

開発途上国における水道水の汚染と 原虫感染下痢症との関係

Relationship between contamination of tap-water and protozoa-related diarrhea in developing countries

き むら けん じ う が しょう じ
木 村 憲 司¹⁾: 宇 賀 昭 二²⁾
Kenji KIMURA Shoji UGA

はじめに

1983年にイギリスのサリー州コバーンという小さな町で汚染された湧水を飲用していた16名のクリプトスポリジウム症患者が発生して以来、イギリスおよびアメリカにおいて水道を媒体とした原虫感染症患者の集団発生が続発した¹⁾。さらに、1993年にアメリカのウイスコンシン州ミルウォーキーにおける40万3,000人を超える患者発生（内400人が死亡）という大事故²⁾をきっかけに、一躍この原虫が注目された。この事故は単に水系集団感染症の発生事例に留まらず、塩素消毒された水道水は安全であるという神話の崩壊のきっかけにもなった。

一方、わが国でも1996年の埼玉県越生町において、人口の71.4%（総人口13,809人に対する罹患調査回答者12,345人に対する割合）に相当する8,196人の患者が発生するという事故が発生し³⁾、厚生省（現厚生労働省）も急遽「水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針」を策定し、水道事業者等に対策を求めてきている⁴⁾。

このように管理された水道システムを介して給水区域に集団感染の事例が多く見られる。すなわち、ジアルジアのシストやクリプトスポリジウムのオーシスト等は水道の消毒剤の塩素に耐性を持つため、水道水に混入した場合は塩素の消毒効果に期待が持たず、集団感染発生へのリスクが大きいことが公衆衛生の発達した先進国においても問題となってい

る。これに対して、多くの開発途上国からは多種の原虫感染症が報告⁵⁾されている。しかも、これらの国々では本来安全であるべき上水道に関して、十分な浄水処理や消毒すら行われていないなど、多くの課題が指摘されている⁶⁾。

ネパールのボカラでは、1994年6月に塩素処理した水道水により12名のサイクロスポーラ症患者が発生した事故があったが⁷⁾その後水道水の原虫による汚染の実態把握もSherchandら⁸⁾による報告以外ほとんど行われていないのが現状である。これら開発途上国における水系感染症の原因探究に関しては、細菌学的な調査⁹⁾は行われているものの、原虫類についてはジアルジア以外ほとんど行われていないのが現状である。その理由として考えられるのは、水中での存在量が少なく検出方法が煩雑であることに加えて、費用や時間などがかかるために実態把握が困難となっているものと考えられる。

この報告では、東南アジアおよび南アジアの2カ国の水道水からの原虫の検出結果と、下痢症患者の原虫陽性率を比較し、水道水の影響の可能性を述べる。

I. 調査方法

1. 試料の採取

調査した国は内陸国である南アジアのネパール王国と東南アジアのラオス共和国である（図1）。

1) 前澤工業株式会社 中央研究所
☎332-8556 埼玉県川口市仲町5-11

2) 神戸大学 医学部 保健学科
☎654-0142 兵庫県神戸市須磨区友が丘7-10-2

1) Central Laboratory, Maezawa Industries Inc.
(5-11, Nakacho, Kawaguchi-shi, Saitama)

2) Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences,
Kobe University School of Medicine
(7-10-2, Tomogaoka, Suma-ku, Kobe-shi, Hyogo)

