

開発途上国における個別排水処理（On-Site Sanitation）の周辺土壌のウイルス調査

Investigation of virus in soil around On-Site Sanitation in developing countries

大学院人間文化創成科学研究科
生活工学共同専攻 M1 井上 眞菜

1. 要約

（和文）

し尿排水処理方法として、途上国や中進国では個別排水処理（On-Site Sanitation systems；以下 OSSs）が普及しており、この中でも底のない筒にし尿を流し込み土壌浸透させる型を Pit latrine という。Pit latrine は本来非水洗のトイレに接続されることを想定しているが、昨今はトイレの水洗化が進みトイレ排水量の増加に適応しできず病原微生物リスクの抑制が不十分である可能性がある。これに付随して、実際の OSSs 処理、および土壌浸透による病原リスク低減効果がどの程度なのかは明らかではなく、実態に沿って調査する必要がある。そこで本研究では、実際の運用中 OSSs の周辺土壌に対しヒト糞便汚染指標ウイルス PMMoV（Pepper Mild Mottle Virus）を測定することで、周囲の土壌へのウイルスの伝搬状況を調査することを目的とした。以前研究室では PMMoV 濃度を定量 PCR にて測定してきたが、本調査において農業分野で土壌からの PMMoV の検出として用いられている ELISA（Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay）を試みることにする。調査方法として、OSSs の普及するスリランカにて家庭用 Pit Latrine および似た型である Soakage pit のそれぞれ 2 カ所を対象とし、各 OSSs 近傍にて 0.5 m および 1.0 m の深さで土壌を採取し PMMoV 濃度を測定した。結果は、複数の個別排水処理施設にて PMMoV が検出され、地点によって差があることがわかった。また、深さ 0.5 m よりも深さ 1.0 m の方が検出量の高い傾向にあった。これらの調査結果を踏まえ、今後の調査では採取地点を絞り OSSs 近傍および距離をとった位置の土壌を採取することで、OSSs からの距離に応じウイルスがどのように輸送されるのか推定する予定である。

（英文）

In many parts of the developing countries, On-Site Sanitation (OSS) systems is prevalent for treating human wastewater. Among them, pit latrines are one of the common types and designed for use with non-flushing toilets. However, with the increasing adoption of flush toilets, the pit latrines are unable to handle the increased wastewater volumes, potentially leading to insufficient control of pathogen risks. The effectiveness of OSS systems in reducing pathogen risks through soil infiltration remains unclear, necessitating further investigation. This study aimed to investigate the propagation of viruses in the soil surrounding operational OSS systems by measuring the presence of the human-

specific fecal contamination indicator virus, PMMoV (Pepper Mild Mottle Virus). Previous studies in our laboratory have quantified PMMoV using quantitative PCR, but this research attempted to use ELISA (Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay), a method commonly used for detecting PMMoV in agricultural field. In this study, soil samples were collected from two depths at household OSS sites in Sri Lanka, a country with widespread OSS use, and PMMoV concentrations were measured. The results showed that PMMoV was detected at some OSS sites, with variations between locations. Additionally, higher concentrations were generally found at a depth of 1.0 m compared to 0.5 m. Based on these findings, future research will focus on selecting sites to collect soil samples both near and far from the OSS systems to estimate how viruses are transported with distance from the source.

2. 現地調査期間：2024年10月15日～10月29日

3. 調査背景

WHO とユニセフの報告書¹によると世界では約7億300万人が安全な水にアクセスできず、36億人が適切な衛生設備（他世帯と共有せず使用され、かつ排泄物が適切に処理される設備）を欠いている。2000年以降多くの水・衛生環境が改善されたものの、未だ適切なサービスを得ることのできない人々のいる現状に対し、持続可能な開発目標（Sustainable Development Goals ; SDGs）では2030年までに「すべての人々の水と衛生の利用可能性と持続可能な管理を確保する」¹ことを目標に掲げており、水・衛生環境に関して改善が求められている。し尿排水処理方法として、日本の都市部では下水道が主に使用されているが、世界的にみると、特に途上国や中進国では個別排水処理（On-Site Sanitation systems ; 以下 OSSs）が普及している。OSSsとは、家庭などから排出されたし尿排水を処理槽内に貯蔵し嫌気環境下で消化処理を行う仕組みであり、家庭で使用される OSSsには主に図1の種類が挙げられる。2000年以降、下水道接続人口は増加し続けているものの OSSsの増加率はより高く、2020年には OSSs 使用人口が下水道接続を使用する人数を初めて上回った²。この要因としては、国連の主導により世界的に屋外排泄をなくす取り組みが行われている中、OSSsが下水道と比較して費用が安く済み、かつ共同体でまとめて処理を行うことも可能であるため、特に農村部にて積極的に導入されていることが挙げられる。

