

報告

ネパール Kaski 地区における生活水の病原性微生物汚染実態調査

石山 聡子¹⁾ 柳田 潤一郎¹⁾ Shiba Kumar RAI²⁾
Ravi VITRAKOTI³⁾ Prahlad POKHAREL³⁾ 白銀 千枝⁴⁾
足高 善彦¹⁾ 小野 一男⁴⁾

Study on microbial enteropathogenic contamination of water supply in Kaski District, Nepal

Satoko ISHIYAMA, Jun-ichiro YANAGIDA, Shiba Kumar RAI,
Ravi VITRAKOTI, Prahlad POKHAREL, Chie SHIROKANE,
Yoshihiko ASHITAKA, and Kazuo ONO

SUMMARY

Diarrheal disease is one of the most important causes of morbidity and mortality particularly among children in the developing countries with poor water sanitation. In the rainy season of 2009, a study on enteropathogenic contamination was performed for the water supply in the Kaski District of Nepal. A total of 23 water samples, including 6 from Pokhara City (central city), 7 from Patneri Village (on the plain side), and 10 from Dhital Village (on the hill side) were investigated using a commercially available coliform bacilli kit, MPN Colilert (IDEXX Laboratories, USA). In total, 87% (20/23) water samples were positive for coliform bacilli (*Escherichia coli*) and 74% (17/23) for fecal coliform bacilli. All samples collected in Pokhara City and Dhital Village were positive for coliform bacilli while only 57% (4/7) of samples collected from Patneri Village were for coliform bacilli. With regard to fecal coliform bacilli, rates of positivity in these three locations were 100% (6/6), 80% (8/10), and 43% (3/7), respectively. Interestingly, water samples collected from schools at Dhital Village and Patneri Village showed both coliform bacilli and fecal coliform bacilli. These findings, particularly of fecal coliform contamination of water at schools, suggest the possibility of outbreaks of waterborne disease among children. We recommend effective sterilization of the water supply and improvement of knowledge of water safety in school children as well as people in general.

キーワード: 病原性微生物、生活水汚染、Kaski地区、ネパール

1) 保健科学部医療検査学科

2) Nepal Medical College/Shi-Gan Health Foundation

3) Kathmandu College of Science and Technology

4) 短期大学部口腔保健学科

1. はじめに

世界における下痢症の患者は毎年約40億人、死亡は180万人に上ると報告されており、その大部分が5歳未満の子供で、原因のほとんどは病原体に汚染された水を飲むことにより起こるとされている¹⁾。特に途上国では不衛生な水を飲むことを余儀なくされている人々が26億人に上ると報告している²⁾。

ネパールは、北部に山岳地帯、南部には平原地帯と変化に富んだ地形を有する国である。この国における上水の普及率は88%³⁾と高い割合にあるが、その全てにおいて安全な水が供給されているか否かについては確認されておらず、実際水が原因と思われる集団感染症の発生報告は後を絶たない⁴⁻⁶⁾。最近(2009年雨季)では、西部地方の Jajarkot 地区で50,000人がコレラに罹患するという集団感染が発生し330人が死亡したと報告されており⁶⁾、未だ水の汚染は大きな公衆衛生上の問題となっている。

これまでの主な調査における水からの病原性微生物の検出率は、大腸菌群と大腸菌がそれぞれ75%と51%⁷⁾、56%と11%⁸⁾と報告している。2009年、Raiらは地方(Sankhuwasabha 地区、Rasuwa 地区、Dolpa 地区)において大腸菌群85.7%、大腸菌67.4%が検出され、特に Sankhuwasabha 地区はその汚染が最も高く、それぞれ100%と81.8%であったが⁹⁾、これら以外に最近の報告は少ない。著者らは2008年度文部科学省地域共同研究支援事業の研究課題「ネパールにおける住民健康調査」の一環として生活水の汚染実態調査を Kaski 地区 Patneri 村で実施した。その結果、大腸菌群の検出率は100%、大腸菌の検出率は68%と高い汚染状況を報告した¹⁰⁾。しかしこれは Kaski 地区の1つの村の結果であり、地域全体を調査していなかった。今回、更に水の汚染調査を実施するために地域を拡大し、また高い汚染が確認された Patneri 村では、フィールドワークとして活用できる簡便な定量法についての検討を試みた。

