

I S S N 1343-2370

# 茨城県衛生研究所年報

第 36 号

Annual Report of Ibaraki Prefectural  
Institute of Public Health

1 9 9 8

茨城県衛生研究所

---

茨城県衛生研究所年報 第36号

平成10年10月1日発行

編集兼発行 茨城県衛生研究所

水戸市笠原町993-2

電話029-241-6652

印刷 株式会社高野高速印刷

水戸市東原2-8-1

電話 029-231-0989

---



# 目 次

## 第1章 総 説

1 沿 革	3
2 組織と業務内容	4
3 職員の配置	4
4 平成9年度歳入歳出決算書	6
5 重要な機械及び器具等	7
6 庁舎平面図	10

## 第2章 業務の概要

1 微生物部	15
2 環境保健部	20
3 食品薬品部	22
4 生活環境部	25

## 第3章 調査研究

1 1997～1998年の茨城県におけるインフルエンザの流行	29
Epidemiologic Studies of Infuruenza in Ibaraki Prefecture(1997～1998Season)	
永田紀子, 根本治育, 原 孝, 増子京子, 藤咲 登	
2 急性脳症患者の髄液からのインフルエンザウイルスゲノムの検出	34
Detection Infuruenza Viruse in cerebrospinal fluid of acute encephalitis and	
encephalopaihy by polymerase chain reaction	
永田紀子, 根本治育, 原 孝, 増子京子, 藤咲 登	
3 平成9年度日本脳炎感染源調査	38
Epidemiologic Survey of Japanease Encephalitis in Ibaraki Prefecture 1997	
根本治育, 永田紀子, 原 孝, 増子京子, 藤咲 登	
4 メグスリノキのSOD様活性	42
Superoxide Dismutase-like Activities of <i>Acer nikoense</i> MAXIM.	
青木和子, 上野清一, 石崎睦雄	
5 茨城県産ウバガイ(ホッキガイ)等の麻痺性貝毒	45
村上りつ子, 山本和則, 真原 進, 小室道彦, 山口克枝, 平岡洋典, 野口玉雄	
6 平成9年度外部精度管理調査結果について	47
The Results of External Quality Control on the Analytical Measures of Precision	
and Accuracy for Waterworks Groups in Ibaraki Prefecture	
南指原浩一, 久保田かほる, 鈴木八重子, 小山田則孝	



# 1997～1998年の茨城県におけるインフルエンザの流行

永田紀子, 根本治育, 原 孝, 増子京子, 藤咲 登  
(茨城県衛生研究所)

Epidemiologic Studies of Infuruenza in Ibaraki  
Prefecture (1997～1998Season)

Noriko NAGATA, Haruyasu NEMOTO, Takashi HARA, Kyoko Mashiko  
and Noboru FUJISAKU

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

## はじめに

近年, インフルエンザの流行は, A型(ソ連型, 香港型)及びB型の混合感染で発生することが多くなっている。また, 主流流行株であるA香港型ウイルス(A香港H3N2)が, 鶏赤血球の凝集能の低下, 鶏卵での増殖能低下など, 生物学的性状を変化させており, 抗原性の不連続変化の出現に対する警戒が叫ばれている。昨年8月に, 香港政府は, 5月に死亡した3歳男児よりトリ型インフルエンザウイルス(H5N1)が確認されたと発表した。トリからヒトへの直接感染が確認されたのは, 今回が初めてである。感染者と接触者との抗体保有調査の結果などから, ヒトからヒトへの感染力は相当低いとされているが, 今後の動向が注目される。

当研究所においても, 流行起因ウイルスの早期把握を目的として, インフルエンザウイルスの分離を行っている。

今シーズンの茨城県におけるインフルエンザの流行状況について, 医療機関及び保健所の協力により調査を実施したので, その結果について報告する。

## 検査対象及び方法

感染症サーベイランス検査定点及びインフルエンザ様疾患集団発生時に採取した咽頭拭い液, うがい液を検査材料とした。

### 1. 検査対象

集団発生	小学校17校	153名
検査定点	20検査定点	251名

## 2. 方法

### (1) ウイルス分離

インフルエンザウイルスの分離は, 咽頭拭い液, うがい液を検査材料として, MDCK細胞による細胞培養法で行った。

### (2) ウイルスの同定

インフルエンザ分離株の同定は, 国立感染症研究所(WHOインフルエンザ・呼吸器ウイルス協力センター)から分与されたフェレット感染免疫血清を用いた。分離ウイルスの同定, 抗原解析は, 赤血球凝集(HA)反応, 赤血球凝集抑制(HI)反応により, 厚生省伝染病流行予測調査検査術式に基づき行った。使用赤血球は, モルモット赤血球を用いた。

「使用免疫血清」

A/Beijing /262/95 (H1N1)

A/Wuhan/359/95 (H3N2)

B/Mie ? 1/93

B/Guangdong/05/94

「使用抗原」

A/Beijing /262/95

A/Wuhan/359/95

B/Mie/1/93

B/Guangdong/05/94

## 結果及び考察

### 1. 患者発生状況

患者発生状況調査は, 感染症サーベイランス情報のインフルエンザ様疾患患者発生状況により実施した。

(図1)

