の検体を前向きに収集することが難しいため、医療機関で培養または尿中抗原検査で陽性と判定されたレジオネラ症患者の保存された検体を使用した。このため、起因菌として*L. pneumophila*血清群1の割合が高かった。また、LAC-116が検出するリボソームタンパク質は細菌の

増殖に関係しており、肺炎球菌性肺炎のマウスモデルを使用した実験ではリボソームタンパク質L7/L12は肺内の菌数と相関することが報告されている<sup>12)</sup>。このようなりボソームタンパク質L7/L12を検出するLAC-116の特性を本研究では十分に評価できていない。さらに、臨床現場ではレジオネラ症が疑われる患者を対象として尿中抗原検査を使用するが、本研究ではレジオネラ症でない患者に対するLAC-116の性能を評価できていない。

今後、レジオネラ症が疑われる患者を対象とするLAC-116の臨床現場での更なる評価が期待される。

本論文の要旨は第29回日本臨床微生物学会総会・学術集会以て発表された。

**謝辞**：本研究を実施するに当たりご尽力頂いた倉敷中央病院 石田直先生、伊藤明広先生、山形済生病院 武田博明先生、天理よろづ相談所病院 田口善夫先生、三宿病院 中森祥隆先生、吉川理子先生、東京慈恵会医科大学附属病院 桑野和善先生、東邦大学医療センター大森病院 岸一馬先生、東京慈恵会医科大学 齋藤桂介先生に深謝致します。

**利益相反**：本研究は旭化成ファーマ株式会社の開発したレジオネラ尿中抗原検査LAC-116の製造販売承認申請用のデータ取得を目的として実施された。本研究は旭化成ファーマ株式会社から資金提供を受けて実施した。共著者の濱口雄太は旭化成ファーマ株式会社の社員である。

## 文 献

- 1) 日本呼吸器学会成人肺炎診療ガイドライン 2017 作成委員会. 2017. 成人肺炎診療ガイドライン 2017, 日本呼吸器学会, 東京.
- 2) 国立感染症研究所: 感染症発生動向調査事業年報. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/survei/2270-idwr/nenpou/>
- 3) レジオネラ症防止指針作成委員会. 2017. レジオネラ症防

- 止指針 第4版, 財団法人ビル管理教育センター.
- 4) 斎藤 厚. 2007. レジオネラ感染症ハンドブック, 日本医事新報社.
  - 5) 公益社団法人 日本化学療法学会 レジオネラ治療薬評価委員会. 2016. レジオネラの診断と治療に関するアンケート調査結果. 日化療会誌 64 (1): 66-75. [http://www.chemotherapy.or.jp/guideline/legionella\\_questionnaire.pdf](http://www.chemotherapy.or.jp/guideline/legionella_questionnaire.pdf)
  - 6) 古畑勝則, 原 元宣, 吉田真一, 他. 2004. 温泉水からのレジオネラ属菌の分離状況. 感染症誌 78 (8): 710-716. <http://journal.kansensho.or.jp/Disp?pdf=0780080710.pdf>
  - 7) アボット ダイアグノスティクス メディカル株式会社. レジオネラキット BinaxNOW レジオネラ添付文書 (2019年7月改訂, 第5版). [https://www.info.pmda.go.jp/tgo/pack/21600AMG00002000\\_A\\_02\\_01/](https://www.info.pmda.go.jp/tgo/pack/21600AMG00002000_A_02_01/)
  - 8) 極東製薬工業株式会社. レジオネラキット Qライン極東レジオネラ添付文書 (平成28年4月改訂, 第7版). [https://www.info.pmda.go.jp/tgo/pack/21900AMX00265000\\_A\\_01\\_06/](https://www.info.pmda.go.jp/tgo/pack/21900AMX00265000_A_01_06/)
  - 9) 旭化成ファーマ株式会社. レジオネラキット リボテスト レジオネラ添付文書 (2018年10月作成, 第1版).
  - 10) Miyashita, N., F. Higa, Y. Aoki, et al. 2017. Clinical presentation of *Legionella* pneumonia: Evaluation of clinical scoring systems and therapeutic efficacy. *J. Infect. Chemother* 23 (11): 727-732. [https://www.jiac-j.com/article/S1341-321X\(17\)30203-9/pdf](https://www.jiac-j.com/article/S1341-321X(17)30203-9/pdf)
  - 11) Kohler, R.B., W.C. Winn Jr., L.J. Wheat. 1984. Onset and duration of urinary antigen excretion in legionnaires disease. *J. Clin. Microbiol* 20 (4): 605-607. <http://jcm.asm.org/content/20/4/605.long>
  - 12) Sawa, T., S. Kimura, N Honda, et al. 2013. Diagnostic usefulness of ribosomal protein L7/L12 for pneumococcal pneumonia in a mouse model. *J. Clin. Microbiol* 51 (1): 70-76. <http://jcm.asm.org/content/51/1/70.full.pdf+html>

### Comparison of the *Legionella* urinary antigen detection kits: Including the novel kit to detect ribosomal protein L7/L12

Hinako Murakami<sup>1) 2)</sup>, Yoshikazu Ishii<sup>2) 3)</sup>, Yuta Hamaguchi<sup>4)</sup>, Kazuhiro Tateda<sup>1) 2) 3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Clinical Laboratory, Toho University Medical Center Omori Hospital

<sup>2)</sup>Department of Infection Control, Toho University Medical Center Omori Hospital

<sup>3)</sup>Department of Microbiology and Infectious Diseases, Toho University School of Medicine

<sup>4)</sup>Diagnostics Department, Asahi Kasei Pharma Corporation

Urinary antigen detection kits are used for the early diagnosis of Legionnaires' disease. However, the disease caused by *Legionella* spp. cannot be ruled out when their results are negative. In this study, we investigated the performance of *Legionella* urinary antigen detection kit LAC-116 (Asahi Kasei Pharma), which uses not only an antibody to detect the lipopolysaccharides of *L. pneumophila* serogroup 1 but also an antibody to detect ribosomal protein L7/L12 to detect all serogroups of *L. pneumophila*, and as well as BinaxNOW *Legionella* (Abbott Diagnostics Medical) and Q-line Kyokuto *Legionella* (Kyokuto Pharmaceutical Industrial). We used 57 urine samples from patients with Legionnaires' disease. Positive rates of LAC-116, Binax, and Q-line were respectively 86.0% (49/57), 80.7% (46/57), and 77.2% (44/57). Positive rates of LAC-116, Binax, and Q-line in patients with the detected *L. pneumophila* serogroup 1 were 96.6% (28/29). Six results from the kits were not in accordance with the urinary antigen detection kits. In these instances, four cases of *L. pneumophila* other than serogroup 1 were cultured, and LAC-116 was positive. The LAC-116 is expected to be useful to detect *L. pneumophila* for not only serogroup 1 but also groups other than serogroup 1.