

<特集関連情報>

性感染症としての赤痢アメーバ症—特に女性における赤痢アメーバ抗体保有率について

わが国における赤痢アメーバ症は、1970年代までは赤痢アメーバ症の多くが、いわゆる輸入感染症のひとつとして、海外流行地で赤痢アメーバ成熟嚢子（成熟シスト）に汚染された飲食物に起因する食品媒介寄生虫症として考えられていた。ところが、1970年代後半より、米国において都市部の男性に赤痢アメーバ感染者が多く認められるという報告がなされるようになり、男性同性間性的接触（MSM）による性感染症として認識されるようになった。わが国でも1980年代より、大阪や東京の都市部で男性を中心に赤痢アメーバ感染者の増加がみられ始めた。当時、赤痢アメーバ症は、細菌性赤痢に準じ消化器感染症と認識されていたため、都内で赤痢アメーバ症患者の届出があった場合、疫学調査の対象が性的パートナーにまで及ぶことはなく、患者と食事などを共にした接触者を中心に糞便検査が行われていた。その結果、1990年以降、検査対象となった患者家族や職場の同僚などからは、1例も赤痢アメーバが検出されていない。

1999年に施行された感染症法では、赤痢アメーバ症は全数報告対象の4類感染症（現在は5類感染症）に指定され、診断基準も見直された。その後、わが国における赤痢アメーバ症の年間報告数は、顕著な増加を示し、2006年には738例に達し²⁾、全数把握の5類感染症14疾患の中で、梅毒の報告数を上回り、後天性免疫不全症候群について2番目に多い報告数となっている。赤痢アメーバ感染のハイリスクグループのひとつに、前述のようにMSMを行うpopulationがあり、感染者に占めるその割合が大きいため、報告数の約90%が男性という顕著な疫学的特徴を示している。近年では女性の赤痢アメーバ感染者も増加傾向にあり（図1）、異性間性的接触による、より広範な感染拡大が危惧されている。

筆者らは感染症発生動向調査事業の一環として、病

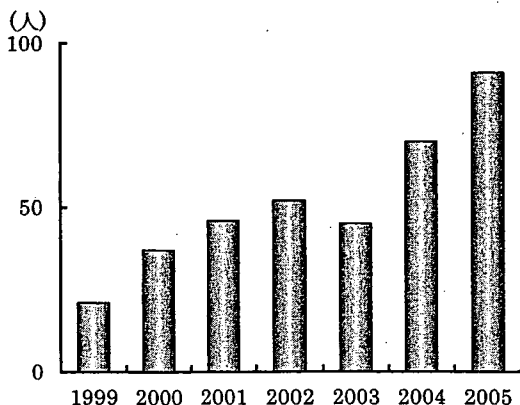


図1. わが国における女性の赤痢アメーバ症届出数の年次推移

表1. 定点医療機関受診者（女性）の赤痢アメーバ抗体保有率

| 年 | 陽性数 | 陽性率(%) | CT重複陽性数* |
|------|-----|--------|----------|
| 2003 | 3 | 1.5 | 2 |
| 2004 | 8 | 3.7 | 7 |
| 2005 | 14 | 5.0 | 8 |

* : CT（クラミジア トラコマチス）の検査は、抗体検査および遺伝子検査を実施。いずれかが陽性の場合に重複陽性数として計上した。

原体定点となっている婦人科医院から搬入された血清、子宮頸管擦過物および帯下を対象に、梅毒、クラミジア、ヒトパピローマウイルス（HPV）、肝炎ウイルスなどの検査と同時に、赤痢アメーバ抗体検査、腫トリコモナス遺伝子検出検査を実施している。赤痢アメーバに関しては、2003年よりプレート ELISA 法を用いた血清中の抗赤痢アメーバ IgG 抗体の検出検査を実施している³⁾。その結果、2003、2004、2005年に供試された、205、217、282検体のそれぞれから、3件（1.5%）、8件（3.7%）、14件（5.0%）の赤痢アメーバ抗体陽性例が認められた（表1）。年齢別の内訳は、2003年が20代（2例）、30代（1例）：うちクラミジア・トラコマチス（CT）陽性者2例、2004年が20代（3例）、30代（5例）：うちCT陽性者7例、2005年が20代（2例）、30代（2例）、40代（7例）、50代（3例）：うちCT陽性者8例と、女性における赤痢アメーバ症感染の増加傾向が認められた。また、CT陽性者と相関がみられることから、赤痢アメーバ感染が性行為により感染した可能性が高いことが示唆された。疫学的には男性の場合、赤痢アメーバと梅毒の重複感染が多いことが知られているが⁴⁾、3年間の調査結果からは、女性の赤痢アメーバ抗体と梅毒血清反応の重複陽性例はみられず、男性とは異なる傾向を示した。

このように日本における赤痢アメーバの感染経路は、当初、MSMによる比較的限られたpopulation内での性感染であったが、性行為の多様化から、新たなpopulationへ感染の拡大が起きていることが示唆されている。しかしながら、わが国における性感染症としての赤痢アメーバ症に対する認識度は低く、赤痢アメーバ感染予防知識の普及啓発が必要である。さらには、従来からの性感染症検査に赤痢アメーバを加えるなど、総合的な赤痢アメーバ感染拡大防止対策が望まれる。

文献

- Schmerin MJ, *et al.*, JAMA 238: 1386-1387, 1977
- 国立感染症研究所感染症情報センター, 感染症発生動向調査週報2006年52週（第52号）, <http://idsc.nih.gov/idwr/kanja/idwr/idwr2006/idwr2006-52.pdf>
- 東京都福祉保健局, 感染症発生動向調査事業報告書, p117, 2003; p124, 2004; p128, 2005

- 4) 奥沢英一, 他, 日本性感染症学会誌 12: 153-156, 1991

東京都健康安全研究センター微生物部
鈴木 淳 伊瀬 郁

＜特集関連情報＞

東京都立駒込病院で経験した女性のアメーバ性肝膿瘍症例

アメーバ性肝膿瘍は、腸管に感染したアメーバ原虫が腸壁より血行性に肝臓に移行することで形成される。アメーバ性肝膿瘍の発生には、性差が影響することが知られており、女性での発生は男性に比べまれである。当院では、これまでに女性のアメーバ性肝膿瘍症例を3例経験しているので報告する(表1)。

症例1: 35歳女性。1998年10月下旬より発熱、右背部痛を自覚し、近医を受診。経過観察中に、肝機能異常を認め、腹部超音波検査施行し、肝臓右葉内に径10cmの単発性の腫瘤を認めた。血清アメーバ抗体400倍を認め、アメーバ性肝膿瘍の診断にて12月9日当院転院となる。当院入院時に実施した便原虫検査からは栄養型が検出された。入院後、メトロニダゾール投与、膿瘍穿刺を行い、臨床症状の改善を認めた。本症例は、commercial sex worker (CSW) であり、東南アジアへの海外渡航歴も認めた。入院時検査にてHBs抗原陽性、梅毒血清反応陽性(RPR陰性、TPLA陽性)を認めた。