2. 材料と方法

1) 調査時期および対象地域

2009年雨季(9月)、Kaski 地区 Pokhara 市中心街(6か所)、山岳地域 Dhital 村(10か所)、平野地域 Patneri 村(7か所)において、日常生活の中で使用している溜まり水を調査した(Fig. 1)。その内 Dhital 村2か所と Patneri 村1か所では公立小学校における使用水を採取した。

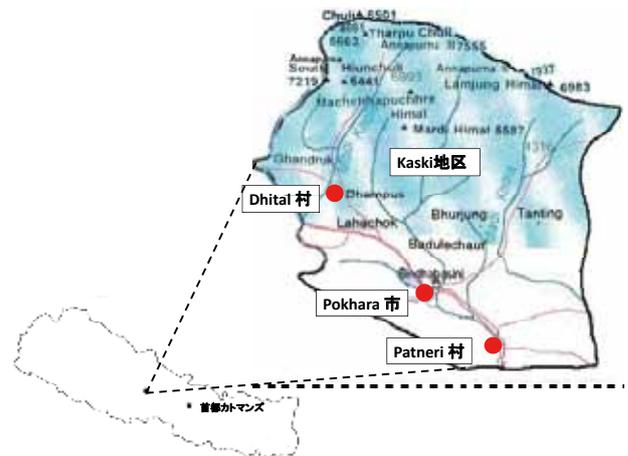


Fig. 1 調査対象地域 Kaski 地区

2) 方法

(1) 汚染指標菌定性試験

病原性微生物汚染の指標である大腸菌群、大腸菌の検査は、生活水10mlを採取し、酵素基質法である大腸菌群・大腸菌検出用キット、MPN コリラート(IDEXX Laboratories, USA)を用いて、24時間後判定した。黄色に発色したものを大腸菌群陽性、UVランプ照射により蛍光を発するものを大腸菌陽性とした。

(2) 汚染指標菌定量試験

定性試験を行った Patneri 村7検体の内5検体を用い大腸菌群、大腸菌の定量試験を実施した。ペトリフィルム、ECプレート(3M, USA)に滅菌スポイドで原水を1 mL 採水しそれに滴下後、24時間培養してコロニーを検出した。ガスが発生した赤色のコロニーを大腸菌群、青色のコロニーを大腸菌として、それぞれの数を算出した。1検体につき2回測定し、その平均を定量結果とした。

3. 結果

(1) 汚染指標菌定性試験

生活水からの汚染指標菌の検出率は全体で大腸菌群87% (20/23)、大腸菌74% (17/23) であり、各地域 Pokhara 市、Dhital 村、Patneri 村それぞれ 100% (6/6) と100% (6/6)、100% (10/10) と80% (8/10)、57% (4/7) と43% (3/7) であった (Fig. 2)。この内、公立小学校における使用水は大腸菌群、大腸菌共に全て陽性であった。

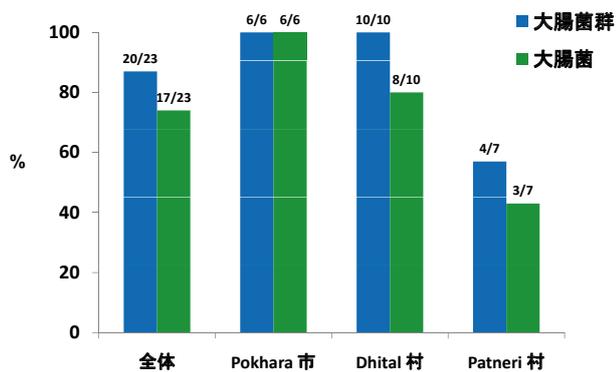


Fig. 2 Kaski 地区における生活水からの汚染指標菌の検出

(2) 汚染指標菌定量試験

大腸菌群は平均6.2 CFU/mL (SD 6.1)、大腸菌は1.1 CFU/mL (SD 2.6) であった。定性試験において大腸菌群陽性の検体は定量試験で全てコロニーの検出が可能であった (Table 1)。大腸菌では、定性試験で陽性と判定された3検体のうち2検体について定量試験では菌の発育が認められなかった。定性試験陰性と判定されたものは、定量試験においても検出されなかった。

Table 1 Patneri 村における生活水からの汚染指標菌の定性および定量試験結果

検体No.	定性試験		定量試験	
	大腸菌群	大腸菌	大腸菌群 CFU/mL (平均)	大腸菌 CFU/mL (平均)
検体1	-	-	0, 0 (0)	0, 0 (0)
検体2	+	+	11, 7 (9)	0, 0 (0)
検体3	+	+	5, 6 (5.5)	3, 8 (5.5)
検体4	+	+	15, 16 (15.5)	0, 0 (0)
検体5	+	-	0, 2 (1)	0, 0 (0)
平均			6.2	1.1
SD			6.1	2.6