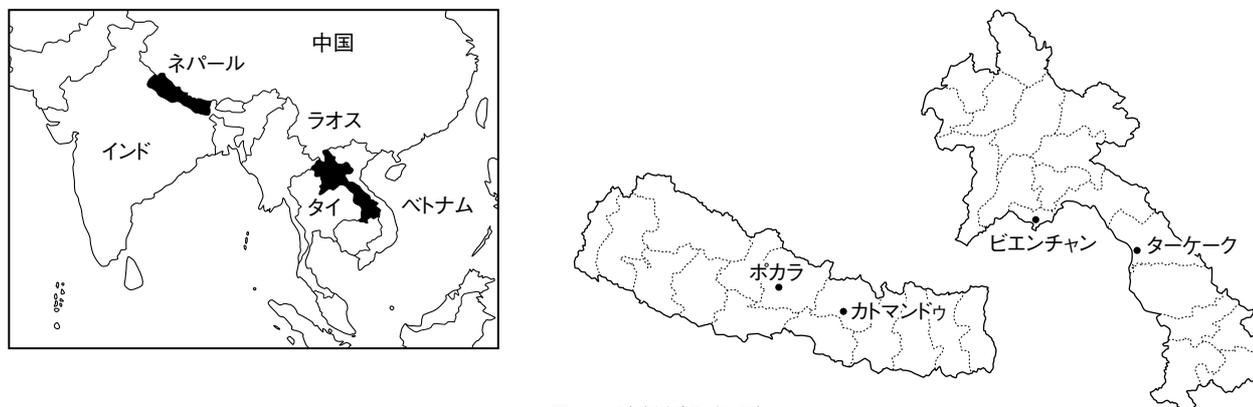


図1 試料採取場所

ネパールは北部にヒマラヤを抱え、北は中国、南はインドと接しており、気候は温暖である。試料を採取した首都のカトマンドゥは国のほぼ中央に位置し標高約1,400m、人口約150万人、ポカラ市はカトマンドゥの西約300kmで標高850mにある。主な産業は観光と農業である。カトマンドゥには3カ所の浄水場（内1カ所は沈殿設備のみ完成し、2006年現在仮通水中）があり、雨季は表流水を取水し、凝集沈殿、ろ過設備、乾季は地下水を揚水し、生物酸化、凝集沈殿、ろ過設備で処理し消毒後給水している。ポカラ市は地下水を揚水後、消毒して給水している。調査期間は1999年10月～2005年1月までの間にカトマンドゥとその周辺およびポカラ市で実施した。水試料は23地域29カ所から146試料を、下痢便試料は7カ所の病院・クリニック等から1,397試料を採取した。

ラオスは、中国、カンボジア、ベトナム、タイおよびミャンマーの各国に囲まれ、西側をメコン川と接しており、大部分が丘陵地帯で、気候は温暖、主産業は農業である。首都ビエンチャンは国の中央部のメコン川が大きく蛇行したところに位置し、人口約60万人、2つの浄水場を有しており、原水はメコン川から取水し、凝集沈殿、ろ過および消毒設備を有している、ターケーク市はビエンチャンから南約310kmに位置し、地下水を揚水し給水している。調査期間は2001年6月～2005年2月まで、ビエンチャンとその周辺およびターケーク市で、水試料は19地域29カ所から114試料を、下痢便試料は6カ所の病院・クリニック等から1,290試料を採取した。

2. 検査方法

水試料は、浄水場の処理水（浄水）と給水先の蛇

口水（給水栓水）について、加圧式ろ過器を用いてメンブランフィルター（セルローズアセテート製（孔径3 μ m）あるいはポリテトラフルオロエチレン（PTFE）製（孔径1 μ m））で5～40リットルをろ過した。これらフィルターは日本へ持ち帰り、クリプトスポリジウムとジアルジアは免疫磁気分離法により（オー）シストを精製し、直接抗体染色およびDAPI染色を行い、プレパラートを作製後、落射蛍光顕微鏡および微分干渉装置で観察・計数した。サイクロスポーラとイソスポーラやその他の原虫類は免疫磁気分離法の廃液を密度勾配遠沈法により精製し、上清液をPTFE製メンブランフィルターでろ過し、プレパラートにし、落射蛍光顕微鏡および微分干渉装置を用いて、その自家蛍光像と内部構造を観察・計数した。試料採取と同時に、浄水および給水栓水中の遊離残留塩素濃度を測定（比色法：オルトトリジン法、あるいは残留塩素計：Hanna Instruments製）し、0.1mg/L以上の濃度を検出した場合に遊離残留塩素が存在すると判断した。

