

赤痢アメーバ症の診断について

Diagnosis of amoebic infection

ほ しな と き お
保 科 斉 生
Tokio HOSHINA

はじめに

赤痢アメーバ症は *Entamoeba histolytica* の感染により引き起こされる感染症の総称である。その内訳として腸管病変を引き起こすアメーバ性大腸炎やアメーバ赤痢が最も多く、それに次いでアメーバ性肝膿瘍が多い。下痢症は世界各国で見られる疾患で、疾病負荷（健康に影響を与えるインパクトを示す指標）は下気道感染症に次いで第 5 位に位置している¹⁾。その中でも、赤痢アメーバは世界各国で見られる下痢症の原因微生物の一つである。アメーバ赤痢は感染症法で五類感染症に分類される全数把握の対象疾患であり、医師は診断から 7 日以内に発生届けを提出する必要がある。感染症発生動向調査によると 2013 年以降、年間 1,000 件以上あったアメーバ赤痢症例の報告数が、2018 年以降は 800 件程度に低下している²⁾。これは 2017 年末に、赤痢アメー

バ抗体を測定する試薬が製造中止になったことが影響していると考えられている。2017 年末以降は赤痢アメーバ抗体検査の中止に伴い、保険診療で実施可能な赤痢アメーバの臨床検査は直接検鏡のみになっていたが、2020 年 8 月 7 日に、イムノクロマト法を用いた抗原検査が保険収載された。取り扱いが非常に簡便な検査試薬であるため臨床現場での普及が期待されるが、結果の解釈には試薬の特徴をよく理解する必要がある。本稿では新規検査法である抗原検査の紹介を軸に、赤痢アメーバ症の診断について概説する。

I. 赤痢アメーバ(*E. histolytica*)の生活環と疫学、臨床像

赤痢アメーバの固有宿主はヒトであり、中間宿主を介すことなく人間社会のみで生活環が完結している(図 1)。感染者の糞便中に排出される赤痢アメー

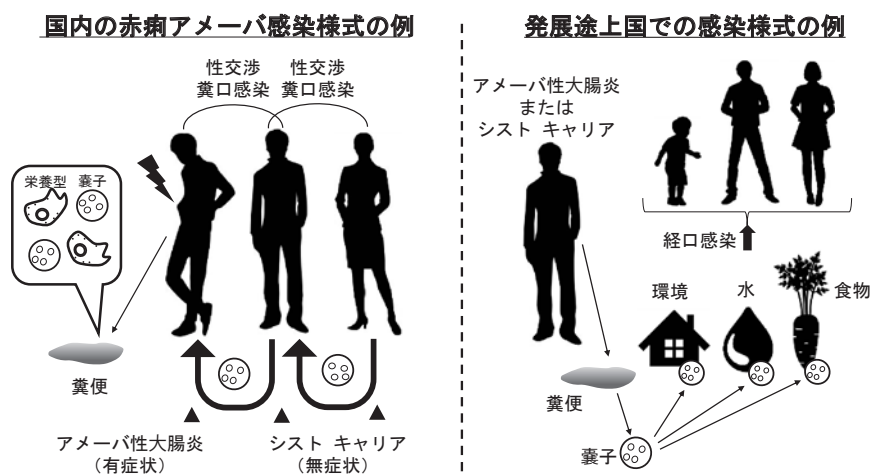


図 1

バの嚢子(シスト)は嚢子壁を持つため乾燥に強く、環境中で約1か月間の生存が可能である。発展途上国など、上下水道のインフラが整備されていない地域や、尿尿を肥料として利用している地域では、成熟嚢子によって汚染された作物や飲水を経口摂取することで感染が成立する。ブラジルのスラム街の住人を対象とした調査では、赤痢アメーバの抗体保有率は24.7%であり³⁾、さらにエチオピアの小児を対象とした調査では70%の抗体保有率が確認されている⁴⁾。