4. 考察

ネパールでは1年を通して下痢症が発生しており、特に雨季に多いことが示されている^{5,7)}。小野らは上水道が病原性微生物に汚染されることで下痢症が発生すること⁷⁾や Pokhrel らは、下痢症の原因は病原性微生物に汚染された水の供給や不衛生な生活環境によると報告している⁵⁾。これまで多くの下痢症に関する疫学調査が報告されており^{4,7,11)}、特にネパールでは5歳未満の下痢症は20%と高い¹²⁾。この改善には様々な対策、インフラの整備、環境や生活の改善、教育活動、医療の充実、貧困の改善があるが、特に安全な水の供給が重要であると考えられる。山田らは水道水の整備は直接、間接的に公衆衛生の向上をもたらして水系伝染病が減少し、健康の増進や公衆衛生の改善に寄与すると報告している¹³⁾。

本調査において Kaski 地区3地域の汚染実態状況が明らかとなった。Pokhara 市と Dhital 村は、ほとんど全ての採取ポイントで大腸菌群と大腸菌が陽性であったが、Patneri 村での陽性率は約半数であり3地域の中では一番低値であった。Pokhara 市の水源は井戸水であり、その水は浄水施設で処理されているにも関わらず高い汚染状況であった。その原因としてネパールの都市では上下水道に下水の汚水が混入しているという報告がある¹⁴⁾。Pokhara 市は中心街であり人口が密集しているため、この報告のように人の糞尿が水道水に混入している可能性があると考えられた。また、Dhital 村は Patneri 村と同じ群部にある Pokhara 市から車で30分以上離れた田舎の地域に位置している。Pokhara 市のように浄水施設は無く、両村共に水源は何も処理されていない湧水や井戸水を使用していた。Dhital 村では、丘陵地形のため水の確保が難しく雨水も生活水として利用し生活環境は劣悪であった。一方、陽性率の一番低かった Patneri 村は、NGO の支援を受け公衆衛生活動を実施しており、他の地域よりも衛生的で環境が整備されていた。以上より汚染の差は地域の衛生環境や生活基盤整備状況が深く関係し

ていると考えられる。

Patneri 村の調査ではコリラートで定性試験を行うと共にペトリフィルムで定量試験を試みた。コリラートは定量試験として100 mL 中の菌数を検出することができる。しかしコリラート法では、定量試験を実施する場合には多くの本数が必要であり、また希釈して測定しなければならない。そのために、この方法ではフィールドワークを行う際に持ち運びや手技の煩雑さなどから試験数が限られる。一方ペトリフィルムは本来食品からの汚染指標菌の検出用キットであるが、水質調査にも応用されている¹⁵⁻¹⁷⁾。本法は1 mL 中の汚染指標菌のみしか検出できないという欠点があるが高い特異性があり^{15, 16)}、手技が簡便で、保存が容易である¹⁷⁾。本試験結果では、コリラートとペトリフィルムの試験の検出結果はほぼ一致した。定性試験においてコリラートで大腸菌陽性と判定されたにも関わらずペトリフィルムで検出できなかった検体が2検体あった。その原因はペトリフィルムにおける検出限界による増菌の有無が関係していると考えられる。本調査結果からペトリフィルムは簡便に定量できる可能性が示され、今後、本法のフィールドワークにおける水質検査法としての有用性が期待される。

本調査の中で Dhital 村2校と Patneri 村1校の小学校の使用水を採取した。その結果、全ての学校で大腸菌群、大腸菌の検出率は、いずれも100%であった。これらの学校において、子供たちはこの使用水を何も処理しないまま飲用していた。本調査では教職員に対して学校保健の教育内容を確認しなかったが、Dhital 村の学童における聞き取り調査では学童のほとんどが手を洗う習慣があり、手洗いについては周知されていると考えられる。下痢症は手洗いによりその感染が予防されるという報告があるが¹⁸⁾、手洗いの指導等を行っていても水が汚染されていればその効果は少ない。またその水に強い病原体が混入した場合は下痢症の集団発生を起こす可能性が高いと考えられる。今後、水の汚染問題は各家庭の問題だけでなく学校においても改善していく必要がある。