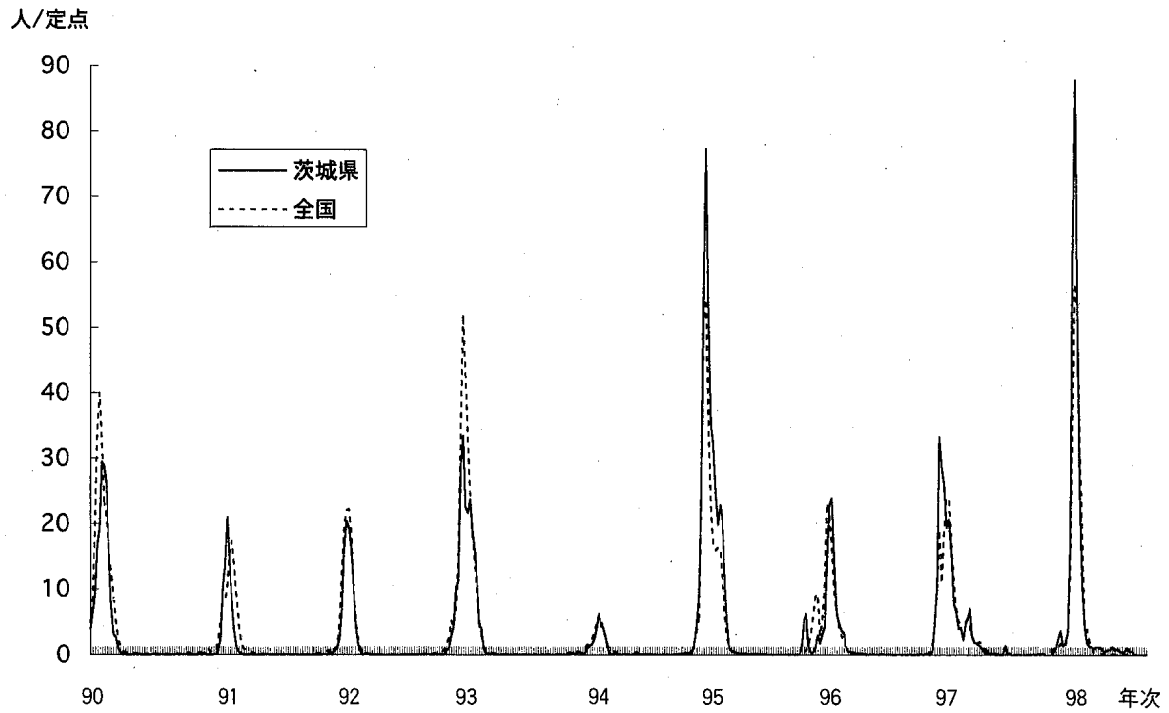


図1 定点当たり患者発生数年次推移

今シーズンの茨城県におけるインフルエンザ様疾患の患者発生は、1998年1月中旬頃（3週）より急激に増加し、1月下旬（4週）から2月上旬（5週）に発

生のピークをむかえ、2月下旬（8週）には減少傾向を示す鋭い一峰性となった。（図2）

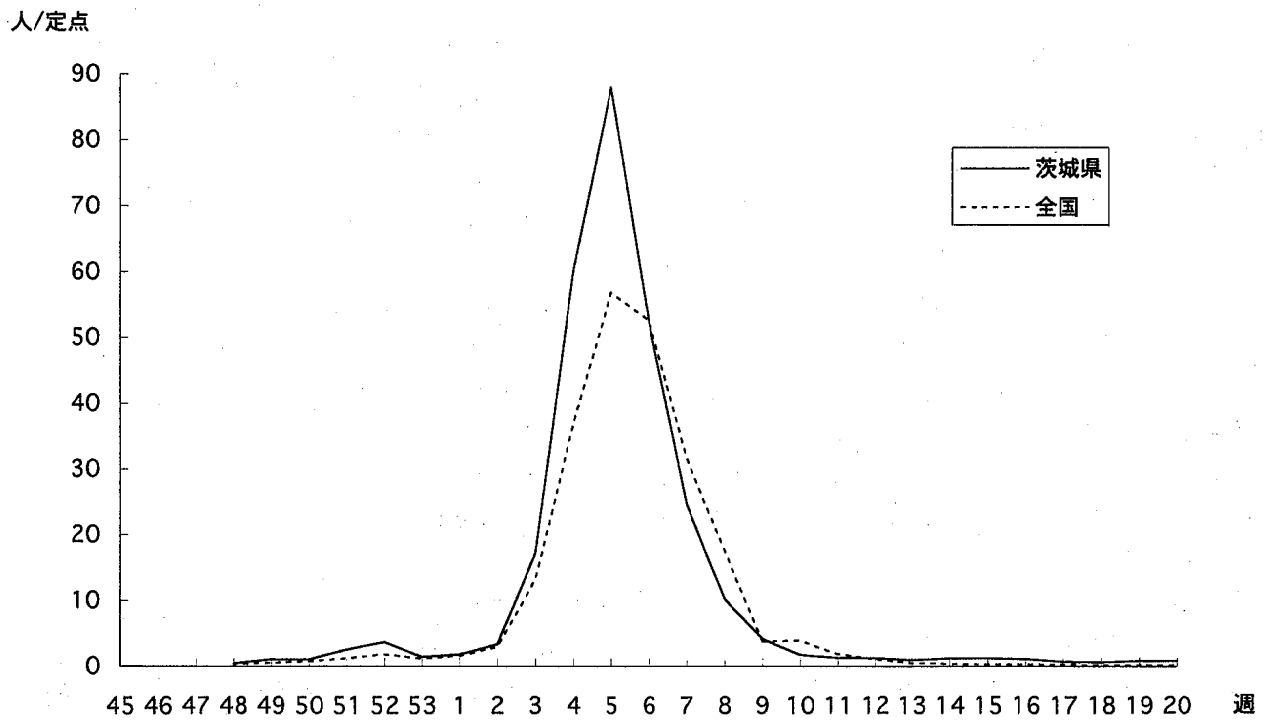


図2 定点当たり患者発生数推移（1997～98）

表1 インフルエンザ様疾患集団発生の年次推移

シーズン	施設数	在籍者数	患者数	休校	学年閉鎖	学級閉鎖
1989～1990	65		3,188	5	16	44
1990～1991	29		1,051	0	12	17
1991～1992	10	433	251	0	1	9
1992～1993	43	1,934	1,042	5	7	31
1993～1994	5	221	138	1	0	4
1994～1995	28	3,388	1,315	7	2	19
1995～1996	17		535	3	4	10
1996～1997	25	1,956	930	4	5	16
1997～1998	362	31,013	18,572	26	112	224

表2 インフルエンザウイルス検査状況（1997～1998シーズン）

管内保健所名	検体数(人)			ウイルス分離数			分離率(%)
	検査定点	集団発生	計	検査定点	集団発生	計	(分離数/検体数)
水戸保健所	4	17	21	2	6	8	38.10%
笠間保健所	142	10	152	53	1	54	35.53%
ひたちなか保健所	5	18	23	1	7	8	34.78%
大宮保健所	10	10	20	4	3	7	35.00%
常陸太田保健所	5	10	15	2	2	4	26.67%
日立保健所	15	18	33	6	6	12	36.36%
鉾田保健所	5	10	15	5	6	11	73.33%
潮来保健所	5	10	15	4	4	8	53.33%
竜ヶ崎保健所	5	7	12	4	0	4	33.33%
土浦保健所	7	13	20	5	5	10	50.00%
つくば保健所	18	10	28	10	7	17	60.71%
下館保健所	5	10	15	2	4	6	40.00%
水海道保健所	5	10	15	4	4	8	53.33%
古河保健所	20	0	20	12	0	12	60.00%
合計	251	153	404	114	55	169	41.83%

1月下旬(4週)には、1定点当たり60.00人、2月上旬(5週)には、87.98人とサーベイランス事業を始めて以来、最高の報告数となった。全国情報においても、1定点当たりの報告数が50人を超えている都道府県が32あり、今シーズンの流行が全国的なものであり、例年に比べて大きなものであることがうかがえる。