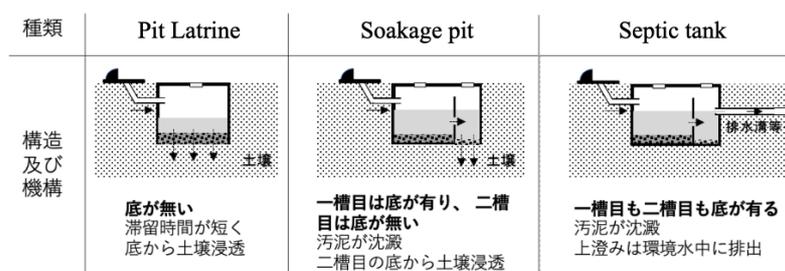


図1 OSSsの主な種類

このうち、低・中所得国を中心とした約 17 億人は非水洗式トイレ用の OSSs である Pit latrine を使用しており³、これは底がない筒に流入したし尿排水が比較的短い期間のうちに土壤に浸透する仕組みをとっている。また、Septic tank にて処理を行った後 Pit latrine にて土壤浸透を行う Soakage pit 型も存在する。特に Pit latrine は本来非水洗のトイレに接続されることを想定しているが、昨今はトイレの水洗化が進みトイレ排水量の増加に適応できず病原微生物リスクの抑制が不十分である可能性がある。しかし、個々の OSSs によって設計や運用状況が異なるため、実際の OSSs 処理による病原リスク低減効果がどの程度なのかは明らかでない。また、OSSs 処理に加え土壤浸透による病原リスクの低減効果について不明な点が多く、特に飲み水として井戸水が使用されている地域では地下水の汚染からの水系感染症の要因となる可能性があると考えられる。土壤浸透によるウイルスの伝搬は水文学的、そして土壤の条件に大きく依存することから、OSSs のみならず周囲の地理的な要因も含めて実態を探ることが必要である。

4. 調査目的

本研究では実態を探るため、実際に途上国で運転している OSSs からの糞便由来病原微生物の流出状況推定を目的とし、現地では OSSs 周辺土壤を採取し土壤中の糞便汚染指標を測定した。ヒト糞便汚染の指標微生物としては大腸菌が一般的に使われるが、この指標は病原細菌の挙動を表しているものの、病原ウイルスの挙動を示しているかは疑わしい。特に OSSs 内の処理効率や土壤中の挙動は、サイズおよび粒子としての特性が大きく異なると考えられる。そこで本研究では、非病原性かつヒト糞便由来ウイルスである PMMoV (Pepper Mild Mottle Virus) を測定することで病原ウイルスの挙動を推定することとした。以前研究室では PMMoV 濃度を定量 PCR にて測定してきたが、共存物質の影響や定量限界値が高いことから、農業分野で土壤からの PMMoV の検出として良く用いられている ELISA (Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay) を試みた。今回の渡航にて複数の形式や状態が異なる OSSs を対象とした調査を行うことで、今後の研究における調査の方向性を見出していくことを目的とした。

5. 調査方法

調査期間 2024 年 10 月 15 日から 10 月 29 日以内に、スリランカ国のゴール県にて OSSs 周辺の土壤を採取し、ヒト糞便汚染指標ウイルスを測定した。また、土壤含水量についてもオーブン乾燥を行い前後の重量を調べることで測定した。

本調査は共同研究を行っている Ruhuna 大学 (スリランカ国、ゴール県) と協力して進め、サンプリングは Ruhuna 大学の学生の協力のもと行った。また、ウイルスの測定は Ruhuna 大学の実験室にて行った。

(1) 調査対象国・地域について

スリランカ国は、人口 2204 万人、国民 1 人当たり GDP が 3474 米ドル⁴であり、中所得国⁵に分類される。熱帯地域に属しているが、面積が約 6 万 5000 m³ と比較的小さいにも関わらずそれぞれの場所の地理的条件に応じて気候が大きく異なっている。今回調査対象としたゴール県はスリランカの南部に位置し、年平均気温は 28 °C、年平均降水量は 2485.6 mm であり、湿度が約 80 % と高温多湿の気候となっている⁶。明確な区切りはないものの乾季と雨季が存在し、1 月から 3 月にかけては特に降水量が少なく、10 月から 12 月に降水量が多くなっている。

