

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—

柳田潤一郎 石山 聡子
今西麻樹子 黒川 学¹⁾
シバ クマ ライ²⁾ 小野 一男

Microbial Surveys on Stool from Children, Water and Vegetable Samples Collected in Katmandu, NEPAL

Jun-ichiro YANAGIDA, Satoko ISHIYAMA,
Makiko IMANISHI, Manabu KUROKAWA¹⁾,
Shiba Kumar RAI²⁾ and Kazuo ONO

SUMMARY

Microbiological investigation was carried out on 251 fecal samples collected from elementary school children, 9 samples of tap water collected from different areas and 21 samples of vegetable retailed at two market in the rainy season in Katmandu.

Enteropathogenic bacteria were not detected from all 251 fecal samples.

Of the total 9 tap water samples, 4 samples showed coliform bacteria group.

All 21 vegetable samples were positive for coliform bacteria group. 19 samples were positive for *E. coli* and two samples were positive for *Salmonella* spp.

はじめに

1998年のWHOの統計では、死亡者数5390万人のうち、感染症での死亡者数は1330万人（死亡者の25%）を占めているが、先進国ではその割合は1%前後であるのに対し、特にアジア・アフリカ

の発展途上国では45%を占めている。

このうち、消化器感染症は250万人で、このうち特に発展途上国での5才以下の小児の下痢症は、200万人に上っている。¹⁾

小児の下痢症に関する研究は、パプア・ニューギニア (Howard et al, 2000)²⁾、ネパール (Sherch and Shrestha, 1996)^{3) 4)}、ガーナ (Hori et al, 1994)⁵⁾、中国 (Kain et al, 1991)⁶⁾ およびフィ

1) 神戸市環境保健研究所

2) ネパール医科大学

リピン (Adkins et al, 1987)⁷⁾ など多く報告されている。

小児の下痢症は衛生状態だけでなく、不適切な飲料水と食生活および生活習慣に大きく関係していると思われる。また、下痢症状があっても放置されている場合や、その原因が、寄生虫によるものか、ウイルス性または細菌性かが不明であることが多いと思われる。

そこで、今回 (2003年8月)、ネパールを訪問する機会が得られたので、腸管病原性細菌の潜在的な健康保菌者を調査する目的で、健常と思われる小学生学童の糞便の検査を行った。また、消化器系感染症の原因の一つと考えられる環境衛生状態、特に水道水と市販されている野菜を選び、これらについての汚染実態調査を行った。

1 検査材料

1) 糞便

2003年8月に、カトマンズ市内公立シュリ・ガネーシュ小学校で4才~14才の学童251人の便を検使用容器にて回収後、ネパール医科大学 (NMC) に持ち帰り、滅菌綿棒を用いて採取、チャーコール加保存用培地 (Medical Wire & Equipment CO. LTD U.K.) に接種した。(図1、2、3、4)

2) 水

2003年8月に、カトマンズ市内の9ヶ所で採取した水道水9検体を材料とした。(図5)

3) 野菜

2001年8月に、7検体、2003年8月に、14検体の各種野菜をカトマンズ市内の2ヶ所の市場より購入した。(図6、7、8、9、10)