症例2: 32歳女性。1999年5月27日より発熱、右季肋部痛を認め、6月1日近医を受診。同日肝臓内に腫瘤性病変を指摘される。6月3日A大学病院を受診。腹部CTにて肝右葉に径5cmの単発性の肝膿瘍を認め、膿瘍ドレナージを留置された。膿瘍穿刺液よりアメーバ原虫が証明され、アメーバ性肝膿瘍の診断にて6月9日当院転院となった。当院転院後、メトロニダゾール投与を開始し、臨床症状の改善を認めた。本症例は、海外渡航歴を認めず、性的なパートナーが複数存在した。1997年に急性C型肝炎を発症しており、当院でのHCV抗体検査においても陽性であった。

症例3: 40歳女性。2005年9月1日より心窩部痛出現。9月5日39℃台の発熱が認められ、前医を受診。9月9日腹部CT施行され、肝右葉に径4cmの膿瘍を

認め入院となる。前医入院後、9月14日膿瘍ドレナージを実施。9月15日より右胸水が出現したため、胸腔ドレナージが留置された。前医入院時に行われた血清アメーバ抗体は陰性であり、膿瘍穿刺液からは、アメーバ原虫は確認されなかった。セフェム系、カルバペネム系抗菌薬などが投与されるも臨床症状の改善に乏しく、9月21日当院転院となる。当院入院時に実施した血清アメーバ抗体は陽性であり、アメーバ性肝膿瘍の診断となった。メトロニダゾール投与を開始し、臨床症状の改善を認めた。

考察

アメーバ性肝膿瘍の発症には、年齢・性差が影響していることが知られている。小児での発症例は少なく、95%以上は成人が占めている。成人においても、特に18~50歳の男性の罹患率が高い¹⁾。無症候性感染例には性差は認めないが、肝膿瘍症例の男女比は2:1~10:1と男性に多い^{2,3)}。アメーバ性肝膿瘍に性差が認められる原因は明らかではないが、アルコール摂取量⁴⁾、免疫応答の差異⁵⁾、ホルモンの影響⁶⁾などが考えられている。

当院では、2006年までに49例のアメーバ性肝膿瘍を経験しているが、女性の症例は今回示した3症例であり、他の報告と同様に男性が圧倒的に多い(図1)。

アメーバ症は、性感染症(STD)の側面を持ち合わせており、特に男性同性愛者において糞口感染のリスクが高い。我々の症例でも、感染経路の4割は男性同性間であると推定されたが、異性間感染例も少なからず存在していることが示されている(図1)。

今回の3症例から、感染のリスクとして海外渡航歴も確認されたが、生活歴・既往歴より、CSWの経験、

図1. 当院におけるアメーバ性肝膿瘍 (n=49)

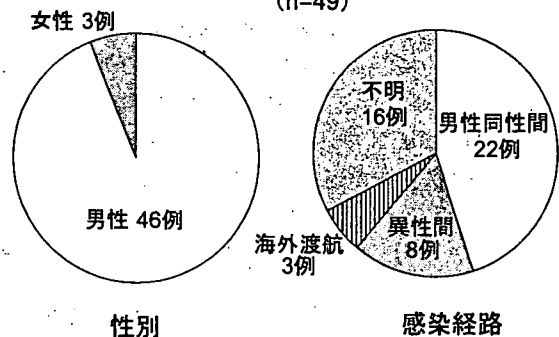


表1. 当院で経験した女性アメーバ性肝膿瘍症例のまとめ

| 症例 | 血清アメーバ抗体 | 原虫検査 | | 部位 | 膿瘍ドレナージ | 海外渡航歴 | 感染症の合併または既往 |
|----|----------|------|----|------|---------|-------|-------------|
| | | 便 | 膿瘍 | | | | |
| 1 | 陽性 | 陽性 | 陽性 | 右葉単発 | なし | あり | B型肝炎、梅毒 |
| 2 | 陽性 | 陰性 | 陽性 | 右葉単発 | あり※※ | なし | C型肝炎 |
| 3 | 陽性※ | 陰性 | 陰性 | 右葉単発 | あり※※ | なし | なし |

※ 前医にて陰性、当院受診時に陽性 ※※ いずれも前医にて実施

腸管感染症のすべて

Ⅲ 寄生虫・ウイルスを原因とする腸管感染症

3. 腸管原虫症の迅速診断

小林 正規* 鈴木 淳** 竹内 勤*¹⁾

わが国で診断される機会の多い腸管原虫症としては五類感染症に分類される赤痢アメーバ症、クリプトスポリジウム症、ジアルジア症がある。これら3種の原虫症を対象とした迅速診断法として、それぞれの原虫種に特異性の高い抗原を糞便材料から検出し、診断する市販キットを取り上げ紹介した。特異抗原検出キットによる診断の迅速性、利便性は高いが、抗原検出キット単独で検査する場合は抗原量が少ないと擬陰性になり易いこと、キットの抗原検出反応システムに影響を及ぼす他種腸管原虫や微生物の存在、そして不測の便成分が非特異反応を起こす可能性などを考慮し診断する必要がある。

Key Words : 腸管原虫症, 赤痢アメーバ症, クリプトスポリジウム症, ジアルジア症, 特異抗原検出キット

I はじめに

腸管寄生原虫の鑑別診断法には顕微鏡検査によって便や腸組織生検材料の生鮮あるいは固定染色標本中に検出された原虫を形態学的に鑑別する方法、polymerase chain reaction (PCR) 法による遺伝子診断法、そして免疫学的診断法などにより行われる免疫学的診断には市販の診断キットも利用でき、それらは特に迅速性に優れている。以上にに基づき、本稿では迅速診断法として、原虫特異抗原を検出する診断キットについて述べる。

II 診断キットによる腸管原虫症の証明

現在、3種の病原性腸管原虫症：1. 赤痢

アメーバ症、2. クリプトスポリジウム症、3. ジアルジア症の診断のために、特異抗原検出原理を応用した種々キットが市販されている。しかしながら、わが国ではいまだ検査診断用として保険薬価で承認されたキットは存在せず、これら診断キットは研究用として購入し、用いることになる。

1. 赤痢アメーバ症診断キット

赤痢アメーバ症には腸アメーバ症と腸から腸外臓器に転移し病変を形成する腸外アメーバ症がある。腸アメーバ症には、無症候性の持続感染アメーバ症と、潰瘍形成、粘血便、下痢などの症状を伴う組織侵入性アメーバ症に大別される。無症候性のアメーバ症において顕微鏡検査を行う場合の留意点のひとつ