下痢便試料は、採取後、試料と等量の2%重クロム酸カリウム溶液を加え保存した後、クリプトスポリジウムはシヨ糖浮遊法後の試料を位相差顕微鏡で、その他の原虫類の検査には落射蛍光顕微鏡および微分干渉装置を用いた直接検鏡法¹⁰⁾で計数した。

II. 水試料の検査結果

表1に水試料からの原虫の検出結果を示した。ネパールでは調査した水試料146試料の58.2%が原虫に汚染されており、人口の集中するカトマンドゥ市内の浄水および給水栓水試料の49.5%（データには示していない）から原虫が検出された。種類別では

表1 ネパール及びラオスの水試料からの原虫の検出状況

ネパール		全試料数	陽性試料数	陽性率(%)	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	<i>Cyclospora</i>	遊離残留塩素検出 試料数(%)
カトマンドゥ市内	浄水場浄水	14	6	42.9	2	5	1	7
			平均検出個数(範囲)(10L)		0.8(0.6-1.0)	4.7(1.0-12.9)	0.5(0.5)	(50.0)
	給水栓	83	42	50.6	17	37	1	3
			平均検出個数(範囲)(10L)		1.3(0.5-7.3)	133.5(0.7-1437)	1.0(1.0)	(3.6)
カトマンドゥ近郊	給水栓	3	1	33.3	0	1	0	1
			平均検出個数(範囲)(10L)		0	1.5(1.5)	0	(33.3)
ポカラ市内	給水栓	38	34	89.5	26	32	2	1
			平均検出個数(範囲)(10L)		18.4(0.5-266.7)	16.1(0.5-106.3)	0.6(0.5-0.7)	(2.6)
ポカラ近郊山間部	給水栓	8	2	25.0	0	2	0	0
			平均検出個数(範囲)(10L)		0	1.8(0.5-3.0)	0	(0)
計		146	85	58.2	45	77	4	12(8.2)

ラオス		全試料数	陽性試料数	陽性率(%)	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	<i>Cyclospora</i>	遊離残留塩素検出 試料数(%)
ビエンチャン市内	浄水場浄水	78	8	10.3	6	3	0	74
			平均検出個数(範囲)(10L)		1.0(0.5-3.0)	0.4(0.3-0.5)	0	(94.9)
	給水栓	8	0	0	0	0	0	4
			平均検出個数(範囲)(10L)		0	0	0	(50.0)
ターケー市内	給水栓	4	0	0	0	0	0	2
			平均検出個数(範囲)(10L)		0	0	0	(50.0)
他の地域	浄水場浄水	11	3	27.3	3	0	0	2
			平均検出個数(範囲)(10L)		1.1(0.5-1.7)	0	0	(18.2)
	給水栓	13	3	23.1	2	1	0	4
			平均検出個数(範囲)(10L)		0.5(0.5)	1.1(1.1)	0	(30.8)
計		114	14	12.3	11	4	0	86(75.4)

注：Isospora および Sarcocystis はいずれの試料からも検出されていないため示していない。

ジアルジア (43.3%) (同) が最も多く、次いでクリプトスポリジウムの 19.6% (同)、サイクロスポーラの 2.1% (同) の順であった。ポカラ市内では試料の 89.5% から原虫が検出され、カトマンドゥ市内より高い陽性率であったが、種類構成はカトマンドゥ市内と同様の結果であった。カトマンドゥ市郊外とポカラ郊外の試料の約 30% (それぞれ 33.3%、25.0%) から原虫が検出され、都市部より低い陽性率であった。

一方、検出された個体数の平均には大きな差が見られ、都市部の方が郊外より多かった。特にカトマンドゥ市内では浄水より給水栓水の方が多く、試料 10 リットル中の検出個体数は浄水でジアルジアの平均 4.7 個に対し、給水栓水で最大 1,437 個が検出され、配水系統で著しく増加していた。サイクロスポーラが検出されたのは 4 件と少なく、10 リットルあたりの検出個体数も 1 個以下と低かった。なお、イソスポーラおよびサルコシステイスは検出されなかった。