一方、一部の先進国で発生する赤痢アメーバ症の多くは性感染症である。これまでの報告によると、日本・台湾・オーストラリアではMSM (men who have sex with men) の間で赤痢アメーバの流行が観察されている⁵⁻⁸⁾。特にオーラル-アナルセックスでは直に糞口感染が成立するため、感染のリスクが高いと考えられる。日本のHIV感染者1,303人(76.9%がMSM)を対象とした調査では、抗体保有率は21.3%であった⁷⁾。一方、東京都が運営する匿名の性感染症スクリーニング検査(新宿東口検査・相談室)で集められた血液検体2,083件の解析では、赤痢アメーバ抗体の保有率は2.64%であった⁹⁾。この調査では、同時にHIVの感染率も調べているが、その陽性率は0.34%であり、HIV感染者以外でも赤痢アメーバの感染が拡大していることを示唆する結果と考えられた。

経口で取り込まれた赤痢アメーバの成熟嚢子は、小腸腔内で脱嚢し、大腸腔内で栄養型になり、宿主の腸管粘膜や血液を吸収し増殖する。この際に腹痛、下痢、テネスマス、粘血便などの消化器症状を有するものをアメーバ性大腸炎と呼ぶ(なかでも症状が著しく、イチゴゼリー様の血便を有するものをアメーバ赤痢と呼ぶ)。また、腸管で増殖した栄養型虫体

が門脈に侵入すると、血行性に肝臓に辿り着き、アメーバ性肝膿瘍を形成する。アメーバ性肝膿瘍は細菌性肝膿瘍に比べ発熱などの全身症状が少なく、単一の膿瘍腔を形成する傾向にあることが特徴であり(細菌性は多房性が多い)、男性の罹患率が高い¹⁰⁾。

他方で感染者の約90%は無症候感染者であると報告されている¹¹⁾。無症候感染者はシストキャリアとも呼ばれ、有形便の中に嚢子を排出し続けることが知られている。無症候が故に感染の拡大に寄与していると考えられる。

II. 赤痢アメーバ症の診断

赤痢アメーバ症の代表的な検査方法には、①顕微鏡下での病原体検出(直接塗抹、集嚢子法を含む)、②ELISA法またはイムノクロマト法による抗原検出、③PCR法による病原体遺伝子の検出、④抗体の検出がある。感染症法に基づく届出基準は①~④のいずれかが陽性であり、かつ臨床像が合致すればよい(なおシストキャリアは報告の対象ではない)。この検査方法のうち本稿執筆時点(2021年11月)で、保険収載され一般的に実施可能な検査方法は①のみである*。届出に必要な検査と使用する検体について表1¹²⁾にまとめた。

*抗体検査は保険収載された検査方法であるが、2017年末に試薬の製造が中止になり、以降検査ができない状態が続いている。また抗原検査は保険収載されているが、未だ国内では試薬が流通していない(2021年11月現在)。核酸増幅検査については、赤痢アメーバも検出可能なFilmArrayの消化管パネルが2021年3月に国内で承認されたが、まだ実施可能な施設は限られている。

表1 届出に必要な検査法と検査材料

検査法	検査材料
顕微鏡下での病原体の検出	便、病変部 (大腸粘膜、膿瘍液)
ELISA法による病原体抗原の検出	
PCR法による病原体の検出	
イムノクロマト法による病原体の抗原の検出	便
抗体の検出	血清

出典：感染症法に基づく医師及び獣医師の届出について「アメーバ赤痢」(厚生労働省)
<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekakaku-kansenshou11/01-05-01.html>
 (文献12)より転載)