インフルエンザ様疾患の集団発生の状況及び年次推移を表1に示した。

今シーズンの茨城県における集団発生は、1998年1月16日に日立保健所管内の小学校で発生したのが初発で、362施設において、18,572人の患者数であった。

これは、昨年の25施設に比べ10倍以上の発生数であり、患者数もここ数年では最高の報告数である。また、全国の患者数も、1,274,643人と過去10年間で最高の報告数であり、昨年の276,235人を大きく上回った。

感染症サーベイランス情報での患者発生状況と集団発生での患者発生状況比較すると、患者発生の動向は同様の傾向を示した。

## 2. ウイルス分離状況

咽頭拭い液(集団発生時の咽頭うがい液153件を含む)404件についてのインフルエンザウイルスの分離状況は、表2に示すとおりである。



20検査定点からのウイルス分離は、A香港型インフルエンザ（H3N2）が111株、Aソ連型インフルエンザ（H1N1）が3株分離された。ソ連型インフルエンザの分離は全国でも珍しく、今シーズンの全国の検出ウイルス数は10株であった。これに比べて、A香港型インフルエンザの検出ウイルス数は、3,914株と圧倒的に多く、このウイルスが流行の起因ウイルスで、Aソ連型インフルエンザは、散発的に加わったものと思われる。集団発生17施設の分離状況は、A香港型インフルエンザが55株であった。

茨城県における今シーズンのインフルエンザの流行は、A香港型ウイルスによるものが主流と考えられる。流行の規模を大きくした要因として、起因ウイルスが抗原変異を起こし、以前に流行した株やワクチン株のウイルスと抗原的に大きく相違していたことが考えられる。（表3）また、インフルエンザワクチンの接種率が極端に低くなったことも、一要因として考えられる。

#### まとめ

サーベイランス定点医療機関及びインフルエンザ様疾患集団発生患者から採取した咽頭拭い液・うがい液404件の検査をし、次の成績を得た。

1. 今シーズンの茨城県におけるインフルエンザの流行は、全国の流行時期とほぼ一致し、患者数も、全国と同様に前シーズンを大きく上回る大規模な流行であった。
2. 流行起因ウイルスは、A香港型（H3N2）インフルエンザウイルスであるが、散発的にAソ連型（H1N1）インフルエンザウイルスが加わった。
3. インフルエンザ分離株は、A香港型（H3N2）が111株、Aソ連型（H1N1）が3株であった。A香港型（H3N2）分離株は、A/佐賀/128/97に類似の株で、ワクチン株であるA/武漢/359/95の変異株であった。また、Aソ連型（H1N1）分離株は、A/武漢/371/95に類似の株で、ワクチン株であるA/北京/262/95の変異株であった。

表3 インフルエンザウイルス分離株の同定結果（代表株）

#### A香港型（H3N2）ウイルス

フェレット抗血清ウイルス抗原	A/秋田1/94	A/武漢/359/95	A/S.Africa/1147/96	A/佐賀/128/97
A/秋田/1/94	320	160	<10	<10
A/武漢/359/95	80	640	80	20
A/S.Africa/1147/96	160	640	640	80
A/佐賀/128/97	<10	80	160	640
A/茨城/29/98	80	40	80	1,280
A/茨城/24/98	1,280	160	80	1,280

#### Aソ連型（H1N1）ウイルス

フェレット抗血清ウイルス抗原	A/山形/120/86	A/山形/32/89	A/武漢/371/95	A/北京/262/95
A/山形/120/86	80	80	<10	<10
A/山形/32/89	20	160	20	40
A/武漢/371/95	<10	<10	320	160
A/北京/262/95	<10	<10	320	640
A/茨城/39/98	<10	10	320	160

参考文献

1. 厚生省：伝染病流行予測調査検査術式 平成7年度  
1995.
2. 厚生省：インフルエンザ様疾患患者報告 1990～  
1998.
3. 茨城県：茨城県感染症サーベイランス情報 1990～  
1998.
4. 根路銘 国昭ほか：本邦におけるインフルエンザサ  
ーベイランスシステムによる流行早期予測と対策. 日  
本臨床 (特集号 インフルエンザ) 29-36,1997.
5. 深谷 節子ほか：茨城衛研年報 34,27,1996.
6. 根本 治育ほか：茨城衛研年報 35,29,1997.

# 急性脳症患者の髄液からのインフルエンザウイルスゲノムの検出

永田紀子, 根本治育, 原 孝, 増子京子, 藤咲 登  
(茨城県衛生研究所)

Detection of Influenza Virus in cerebrospinal fluid of  
acute encephalitis and encephalopathy by polymerase chain reaction

Noriko NAGATA, Haruyasu NEMOTO, Takashi HARA, Kyoko Mashiko  
and Noboru FUJISAKU

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

## はじめに

近年, インフルエンザウイルスによると思われる急性脳症患者(小児)の報告が増え, 茨城県においても昨年度数名の死亡例の報告があったことから, 早期に診断可能なPT-PCR法によるウイルスゲノムの検出を試みた。

1997/98シーズンの茨城県におけるインフルエンザの流行は1998年1月中旬頃より急激に増加し, 1月下旬～2月上旬にかけてピークを迎えた。この流行に伴い1月下旬頃から, 県内の医療機関よりインフルエンザウイルスによると思われる脳炎・脳症患者(小児)の髄液の検査依頼が徐々に増え, ウイルス分離とRT-PCR法によるウイルスゲノムの検出を行ったので, その結果について報告する。

## 検査対象及び方法

感染症サーベイランスシステムを利用して, 県内の検査定点(医療機関)から以来された脳炎・脳症, 痙攣重症患者24件の髄液についてウイルス分離とRT-PCR法によるインフルエンザウイルスゲノムの検出を実施した。

ウイルス分離は, MDCK細胞による細胞培養法で行った。分離株の同定は, 国立感染症研究所(WHOインフルエンザ・呼吸器ウイルス協力センター)から分与されたフェレット感染免疫血清を用いた。

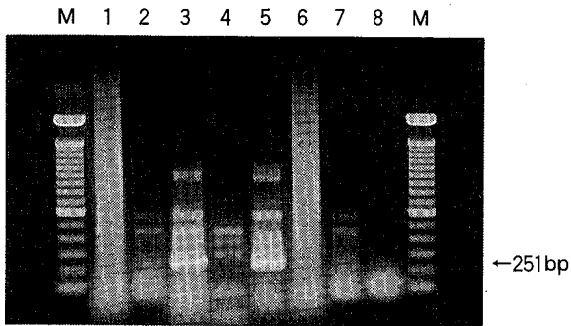
RT-PCR法については, 既報の方法で実施した。プライマーは, 近年流行しているAH3N2, AH1N1およびB型インフルエンザウイルスのHAゲノム領域で変異の少ない部位に設定されたものを用いた。