図1 糞便の回収



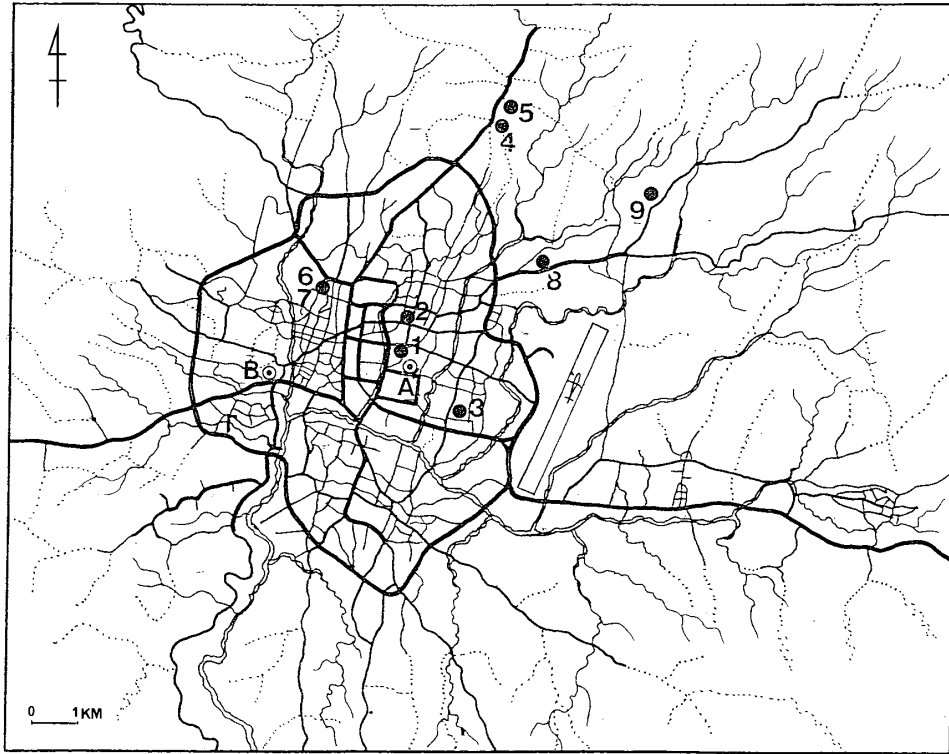
図2 対象小学生



図3 回収した糞便



図4 NMCにて糞便を処理



1. Shigan Pathological Laboratory (Putali Sadak), 2. Kathmandu Institute of Science & Technology (Kamal Pokhari), 3. Naya Baneshwor, 4. Filtration plant (Bansbari), 5. Dr. Rai's house (Hattigaunda), 6. International Gest House (Thamel), 7. International Gest House (Thamel), 8. Filtration plant (Mahankal), 9. Nepal Medical College (Jorpati), A. Shingha Durbar Vegetable Market, B. Kalimati Vegetable Market

図5 カトマンズ市街地、採水地点(○1~9)および野菜購入市場(◎A, B)



図6 市場で販売されている野菜



図7 市場で販売されている野菜

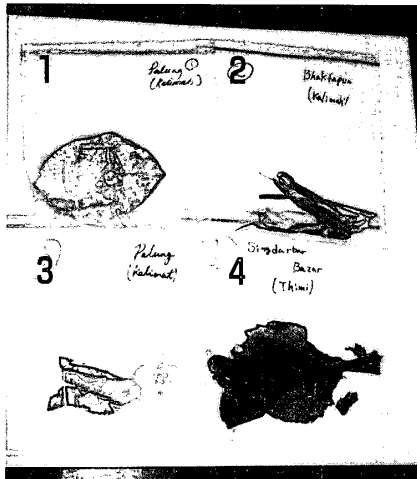


図8 購入した野菜(1)

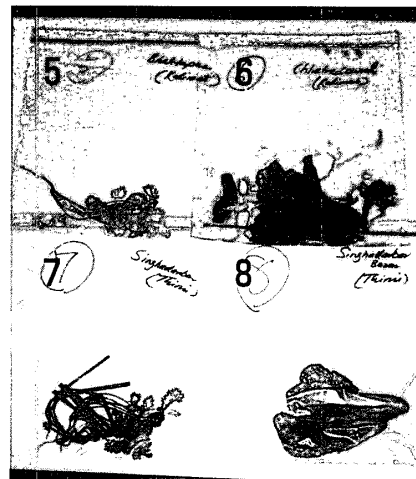


図9 購入した野菜(2)

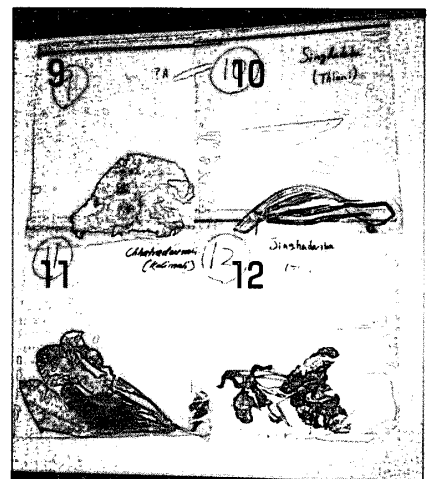


図10 購入した野菜(3)