1. 直接塗抹法（集囊子法含む）の長所と短所

糞便の直接塗抹標本の観察では、栄養型（直径20-50 μm ）と囊子（直径12-15 μm ）双方の確認が可能であり、糞便中の赤血球や白血球も観察できるため、総合的な評価が可能である（写真1：栄養型、写真2：囊子）。また、赤痢アメーバ以外にもジアルジアや、バランチジウムなどの原虫を同時に探索できることが強みであり、コストのかからない優れた検査方法である。一方で塗抹標本の観察には、検査技師の経験と習熟が必要である。また、いかに経験が豊富な技師が観察したとしても、糞便中に存在する虫体数が少数であればあるほど感度は低下する^{12,13)}。さらに偽陽性にも注意が必要である。例えば、細菌性腸炎では好中球が多く含まれる下痢が見られるが、条件によっては糞便中の好中球が球形の形態を呈することがあり、赤痢アメーバの囊子様に見えることがある。丁寧な形態の観察や、集囊子法による比重の違いにより判別が可能であるが、経験が少ない観察者による判定は特異度の低下を招く恐れがある。



写真1 赤痢アメーバ栄養型
(直接塗抹標本)



写真2 赤痢アメーバ囊子
(ホルマリンエーテル法で集囊子後)

また、赤痢アメーバ (*E. histolytica*) 以外に、ヒトの腸管内に寄生する非病原性アメーバの存在があり、注意が必要である。例えば *E. dispar* は *E. histolytica* と酷似した形態であるため、検鏡で見分けることは不可能である^{13,14)}。栄養型が赤血球を貪食している像（写真3：赤血球を貪食した栄養型）が確認できれば、*E. histolytica* である蓋然性が高くなるが、厳密にはそれのみでは確定診断には至らない。鑑別のためにはPCR法などの核酸増幅検査や抗原検査の追加が必要である。

別の視点で問題なのは、検査の保険点数が低いことである。糞便の寄生虫卵・原虫検査は、検査実施料15点（150円）であり、判断料は34点（340円）である。つまり、経験豊富な検査技師が時間をかけて検体を行っても、1検体あたり500円弱の報酬にしかならない。その結果、多くの医療機関では院外の検査機関に検査を委託することになり、迅速な診断が難しい状況を作り上げてしまった。

2. 抗原検査

2020年8月に、赤痢アメーバの酵素免疫測定法を用いた試薬が国内で薬事承認された。アボット社が販売する赤痢アメーバ QUIK CHEK は、イムノクロマトグラフ法を用いた簡便な検査キットであり、少量の糞便検体から *E. histolytica* の栄養型に特異的なアドヘシンを約30分間で検出することができる。キットの形状は *Clostridioides difficile* の検査キットである C. DIFF QUIK CHEK と同様である。専用の希釈液で糞便を溶解した後に酵素標識抗体を添加し、検体添加部に滴下する。検体展開15分後に洗浄液を加え、続いて基質液を添加して10分後に判



写真3 赤痢アメーバ栄養型
(直接塗抹標本、赤血球貪食像)

定部のラインを目視で評価する。コントロールラインの発色と、テストラインの発色の有無を確認し、反応の有無を評価する(図2)。保険収載されている赤痢アメーバ抗原定性検査の検査実施料は223点(2,230円)であり、判断料は144点(1,440円)である。

検査方法も判定も簡易であるため、この試薬はPoint of Care Testing (POCT) としてクリニックや、内視鏡検査を専門とする施設を中心に普及が進むと考えられる。一方で、本検査には注意点が二つある。1) 本試薬が検出する赤痢アメーバの抗原は、栄養型にのみ発現するアドヘシンである。つまり、糞便に含まれる虫体の大部分が嚢子の場合偽陰性になる可能性が高くなる。2) 糞便中の赤痢アメーバ抗原を検出する検査方法であり、その他の検体(腸管粘膜、膿汁など)を用いた場合の検査性能は検証されていない。

同製品は2017年に米国FDAの承認を受けており、その際の検査性能の結果を以下に紹介する。有症状者の新鮮便検体を用いた臨床性能試験では、計755検体の評価を実施しており、最終判定(PCR法)が陽性であった5検体中2例で抗原検査が陽性であった。PCR法が陽性で抗原検査が陰性であった3検体については、検鏡で虫体を確認することができず、抗原量の過少が原因であると考えられた。また、検鏡法およびPCR法で評価済みの凍結糞便検体(陽性30検体、陰性66検体)を用いた抗原検査の性能の検討では、陽性一致率と陰性一致率が100%であった^{14,15)}。