## 「使用プライマーの塩基配列」

1st 型(亜型)	配列位置	産物の長さ
A(H1N1) 5' > AGCAAAGCAGGGGAAAATA	1-20	727bp
5' > GCTATTCTGGGGTGAATCT	727-708	
A(H3N2) 5' > AGCAAAGCAGGGGATAATT	1-20	692bp
5' > AGAGACTGTGTCTCTCCCTG	692-673	
B 5' > CAGAAGCGTTGCATTTTCTAA	3-23	417bp
5' > TATCCTCTGAGAAGATTGGG	419-400	
2nd		
A(H1N1) 5' > GAGATTCGAAATATTCCTCA	419-438	216bp
5' > TTAGACGGGTGATGAACACC	634-615	
A(H3N2) 5' > CATGCAGTGCCAAACGGAAC	129-148	215bp
5' > TCATAAGGTAACAGTTGCT	379-360	
B 5' > AGGCAATAATTGTAATACTC	38-57	353bp
5' > GATTTTGTCTGTCGTGCA	390-371	

## 結果及び考察

急性脳炎・脳症、痙攣重積患者24件の髄液を検査した結果、ウイルス分離はできなかったが、RT-PCR法で脳症患者から2件のA(H3N2)ゲノムが検出された。(図1) 1stPCRでは、DNAバンドは検出されなかったが、2ndPCRでA(H3N2)に特異的なバンドが検出された。



M：サイズマーカー

1～7：髄液のNestedPCR産物、

8：陰性コントロール

図1 脳症患者髄液からのインフルエンザウイルスゲノムの検出

このA(H3N2)RT-PCR産物についてのシーケンスの結果は、今年当県で咽頭拭い液から検出されたインフルエンザウイルスA(H3N2)ゲノムと同じシーケンスを示し、脳症を起こしたと思われるウイルスに、特殊なシーケンスはみられなかった。(図2)

今回の脳炎・脳症患者7件については、咽頭拭い液が採取されなかったため、同一患者の咽頭拭い液からウイルス分離、ゲノムの検出をすることができなかった。次回からは脳炎・脳症患者からの咽頭拭い液、血液等の採取について協力を依頼した。

この7件の臨床症状をみると、全例に高熱・痙攣を認め、インフルエンザワクチンの接種歴はなかった。6例に意識障害を認め、7件のうち2件に何らかの後遺症を残しているが、死亡例はなかった。

さらに、7件の年齢をみると、5名が2歳未満、残りの2名も2歳と3歳で、平均1.42歳である。男女比では、男4人、女3人で差は認められなかった。(表1)

乳幼児において、ワクチンを接種した例では脳症の発症を認められないことや、罹患しても重症化が避けられることから低年齢層へのワクチン接種は有意義であると思われる。

痙攣重積患者17件の咽頭拭い液からは、インフルエンザウイルスA(H3N2)型を6件分離し、A(H3N2)ゲノムを9

件検出した。インフルエンザウイルスが何らかのかたちで関与した可能性が考えられる。

このように、インフルエンザウイルスによると思われる脳炎・脳症や、合併症など重症化するケースが多く報告され、今後のインフルエンザウイルスの動向が注目される。

(AH3N2ゲノムが検出された脳炎・脳症患者の病歴)

患者1：1歳6ヶ月の男児。主訴は発熱、痙攣、家族歴は特になし。

1月29日、発熱、近医を受診し投薬を受けた。1月30日深夜高熱となり解熱剤挿肛するが、4時50分頃全身強直間代性痙攣(チアノーゼ、眼球上転)にて、救急外来受診。酸素投与、ダイアアップ挿肛するが頓挫せず、セルシン静注にて頓挫するが意識回復なく緊急入院となる。

入院時現症：体温38.5℃、痙攣頓挫後意識レベル

JCSⅢ-200、項部強直(一)

頭部CT 浮腫(±) 出血(一)

髄液 初圧 8cmH2O

細胞数 6/3(Mo4.Poly2)TP21.2 Glu129

輸液管理、抗生剤静注を開始するが、入院後も痙攣を繰り返す。30日午後には、意識回復を認めるが、31日には、再び意識レベル低下(Ⅲ-100)、2月1日にはさらに意識レベルが低下(Ⅲ-200)し、午後には四肢の強直痙攣出現。いったんは頓挫するが、2月3日再び痙攣出現、頻回となる。初期より降圧剤等使用したが、意識レベルの改善みられず、徐々に脳圧亢進、経過より急性脳症と診断、後遺症あり。

患者2：1歳1ヶ月の女児。主訴は発熱、痙攣、家族歴は特にない。

3月16日16時頃発熱、嘔吐出現。18時頃全身強直間代性痙攣出現、緊急外来受診。ダイアアップ挿肛、セルシン静注、アレビアチン静注するが頓挫せず、緊急入院となる。

入院時現症：体温38.7℃、痙攣頓挫後意識レベル

JCSⅢ-300、項部強直(+)、頭部CT

浮腫(一)、出血(一)、

髄液 初圧 24cmH2O

細胞数 0/3 TP13 Glu108

輸液管理、酸素投与、抗生剤静注を開始、一度痙攣はおさまったが、入院後再び痙攣出現、ラボナル静注にて頓挫する。16日、23時頃覚醒、3月17日、5時頃には活動性、追視もみられた。3月18日に意識回復、起立可となり髄液圧低下を認める。痙攣前後で精神運動発達に著変なく全身状態良にて3月23日退院。

A/Ibaraki/2/98	1	<u>CATGCAGTGCCAAACGGAACGCTAGTGAAAACAATCACGAATGACCAAATTGAAGTGACT</u>	60
A/Ibaraki/12/98	1	.....	60
Liquor139/98	1	..... *****	60
A/Ibaraki/2/98	61	AATGCTACTGAGCTGGTTCAGAGTTCCTCAACAGGTAGAATATGCGACAGTCCTCACCGA	120
A/Ibaraki/12/98	61	.....	120
Liquor139/98	61	..... *****	120
A/Ibaraki/2/98	121	ATCCTTGATGGAGAAAACGCACACTGATAGATGCTCTATTGGGAGACCCTCATGTGTGAT	180
A/Ibaraki/12/98	121	.....	180
Liquor139/98	121	.....G..... *****	180
A/Ibaraki/2/98	181	GGCTTCCAAAATAAGGAATGGGACCTTTTTGTTGAACGCAGCAAAGCCTACAGCAACTGT	240
A/Ibaraki/12/98	181	.....	240
Liquor139/98	181	..... *****	240
A/Ibaraki/2/98	241	TACCCTTATGATGTGCCGGATTATGCCTCCCTTAGGTCACCTAGTTGCCTCATCCGGCACC	300
A/Ibaraki/12/98	241	.....	300
Liquor139/98	241	..... *****	251
A/Ibaraki/2/98	301	CTGGAGTTTAACAATGAAAGCTTCAATTGGACTGGAGTCGCTCAGAATGGAACAAGCTTT	360
A/Ibaraki/12/98	301	.....	360
Liquor139/98	251	..... .....	251
A/Ibaraki/2/98	361	GCTTGCAAAGGAGATCTATTAAGTTTCTTTAGTAGATTGAATTGGTTGCACCAATTA	420
A/Ibaraki/12/98	361	.....	420
Liquor139/98	251	..... .....	251
A/Ibaraki/2/98	421	AAATACAAATATCCAGCACTGAACGTGACTATGCCAAACAATGACAAATTTGACAAATTG	480
A/Ibaraki/12/98	421	.....	480
Liquor139/98	251	..... .....	251
A/Ibaraki/2/98	481	TACATTTGGGGGTTCCACCACCCGAGTACGGACAGTGACCAAACCAGCCTATATGCTCAA	540
A/Ibaraki/12/98	481	.....	540
Liquor139/98	251	..... .....	251
A/Ibaraki/2/98	541	GCATCAGGGAGAGACACAGTCTCT	564
A/Ibaraki/12/98	541	.....	564
Liquor139/98	251	..... .....	251