遊離残留塩素は、カトマンドゥ市内では浄水の 50.0% から検出されているのに対し、給水栓水からは 3.6% からしか検出されず、配水系統ではほとんど

消毒がされている様子は認められなかった。ポカラではほとんど検出されず、郊外では消毒がほとんど行われておらず、ネパール全体で 8.2% と低い検出率であった。

ラオスでは、ビエンチャン市内の浄水試料の 10.3% からクリプトスポリジウムとジアルジアが検出されたが、給水栓水から原虫は検出されなかった。また、ターケー市内からも検出されなかった。他の地域では、浄水からはクリプトスポリジウムが、給水栓水からクリプトスポリジウムとジアルジアが検出され、いずれも全試料の約 25% であった。検出個数はいずれの試料も平均で 1 個程度であった。なお、サイクロスポーラ、イソスポーラおよびサルコシステイスはいずれの試料からも検出されなかった。

遊離残留塩素は、浄水試料ではビエンチャンの試料の 95% から、ビエンチャンとターケーの給水栓水試料の 50% の試料から検出され、半数が配水系統で減少していた。他の地域の浄水試料は 18.2% とビエンチャンほど塩素消毒が十分に行われておらず、給水試料では 30.8% と低かった。

Ⅲ. 下痢便試料の検査結果

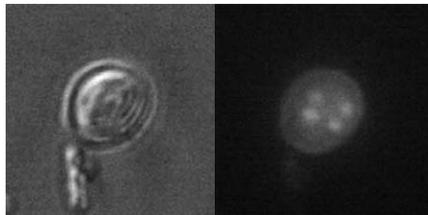
表2に下痢便試料から検出された原虫を示した。
図2に検出された原虫の顕微鏡像を示す。ネパール

では、カトマンドゥの総試料数1,397試料のうち191試料(13.7%)から原虫を検出した。その内訳はサイクロスポーラが9.2%¹¹⁾と最も高く、次いでジアルジアの3.7%であり、クリプトスポリジウム、イソスポーラおよびサルコシスティスはそれぞれ

表2 パールおよびラオスにおける下痢便試料の原虫相

種名	カトマンドゥ		ビエンチャン		ターケーク	
	陽性検体数	陽性率(%)	陽性検体数	陽性率(%)	陽性検体数	陽性率(%)
<i>Giardia intestinalis</i>	51	3.7	17	2.5	33	5.0
<i>Cryptosporidium parvum</i>	14	1.0	3	0.4	1	0.2
<i>Cyclospora cayatanensis</i>	128	9.2	1	0.1	12	2.0
<i>Isospora belli</i>	4	0.3	1	0.1	0	0.0
<i>Sarcocystis</i> spp.	1	0.1	19	2.8	54	8.9
総陽性検体数*	191	13.7	40	5.8	97	16.1
総検体数	1,397		686		604	

※同一検体から複数の種が検出された場合でも1検体とした



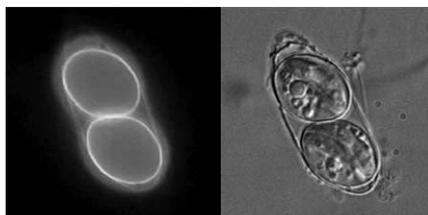
クリプトスポリジウムのオーシスト
(左：微分干渉像、右：FITC/DAPI染色像)



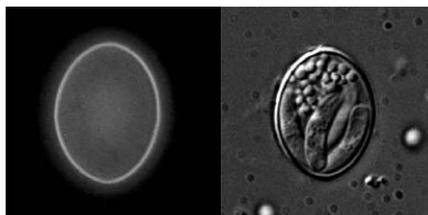
ジアルジアの栄養体
(左と中)とシスト(右)



サイクロスポーラのオーシスト
(左：自家蛍光像、中：(未成熟)と右(成熟)共に微分干渉像)



イソスポーラのオーシスト
(左：自家蛍光像、右：微分干渉像(成熟))



サルコシスティスのオーシスト
(左：自家蛍光像、右：微分干渉像(成熟))