日本国内の検体を用いた評価では、PCR法が陽性であった13検体のうち7検体で抗原検査が陽性であった(陽性一致率53.8%)。PCR法が陰性であった304検体は全て抗原検査も陰性であった(陰性一致率100%)。一方、PCR法と検鏡法による比較では、陽性一致率は92.3%(12/13例)であり、陰性一致

率は99.4%(303/304例)であった。PCR法が陽性であった12検体の内訳を確認すると、栄養型のみ3検体、栄養型+嚢子4検体、嚢子のみ5検体であった。それぞれの群別で抗原検査の陽性率を確認すると、100%(3/3例)、75%(3/4例)、20%(1/5例)であり、嚢子の割合が増加するほど抗原検査の検出率は低下することが示唆された(表2)^{14,15)}。以上の結果から、抗原検査はアメーバ性大腸炎を疑う症状がある患者を対象に使用するべきであり、無症候者の場合は合わせて検鏡を行うべきである。日本臨床微生物学会の提言「赤痢アメーバ抗原検査の臨床活用に関して」では、便性状の客観的指標であるBristol Stool Scaleを用いて、抗原検査に妥当な検体であるかを判断して使用することを推奨している(Bristol Score 5-7の検体で検査することを推奨している)^{15,16)}。

Yanagawa、Shimogawaraらの報告によれば、国内5施設で消化管感染症が疑われた患者の糞便657検体を赤痢アメーバPCR法、検鏡法、赤痢アメーバQUIK CHEKで評価したところ、PCR陽性検体は38検体(5.8%)であり、PCR法をもとに赤痢アメーバQUIK CHEKの感度と特異度を算出すると、それぞれ44.7%と99.8%であることが判明した。一方で検鏡法と赤痢アメーバQUIK CHEKを組み合わせた検査法では、特異度を保ったまま、感度が78.9%まで上昇した^{16,17)}。国内で赤痢アメーバの感染が疑われる状況では、検鏡と抗原検査を組み合わせることが有用であると示した結果であった。なお、赤痢アメーバQUIK CHEKでは非病原性アメーバである*E. dispar*、*E. moshkoviskii*、*E. bangladeshi*、*E. coli*、*Iodamoeba butschlii*と交差反応を起こさないことが確認されているため、非病原性アメーバの保有者が多い地域では、検鏡と抗原検査の併用により特異度が上昇する可能性がある。

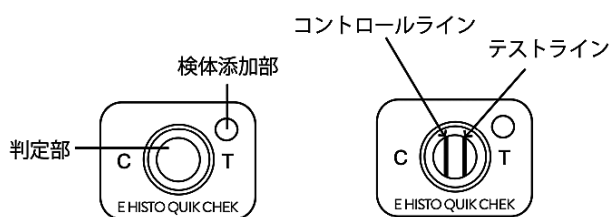


図2 赤痢アメーバQUIK CHEK
(文献15)より転載)

表2 抗原検査と検鏡検査の比較

		検鏡検査		
		栄養型	栄養型+嚢子	嚢子
抗原検査	陽性	3	3	1
	陰性	0	1	4
合計		3	4	5
		12		

(文献15)より転載)