図2 髄液から検出されたRT-PCR産物A(H3N2)のシーケンス・咽頭ぬぐい液から検出されたインフルエンザウイルスA(H3N2)のシーケンスの比較

表1 脳炎・脳症患者からのインフルエンザウイルスゲノムの検出

患者	年齢	性	発症年月日	採取年月日	臨床診断名	主 訴	RT-PCR
1	1才	女	1月29日	2月1日	急性脳症	発熱, 痙攣, 意識障害	(-)
2	2才	女	2月1日	2月6日	限局性脳炎	発熱・左上肢麻痺	(-)
3	1才	男	1月29日	1月30日	急性脳炎	発熱, 痙攣, 意識障害	AH3N2(+)
4	1才	男	2月7日	2月8日	急性脳症	発熱, 痙攣, 意識障害	(-)
5	1才	女	3月16日	3月17日	急性脳症	発熱, 痙攣, 意識障害	AH3N2(+)
6	1才	男	2月7日	2月16日	急性脳症	発熱, 痙攣, 意識障害	(-)
7	3才	男	2月11日	2月12日	急性脳症	発熱, 痙攣, 意識障害	(-)

まとめ

脳炎・脳症を起こした患者の髄液からA(H3N2)ゲノムが検出されたことから、インフルエンザウイルスにより引き起こされた可能性が強く示唆された。

また、脳炎・脳症を起こした患者の年齢をみると全例が4歳未満であり、インフルエンザワクチンの接種歴のない幼児に重症化するケースが多く見られた。このことから、幼児期のワクチン接種が検討課題であると思われる。

さらに、インフルエンザウイルスによる脳炎・脳症や肺炎等の合併症を起こした重症患者には、早期の診断が望まれるため、迅速かつ高感度な検査法として、RT-PCR法は有意義な検査法であると思われる。

尚、本文の要旨は第57回日本公衆衛生学会総会(1998, 10.岐阜)において発表した。

参考文献

1. 森下 高行ほか：PCR法によるインフルエンザ感染症の迅速診断—インフルエンザウイルスHA遺伝子のうがい液からの検出—, 感染症誌66(7)：944-949,1992.

2. 山田 明ほか：PCR法によるインフルエンザウイルスの遺伝子診断。日本臨床(特別号 感染症)：239-243,1992.

3. 清水 秀明ほか：Nested PCR法によるインフルエンザウイルスの検出。感染症誌71(6)：522-526,1997.

4. 清水 秀明：Nested PCR法によるインフルエンザウイルスの検出法。日本臨床(特集号 インフルエンザ)：4-5,1997.

5. 北橋 智子ほか：A型インフルエンザウイルス(H3N2)のMDCK細胞による分離とPCRの比較, 臨床とウイルスVol.23/No3：165-169,1995.

6. 富樫 武弘ほか：インフルエンザ流行中の小児期脳炎・脳症, 日本臨床(特集号 インフルエンザ)：201-207,1997.

7. 鶴岡 浩志ほか：インフルエンザウイルス血症, 日本臨床(特集号 インフルエンザ)：216-220,1997.

8. 中島 捷久：神経病原性を支配するインフルエンザウイルスの遺伝子。日本臨床(特集号 インフルエンザ)：195-200.

# 平成9年度日本脳炎感染源調査

根本治育, 永田紀子, 原 孝, 増子京子, 藤咲 登  
(茨城県衛生研究所)

## Epidemiologic Survey of Japanese Encephalitis in Ibaraki Prefecture 1997

Haruyasu NEMOTO, Noriko NAGATA, Takashi HARA, Kyoko Mashiko  
and Noboru FUJISAKU

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

### はじめに

わが国における日本脳炎患者の発生は年々減少し、全国日本脳炎情報(日本脳炎患者個人票)によると患者数は、平成4年から一桁の発生数である。しかし、日本脳炎ウイルスの汚染率は低下傾向がみられず、依然として日本脳炎患者の発生が危惧されている。日本脳炎は感染発病すると重篤となり、死亡に至る例も多く予後は必ずしも良好とは言えない疾患であるためにウイルスの浸淫を適切に捕らえ流行状況を把握し予防対策を講じることが必要である。ブタは日本脳炎ウイルスに感受性が高く、なお日本脳炎ウイルスの増幅動物(カーブターカーヒト)となりうることからウイルス汚染の指標として最適な動物である。

本事業は、1965年から伝染病流行予測事業の一環として継続的に実施されている事業である。ブタの血液中の日本脳炎ウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体(HI抗体)を測定し、感染抗体と新鮮感染抗体の保有状況から日本脳炎ウイルスの汚染状況を把握し、日本脳炎流行の指標とし予防対策の基礎的役割を果たしている。今年度は規模が縮小され本県は調査対象から外された。しかし、調査成績の継続性とワクチン接種の基礎資料を得るためには重要と考え、県北食肉衛生検査所と(株)茨城県中央食肉公社の協力によって調査を行った。

本報では、茨城県における平成9年度(1997年)の調査結果について報告する。

### 調査方法

#### 1. 調査時期及び回数

平成9年8月4日(第1回採血)から10月6日(第

10回採血)の各旬、合計10回について行った。

#### 2. 調査対象

(株)茨城県中央食肉公社(茨城町)に集荷された県内産の、生後5~8ヶ月のブタ、について毎回20頭、合計200頭を採血し、調査を実施した。

#### 3. 調査内容

ブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対するHI抗体価(赤血球凝集抑制抗体価)の測定を行い、HI抗体価1:10以上をHI抗体陽性とした。HI抗体価1:40以上を示した場合は、2-メルカプトエタノール感受性抗体(2ME感受性抗体)の検査を実施し、新鮮抗体の確認を行った。日本脳炎ウイルス汚染推定地区の指定は、HI抗体陽性率が50%を越え、かつ2ME感受性抗体が検出された時点で行われる。