本調査では、Kaski地区における生活水の高い病原性微生物汚染を明らかにした。その原因は不衛生な環境での生活や生活基盤整備の状況が関係していると推測される。今回の調査では水の病原性微生物の汚染について明確な原因究明には至らなかったが、その原因を明らかにするため、更なる水質調査を実施する必要がある。今回提唱したペトリフィルムを用いての定量試験は、汚染度を詳細に調べることができ、今後、水質調査項目に追加して汚染原因の特定に結びつきたい。

5. 謝 辞

本調査は、2009年度文部科学省地域共同研究支援事業助成を受けて実施した。

6. 参考文献

- 1) WHO: http://www.searo.who.int/EN/Section23/Section1000_15436.htm, 2010-08-27, 2010-04-29.
- 2) WHO: <http://www.who.int/heli/risks/water/water/en/index.html>, 2010-08-27, 2010.
- 3) Water Aid: http://www.wateraid.org/international/what_we_do/where_we_work/nepal, 2010-08-27, 2010.
- 4) Ise, T., Pokharel, B.M., Rawal, S., Shrestha, R.S., Dhakhwa, J.R: Outbreaks of cholera in Kathmandu Valley in Nepal, *J Trop Pediatr*, 42, 305-7, 1996.
- 5) Pokhrel, D., Viraraghavan, T: Diarrhoeal diseases in Nepal vis-à-vis water supply and sanitation status, *J Water Health*, 2, 71-81, 2004.
- 6) UNISEF: http://www.unicef.org/har2010/index_nepal_feature.html, 2010-08-27, 2010.
- 7) Ono, K., Rai, S.K., Chikahira, M., Fujimoto, T., Shibata, H., Wada, Y., Tsuji, H., Oda, Y., Rai, G., Shrestha, C.D., Masuda, K.,

- Shrestha, H.G., Matsumura, T., Hotta, H., Kawamura, T., Uga, S: Seasonal distribution of enteropathogens detected from diarrheal stool and water samples collected in Kathmandu, Nepal, *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 32, 520-6, 2001.
- 8) 柳田潤一郎, 石山聡子, 今西麻樹子, 黒川学, シバクマライ, 小野一男: ネパールにおける感染症に関する研究—ネパールカトマンズ市における小学生学童の検便と水および市販野菜の汚染実態調査—, *神戸常盤短期大学紀要*, 26, 59-65, 2004.
- 9) Rai, S.K., Ono, K., Yanagida, J-Y., Kurokawa, M., Rai, C.K: Status drinking water contamination in Mountain Region in Nepal, *Nepal Med Coll J*, 11, 281-3, 2009.
- 10) 石山聡子, 柳田潤一郎, Rai S.K., Shrestha N., Nagila A., 小野一男: ネパール Kaski 地区 Lekhnath 市 Patneri 村における飲料水および土壌の腸管病原性汚染実態調査, *神戸常盤大学紀要*, 2, 35-9, 2010.
- 11) Kimura, K., Rai, S.K., Rai, G., Insisengamay, S., Kawabata, M., Karansi, P., Uga, S: Study on *Cyclospora cayetanesis*, associated with diarrheal disease in Nepal and Lao Por, *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 36, 1371-6, 2005.
- 12) WHO: Mortality Country Fact Sheet Nepal, 2006.
- 13) 山田淳, 竹添明生: ネパールにおける水道水整備と地域住民の衛生環境改善, *J Natl Inst Public health*, 49, 259-65, 2000.
- 14) WHO: http://www.searo.who.int/EN/Section23/Section1000_15448.htm, 2010-08-27, 2010-04-29.
- 15) Schraft, H., Watterworth, L.A: Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and *Escherichia coli* in water comparison of 3M Petrifilm plates with standard plating procedures, *J Microbiol Methods*, 60, 335-42, 2005.
- 16) Hörmana. A., and Hänninena M.L: Evaluation of the lactose Tergitol-7, m-Endo LES, Colilert 18, ReadyCult Coliforms 100, Water-Check-100, 3M Petrifilm EC and DryCult Coliform test methods for detection of total coliforms and *Escherichia coli* in water samples, *Water Res*, 40, 3249-56, 2006.
- 17) Vail, J.H., Morgan, R, Merino C.R., Gonzales F., Miller, R., Ram, J.L: Enumeration of waterborne *Escherichia coli* with petrifilm plates: comparison to standard methods, *J Environ Qual*, 32, 368-73, 2003.
- 18) Peterson, E.A., Roberts, L., Toole, M.J., Peterson, D.E: The effect of soap distribution on diarrhea: Nyamithuthu Refugee Camp, *Int J Epidemiol*, 27, 520-4, 1998.