3. 核酸増幅法とその他の検査

赤痢アメーバの PCR 法は、大学や衛生研究所などの限られた研究施設でのみ実施可能であった。当施設では *E. histolytica* と *E. dispar* の判別目的に、29kD システインリッチタンパク質（ペルオキシレドキシン）を標的とした 2 組のプライマーを用いた PCR 法を行なっている¹⁸⁾。近年は臨床検査における遺伝子検査機器の開発と導入が盛んであり、特に全自動型マルチプレックス PCR 装置の普及は感染症診断の精度を高めることができる。マルチプレックス PCR の特徴は複数の病原体、ウイルス・細菌・寄生虫を同時に検査できることである。2021 年 3 月、バイオメリュー社の FilmArray 消化管パネルが体外診断用医薬品として承認された。これは、消化管感染症の原因となる複数の病原体をターゲットとした全自動マルチプレックス PCR であり、赤痢アメーバの検出も可能である。ただし、交差反応で *E. dispar* でも陽性になってしまう点や、1 検査あたりの費用がかさんでしまうことが課題として残る。

抗体検査はアメーバ性肝膿瘍の診断に有用である。特に、赤痢アメーバ抗体の保有率が低い日本国内であれば、アメーバ性肝膿瘍を疑うエピソードと所見があり、抗体検査が陽性であれば、陽性的中率は高いと考えられる。アメーバ性肝膿瘍を吸引した膿汁から栄養型の虫体を分離できる頻度は低く、病原体の同定は困難な場合が多い。また、アメーバ性肝膿瘍の症例ではアメーバ性大腸炎の合併がないことも多く、糞便から虫体を検出することが困難な場合がある^{18, 19)}。一方で、アメーバ性肝膿瘍の症例の大部分では赤痢アメーバ抗体が陽性になるため、抗体陽性はアメーバ性肝膿瘍を疑った場合の間接的な証拠になりうる^{19, 20)}。今後、臨床検査として抗体検査の再開が望まれるところである。

最後に病理検査における赤痢アメーバの所見について述べたい。アメーバ性大腸炎の患者では、下部消化管内視鏡検査における腸管組織の生検によりアメーバの感染が判明し、診断に至る症例も少なくない。経験が豊富な内視鏡科医であれば、内視鏡所見の段階でアメーバ性大腸炎が鑑別診断に含まれるため、病理検査をオーダーする際に大きな問題は生じない。しかし、病理医に臨床情報が十分に伝わっていない場合や、診断する病理医師の経験が乏しい場

合に、赤痢アメーバの病変を見落とす可能性がある。赤痢アメーバはマクロファージなどのヒト組織由来の細胞に類似する構造であるため、HE 染色では虫体を見落とす可能性がある。赤痢アメーバの関与を考え、病理検査をオーダーする場合は必ず鑑別診断名として記載し、PAS 染色を施した組織を観察すべきである。

おわりに

国内の赤痢アメーバ症の大半は性感染症である。そして、感染は HIV 陽性者が多い MSM のコミュニティから、次第に女性を含むヘテロセクシャルのコミュニティにも広がりを見せており、今後も症例数の増加が見込まれる。国内の赤痢アメーバ症の診断は、長らく検鏡による虫体の検出に基づき行われてきたが、今後は抗原検査が POCT として広く普及するものと考えられる。しかし、抗原検査を使用する際には、検査試薬の特徴をよく理解した上で結果を解釈し、診断する必要がある。抗原検査の普及と、結果の適切な評価が赤痢アメーバ症の早期診断と早期治療につながることを期待したい。

文 献

- 1) WHO, Global health estimates: Leading causes of DALYs. Disease burden, 2000-2019. https://www.who.int/docs/default-source/global-documents/global-health-estimates/ghe2019_daly_global_2000_2019106cc197-7fec-4494-9b12-64d11150302b.xlsx?sfvrsn=ab2e645c_9 (引用 2021/11/5)
- 2) 国立感染症研究所、感染症法に基づくアメーバ赤痢の届出状況、2014-2019 年. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/entamoeba-histolytica-m/entamoeba-histolytica-idwrs/9653-amebiasis-200604.html> (引用 2021/11/5)
- 3) Braga LL, Lima AA, Sears CL, et al. Seroepidemiology of *Entamoeba histolytica* in a slum in northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1996; **55**: 693-697.
- 4) Aiemjoy K, Aragie S, Wittberg DM, et al. Seroprevalence of antibodies against *Chlamydia trachomatis* and enteropathogens and distance to the nearest water source among young children in the Amhara Region of Ethiopia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020; **14**(9):e0008647. doi: 10.1371/journal.pntd.0008647.
- 5) Escolà-Vergé L, Arando M, Vall M, et al. Outbreak of intestinal amoebiasis among men who have sex with men, Barcelona (Spain), October 2016 and January 2017. *Euro*