### 検査方法

HI抗体の検査は、厚生省伝染病流行予測調査術式(昭和56年度)に基づき行い、使用抗原は、JaGAR #01乾燥抗原(デンカ生研K.K製)を用いた。

### 結果及び考察

平成9年度の調査結果は表1及び図1に示すとおりである。

今年のHI抗体の保有状況は、例年と異なった様相を呈した。HI抗体保有ブタは、8月4日(第1回採血)で50%に認められ、その後8月11日(第2回採血)で40%、8月18日(第3回採血)25%と暫時減少蛍光を示したが、新鮮感染の指標となる2ME感受性抗体の検出は認められなかった。8月25日(第4回採血)のHI抗体保有率は、

表1 平成9年度 と蓄場ブタの日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況

(株)茨城県中央食肉公社

回数	採血 月日	検査 頭数	HI 抗体 価								HI抗体陽性率		2ME感受性		備考	
			<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	頭数	%	検査数		陽性率%
1	8.04	20	10		2	5	1	2				10	50	8	0	旭村
2	8.11	20	12	2	2	4						8	40	4	0	〃
3	8.18	20	15	3	1							5	25	1	0	〃
4	8.25	20	16		1		1		1	1		4	20	3(3)	100	〃
5	9.02	20	9	1	3	4		1	1		1	11	55	7(7)	100	〃
6	9.08	20	2			1		1	4	8	4	18	90	18(18)	100	〃
7	9.16	20	6		5	3	4				2	14	70	9(9)	100	〃
8	9.22	20	3	1		2	6	4	1		3	17	85	16(11)	68.7	〃
9	9.29	20				1		2	5	6	6	20	100	20(9)	45	〃
10	10.6	20		1	4	2	5	2		5	1	20	100	15(9)	60	〃
計		200	73	8	18	22	17	12	12	22	16	127		101	(66)	

( ) 2ME感受性陽性数

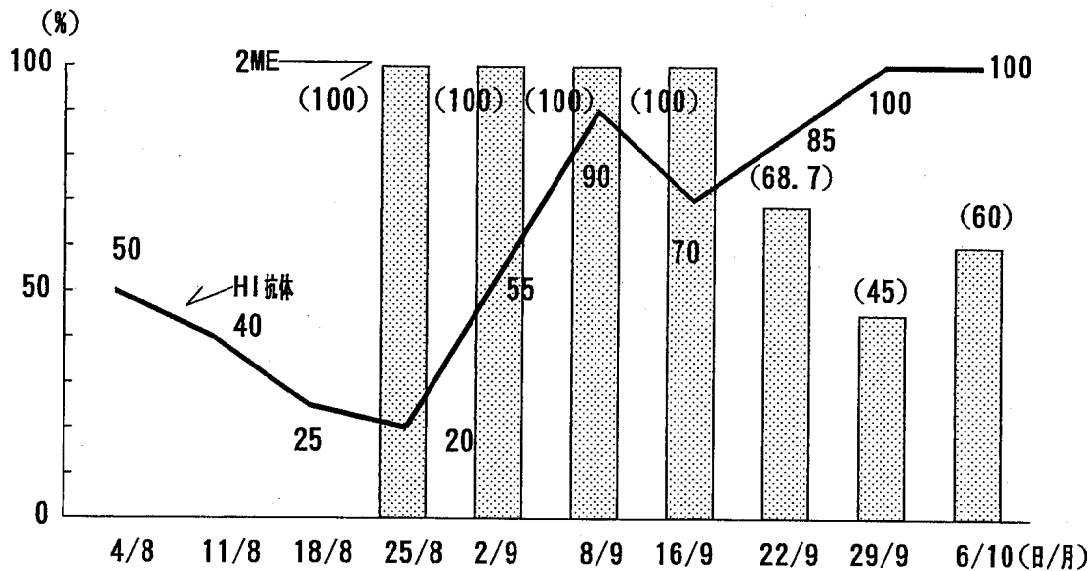


図1 平成9年度 ブタの日本脳炎ウイルスに対するHI抗体陽性率  
及び2ME感受性抗体陽性率の推移 (茨城県中央食肉公社)

20%と減少したが、2ME抗体が100% (3/3)を示し、新鮮感染が認められた。9月2日(第5回採血)では、HI抗体の保有率55%と上昇を示し、2ME抗体が100%であり、すべて新鮮感染であることが示唆された。その後の調査においてもHI抗体保有率は、上昇する傾向がみとめ

られた。10月6日の最終調査においても、2ME感受性抗体の保有は、60%と依然として高値を示し、日本脳炎ウイルスの活動が活発であることが認められた。

茨城県の日本脳炎汚染推定地区の指定は、例年8月中旬から9月初旬にかけて(図2、図3)なされてきた。茨



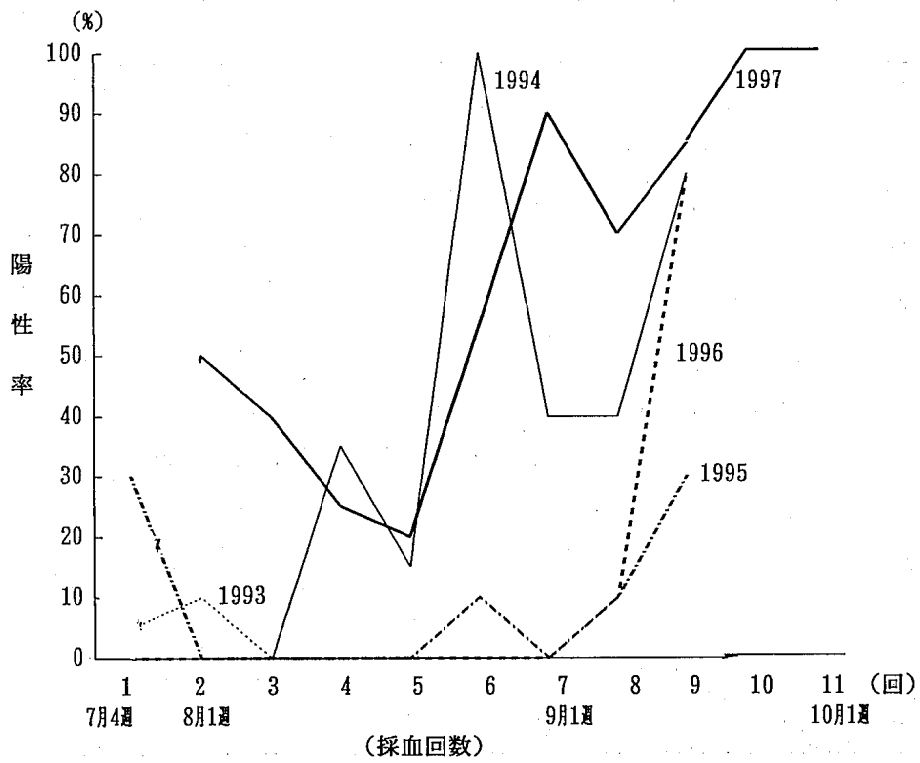


図2 ブタのHI抗体陽性率の年次別推移 (1993-1997)