Rapid diagnosis of intestinal protozoan infections

* Seiki Kobayashi, Tsutomu Takeuchi 慶應義塾大学医学部熱帯医学・寄生虫学教室 ¹⁾ 教授

** Jun Suzuki 東京都健康安全研究センター微生物部寄生虫室

Ⅲ 寄生虫・ウイルスを原因とする腸管感染症

に、赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica* (*E.h*)) と非病原性の *Entamoeba dispar* (*E.d*) の形態的な鑑別が困難な点がある。*E.h* と *E.d* との鑑別には、①分離培養株栄養型の種特異的な isoenzyme pattern (zymodemes) を基にした種の同定、②PCR法による種特異的 DNA 塩基配列部分の増幅と検出、③免疫学的手法による種特異抗原の検出などの方法が用いられる。ここでは③の方法に基づく市販キットの中で著者らが現在施設内アメーバ症の疫学調査に使用している米国 TECHLAB 社の *E.h* 特異抗原のみを検出する *E. histolytica* II kit と、かつて使用経験のある米国 BIOSITE 社の *E.h* と *E.d* に共通の特異抗原を検出する Parasite panel について紹介する。

2. クリプトスポリジウム症診断キット

クリプトスポリジウム症は激しい水様性の下痢を主訴とし、宿主が健常であれば多くは 7～10 日で自然治癒し、免疫不全状態であれば慢性化、重症化する日和見感染症である。感染は主に感染したヒトや家畜などの哺乳類の便に排出された感染型のオーシストに汚染された簡易上水道などからの水系感染による。ヒトから分離される、クリプトスポリジウム種はヒトに対する宿主特異性が極めて高い *Cryptosporidium hominis* (独立種となる以前は *C. parvum* genotype 1 あるいは human genotype として分類) と、人獣共通感染症型の *C. parvum* (genotype 2 あるいは bovine genotype) の二種が大半を占める¹⁾。診断は糞便中のオーシストを蔗糖浮遊法、抗酸染色法で検出する顕微鏡検査、オーシスト壁抗原に特異的に結合する標識抗体 (蛍光色素標識) を用いた直接蛍光抗体染色法 (イーグーステイン C&G FITC: 和光純薬; MeriFluor

Cryptosporidium/*Giardia*: Meridian Bioscience, Inc., OH, USA など数種のキットが市販されている) や PCR 法, そして *C. parvum* に特異性の高い抗原を検出する迅速診断キットなどで行われる。

クリプトスポリジウム症は AIDS (acquired immune deficiency syndrome) 患者で二番目に多く感染が見られる日和見原虫症であり、治療が難しいことから早期診断と予防が必要な感染症である。そのため、抗原検出迅速診断キットの種類も多く、ここでは金沢大学大学院医学系研究科寄生虫感染制御学教室牧野, 仲本²⁾ により評価された 3 キット (ProSpecT Microplate Assay [Alexon-Trend, MN, USA], ProSpecT *Cryptosporidium* Rapid Assay [Alexon-Trend, MN, USA], ColorPac *Giardia*/*Cryptosporidium* [Becton Dickinson, NJ, USA]) と著者らが施設の腸管寄生原虫症の疫学調査に使用した一キット (*Cryptosporidium* Test [TECHLAB, VA, U.S.A]) について紹介する。

3. ジアルジア症診断キット

ジアルジア症の起原虫である *Giardia lamblia* は小腸上部 (十二指腸) や胆管に寄生するため脂肪吸収を阻害し、脂肪便性の下痢をひき起こす。国内では赤痢アメーバ症と同様、輸入感染症、性感染症や施設内感染症として感染者がみられる。診断は血清学的に抗体を検出し難いため、顕微鏡検査により胆汁や下痢便中の栄養型と糞便中の嚢子を検出、PCR 法による遺伝子診断、そして *G. lamblia* に特異性の高い抗原を検出する診断キットなどによって行なわれる。ここでは Triage Micro Parasite Panel, ColorPac *Giardia*/*Cryptosporidium*, 及び *Giardia* II (TECHLAB, VA, U.S.A) について紹介する。

PCR (polymerase chain reaction)

E.d (*Entamoeba dispar*)

E.h (*Entamoeba histolytica*; 赤痢アメーバ)

AIDS (acquired immune deficiency syndrome)

3. 腸管原虫症の迅速診断

III 腸管原虫特異抗原検出キットの特性

1. 単一種原虫抗原検出キット

① *E. histolytica* II kit (TECHLAB, VA, U.S.A), ② ProSpecT Microplate Assay (*Cryptosporidium*) (Alexon-Trend, MN, USA), ③ *Cryptosporidium* Test (TECHLAB, VA, U.S.A), ④ ProSpecT *Cryptosporidium* Rapid Assay (Alexon-Trend, MN, USA), ⑤ *Giardia* II (TECHLAB, VA, U.S.A) を以下にとりあげる。

1) 測定原理:

- ① *E. histolytica* II kit ; *E.h* と *E.d* に共通の adhesin ([腸粘膜] 接着因子) 抗原
- ② ProSpecT Microplate Assay (*Cryptosporidium*) ; クリプトスポリジウム原虫から産生される可溶性の *Cryptosporidium* specific antigen (CSA) 抗原
- ③ *Cryptosporidium* Test ; 原虫の細胞表面抗原
- ⑤ *Giardia* II ; ジアルジア栄養型から腸管腔に産生される cyst wall protein 1 (CWP1) 抗原を標的とする。

特異的に結合する抗体を予め enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) 用プレートウェル内壁に固着させたウェルに、① *E. histolytica* II kit の場合だと酵素標識した *E.h* 接着因子に特異的に結合する抗体希釈液と検査材料(糞便等)の溶解液を加える。*E.h* 抗原陽性の場合、*E.h* 接着因子抗原はウェル内壁に固着させた抗体に捕捉され、同時に *E.h* 接着因子抗原に特異的な酵素標識抗体が結合する。よく洗浄後、基質を加え呈色させる。判定は反応停止液を加え、吸収波長 450nm の吸光度をプレートリーダーで測定し、陰性コントロールの吸光度と比較することで行う。② ProSpecT Microplate Assay

(*Cryptosporidium*), ③ *Cryptosporidium* Test, ⑤ *Giardia* II, のキットの場合も同様の測定原理に基づき標的抗原を検出する酵素抗体法である。判定まで①, ②, ③, ⑤ともに2時間半程要する。④ ProSpecT *Cryptosporidium* Rapid Assay はプラスチック材で覆われた反应用装置に開けられた円形窓に露出させた膜上に、クリプトスポリジウム抗 CSA 抗体が spot 状に固着させてあるシンプルなもので、反応膜の下槽には、余分な検体溶液や反应用試薬を吸収するゲル状物質が入っている。CSA 抗原捕捉後、添加する抗 CSA 抗体には biotin が標識され、biotin と結合する streptavidin には酵素が標識されている。基質を加え、呈色させる。反応に要する時間は15分程で迅速性に優れている。

2) 検出感度・反応特異性:

① *E. histolytica* II kit : 0.2 ~ 0.4ng/ 1 反应用ウェルの *E.h* 接着因子抗原が検出可能とされる。抗原材料として、無菌培養した *E.h* 栄養型 (HM1-IMSS cl6 株) を用いた著者らの実験結果からは、栄養型数が 20 ~ 25 以上で肉眼的にも明瞭な呈色反応 (OD450 = 0.113 ≤) を示した³⁾。嚢子の場合は嚢子壁が、嚢子内虫体の接着因子抗原と抗体との反応を遮断しているため、嚢子壁を破碎する必要がある。著者らは反応に先立ち、凍結融解 (1 ~ 2 回) を行っている。標識抗体には精製された *E.h* に特異的な接着因子抗原組み換え蛋白を免疫して得られたモノクローナル抗体を用いているため特異性は高い。

② ProSpecT Microplate Assay, ④ ProSpecT *Cryptosporidium* Rapid Assay : 牧野らによれば、実験的に SCID (重症複合不全症) マウスに *C. parvum* と *C. muris* を感染させて、その便材料を検査した結果からは② ProSpecT Microplate Assay, ④ ProS-

CSA (*Cryptosporidium* specific antigen)
ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)

CWP1 (cyst wall protein 1)
SCID (重症複合不全症)

III 寄生虫・ウイルスを原因とする腸管感染症

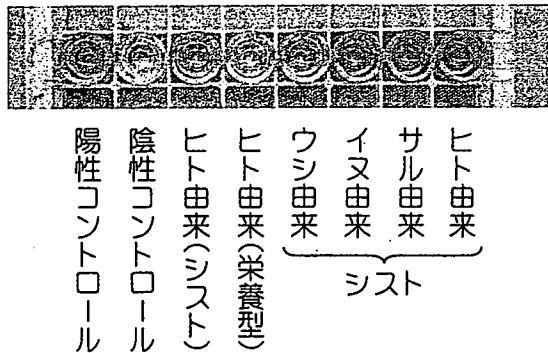


図1 ジアルジア抗原検出キット (GIARDIA II, TECHLAB, VA, U.S.A) による種々ジアルジア株抗原の検出例

Cyst wall protein 1 (CWP1) 抗原はヒト由来と動物 (ウシ, イヌ, サル) 由来の *Giardia* 種に共通の抗原であることがわかる。

pecT *Cryptosporidium* Rapid Assay, 後に述べる ⑥ ColorPac *Giardia/Cryptosporidium* ともに *Cryptosporidium* のオーシスト数が 10^4 個/mL 以上含まれる時, 陽性と判定された。但し, 検出感度比較のために実施された顕微鏡検査では, ショ糖遠心沈殿法 (10^2 個/mL 以上), 抗酸染色法 (10^3 個/mL 以上) と検出感度では抗原検出キットの方が劣っていた。特異性は, 3 種キットともに *C. parvum* の感染マウスの便では標的抗原検出が可能であったが, *C. muris* 感染マウスでは ⑥ ColorPac *Giardia/Cryptosporidium* のみが, 用いられている抗体が異なるせい, *C. muris* の抗原も検出可能であった。

④ *Cryptosporidium* Test: 陽性と判定されるためには約 78 ~ 156 個 / 1 反応用ウェル以上の *C. parvum* のオーシストが必要とされる。特異性に関しては著者らが行った施設の糞便スクリーニング検査の結果からはクリプトスポリジウム症患者は検出されなかったが, 多数の真菌胞子 (種は不明) が観察された検体では反応が弱陽性を示すことが確認されている。

⑤ *Giardia* II: 反応特異性の問題点としてはヒトから分離される *G. lamblia* と遺伝子型

の異なるイヌ, サル, ウシなどに認められるジアルジアとも反応 (図1) することがあげられる [ジアルジアの PCR 法とその PCR 増幅産物の解析により, ジアルジアの遺伝子型が明らかになり, ヒトに特異的な遺伝子型と人畜共通の遺伝子型が判明している⁴⁾。被囊していない無菌培養した栄養型を用いて著者らが行った検出感度を調べた実験では, 陽性反応に必要な栄養型数は 200 ~ 500 個 / 1 反応用ウェル以上であった。

2. 複数種原虫抗原検出キット

⑥ ColorPac *Giardia/Cryptosporidium* (Becton Dickinson, NJ, USA), ⑦ Triage Micro Parasite Panel (BIOSITE, CA, USA)

1) 測定原理:

⑥ ColorPac *Giardia/Cryptosporidium*; 上に述べた ProSpecT *Cryptosporidium* Rapid Assay と同様, 反応装置の窓状の反応槽に露出させた膜上で反応を行う方法であるが, 標的抗原検出にはイムノクロマトグラフ法が用いられている。複数の抗原を検出するため, 反応膜の所定の位置には予め avidin, マウス抗 *Cryptosporidium* 特異抗体, ヤギ抗マウス IgG 抗体がそれぞれ太線状に固着させてある。まず, 試験管内で便検体希釈液と biotin 標識したウサギ抗 *Giardia* 特異抗体, コロイド色素が標識された抗 *Giardia*, 抗 *Cryptosporidium* 特異モノクローナル抗体を含む希釈液とを混合反応させる。その混合液をイムノクロマトグラフ法により, 膜上で展開させる。何れかの抗原が陽性的場合, 膜に太線に固着させてある対応する抗体とコロイド色素が結合した抗原が高密度で結合, 可視化することで判定する方法である。

⑦ Triage Micro Parasite Panel; 上記の *Cryptosporidium* Rapid Assay と同様, 反応装置の窓状の反応槽に露出させた膜上で反応を行う酵素抗体法である。装置中央には 3.7×39 mm の細長い反応槽 (窓) があり, *E.h/E.d* に特異的な 29kDa 膜抗原, *Giardia*

3. 腸管原虫症の迅速診断

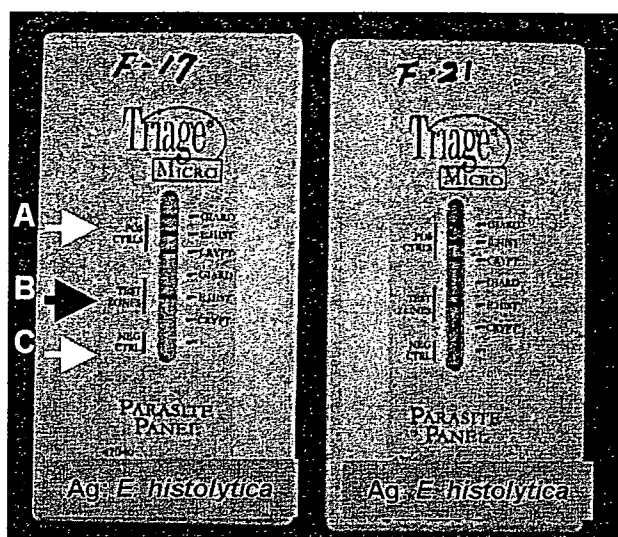


図2 3種腸管原虫抗原検出キット (Triage Micro Parasite Panel [BIOSITE, CA, USA]) による、赤痢アメーバ抗原陽性例