- Surveill. 2017; **22**: 30581. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.30.30581.
- 6) Huang SH, Tsai MS, Lee CY, et al. Taiwan HIV Study Group. Ongoing transmission of *Entamoeba histolytica* among newly diagnosed people living with HIV in Taiwan, 2009-2018. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020;**14**:e0008400. doi: 10.1371/journal.pntd.0008400.
 - 7) Watanabe K, Aoki T, Nagata N, et al. Clinical significance of high anti-*Entamoeba histolytica* antibody titer in asymptomatic HIV-1-infected individuals. *J Infect Dis.* 2014; **209**: 1801-1807.
 - 8) James R, Barratt J, Marriott D, et al. Seroprevalence of *Entamoeba histolytica* infection among men who have sex with men in Sydney, Australia. *Am J Trop Med Hyg.* 2010; **83**: 914-916.
 - 9) Yanagawa Y, Nagashima M, Gatanaga H, et al. Seroprevalence of *Entamoeba histolytica* at a voluntary counselling and testing centre in Tokyo: a cross-sectional study. *BMJ Open.* 2020;**10**:e031605. doi: 10.1136/bmjopen-2019-031605.
 - 10) Acuna-Soto R, Maguire JH, Wirth DF. Gender distribution in asymptomatic and invasive amebiasis. *Am J Gastroenterol.* 2000; **95**: 1277-1283.
 - 11) Haque R, Huston CD, Hughes M, et al. Amebiasis. *N Engl J Med.* 2003; **348**: 1565-1573.
 - 12) 厚生労働省,「感染症法に基づく医師及び獣医師の届出について」、アメーバ赤痢,
<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-01.html>(引用2022/1/4)
 - 13) Haque R, Neville LM, Hahn P, et al. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol.* 1995; **33**: 2558-2561
 - 14) Haque R, Ali IK, Akther S, et al. Comparison of PCR, isoenzyme analysis, and antigen detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol.* 1998; **36**: 449-52.
 - 15) 赤痢アメーバ抗原キット 赤痢アメーバQUICK CHEK 添付文書(2020年12月改定 第2版)
<https://www.mhlw.go.jp/content/10906000/000788520.pdf>(引用2022/1/4)
 - 16) 日本臨床微生物学会「赤痢アメーバ抗原検査の臨床活用に関して」2020年10月28日
<http://www.jscm.org/m-info/292.pdf>(引用2021/11/5)
 - 17) Yanagawa Y, Shimogawara R, Endo T, et al. Utility of the Rapid Antigen Detection Test *E. histolytica* Quik Chek for the Diagnosis of *Entamoeba histolytica* Infection in Nonendemic Situations. *J Clin Microbiol.* 2020; **58**:e01991-20. doi: 10.1128/JCM.01991-20.
 - 18) Tachibana H, Kobayashi S, Takekoshi M, et al. Distinguishing pathogenic isolates of *Entamoeba histolytica* by polymerase chain reaction. *J Infect Dis.* 1991; **164**: 825-826.
 - 19) Fotedar R, Stark D, Beebe N, et al. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clin Microbiol Rev.* 2007; **20**: 511-532.
 - 20) Zengzhu G, Bracha R, Nuchamowitz Y, et al. Analysis by enzyme-linked immunosorbent assay and PCR of human liver abscess aspirates from patients in China for *Entamoeba histolytica*. *J Clin Microbiol.* 1999; **37**: 3034-3036.