

カンボジア農村部における血清抗体を指標とした水系感染症のリスク評価

東北大学 学生会員 ○佐々木 司 三浦 尚之
 東北大学 正会員 渡部 徹 大村 達夫
 国立国際医療センター 中村 哲

1. はじめに

世界では毎年180万人もの人が下痢症のために死亡しており、その90%が途上国の5歳以下の子供である。この下痢症のほとんどは不衛生な水が原因で引き起こされているといわれている¹⁾。途上国において安全な水供給を実現するためには、こうした下痢症を含む水系感染症のリスクを適切に評価・管理することが必要である。しかしながら、メコン流域に位置するカンボジア、ラオス、ミャンマー等の最貧国では罹患率のような感染症発生状況に関する統計データが不足しており、水系感染症のリスクを適切に評価することが困難である。

本研究では、途上国で水系感染症の罹患率を把握するために血液中の抗体に着目した。現地調査で得た血液サンプルからヘリコバクター (*Helicobacter pylori*)、カンピロバクター (*Campylobacter jejuni*)、アデノウイルスの抗体を検出することで水系感染症の発生状況を把握した。さらに、飲用水の水質と抗体陽性率との関係を明らかにすることで感染リスクを低減できる水利用方法を検討した。

2. 研究方法

(1) 現地調査

2007年7月(雨期)、抗体を指標としたリスク評価手法の確立を目的としてカンボジアのKandal県内に存在するPrek Thamey村(以下、A村とする)を対象として現地調査を行った。リスク評価結果の比較を行うために2006年9月(雨期)、Prek Rousey村(以下、B村とする)にて現地調査を行った。首都プノンペンの南部50kmに位置するこれらの村は、上下水道が整備されておらず衛生問題が深刻である。ただし、A村は国道に隣接し、保健省運営の医療センターも存在しており農村部の中でも経済的に豊かな村である。一方で、B村は河川の対岸に存在し交通アクセスに不利で経済的に非常に貧しい地域である。A村においては各家庭を訪問し、飲用されている水源の種類とその処理方法、家計の収入について聞き取り調査を行った。同時に、各家庭で使用されている飲用水について、微生物および重金属による汚染状況を調査した。微生物汚染の指標として、大腸菌群と大腸菌、ブドウ球菌を選択した。大腸菌群とブドウ球菌はテストペーパー(柴田化学またはサンコリ)による培養法で定量検出し、大腸菌は特定酵素基質培地コリタージュ(ENTEST JAPAN)を用いて検出しMPN法によって定量した。重金属濃度はヒ素、鉛についてICP-MS(HP-4500, Agilent)により測定した(EPA Method 200.8)。

さらに調査に参加した住民261人の病原微生物および重

金属の暴露状況を確認するために、血液サンプルを採取した。採血に際しては、調査の目的を対象者に説明した後に同意を得た。乳幼児に対しては保護者からの同意を得た。血液サンプルは対象者の指をランセット(皮膚穿刺器具)で穿刺し、50~80μLを採血用ろ紙に含ませて回収した。ろ紙は十分に乾燥させた後に日本へ持ち帰った。

B村においては389人の住民に村の小学校に集まってもらい、A村と同様の手法で採血を行った。その後、近隣の家庭を訪問し、飲用水中の大腸菌群と大腸菌、ブドウ球菌濃度を調べた。

(2) 血液サンプルの分析方法

採血後のろ紙を1穴パンチで打ち抜き、直径3mmのディスクを作成し、PBS(pH7.2)に4℃、3h浸漬させ抗体成分を溶出させた。血液中の抗ヘリコバクターIgG抗体、抗カンピロバクターIgG抗体、抗アデノウイルスIgG抗体について市販のELISAキットを用いて測定した(SERION ELISA classic *Helicobacter pylori* IgG, SERION ELISA classic *Campylobacter jejuni* IgG, NOVATEC Adenovirus IgG-ELISA)。

(3) 抗体陽性率にもとづくリスク評価

病原微生物に感染後、ヒトの体内ではIgG抗体が産生されるため、この抗体が検出されることは過去の感染の証拠となる。特に、ヘリコバクターやアデノウイルス40/41型に対する抗体は一度感染が成立すると一生検出され続けるため、長期に渡る感染履歴を知ることができる。このようなタイプの病原微生物については、対象者が感染している確率 P は以下の式で表すことができる。

$$P_{(t)} = 1 - (1 - p_y)^t \quad (1)$$

ここで、 $P_{(t)}$: t 年間の感染確率、 p_y : 年間感染確率、 t : 年齢である。抗体陽性率より年齢ごとの感染確率 P を算出し、そのような P が得られる確率が最も高くなるような年間の感染確率 p_y を最尤法で推定した。カンピロバクターに対する抗体は感染後2年程度で産生されなくなるので²⁾、上式により年間感染確率を求めることはできない。そこで、抗体保有者は直近の感染者であり現地でのカンピロバクター感染状況を反映するとの観点から、抗体陽性率を求めた。