図2 検出された原虫類

1.0%、0.3%、0.1%と1%以下であった。また、年齢層別、性別による差は見られなかった。

ラオスでは、ビエンチャンの総試料数 686 試料のうち 40 試料 (5.8%) から原虫を検出し、サルコシステイスが 2.8%、ジアルジアが 2.5%とほぼ同程度であり、クリプトスポリジウム、サイクロスポーラおよびイソスポーラはそれぞれ 0.4%、0.1%、0.1%と少なかった。それに対しターケーではビエンチャンより多い 97 試料 (16.1%) から原虫を検出し、サルコシステイスが 8.9%と最も高く、次いでジアルジアの 5.0%、サイクロスポーラの 2.0%であり、クリプトスポリジウムが 0.2%と少なく、イソスポーラは検出されなかった。

IV. 同じ期間の水試料と下痢便試料からの検出結果

ネパールとラオスの下痢便試料と水試料の同一調査期間の原虫の陽性率を図 3 および図 4 に示す。下

痢便試料の陽性の状況と水試料の原虫による汚染状況とは必ずしも一致しておらず、ラオスのように水試料は全て陰性であるのに下痢便からは原虫が検出され、給水栓水が下痢の原因となっていないと考えられるような結果となっている。

V. 考 察

今回の調査を通じて、ネパールではカトマンドゥやポカラといった人口の集中する都市部の浄水が著しく原虫に汚染されているのに対して、地方や山間部の汚染の程度は著しくないことが示された。また、消毒剤の塩素も注入され配水されていた場合でも、給水された段階でほとんど存在していない状態であり、配水系統に有機物や微生物等が混入し、遊離塩素が消費されたためと考えられる。遊離残留塩素の測定は行われていなかったが、大腸菌が給水栓水から検出されていたというネパールでの報告⁹⁾からも、日常の塩素消毒が不十

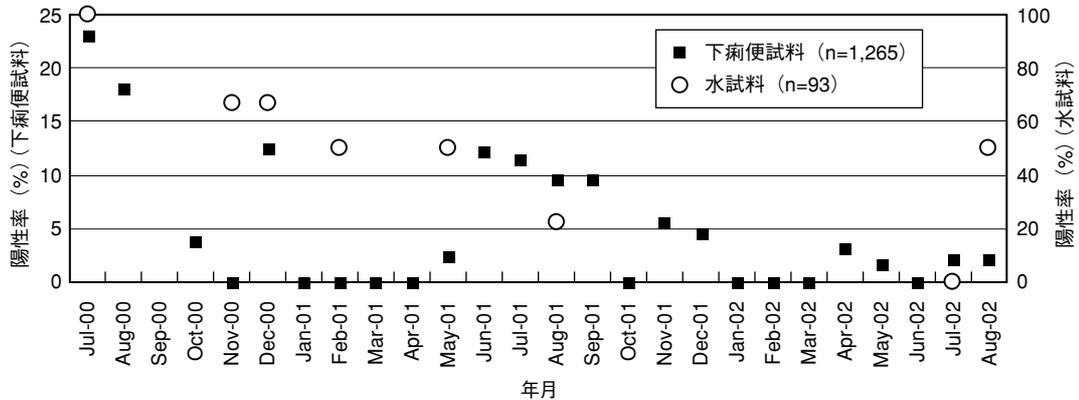


図 3 ネパール (カトマンドゥ) での下痢便と水試料の陽性率 (2000年7月～2002年8月)