A: 陽性コントロール (3種抗原似対応する3本のバンドが見られる) B: 太線状に塗布された *E. histolytica/E. dispar* 特異抗体と反応した施設赤痢アメーバ症例の便材料 (2例)。C: 陰性コントロール (非特異反応のチェック)。

lamblia に特異的な alpha-1-giardin 抗原, *Cryptosporidium parvum* に特異的な protein disulfide isomerase 抗原に特異的に結合する3種の抗体がそれぞれ反応膜の所定の位置に太線状に固着されている。この反応槽に新鮮なあるいは新鮮なまま凍結保存された便の懸濁・濾過液を加え反応させる。もし、便溶液の中に上記3種原虫の何れかに特異的な抗原が存在すれば、その抗原と膜に固着させてある特異的な抗体が結合する。次に、酵素標識した *E.h/E.d*, *G. lamblia*, *C. Parvum* の3種抗原に特異的に結合する抗体混合液を加え、捕捉された特異抗原と反応させる。よく洗浄後、基質液を加え反応させ、呈色反応の有無を肉眼的に観察し、3種原虫各々について、抗原の陽性・陰性を判定する (図2)。判定までの時間は⑥、⑦ともに15分程で迅速診断に適している。

2) 検出感度・反応特異性:

⑥ ColorPac *Giardia/Cryptosporidium*: III 1. 2) を参照。

⑦ Triage Micro Parasite Panel: 各原虫抗原検出下限は a) *E.h/E.d*: 29 kDa 膜抗原; 4 ng/mL, b) *G. lamblia*: alpha-1-giardin 抗原; 3 ng/mL, c) *C. parvum*: protein disulfide isomerase 抗原; 6 ng/mL とされる。反応特異性は、膜に固着させた抗体と標識抗体とともに、ポリクローナル抗体ではあるが³, *E. histolytica II* kit と同様3種原虫に特異性の高い組み換え蛋白抗原を各々精製し、その各々を免疫して得られた抗体を用いているため高い。

3) 抗原検出キットの有用性:

① *E. histolytica II* kit: *E.h* に感染すると、ELISA 法など感度の高い方法を用いれば、無症候であっても、多くは血清反応で擬陽性～陽性となる。しかしながら、組織侵入性のアメーバ症であっても宿主側に免疫グロブリン産生の低下をみるような免疫不全がある場合や、まれに virulence (病毒性) が極めて低い *E.h* 株による無症候性感染も見られ、血清反応が陰性となる場合もある。また、*E.d* 感染では殆どの場合、血清反応は陰性となる。このような症例では *E.h* 特異抗原検出キットによる検査が有用となる。また、嚢子や栄養型の検出が困難な水様性下痢便や時間が経過し栄養型の検出が困難な粘血便の検査、そして治療効果判定などに抗原検出キットによる検査は有用であり、一度に多数の検体が処理できること、*E.h* 感染を特定するための迅速性にも優れていることから疫学的調査にも適している。利点としては、a) 冷凍で長期保存された検体でも検査が可能。b) 便以外の肝膿瘍等の膿汁からの抗原検出も可能。c) 抗原蛋白が比較的安定で変性し難いためアメーバの生死に影響を受け難く、治療効果判定にも有用。d) 1反应用ウェルごとに切り離せるため、個人検査から集団スクリーニング検査にまで対応できる、などがあげられる。

赤痢アメーバ症の検査において⑦ Triage Micro Parasite Panel が① *E. histolytica II*

Ⅲ 寄生虫・ウイルスを原因とする腸管感染症

kitと大きく異なるのは、*E.h/E.d*の両種に反応特異性がある点である。そのため、無症候例では*E. histolytica II* kitの併用やPCR法などによる種の鑑別が必要となる。判定までに要する時間は*E. histolytica II* kitは2時間半程度、Prasite Panelは20分程度と迅速性に関しては*E. histolytica II* kitより優れている。但し呈色反応を肉眼的に判定するため、弱い陽性反応を見落とす可能性もある。また、基質を加えてから5分後に反応の有無を判定するが、5分以降、急速に基質液が非特異的な呈色反応を起こすため、適正に判定できる時間が限られる。

⑦ Triage Micro Prasite Panel: このキットは*E.h/E.d*, *G. lamblia*, *Cryptosporidium* sp., の3種の腸管寄生原虫感染の有無を同時に検出できるため、下痢症のスクリーニングにも有用であるが、多数のTriage Micro Prasite Panelの反応を同時に判定できないことなどから、多数の検体のスクリーニング検査には使い難い点や、消費期限が6カ月と短く、著者らが購入した2002年当時のPrasite Panelの1テストあたりのコストが約2,500円と現在(2007年)の*E. histolytica II* kit(約580円)購入価格の約4.3倍も高いことなど、考慮すべき点は残る。

② ProSpecT Microplate Assay (*Cryptosporidium*), ③ *Cryptosporidium* Test, ④ ProSpecT *Cryptosporidium* Rapid Assay, ⑤ *Giardia II*, ⑥ ColorPac *Giardia/Cryptosporidium*: これらの利点としては顕微鏡検査のように検査に熟練を必要とせず迅速性が高いことなどがあげられるが、クリプトスポリジウム症では*C. parvum*以外の感染では擬陰性となりやすいことや、顕微鏡検査に比べ検出感度がやや低いことなどの留意点があり、より信頼性の高い検査を行うためには顕微鏡検査と併用することが推奨される。これら診断キットによる1検体当たりのコストは(1,100~2,850円)となる。

4) 抗原検出キットの問題点:

a) 一般的に抗原検出感度には限界があり抗原量が少ないと擬陰性となる。b) ① *E. histolytica II* kit, ② ProSpecT Microplate Assay (*Cryptosporidium*), ③ *Cryptosporidium* Test, のようなELISA用プレートを用いた反応では反作用ウェル底を傷つけると擬陽性になり易い。c) ① *E. histolytica II* kitにおいて著者らの経験から、便に含まれる接着因子抗原以外の不明成分によって、2~3%の便材料で擬陽性となったロットがひとつ見つっている。このようなロットで陽性になった場合、誤反応による擬陽性か否かの確認は難しい。d) 現在の所市販されている抗原検出キットの使用期限は6カ月~1年と短いため、期限内にキットを消費できない場合、1件あたりのコストが高くなる。

Ⅳ おわりに

わが国では、赤痢アメーバ症を始めとする腸管原虫症が性感染症や日和見感染症として既に定着し、さらに感染拡大傾向を示している。しかしながら迅速診断が可能な腸管原虫抗原検出キットは、現在検査診断用としては認可されていないため、実際にはキットを有する公立の研究所や大学の研究室に依頼しなければならないのが現状である。今後、病院検査室で信頼性の高い迅速診断を行うためにも、簡便な腸管原虫抗原検出キットの保険薬価での承認が期待される。