汚染された飲用水による微生物の暴露が抗体の保有に与える影響を調べるためにオッズ比を算出した。オッズ比を用いることで、例えば「飲用水から大腸菌群が検出される」という暴露因子を持つ集団が、暴露因子を持たない集団に比べてリスクが何倍になるかを評価することができる。本研究で対象とした暴露因子は、飲用水中の大腸菌

表1 飲用水中の微生物濃度と重金属濃度

調査地点	水源	大腸菌群		大腸菌		ブドウ球菌		ヒ素		鉛	
		N _p /N	平均値 [CFU/mL]	N _p /N	平均値 [MPN/100mL]	N _p /N	平均値 [CFU/mL]	N _h /N	平均値 [μg/L]	N _h /N	平均値 [μg/L]
A村	井戸水	51/62	38	5/33	74	51/62	22	12/59	10.1	25/59	10.4
	雨水	54/55	70	19/24	67	43/55	14	3/56	4.3	29/56	20.7
B村	井戸水	8/19	41	6/12	409	8/17	5	13/18	62.8	0/18	3.7
	雨水	10/10	85	1/1	93	8/8	44	0/2	0.1	0/2	2.9
	河川水	4/4	>200	1/1	>2400	3/3	47	0/3	0.2	0/3	4.9

N: 全サンプル数 N_p: 陽性サンプル数 N_h: WHOガイドライン値を超えたサンプル数

群・大腸菌・ブドウ球菌、飲用水の煮沸、衛生的なトイレ、年取である。感染後一生涯に渡って抗体が産生される微生物の抗体陽性率については年齢が交絡因子となることが知られている。この交絡因子の影響はMantel-Haenszelの方法³⁾により対象集団を層化し、抗体陽性率に年齢調整を加えることで排除した。

3. 結果および考察

(1) 飲用水源の種類と汚染状況

表1に調査地点ごとの飲用水として用いられている水源の種類とその汚染状況を示す。A村では井戸水が主要な水源であったが雨期には雨水も使用されている。井戸水、雨水共に大腸菌群、大腸菌、ブドウ球菌による汚染が見られた。また、およそ20%の井戸水からはWHOのガイドライン値を超えるヒ素が検出された。さらに、42%の井戸からは鉛が検出され、調査地域の水源は微生物だけではなく、重金属によっても汚染されていた。B村では、井戸水、雨水に加えて、河川水も併用されていた。河川水の指標微生物濃度は井戸水、雨水と比較して著しく高い。このB村では、72%の井戸からWHOガイドライン値を上回る高濃度のヒ素が検出され、その平均値はガイドライン値の6倍以上となった。今後、同村でヒ素の健康リスクを低減するためには浅井戸による表層水の利用、ヒ素を鉄と共沈させて除去する緩速ろ過装置といった水源対策が必要である。

(2) 水系感染症のリスク評価

a) 抗体陽性率と年間感染確率

図1にヘリコバクターの年齢集団ごとの抗体陽性率を示す。ヘリコバクターは一度ヒトに感染すると胃に常在し、生涯にわたって抗体が検出されるため、抗体陽性率は図のように年齢にもなって増加する。全年齢を通しての抗体陽性率、すなわち対象地域のヘリコバクター罹患率はA村において84.5%、B村において87.9%であった。これは先進国が20~50%であることを考慮すると高いが、他の途上国と比較すると同程度である⁴⁾。

この結果から年齢ごとの感染確率 $P_{(i)}$ を求め、式(1)から最尤法を用いて年間感染確率 P_y を推定したところ、 P_y はA村において8.4%、B村において10.4%となった。これは一年間に100人の住民のうちおよそ8~10人が新たにヘリコバクターに感染することを意味する。B村はA村に比べて経済的に貧しいが、A村とB村の年間感染確率を比較しても統計的に有意な差は見られなかった。先進国の年間感染確率が0.5%といわれていることから⁴⁾、両村共に年間感染確率は非常に高いといえる。