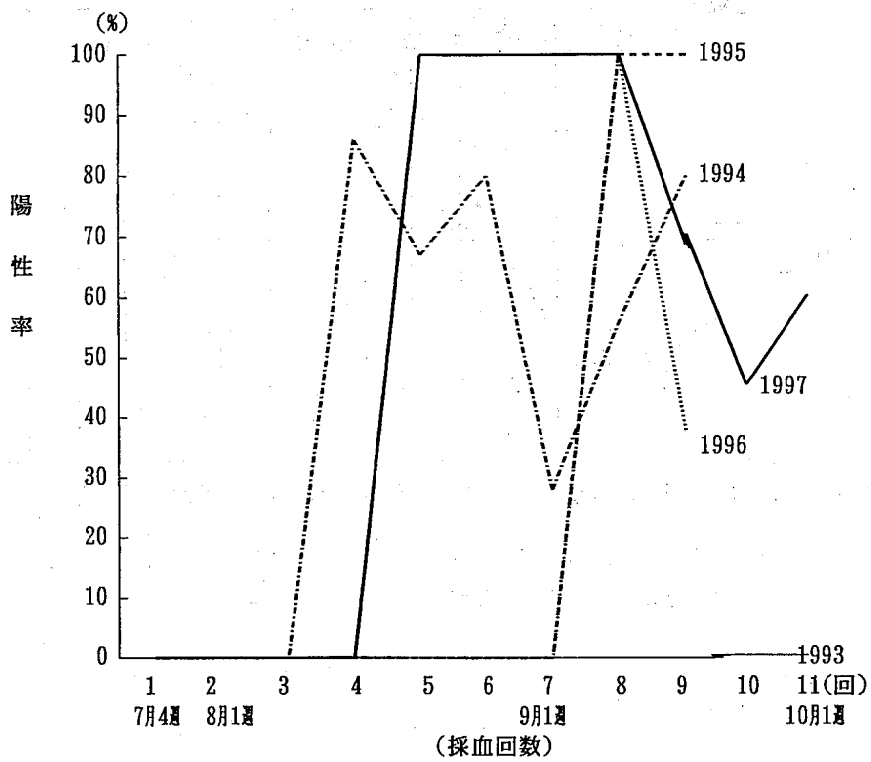


図3 ブタ2ME感受性抗体陽性率の年次別推移 (1993-1997)

茨城県における日本脳炎ウイルスの浸淫の指標としての2ME感受性抗体の出現は、昨年に比して、3週間早く認められた。過去5年間の調査では、1994年について早期のウイルス汚染であることが認められた。HI抗体の保有が調査開始当初に50%に認められ、2ME感受性抗体の保有が認められず、徐々に保有率の低下傾向が認められたことは、5～6月の高温傾向との関係が示唆された。

日本脳炎ウイルスの汚染拡散の時期は、本調査が開始された1965年当時に比べると、近年では遅延する傾向が認められている。その要因としては、日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生時期の遅延、または数の絶対数の減少が考えられる。日本脳炎ウイルスの汚染拡散の状況変化は、媒介カの成育状況に影響される。カの成育は気象条件（気温・湿度）によって左右されるが、環境に因っても大きく影響を受けるものと考えられる。最近では、河川敷や湖沼周辺の環境整備が進み、またブタの飼育頭数の減少・飼育環境の改善がなされたことが媒介カの減少につながったものと考えられる。一方では、住宅環境の変化で、カの侵入が少なくなり、ウイルス媒介のかに刺される機会が減少したことも患者数の減少をもたらしている一要因と推察される。

患者発生数は、近年減少の傾向を見せているが、ウイルスの汚染度合は依然として高く、今年も関東以南の都府県で日本脳炎汚染推定地区の指定を受けている。茨城県の日本脳炎患者発生は、1990年に4人の患者を確認してからは発生していない。しかし、ウイルスの汚染は以前として減少していない。

今年日本脳炎患者の発生は、全国日本脳炎情報によると、真性患者5名、疑似患者3名の計8名で昨年の患

者数（6名）を上回っている。患者発生県は、岡山、山口、愛媛、高知、長崎の5県であるが、日本脳炎ウイルスの濃厚汚染地区は関東にまで拡散しており、今後も監視体制が必要であり重要と考える。

#### まとめ

平成9年度の日本脳炎感染源調査において、7月～9月の期間に200頭のブタのHI抗体価を測定し、次の結果を得た。

- (1) 第1回（8月4日）採血のブタのHI抗体保有率は、50%に認められたが、新鮮感染の指標である2ME抗体の保有は認められなかった。
- (2) 第4回（8月25日）採血のHI抗体保有率が20%で、2ME感受性抗体陽性率が100%となり、新鮮感染抗体が認められた。
- (3) 第5回（9月2日）採血でHI抗体保有率が55%となり、2ME感受性抗体陽性率が100%となり、日本脳炎ウイルス汚染推定の指定地区となった。

#### 参考文献

- 1) 厚生省：伝染病流行予測調査検査術式、昭和61年度 1986
- 2) 厚生省：全国日本脳炎情報、平成9年度 1996年
- 3) 牧野正顕ほか：茨城県衛研年報 5, 33～40.1968
- 4) 深谷節子ほか：茨城県衛研年報 29, 27～31.1991
- 5) 深谷節子ほか：茨城県衛研年報 31, 27～30.1993
- 6) 深谷節子ほか：茨城県衛研年報 32, 29～30.1994
- 7) 根本治育ほか：茨城県衛研年報 33, 29～31.1995
- 8) 根本治育ほか：茨城県衛研年報 35, 35～37.1997

# メグスリノキのSOD様活性

青木和子, 上野清一, 石崎睦雄  
(茨城県衛生研究所)

Superoxide Dismutase-like Activities of *Acer nikoense* MAXIM.