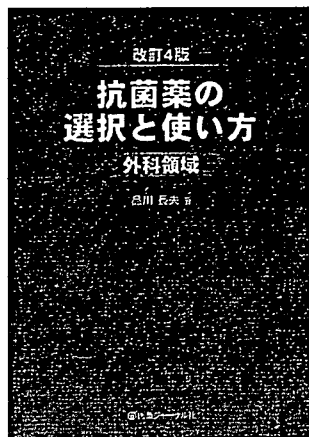
文 献

- 1) 所 正治, 井関基弘: クリプトスポリジウム症. *G I Research* 14: 20-25, 2006
- 2) 牧野陽子, 仲本賢太郎: クリプトスポリジウム症診断のための各種検査キットの評価とヒトおよびイヌにおける疫学調査. 金沢大学医学部保健学科検査技術専攻 2003年度卒業研究業績集
- 3) 小林正規ほか: 赤痢アメーバの抗原検出法

3. 腸管原虫症の迅速診断

Clinical Parasitology. 16 : 16-18, 2005
 4) Niichiro Abe, et al. : Genotyping of Giardia isolates from humans in Japan using the

small subunit ribosomal RNA and glutamate dehydrogenase gene sequences. Jpn J Infect Dis 58 : 57-58, 2005



抗菌薬の選択と使い方 外科領域 改訂4版

名古屋市立緑市民病院 元院長 品川 長夫 著

A 5 判 456頁 定価 5,145円(本体 4,900円+税 5%)送料実費
 ISBN4-7532-2204-7 C3047

- ◎外科常用薬剤から抗菌薬の使用原則、感染症治療の要点、一次感染症、術後感染症まで、外科領域感染症における化学療法をわかりやすく解説！
- ◎術後感染予防については、理論と実際を詳述。また、院内感染防止対策に加え、巻末には付録として抗菌力一覧、略語一覧を付した。
- ◎臨床医はもちろん、抗菌薬の使用に携わる全ての医療従事者に必携の一冊！

おもな内容

- 第1章 外科常用薬剤
- 第2章 薬剤耐性菌の発生機序
- 第3章 抗菌薬の使用原則
- 第4章 感染症治療の要点
- 第5章 一次感染症
- 第6章 術後感染症
- 第7章 術後感染予防の理論
- 第8章 術後感染予防の実際
- 第9章 院内感染防止対策
- 第10章 感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律
- 付録

特集/性感染症—今、なにが問題か

性感染症—診断・治療

赤痢アメーバ症

鈴木 淳* 小林 正規** 竹内 勤**

はじめに

赤痢アメーバ症(アメーバ症)は、腸管寄生の赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)を病原体とする原虫性疾患である。ヒトへの感染は糞便内に排出される赤痢アメーバ成熟嚢子〔(成熟)シスト〕が経口摂取され回盲部辺りに至り、脱シストした栄養型が大腸管腔で増殖・定着することにより成立する。組織病理学的には、赤痢アメーバ栄養型は腸内容物にみられる以外に、大腸粘膜に接着して増殖している像がよく観察される。赤痢アメーバ感染者の多くは無症候の持続性感染者であるが、感染者5~10%で大腸粘膜上皮が傷害され、アメーバは組織内に侵入し、腸粘膜の糜爛や潰瘍形成と赤痢様症状(粘血便性下痢、稀に水溶性下痢)をみる腸アメーバ症と、栄養型が門脈を経て肝臓に到達し膿瘍を形成(無菌性)、さらに二次的に肺や脳へも転移し、膿瘍形成をみる腸外アメーバ症をおこす。また、潰瘍や膿瘍組織と周囲皮下組織の癒着に伴い、皮膚に直接進展し、fistula(瘻孔)を形成することもある。さらに、感染後、短期間に大腸組織に侵入、増殖し、潰瘍形成から腸穿孔に到り、腹膜炎を合併するような劇症型のアメーバ症を引き起こすことがあり、致死例もみられる。赤痢アメーバ症は副腎皮質ステロイドや抗癌剤投与後に重症化した症例や、妊娠によって症状が増悪することも知られているが、後天性免疫不全症候群では、必ずしも重症化がみられず、無症候性の持続性感染機序や発症機序には、未だ不明な点が多い。また、無症候感染者の中には、糞便中に多数のシストを排出するシストキャリアも多く、赤痢アメーバ症の主要な感染源となっている。

WHOによれば、赤痢アメーバ症は、主に熱帯

の開発途上国を中心に分布するが、世界では年間4,000~5,000万人のアメーバ症患者が存在し、死亡者数は年間7~10万人と推定されている¹⁾。

本稿では、我が国の性感染症としての赤痢アメーバ症を中心に、その背景、近年の発生動向、検査法および国内で使用可能な赤痢アメーバ症の治療薬とその有効性について述べる。

I. 感染者数の増加とその背景

第2次大戦後、激減した赤痢アメーバ症は、1970年代までは、海外流行地でシストに汚染された飲食物を摂取することにより感染する、いわゆる輸入感染症のひとつと考えられていた。ところが、1970年代後半より米国において都市部男性に赤痢アメーバ感染者〔注：後に、米国や欧州の男性同性愛者間に流行するアメーバは、殆どが赤痢アメーバと形態的鑑別が困難な非病原性の*Entamoeba dispar*であることが判明した〕が多く認められるという報告がなされるようになり²⁾、男性同性間性的接触(MSM)による性感染症として認識され、感染経路の調査が本格化した。我が国でも1980年代より、大阪や東京の都市部の男性を中心に赤痢アメーバ感染者の増加(MSMは糞口感染が起き易い)がみられ始めた。また、我が国の性感染症としてのアメーバ症は、欧米と異なり、殆どが病原性の*E. histolytica*感染によることも、大きな特徴のひとつとなっている。1999年3月末まで、赤痢アメーバ症は、細菌性赤痢に準じ消化器感染症と認識されていたが、症状の有無にかかわらず、顕微鏡検査で赤痢アメーバが検出された者のみが届出の対象であった。当時、東京都で赤痢アメーバ症患者の届出があった場合、東京都健康安全研究センター(旧都立衛生研究所)において、患者接触者を対象に糞便検査を行っていた。しかしながら、調査が男性の性的パートナーにまで及ばなかったこともあり、調査対象となった患

*東京都健康安全研究センター・微生物部

**慶應義塾大学医学部熱帯医学・寄生虫学教室

者家族や職場の同僚などからは、1例も赤痢アメーバが検出されていない。

Ⅱ. 近年の発生動向

1999年に施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律；感染症法」では、赤痢アメーバ症は後天性免疫不全症候群や梅毒などと同様に、発生と蔓延防止すべき感染症の位置づけとして、患者の全数把握を行う四類感染症に指定され、これまでの隔離治療の撤廃と診断基準が見直された。その結果、顕微鏡検査で赤痢アメーバが検出されなくても、赤痢アメーバの特異血清抗体、特異抗原や特異遺伝子等が検出され、かつアメーバ症の症状を有するものも届出の対象となり、医師は診断確定後、7日以内に保険所を通して国に届出の義務が明示されている（注：赤痢アメーバ感染者でも、無症候のシストキャリアの場合は必ずしも届出の義務はない）。2003年には当該法の再改正により五類感染症に分類されたが、我が国における赤痢アメーバ症の年間報告数は、ここ数年顕著な増加率を示している。2006年度には738例に達し³⁾⁴⁾、同じ五類感染症の梅毒の報告数を上回り、後天性免疫不全症候群について2番目に多い報告数となっている。我が国の赤痢アメーバ感染者のハイリスクグループのひとつに、前述のようにMSMを行うpopulationがあり、感染者に占めるその割合が大きいため、報告数の約90%が男性という顕著な疫学的特徴を示している。しかし、近年では性行為の多様化により、oral sexを伴う異性間性的接触による赤痢アメーバ感染者も増加傾向にあり（図1）、より広範な不特定多数のpopulationでの感染拡大も危惧されている。