衛生施設に関しては、下水道接続は人口のおよそ 2.4 % にとどまっており、その整備は主に西部州を中心に整備されている⁷。人口のほとんどは OSSs を使用しており、表 1 に示したスリランカ国の衛生施設に係る型別の割合によると、人口のうち 83.1 % が水洗トイレに接続される Pit Latrine にてし尿を処理している。これに関し、非水洗トイレの接続が想定されている Pit latrine への水洗トイレの接続は不十分な処理を引き起こす可能性があり、さらにスリランカでは飲用水における地下水のカバー率が約 40 %⁸ となっていることから、スリランカにおいて OSSs 由来の成分による地下水の汚染や、飲用水への影響の可能性が考えられる。

表 1 スリランカ国の衛生施設に係る型別の割合

Table 2.2 Household sanitation facilities								
Percent distribution of households and <i>de jure</i> population by type and location of toilet/latrine facilities, according to residence, Sri Lanka 2016								
Type and location of toilet/latrine facility	Households				Population			
	Urban	Rural	Estate	Total	Urban	Rural	Estate	Total
Improved, not shared facility								
Flush/pour flush to piped sewer system	11.1	1.9	0.6	3.3	11.3	2.0	0.5	3.4
Flush/pour flush to septic tank	4.5	1.5	3.7	2.1	4.6	1.5	3.3	2.1
Flush/pour flush to pit latrine	72.1	84.6	72.0	82.1	72.3	85.9	73.4	83.1
Ventilated improved pit (VIP) latrine	1.1	1.5	2.1	1.4	1.3	1.5	2.1	1.5
Pit latrine with slab	1.9	0.9	0.3	1.0	2.0	0.9	0.4	1.1
Composting toilet	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Total	90.8	90.3	78.7	89.9	91.5	91.7	79.8	91.2
Shared facility¹								
Flush/pour flush to piped sewer system	1.0	0.2	0.1	0.4	1.0	0.2	0.1	0.4
Flush/pour flush to septic tank	0.6	0.1	0.4	0.2	0.5	0.1	0.4	0.2
Flush/pour flush to pit latrine	5.5	7.2	16.3	7.3	4.6	6.1	15.6	6.3
Ventilated improved pit (VIP) latrine	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0
Pit latrine with slab	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Total	7.2	7.6	17.0	8.0	6.2	6.6	16.3	6.9
Unimproved facility								
Flush/pour flush not to sewer/septic tank/pit latrine	1.1	0.3	0.6	0.4	1.2	0.2	0.5	0.4
Pit latrine without slab/open pit	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.0	0.2
Bucket	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
No facility/bush/field	0.4	1.3	3.0	1.2	0.4	1.1	2.6	1.0
Other	0.4	0.2	0.6	0.2	0.5	0.2	0.7	0.2
Total	2.0	2.0	4.3	2.1	2.2	1.7	3.9	1.9
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Number	4,309	21,778	1,122	27,210	17,212	82,864	4,492	104,569

¹ Facilities that would be considered improved if they were not shared by two or more households.

(2) 調査対象 OSSs について

ゴール県の許可を得た一般家庭にて、実際に運転中の 4 ヲ所の OSSs を対象とした。各 OSSs は、大抵が庭などに活用されている家のすぐ側の土地に埋められる形で設置されている。4 ヲ所のうち 2 ヲ所は Soakage pit (以下 L1、L2)、他 2 ヲ所は Pit latrine (以下 L3、L4) の型であった。Soakage pit を対象とした 2 家庭は、どちらもゴール県の南部にある Hapugala 地区に位置しており、位置を図 2 に示す。Ruhuna 大学工学部 Pit latrine を対象とした 2 家庭は、ゴール県の南部にある Kathaluwa 地区にあり海に面した地域である。位置を図 3 に示す。調査対象としたそれぞれの OSSs につき、以下記述する。また、記載する OSSs の情報は Ruhuna 大学の学生の協力のもと、所有者に口頭での聞き取り調査を行った結果である。



図 2 L1、L2 の位置 (Hapugala 地区)



図 3 L3、L4 の位置 (Kathaluwa 地区)