2 検査方法

1) 便

便は、*Campylobacter*の分離を目的として、回収現場でCCDA培地（OXOID）に接種、ガスパック後42℃・48時間・微好気培養した。

（図11）

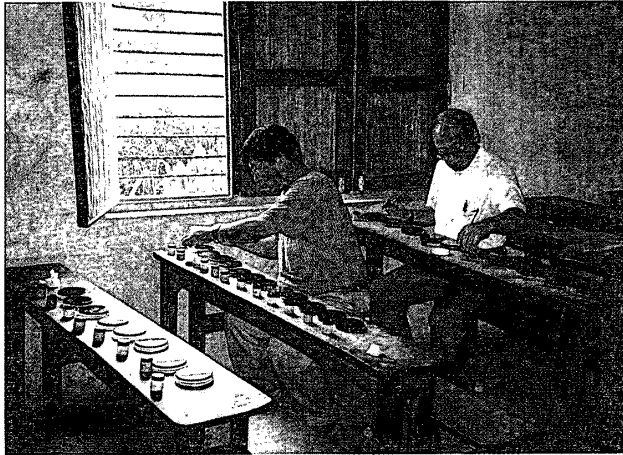


図11 現地にて検査中

また、チャーコール加保存用培地中の検体は、*Shigella*、*Salmonella*を目的としてDHL培地（栄研）およびSS培地（栄研）に、*E.coli* O-157を目的としてソルビトール・マッコンキー培地（OXOID）に、また病原性*Vibrio*を目的としてTCBS培地（栄研）にそれぞれ同様に直接塗抹後画線し、すべて37℃・24時間・好気培養した。

培養後、DHLおよびSS培地上の乳糖・白糖または乳糖非分解あるいは硫化水素産生集落、ソルビトール・マッコンキー培地上のソルビトール非分解集落、およびTCBS培地上の白糖非分解または白糖分解集落について、それぞれ1検体につき1個～数个ずつ釣菌し、各種確認培地およびAPI20（BioMerieux）を用いて生化学的性状試験を行い、同定を試みた。

なお、1検体から同じ同定結果の菌が複数分離された場合、その検体からの検出株数は1株とした。

2) 水

水は1リットルをろ過後、メンブランフイ

ルター（0.45 μm：Millipore filter）の半分を4 mlのPBSに浮遊させ振とう後、20倍に希釈し、これを原液とし、特定酵素基質法（コリラート・アスカ・MPN：IDEXX・アスカ純薬）を用い、大腸菌群および大腸菌の計数と検出を行った。

3) 野菜

野菜は10 g以上を滅菌ストマッカー用袋に入れ、10倍量のPBSを加え、ストマッカー処理を1分間行った。

この試料について、特定酵素基質法を用い、大腸菌群および大腸菌の計数と検出を行った。また、LB培地（栄研）にて増菌培養後、*Salmonella*を目的菌として、DHL培地およびSS培地にて、分離培養を行った。

結 果

1) 糞便

糞便251検体から分離したDHL、SS培地上の乳糖・白糖および乳糖非分解、または硫化水素産生集落から得られた同定菌株として、41検体から*E.coli*（O-157は検出されず）、48検体から*Citrobacter freundii*および*Citrobacter diversus*、12検体から*Enterobacter* spp、4検体から*Klebsiella pneumoniae*および*Klebsiella* spp、1検体から*Serratia marcescens*、4検体から*Proteus* spp、*Providencia* spp、*Morganella* spp、9検体からGNFGNB（ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌）を検出したが、*Shigella*、*Salmonella*は検出されなかった。

また、ソルビトール・マッコンキー培地上のソルビトール非分解集落のうち、*E.coli*と同定された菌株について、大腸菌診断用免疫血清（デンカ生研）を用い、O-157血清のみ凝集反応を行ったが、O-157は検出されなかった。