また、感染源は不明な場合が多いが知的障害者更正施設や老人施設における施設内集団感染も問題となっている。これら主にMSMによる性感染と施設内感染に海外流行地での感染（輸入感染症）を加えると我が国の赤痢アメーバ症は3つの感染パターンに大別できる。

Ⅲ. 感染症発生動向調査(東京都)

東京都では、感染症発生動向調査事業において全数把握の四類・五類感染症、定点把握（五類感染症）の細菌・ウイルス感染症、性感染症に関する病原体検査を実施している。性感染症に関す

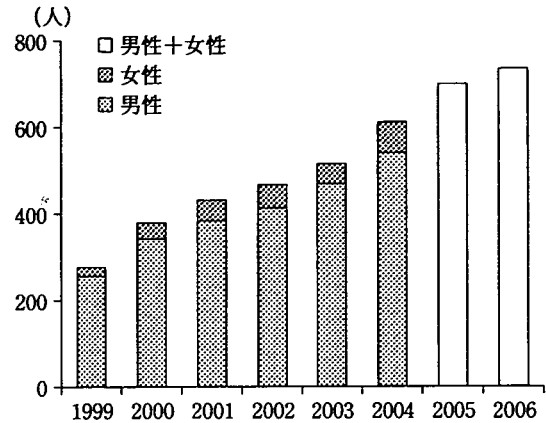


図1 わが国における赤痢アメーバ症報告数の年次推移（国立感染症研究所感染情報センター：文献3より転載）

る検査においては、病原体定点とした婦人科医院から搬入された血清と子宮頸管擦過物を対象に、梅毒、クラミジア、Human Papilloma Virus (HPV)、Human Immunodeficiency Virus (HIV)、肝炎ウイルスなどの検査と同時に、赤痢アメーバ抗体検査、脛トリコモナス遺伝子検出検査を実施している。

上記女性を対象とした検査結果から、赤痢アメーバに関しては、2003年よりプレートELISA法を用いた血清中の抗赤痢アメーバIgG抗体の検出検査を実施している⁵⁾。その結果、2003、2004、2005年に供試された、205、217、282検体のそれぞれから、3件（1.5%）、8件（3.7%）、14件（5.0%）の赤痢アメーバ抗体陽性例が検出された。年齢別の内訳は2003年が、20歳代（2例）、30歳代（1例）；内クラミジア・トラコマチス（CT）抗体陽性者2例；2004年が、20歳代（3例）、30歳代（5例）；内CT抗体陽性者7例；2005年が、20歳代（2例）、30歳代（2例）、40歳代（7例）、50歳代（3例）；内CT抗体陽性者8例と、女性の赤痢アメーバ症感染拡大の兆しも認めている。また、CT抗体陽性者と相関がみられることから、赤痢アメーバ感染が性行為により感染した可能性が高いことが推定される。疫学的には男性の場合、赤痢アメーバ感染者は梅毒との重複感染が多いことが知られているが⁶⁾、当研究センターが実施した3年間の調査結果からは、女性の赤痢アメーバ抗体陽性者と梅毒との重複感染例はみられておらず、MSMによる性感染とは異なる傾向を示した。

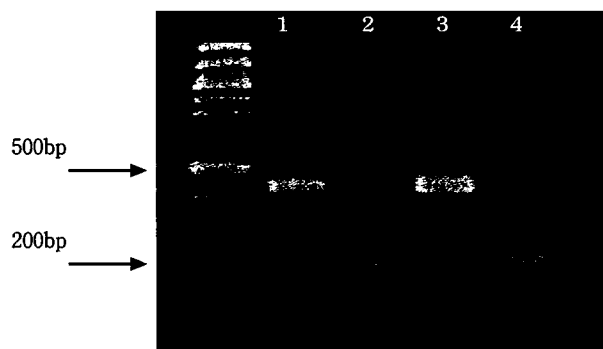
IV. 検 査 方 法

赤痢アメーバの検査法には、糞便や潰瘍病変組織や膿瘍ドレナージ液などの生検材料から、直接赤痢アメーバのシストや栄養型を検出する顕微鏡検査、PCR法による赤痢アメーバDNAの特異的塩基配列部分の増幅と検出、赤痢アメーバ特異抗原の検出といった病原体検出のための検査と赤痢アメーバ特異抗体検出のための血清学的検査、そして、臨床的には腸内視鏡検査や肝、肺、脳膿瘍診断のための画像診断などが行われる。以下に病原体検出検査と血清抗体検査の概略とそれらの問題点について述べる。

1. 病原体検出検査と問題点

赤痢アメーバの顕微鏡検査は、形態学的に赤痢アメーバシストと栄養型を同定することで行われる。しかしながら、粘血便、潰瘍組織、肝膿瘍膿汁などから赤血球を貪食する赤痢アメーバ栄養型が検出されるような場合を除き、病原性の赤痢アメーバ (*E. histolytica*) と形態的に酷似している非病原性の *E. dispar*⁷⁾ との種の鑑別が必要であり、実際には図2に示したPCR法⁸⁾ や市販キットによる赤痢アメーバ特異抗原の検出、分離培養されたアメーバ栄養型のアイソエンザイムパターン⁹⁾ の解析等によって鑑別診断が行われる。また、運動の停止したアメーバ栄養型や下痢便でシスト検出が困難な検体、そして凍結（冷蔵）保存された検体の検査においても、PCR法と抗原検出キットは有用な検査手段となる。さらに、施設での疫学調査等において、赤痢アメーバのシストキャリアや他種アメーバとの混合感染などが認められる場合には、顕微鏡検査と併用することで精度の高い検査を行うことができる。

PCR法と抗原検出キットによる検査の問題点としては、顕微鏡下で赤痢アメーバのシストや栄養型が確認された場合でも、数が非常に少ない場合や反応阻害物質の共存により、検出できない場合がある点などがあげられる。市販の赤痢アメーバ特異抗原（接着因子）検出キット [*E. histolytica* IIキット (TechLab, VA, USA) : サンドウィッチELISA法を測定原理とする] は、研究用の検査キットとして関東化学から入手可能であるが、著者らは、シストの場合は、予めシスト壁を凍結融解等で破碎しシスト内栄養型の抗原蛋白を露出させることで検出感度を高めている。また、1ロットではあるが、偽陽性を示しやすいキットが