① Soakage pit

対象とした 2 ヲ所 (以下 L1、L2 とする) はどちらもゴール県 Hapugala 地区の家庭用 Soakage pit である。Hapugala 地区は海岸から 3 km ほど離れており、住宅地や小さな商店が見られる地域である。調査協力を依頼した Ruhuna 大学の工学部キャンパス中央に位置している。

L1 は、Ruhuna 大学敷地内に位置する大学職員の住宅脇に設置されている。正方形の形をした Soakage pit であり、家屋から数 m 離れた斜面の下に埋められている。その幅は 2m、深さは 3 m であり、設置年数は 10 年である。土壌を採取する様子を図 4 に示す。周囲は雑草で埋め尽くされており、あまり人の立ち入らない場所であった。

L2 は一般家庭の正方形の形をした Soakage pit であり、家屋のすぐそばにある庭に設置されている。その幅は 1.5 m、深さは 2.5 m であり、設置年数は 2 年である。土壌を採取する様子を図 5 に示す。Soakage pit の真上は人の通り道となっていた。所有者はガーデニングを行っており、Soakage pit のすぐ横では多くの植物が育てられている様子であった。



図4 L1にて土壌採取の様子



図5 L2にて土壌採取の様子

② Pit latrine

対象とした2カ所はどちらもゴール市 Kathaluwa 地区の家庭用 Pit latrine である。両方とも同じ所有者を持ち、同じ家の庭にて数 m 離れた土地にある。Kathaluwa 地区は海に面した地区であり、対象家庭は海岸線からおおよそ 300m 離れた地点にある。2002 年のスマトラ沖地震の際には津波の被害を受けており、海から近いため地下水位も高く土壌中の含水率が高いのではないかと予測された。

L3 は一般家庭にて運用中の Pit latrine である。その幅は 1.5 m 、深さは 2.5 m であり、設置年数は 60 年である。設置当時より非常に長い年月が経過しており、所有者によると大雨により度々タンクから内部の水が溢れてしまうことが懸念となっており、近く新しいタンクへ変更する予定である。採取の数日前にも大雨が降っており、測定に影響が出ている可能性がある。土壌を採取する様子を図 6 に示す。

L4 は、L3 と同じ家庭のもつ Pit latrine であり、その幅は 1.0 m 、深さは 2.5 m 、設置年数は 40 年である。L3 とは近い距離にあるが、所有者によるとこちらは大雨により溢れるなどの現象は起きていないとのことであった。土壌を採取する様子を図 7 に示す。

どちらもガーデニングが行われている庭内にあり、真上もしくはその側には多様な植物が植えられていた。



図6 L3にて土壌採取の様子



図7 L4にて土壌採取の様子

(2) 土壌の採取方法

各 OSSs の近傍 0.2m 地点から、深さ 1.0m および 0.5m をハンドオーガー DIK-100A (大起理化工業) を用いて垂直に掘削し土壌を採取した。採取した土壌はプラスチック製の袋に密閉して保管し、採取後は Ruhuna 大学の実験室にて 4°C で保管した。

(3) 土壌サンプルからのウイルス抽出方法

以下に土ウイルス抽出方法を示す。

- ① 各土壌サンプルを 2 g をはかりにて計測し、先行研究⁹にて提案された抽出液 (0.1% Tween20 含む pH7.0 リン酸緩衝液) 8 mL を加えた。
- ② 遠沈管に入れ、3 分間手振りの攪拌を行った。
- ③ 遠心機 (Gemmy 社 TABLE TOP CENTRIFUGE PLC-02) にて 2300g で 4 分間遠心にかけた。
- ④ 上澄みを数 mL 採取し、4°C で保存した。

(4) ウイルス抽出液の PMMoV 測定方法

以下に PMMoV の測定方法を示す。手順は DAS-ELISA キット (日本植物防疫協会製) に従って行った。なお、手順⑧における測定の手順は、本来マイクロプレートリーダーでの測定が想定されているが、現地でのプレートリーダーへの適応が困難であったため、ポータブル吸光光度計 DR1900 を用いて吸光度の測定を行った。吸光度の測定に関し、帰国後日本にて別途問題がないか確認する実験を行い、精度に問題のないことを確認した。

- ① ELISA 用 96well プレート (以下プレート) の各 well に希釈済みコーティング液 (ウサギ γ -グロブリン、0.05% NaN_3) 200 μL を入れ、密閉したのち 37°C で 3 時間静置した。