2) 水

9検体のうち、5検体が大腸菌群陽性、その100ml中のMPN値（大腸菌群数）は3.6～最大

2400であった。また、1検体から大腸菌が検出され、そのMPN値（大腸菌数）は23であった。

大腸菌群、大腸菌以外では、2検体から *Pseudomonas aeruginosa* が、1検体からGNFGNBが検出された。（表1）

3) 野菜

検査した14検体すべてが大腸菌群陽性でその100g中のMPN値は、ほとんど24000以上であった。また、13検体は大腸菌陽性で、そのMPN

値は2400~24000であった。

なお、*Shigella*、*Salmonella*および*E.coli* O-157は検出されなかった。（表2）

2001年8月に検査した7検体については、大腸菌群はすべて陽性、その100g中のMPN値は24000以上、大腸菌はその100g中のMPN値は210~24000以上で、2検体から*Salmonella*が検出された。（表3）

表1 水(現地採取)検査結果

Sample No	採取場所	大腸菌群	MPN/100ml	大腸菌	MPN/100ml	検出菌	原虫類	蠕虫類
1	Shigan Laboratory (Putali Sadak)	+	3.6	+	23	GNFGNB	-	-
2	Kathmandu Institute of Science & Technology (Kamal Pokhari)	-	0	-	0	<i>P.aeruginosa</i>	-	-
3	Naya Baneshwor	+	460	-	0		-	-
4	Filtration plant (Bansbari)	+	460	-	0		-	-
5	Dr.Rai's house (Hattigaunda)	+	2,400<	-	0	<i>P.aeruginosa</i> <i>E.aerogenes</i>	-	-
6	International Gest House (Thamel)	-	0	-	0		-	-
7	International Gest House (Thamel)	+	2,400<	-	0	<i>C.freundii</i> <i>E.cloacae</i>	-	-
8	Filtration plant (Mahankal)	+	2,400<	-	0		-	-
9	Nepal Medical College (Jorpati)	-	0	-	0		-	-

表2 生鮮野菜(現地入手)検査結果(2003年)

Sample No	種別	大腸菌群	MPN/100g	大腸菌	MPN/100g	原虫類	蠕虫類
1	キャベツ	+	2,400	+	2,400	-	-
2	ネギ or わけぎ	+	24,000<	+	24,000<	-	-
3	カリフラワー	+	4,600	+	2,400	-	-
4	香草	+	24,000<	+	24,000<	-	-
5	香草	+	24,000<	+	24,000<	-	-
6	ほうれん草	+	24,000<	+	24,000<	-	-
7	香草	+	24,000<	+	24,000<	-	-
8	チンゲンサイ	+	24,000<	+	24,000<	-	<i>Ascaris lumbricoides</i>
9	キャベツ	+	24,000<	-	0	-	-
10	ネギ	+	24,000<	+	24,000<	-	-
11	コマツナ	+	24,000<	+	2,400	-	-
12	ほうれん草	+	24,000<	+	24,000<	-	-
13	カリフラワー	+	24,000<	+	24,000<	-	-
14	菜の花	+	24,000<	+	24,000<	-	-

表3 生鮮野菜(現地入手)検査結果(2001年)

Sample No	種別	大腸菌群	MPN/100g	大腸菌	MPN/100g	検出菌
1	キャベツ	+	24,000<	+	24,000<	<i>Salmonella</i>
2	ネギ	+	24,000<	+	24,000<	
3	たまねぎ	+	24,000<	+	24,000<	
4	チャイニーズサーグ	+	24,000<	+	230	
5	ライオサーグ	+	24,000<	+	1,200	
6	ほうれん草	+	24,000<	+	210	<i>Salmonella</i>
7	ネギ	+	24,000<	+	11,000	

考 察

糞便の検査では、*Campylobacter*については、できるだけ新鮮な状態より分離する目的で、現地(カトマンズ市)にて培地を調製し、糞便回収時に塗抹・ガスパック後微好気培養を行ったが、検出されなかった。このことは、*Campylobacter*の感染がないか、現地での培地調製に用いた水や調製方法に問題があったのかもしれない。

Shigella、*Salmonella*、*E.coli* O-157および病原性*Vibrio*については、健常と思われる学童の糞便ではあったが、泥状便、水様便などの下痢便では、健康保菌者が疑われ、分離を試みたが検出されなかった。このことは、*Shigella*などの腸管病原性細菌の感染がなかったか、または、同じ検体から寄生虫卵が高率(50%)に検出されていること⁸⁾、および13検体からロタウイルスやアデノウイルスが検出されていること⁹⁾から、他の病原体によるものかもしれない。また、保存培地から検査までに数日を要したことから、培養検査までの時間的経過が何らかの影響を及ぼした可能性も考えられる。