1: *E. histolytica* 感染者の糞便試料
2: *E. dispar* 感染者の糞便試料
3: *E. histolytica* 標準株 (HM1:IMSS cl6)
4: *E. dispar* 標準株 (SAW1734RclAR)

図2 SSU-rRNA遺伝子を標的としたMultiplex-PCR法による赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* と *Entamoeba dispar* のDNA特異的塩基配列部分の検出

確認されており、確定診断のためには他の検査との併用が望ましい。培養による検査では、必ずしも感染している全てのアメーバ種が培養されるとは限らないため、例えば、培養によって得られた結果が *E. dispar* であっても、赤痢アメーバとの混合感染を完全には否定できないとの見解がWHOより出されている⁹⁾。

2. 血清抗体検査と問題点

赤痢アメーバ特異血清抗体は、活動性の赤痢アメーバ感染を間接的に証明するだけでなく、既に完治した過去の感染において、産生された抗体が検出される場合がある。しかしながら、血清を検査材料にするため、検査結果は再現性があり、また、無菌培養株を抗原とするため特異性も高く、組織侵入性の有症候性の赤痢アメーバ症の場合には病原体検出率に比べて抗体検出率も高いため臨床的な有用性は高い。血清抗体検査法としては、ゲル内沈降反応、酵素抗体法（プレートELISA, dot-ELISA）、間接蛍光抗体法などが繁用されている。我が国で診断用として唯一認可され、市販されているものでは、アメーバスポットIFキット（間接蛍光抗体法：日本ビオメリュー・バイテック）があり、検査センター等で用いられている。

血清抗体検査の問題点としては、dot-ELISA法において、乳び血清で非特異反応を起こすことが知られ、反応媒体であるニトロセルロース膜に吸着しやすい血清不溶性成分をろ過する必要がある。間接蛍光抗体法では、励起波長によっては、赤痢アメーバが自家蛍光を示したり、固定方法に

よっては、非特異蛍光の増強がみられることから、適切なブロッキング処理を行い非特異蛍光の軽減を行う必要がある。また、全てではないが無症候の腸アメーバ症患者や組織侵入性の赤痢アメーバ症が合併した低IgM血症の患者で、血清反応が陰性となった報告¹⁰⁾もあるため、注意を要する。

V. 治 療 薬

我が国では、通常の経路でメトロニダゾール以外に入手できる治療薬がないこともあり、メトロニダゾールが腸アメーバ症、腸外アメーバ症のいずれにおいても第一選択薬剤として用いられている。メトロニダゾールは赤痢アメーバ症の治療薬としては適応外のため、保険薬価は未収載であるが、組織侵入性のアメーバ症で治療効果が高く、また安価なため広く用いられている。本薬剤の副作用としては嘔気、嘔吐、肝障害、白血球減少、発疹等がある。また、服用中の飲酒の禁忌や、実験的に発癌性、催奇形性が確認されていることから妊婦への投与を避けることが推奨されている。経口投与されたメトロニダゾールの大部分は小腸で吸収され、大腸内においては、嫌気性細菌にも分解されることから、腸管腔内アメーバ栄養型やシストに対しての効果は期待し難い。このため、腸アメーバ症の治療には luminal drug のパロモマイシンやジロキサニドフロエイトをメトロニダゾールと併用することが推奨されている。実際、著者らはメトロニダゾール単独治療では完治が困難で、再感染を繰り返した知的障害者更正施設内赤痢アメーバ集団感染者の腸アメーバ症治療において、メトロニダゾール (1.5g/日, 10日) に引き続いて、ジロキサニドフロエイト (1.5g/日, 10日) を投与することで、集団感染を終息させ得た事例を経験している。現在、luminal drug の入手経路としては担当医師からの分与依頼があれば、「熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究」班 (厚生科学研究費補助金創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業) から、ジロキサニドフロエイトと同等な効果を有す、パロモマイシンが入手可能である。また、重症で急速に臓器内のメトロニダゾールの薬剤濃度を上昇させたい時や下痢がひどく薬剤が吸収され難い場合などには、同様に上記研究班から点滴用の静脈用製剤のメトロニダゾール注射薬を

入手できる。

お わ り に

赤痢アメーバの国内感染は、当初、MSM による比較的限られた population 内での性感染症であった。しかしながら、2000年以降の赤痢アメーバ感染者の増加率は著しく、限られた population から新たな population へ感染の拡大が起きていることを示している。さらに、異性間の性的接触により感染する赤痢アメーバ症の増加傾向も見られており、感染経路も多様化し始めている。しかしながら、このような感染状況下に至っても、国内で流行する性感染症としての赤痢アメーバ症に対する我が国一般の認識度は極めて低く、赤痢アメーバ感染予防知識の啓発が必要である。今後の対策としては、検査方法の精度管理やマニュアル化、ハイリスクグループを中心とする疫学調査の推進、感染源となる無症候性シストキャリアの診断と治療、および梅毒等と同様に無症候性キャリアに関する国への届け出の義務化なども視野に入れた総合的な赤痢アメーバ感染拡大防止のためのガイドラインの作成と実施が望まれる。

文 献

- 1) WHO: Amebiasis. Weekly Epidemiol Rec, 72: 97-99, 1997.
- 2) Schmerin, M. J., Gelston, A., Jones, T. C.: Amebiasis. An increasing problem among homosexuals in New York City. JAMA, 238: 1386-1387, 1977.
- 3) 国立感染症研究所感染情報センター: 感染症発生動向調査各種集計表, <http://idsc.nih.go.jp/idwr/ydata/index-j.html>
- 4) 国立感染症研究所感染情報センター: 2006年52週 (第52号), 感染症発生動向調査週報, <http://idsc.nih.go.jp/idwr/kanja/idwr/idwr2006/idwr2006-52.pdf>
- 5) 東京都福祉保健局: 感染症発生動向調査事業報告書, p.117, 2003; p.124, 2004; p.128, 2005.
- 6) 奥沢英一, 小林正規, 宮平靖ほか: 我が国の赤痢アメーバ症の病型等に関する解析—特に梅毒血清反応陽性例, および男性同性愛者例について—. 日本性感染症学会誌, 12: 153-156, 1991.
- 7) Diamond, L. S., Clark, C. G.: A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. J Eukaryot Microbiol, 40: 340-344, 1993.
- 8) Evangelopoulos, A., Spanakos, G., Patsoula, E. et al.: A nested, multiplex, PCR assay for the simultaneous detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in faeces. Ann. Trop. Med. Parasitol., 94: 233-240, 2000.
- 9) WHO: WHO news and activities. Bull WHO, 75: 291-292, 1997.
- 10) 小林正規, 前田卓哉, 竹内勤: 赤痢アメーバ. 日本臨床, 63, 増刊号, 7: 277-279, 2005.