- ② プレートを PBS-T を用いて 3～4 回洗浄した。
- ③ プレートの各 well に各サンプルのウイルス抽出液を 200 μ L 入れ、密閉したのち 37°C で 2 時間静置した。
- ④ プレートを PBS-T を用いて 3～4 回洗浄した。
- ⑤ プレートの各 well に希釈済みコンジュゲート液 (アルカリフォスファターゼ標識ウサギ γ -グロブリン、1%牛血清アルブミン、0.05% NaN_3) 200 μ L を入れ、密閉したのち 37°C で 3～4 時間静置した。
- ⑥ プレートを PBS-T を用いて 3～4 回洗浄した。
- ⑦ 10%ジエタノールアミン溶液に p-ニトロフェニルリン酸二ナトリウム (1 mg/mL) を溶かしたものを基質溶液とし、プレートの各 well に入れ密閉したのち、アルミホイルに包み 30 分間静置した。
- ⑧ プレート内の各 well から 200 μ L を採取し、純水を用いて 20 倍希釈を行った。希釈後速やかにポータブル吸光光度計 DR1900 を用いて、波長 405nm で吸光度測定を行った。

6. 調査結果

(1) PMMoV の測定結果

以下図 8 に各地点、サンプルごとの PMMoV の測定結果を示す。

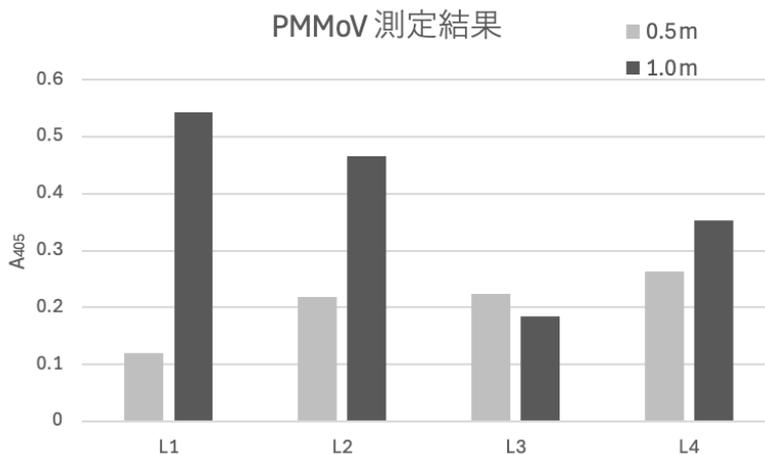


図 8 各地点での深さ 0.5 m、1.0 m の土壌における PMMoV の測定結果

(2) 含水率の測定結果

以下図 9 に各地点、サンプルごとの含水率の測定結果を示す。

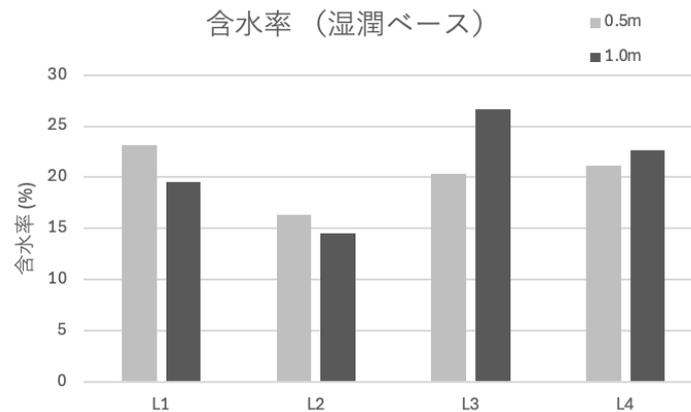


図9 各地点での深さ 0.5 m、1.0 m の土壌における含水率の測定結果

7. 考察

L3 以外のどのサンプルも、深さ 1.0 m のポイントから採取したサンプルの方が PMMoV の濃度が高かった。これは、Soakage pit および pit latrine の構造よりタンクから土壌に浸透する部分（底部）により近いほどウイルスの濃度は高いと想定されていたことと相反しない結果である。反面、L3 では深さ 1.0 m のポイントの方が PMMoV 濃度は低かった。これは、この Pit latrine が最近の現象として内部の水が溢れてしまうほど設置から非常に長い年月が経っていたことで、土壌のウイルス移動に影響を及ぼしていることが考えられる。また、そのような氾濫現象が起きているにも関わらず、他の場所と比較して PMMoV 濃度が低かったことも予想に反する結果であった。このような Pit latrine は汚泥を引き抜くか、もしくは埋めて新しい OSSs を作ることが推奨されており、実際に近いうちに建て直す意向を所有者から伺った。