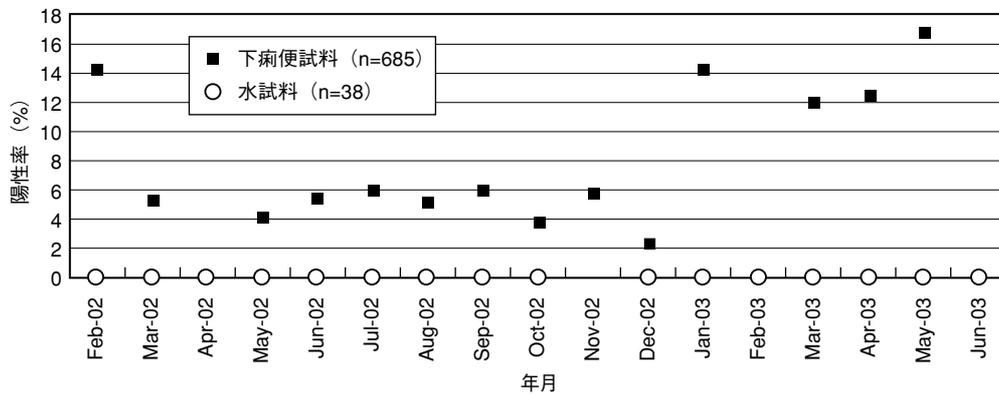


図 4 ラオス (ビエンチャン) での下痢便と水試料の陽性率 (2002年2月～2003年6月)

分であったことが推察できる。

この配水系統での汚染は、未処理水の配水、下水道の未整備、配水設備の老朽化や不法な盗水による漏水⁶⁾、さらに頻繁な停電による汚水の管網への混入などさまざまな要因が重なったことにより生じていると考えられる。都市部以外では遊離残留塩素がほとんど検出されておらず、消毒を十分に行っていないことが示唆された。

一方、ラオスではネパールほど著しくはないものの原虫に汚染されており、その大部分は都市部の浄水であったが、給水栓水からは検出されていなかった。都市部以外では浄水と給水栓の約25%と同程度の検出状況であったが、10リットルあたりの検出数は数個以下であった。

一般的に原虫類のシストやオーシストは消毒剤の塩素に対して強い耐性を持っている。ジアルジアは十分な消毒が行えれば不活化も可能であるとされているが¹²⁾、クリプトスポリジウムについては通常の浄水処理の遊離残留塩素濃度では不活化できないとされている¹³⁾。さらに、サイクロスポーラやイソスポーラ等についての消毒効果に関する知見は知られていない。このことから、たとえ遊離残留塩素が検出されたとしても、原虫に対する安全性が確保されたものではない、ということに留意すべきである。

下痢便試料から検出された原虫類は、ネパールではサイクロスポーラとジアルジアが多かったのに対し、ラオスではサルコシステイスとジアルジアであり、原虫相に大きな違いが認められた。ネパールでのサイクロスポーラの検出率の9.2%¹¹⁾はSherchandら⁸⁾の30%より低い検出率であるが優占的に存在しており、ラオスではPhetsouvanhら¹⁴⁾のジアルジアの検出率0.5%と、筆者ら¹¹⁾のサイクロスポーラの0.1%だけが報告されているのみで、サルコシステイス、クリプトスポリジウム、イソスポーラ等は初めての報告になる。

水試料と下痢便試料での原虫の出現状況を見ると、ネパールでは温暖な雨季(6月～9月)に下痢患者が多発する傾向があるのに対し、水試料からはほぼ年間を通して検出され、ラオスでは年間を通して下痢患者が発生しているのに対し、水試料からは検出されないなど、下痢と水の汚染とは関連が薄く、雨季の野菜からサイクロスポーラが検出されており⁸⁾、ネパールにおける下痢症が飲用水以外の他の感染経

路(野菜、果物などの食品や糞便との接触後の経口感染等)を原因として生じている可能性が高いと判断できる結果であった。ネパールで給水栓水を直接飲用に供しているかどうかの詳細は不明であるが、Phetsouvanhら¹⁴⁾のラオスでのアンケート調査では子どもの57%が給水栓水を直接飲用していることが報告されている。ネパールでも話を聞いている段階では直接飲用しないという答えが返ってくるが、試料採取中には何度も給水栓から直接飲用しているところを目撃するなど、飲用することも多いと想像される。