水道水については、私たちが宿泊していたインターナショナルゲストハウスを含め5ヶ所が、大腸菌群陽性で、大腸菌そのものは検出されなかつ

たものの、*Pseudomonas*属が検出され、取水・ろ過施設(とはいえ、採取した水の大腸菌群は陽性)から末端へ至る途中での汚染が示唆された。また、糞便調査した学童の約半数が、水道水をそのまま飲用していることを考えると、飲料水の沸騰殺菌処理教育の啓蒙および重要なライフラインである水道設備の改良が望まれる。(図12)

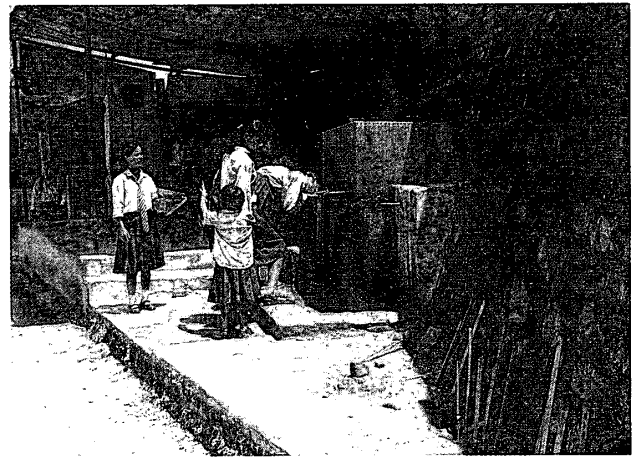


図12 水を飲む小学生

野菜について、すべての検体から大腸菌群、ほぼすべてから大腸菌、また2検体から*Salmonella*が検出された。日本で市販されているものに比べて(2001年調査の国内産12検体中、大腸菌検出検体はゼロ：第23回日本食品微生物学会発表・輸入野菜の微生物学的汚染調査・2001年9月24日)、かなり汚染されており、何らかの感染をおこす可能性が示唆される。

今回の調査は、限られた期間（2003年8月・現地では雨季の終わり）であったので、他のシーズンにも行って比較検討する必要がある。

また、腸管病原性細菌は検出されなかったが、水や野菜などの環境衛生上の汚染状況を考えると、なお詳細な実態を調査する必要があると思われる。

参 考 文 献

- 1) WHO. Report on Infectious Diseases. Removing Obstacles to Healthy Development. 1999 ; 1-9.
- 2) Howard P, Alexander ND, Atkinson A, et al. Bacterial, viral and parasitic etiology of paediatric diarrhea in the highlands of Papua New Guinea. J Trop Pediatr 2000 ; 46 : 10-4.
- 3) Adhikari RK, Rai SK, Pokhrel BM, Khadka JB. Bacterial study of drinking water in Kathmandu Valley. J Inst Med (Nepal) 1986 ; 8 : 313-6
- 4) Sherchand JB, Shrestha MP. Prevalence of Cryptosporidium infection and diarrhea in Nepal. J Diarrheal Dis Res 1996 ; 14 : 81-4
- 5) Hori H, Sakatoku H, Sakura M, Kamiya H. Studies on childhood diarrheal disease in Ghana. Jpn J Trop Med Hyg 1994 ; 22 : 1-4.
- 6) Kain KC, Barteluk RL, Kelly MT, et al. Etiology of childhood diarrhea in Beijing, China. J Clin Microbiol 1991 ; 29 : 90-5.
- 7) Adkins HJ, Escamella J, Santiago LT, et al. Two-year survey of etiologic agents of diarrheal disease at San Lazaro Hospital, Manila, Republic of the Philippines. J Clin Microbiol 1987 ; 25 : 1143-7
- 8) 石山聡子、柳田潤一郎、S. K. Rai、小野一男 : ネパール王国首都カトマンズにおける小学校学童の寄生虫卵保有調査（神戸常盤短期大学紀要・投稿中）
- 9) Kurokawa M, Ono K, et al. Detection of Diarrheagenic Viruses from Diarrheal Fecal Samples Collected from Children in Kathmandu, Nepal. J Nepal Medical College 2004 ; 6 : 17-23