L1、L2 と L3、L4 を比較すると、前者の Soakage pit は前段階として Septic tank による処理が行われるため、Pit latrine よりも処理効率が良好であると考えられるが、結果から Soakage pit の方が周囲の土壌からより多くの PMMoV が検出されていた。予想に反した結果となったが、実際に Soakage pit の方が処理として pit latrine ほど有効でないのか確かめるためにも、引き続き調査を行う必要があると考えられる。

含水率に関しては、L1、L2 では深度が深くなるほど含水率が低くなり、反対に L3、L4 では高くなる傾向が見られた。土壌の水分量は気候、土壌条件等様々な要因によって変化するものであるが、後者は一因として海に近いことから地下水位が高い可能性が挙げられる。

7. 今後の研究への展望

今回の調査により、2 種類の型、そして使用年数が異なる 4 つの OSSs についてヒト糞便汚染指標ウイルス PMMoV の濃度を測定することができた。これにより、スリランカの土壌にて DAS-ELISA を適用したウイルス測定方法が可能であると確認するとともに、結果を

もとに次回の調査に役立てたいと考える。また、現在 ELISA における PMMoV ポジティブ・コントロールを用いた定量が可能であることを確認しており、今後活用したいと考える。次回の調査内容として、今回の採取ポイントのうち複数ポイントを選択し、OSSs の近傍だけでなく OSSs 中心より複数方向へ離れたポイントから土壌を採取し PMMoV を測定することを想定している。このことにより、OSSs からの距離に応じウイルスがどのように輸送されるのか推定することが期待できる。同時に、今回のタンクの情報等に加え、家族構成や流入量などから、普段どのように運用されているのかを詳しくヒアリングする予定である。また、スリランカでの調査とは別に、日本にて実験的に異なる組成の土壌を用意し、それらを対象にウイルスの吸着量を測定する実験を行うことで、土壌のウイルス阻止能力に関わる要因を探ることを今後の展望とする。

注

1. 外務省国際協力局 「持続可能な開発目標 (SDGs) と日本の取組」(2025/1/3 アクセス)
https://www.mofa.go.jp/mofaj/gaiko/oda/sdgs/pdf/SDGs_pamphlet.pdf
2. WHO, JMP, UNICEF (2021) : PROGRESS ON HOUSEHOLD DRINKING WATER, SANITATION AND HYGIENE 2000-2020 FIVE YEARS INTO THE SDGs
https://data.unicef.org/wp-content/uploads/2022/01/jmp-2021-wash-households_3.pdf
3. Graham, J.P., Polizzotto, M.L (2013) “Pit latrines and their impacts on groundwater quality: a systematic review. Environmental Health Perspect” 121, 521–530.
<https://doi.org/10.1289/ehp.1206028>.
4. 外務省 「スリランカ民主社会主義共和国基礎データ」(2025/1/3 アクセス)
<https://www.mofa.go.jp/mofaj/area/srilanka/data.html>
5. JICA 「主要国所得階層別分類 (国連及び世銀の分類による。)」(2025/1/3 アクセス)
https://www.jica.go.jp/activities/schemes/finance_co/about/standard/class2012.html
6. time and date 「Climate & Weather Averages in Galle, Sri Lanka」(2025/1/12 アクセス)
<https://www.timeanddate.com/weather/sri-lanka/galle/climate>
7. JICA 「スリランカ国下水セクター開発計画策定プロジェクト(第 I 期)(2017)」(2025/1/3 アクセス)
https://openjicareport.jica.go.jp/pdf/12307880_01.pdf
8. Suresh Indika, Yuansong Wei, et al (2022)“Groundwater-Based Drinking Water Supply in Sri Lanka: Status and Perspectives” Water 2022, 14(9), 1428
<https://www.mdpi.com/2073-4441/14/9/1428>
9. 井西一葉 (2023) 「途上国における個別排水処理(オンサイトサニテーション) の周辺土壌からのウイルス抽出方法の検討」 令和 5 年度お茶の水女子大学卒業論文

参考文献

Sri Lanka Demographic and Health Survey 2016 (2025/1/3 アクセス)

<https://www.statistics.gov.lk/Health/StaticalInformation/DHS#gsc.tab=0>

柴尾映里奈 (2022) 「オンサイトサンネーション由来の病原指標微生物の状況調査 ～スリランカ・ベトナムの事例～」 令和4年度お茶の水女子大学卒業論文