カンピロバクターに感染後は1~2年で抗体価が減少することが知られており、抗体陽性であることは過去1~2年の間にカンピロバクターに感染したことを示している。全年齢を通じた抗体陽性率はA村において1.6%、B村において3.7%であり、現地ではここ1~2年の間に大きなカンピロバクターのアウトブレイクは発生していないことがわかる。

アデノウイルスの抗体もヘリコバクターと同じく、一度感染すると一生涯に渡り産生される。アデノウイルスの抗体陽性率はA村において99.0%、B村において99.5%であり、対象地域では感染の機会が非常に多いという結果となった。

b) 抗体の保有と飲用水の水質との関係

ヘリコバクターの感染に影響を与える暴露因子を評価するため、A村の住民を対象として暴露因子を持つ集団と持たない集団の2つに分け、オッズ比(OR)を用いて比較した。なお、図1に示すように、26歳以上の成人はほぼ全員がヘリコバクターの抗体を持っているので、暴露因子による差が見られる25歳以下の住民に限定して解析を行った。

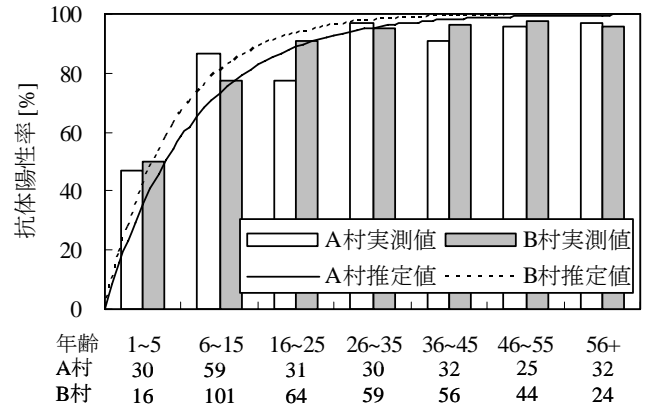


図1 ヘリコバクターの抗体陽性率
(年齢の下の数字はそれぞれの村のサンプル数を示す)

表2 ヘリコバクター感染に影響を与えるリスク因子

リスク因子	OR	(95% CI)
飲用水から大腸菌群が検出されること	5.29	(1.17, 23.9)
飲用水から大腸菌が検出されること	0.21	(0.01, 3.58)
飲用水からブドウ球菌が検出されること	2.73	(0.59, 3.58)
飲用水が煮沸されていること	1.54	(0.60, 4.00)
衛生的なトイレを使用していること	1.07	(0.42, 2.80)
年収が300USD未満であること*	7.38	(1.20, 45.3)
性別が男であること(性差)	0.81	(0.32, 2.00)

*: 最も関係が見られる値をグループ分けの基準とした

表2にオッズ比の算出結果を示す。飲用水中から大腸菌群が検出された集団は検出されない集団に比べてヘリコバクターの感染リスクが約5倍も高かった。つまり、大腸菌群が検出されないような飲用水を利用することで、ヘリコバクターの感染リスクを約1/5に低減できる。一方で、飲用水中の大腸菌濃度は、ヘリコバクターの感染との有意な関係を見ることができなかった。また、年収が300USD以上であることもヘリコバクターの感染リスクを低減する因子として有意であったことから、家庭の経済状況も感染には大きな影響を与えていることが示された。A村とB村の抗体陽性者の割合をオッズ比で比較したところ、B村の方が2.9倍ヘリコバクターに感染しやすい結果となった(95%CI=1.6, 5.2)。算出されたオッズ比はA村とB村の様々な暴露因子の違いをすべて含むが、B村で利用されている飲用水からはA村よりも高濃度のヒ素および大腸菌が検出されており、飲用水の微生物濃度が感染者を増加させる一因となっている可能性が高い。

4. まとめ

本研究では、抗体陽性率を用いた水系感染症のリスク評価手法を開発し、現地における感染症の発生状況を明らかにした。この方法は他の統計データの利用できない途上国においても適用可能である。

謝辞：本研究は、科学技術振興調整費（戦略的拠点育成）の事業「サステナビリティ学連携研究機構構想」の一環として行われたものである。

参考文献

- 1) WHO (2004). *Water, Sanitation and Hygiene Links to Health. FACTS AND FIGURES*. Nov. 2004
- 2) Mette Aagaard Strid, (2001). *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* Vol. 8, No. 2, 314-319
- 3) Mantel, N. Haenszel, W. (1959), *Journal of the National Cancer Institute*, 22, 719-748
- 4) Tercival S.L. et al., (2004). *Microbiology of Waterborne Diseases*, Elsevier Academic Press