おわりに

今回の調査を通じて、ネパールおよびラオスの浄水や給水栓水がかなり原虫に汚染されていることが明らかとなった。開発途上国では、都市部への人口の集中に伴う生活環境の悪化に起因して多くの感染症が発生し、大きな問題となっており、そのため生活環境の改善を目的に、上下水道や医療施設の整備の必要性が叫ばれ、先進国からの援助により改善への努力がなされているが、依然として新たな感染症が発生するなど、なかなか減少傾向にいたらない。また、生活習慣の改善には大きな努力が必要であるためか、衛生教育の必要性もいわれながら、まだまだ不十分であるといえる。

開発途上国では、下痢症の原因となる原虫については健常者に対しては余り大きなリスクとはならないためか、とかく見逃されがちであり、その結果、幼児を含む弱者の死亡率を高める結果ともなっているといわれている。われわれは2カ国の原虫侵淫実態の一部を知ることができたが、まだまだなすべきことは多いと考えている。

文 献

- 1) 日本水道協会：クリプトスポリジウム－解説と試験方法－。日本水道協会, 14～15, 2003.
- 2) Fox K. R. and Lytle, D. A.: Milwaukee's crypto outbreak : investigation and recommendations. Jour. Amer. Water Assoc., **88** : 87-94, 1996.
- 3) 埼玉県衛生部：クリプトスポリジウムによる集団下痢症報告書. pp200, 1997.
- 4) 金子光美編：水道のクリプトスポリジウム対策. ぎょうせい, pp129, 1997.
- 5) Guerrant R. L., J. M. Hughes, N. L. Lime and J. Crane.:

- Diarrhea in developed and developing countries : magnitude, special settings, and etiologies. Rev. Infect. Dis. Jan-Feb.12 Suppl. 1 : S41-50, 1990.
- 6) 国際協力事業団 国際協力総合研修所：水分野援助研究会報告書－途上国の水問題への対応－. 国際協力事業団, pp273, 2002.
 - 7) Rabold J. G., C. W. Hoge, D. R. Shlim, C. Kefford, R. Rajah, and P. Echeverria : *Cyclospora* outbreak associated with chlorinated drinking water. Lancet, **345** : 667-668. 1994.
 - 8) Sherchand J. B., J. H. Cross, M. Jimba, S. Sherchand and M. P. Shrestha.: Study of *Cyclospora cayetanensis* in health care facilities, sewage and green leafy vegetables in Nepal. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, **30** (1) : 58-63, 1999.
 - 9) Ono K., S. K. Rai, M. Chikahira T. Fujimoto, H. Shibata, Y. Wada, H. Tsuji, Y. Oda, G. Rai, C.D. Shrestha K. Masuda, H.G. Shrestha, T. Matsumura, H.Hotta, T. Kawamura and S. Uga.: Seasonal distribution of enteropathogens detected from diarrheal stool and water samples collected in Kathmandu. Nepal. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, **32** (3) : 520-526, 2001.
 - 10) Kimura K., S. K. Rai, K. Takemasa, Y. Ishibashi, M. Kawabata, M. Belosevic and S.Uga.: Comparison of three microscopic techniques for diagnosis of *Cyclospora cayetanensis*. FEMS Microbiology Letters, (238) : 263-266, 2004.
 - 11) Kimura K., S. K. Rai, G. Rai, S. Insiengmay, M. Kawabata, P. Karanis and S.Uga.: Study on *Cyclospora cayetanensis* associated with diarrheal disease in Nepal and Lao PDR. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, **36** (6) : 1371-1376, 2005.
 - 12) Rubin A. L., D. P. Evers, C. M. Eyman and E. L. Jarroll.: Inactivation of gerbil-cultured *Giardia lamblia* cysts by free chlorine. Appl. Environ. Microbiol., **55** (10) : 2592-2594, 1989.
 - 13) Korich, D. G., J. R. Mead, M. S. Madore, N. A. Sinclair and C. R. Sterling.: Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. Appl. Environ. Microbiol., **56** (5) : 1423-1428, 1990.
 - 14) Phetsouvanh R., Y. Midorikawa and S. Nakamura.: The seasonal variation in the microbial agents implicated in the etiology of diarrheal diseases among children in Lao People's Democratic Republic. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, **30** (2) : 319-323, 1999.