Kazuko AOKI, Seiichi UENO and Mutsuo ISHIZAKI

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

## はじめに

近年, 活性酸素 (スーパーオキシド;  $O_2^-$ , 過酸化水素;  $H_2O_2$ , ヒドロキシラジカル;  $HO^\cdot$ , 一重項酸素;  $^1O_2$ ) が様々な疾病を引き起こすことや発がん, さらには老化にも深く関与していることが次第に明らかになってきている<sup>1)</sup>。活性酸素は種々の生体反応によって生じるばかりでなく, 紫外線などの外的要因によっても発生する。しかし, 生体内には活性酸素の攻撃とそれによる傷害とから身を守るシステムが存在しており, スーパーオキシドジスムターゼ (SOD), カタラーゼ, グルタチオンペルオキシダーゼ等の酵素やビタミンC, Eなどの化合物によって活性酸素は消去される。ところが時にはそれらが不十分となり, 活性酸素の産生と消去のバランスが崩れ, 酸化的傷害が進行することがある。これを抑制し, 防御システムをさらに強化するために体外から抗酸化物質を取り込む必要がある。このような背景から, 新規抗酸化活性物質を天然物より見出す研究が盛んに行われている。

ところで, メグスリノキ (*Acer nikoense* MAXIM.) はカエデ科 (Aceraceae) に属する落葉高木で, 国内では本州 (山形県, 宮城県以西), 四国, 九州 (熊本県南部まで) の山地に生えている。民間薬として樹皮を煎じて, 洗眼に用いていたことから「目薬の木」と名付けられた<sup>2)</sup>。本植物に関して, 成分についての報告<sup>3-5)</sup> や肝傷害防護効果<sup>3)</sup>, 抗菌・殺菌作用<sup>6)</sup> についての報告があるが, 抗酸化活性についてはこれまでに報告を見ない。

そこで筆者らは, メグスリノキの抗酸化活性, なかでもSOD様活性について検討したところ, 若干の知見を得たので報告する。

## 実験方法

### 1. 試料

各生薬は市販のものを使用した。なお, 日局収載品は日局品を使用した。

### 2. 試薬

キサンチンオキシダーゼ (XOD, バターミルク製) はオリエンタル酵母工業製, キサンチン, ニトロブルーテトラゾリウム (NBT) は和光純薬工業製を用いた。XODは水で希釈し, 3. の操作でコントロールの吸光度が0.20~0.23の範囲に入るように調製して用いた。

### 3. SOD様活性の測定方法

SOD様活性の測定はキサンチン-XOD-NBT法<sup>7)</sup>で行った。この方法は, キサンチン-XOD系で発生した $O_2^-$ がNBTを還元して生成するホルマザンの量を560nmの吸光度を測定することにより求めるものである。SOD様活性物質 (試料溶液) を加えた時のホルマザン生成量が, コントロールに対して減少している割合を $O_2^-$ 生成阻害率 (阻害率%) とし, 次の式により求めることとした。

$$\text{阻害率(\%)} = \left( 1 - \frac{A_{Si} - A_{Bi}}{A_{So} - A_{Bo}} \right) \times 100$$

$A_{Si}$ : 試料溶液を添加したときの吸光度

$A_{So}$ : 試料溶液の代わりに水を添加したものの吸光度 (コントロール)

$A_{Bi}$ : 試料溶液は添加するがXODを入れないものの吸光度 (ブランク)

$A_{Bo}$ : 試料溶液の代わりに水を添加しXODを入れないものの吸光度 (コントロールのブランク)

#### 4. 試料溶液の調整

##### 1) 抽出エキス

生薬に10倍量のエタノールまたはエタノール-水混合溶媒を加えて1時間加熱還流抽出後、温時ろ紙ろ過し、溶媒を留去してエキスを得た。このエキスを超音波を用いて水に溶解（溶けきらない場合は懸濁）し、さらに希釈系列を作成し、試料溶液として使用した。

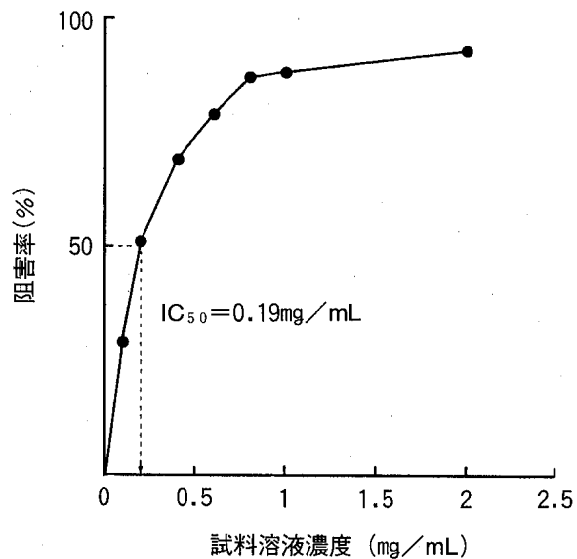
##### 2) 浸出エキス

家庭で行える簡便な方法を想定し、次の2通りで浸出エキスを得た。

(1) 煎じる場合：生薬の包装等に記載されている指示に従って試料を量り、水100mLを加え加熱し、沸騰後30分間煎じた。

(2) 浸出の場合：試料2.5gに熱湯100mLを加え3分間浸出した。

いずれの場合も時々かき混ぜ、浸出後直ちにろ紙ろ過し、室温まで冷めたものを試料溶液とした。



$$\begin{aligned} \text{比活性} &= \frac{1 \text{ g 生薬} \times \text{エキス収率}(\%) \times 10^{-2}}{\text{IC}_{50} \times 10^{-3}} = \frac{1 \times 6.2}{0.19 \times 10} \\ &= 326 \text{ U/g 生薬} \end{aligned}$$

図1 生薬抽出エキスのSOD様活性の算出  
(メグスリノキ10%エタノールエキスを試料溶液とした場合)

#### 結果と考察

##### 1. 各種生薬抽出エキスのSOD様活性

各生薬抽出エキスの阻害率曲線を作成（図1）し、これより阻害率50%を示す試料溶液濃度をIC<sub>50</sub>値として求め、その結果を表1に示した。IC<sub>50</sub>値が小さい程SOD様活性が高いことを示す。活性の高い順にメグスリノキ10%エタノールエキス、メグスリノキエタノールエキスと続き、これらは福田らがSOD様活性が高いと報告しているコウボク<sup>9)</sup>のエタノールエキスと比べ活性が高かった。また、カンゾウおよびソウハクヒを除く他の生薬抽出エキスにもSOD様活性が認められた。

ところで、IC<sub>50</sub>値は反応系に加えた試料溶液の濃度を表しており、生薬そのもののSOD様活性は比較し難い。この測定法では「50%阻害するSOD活性を1単位(U)とする」と定義されているので、図1の計算例のようにして生薬1gがSOD何単位に相当するか比活性(U/g生薬)を求め、その値を合わせて表1に示した。メグスリノキ(165~326U/g生薬)はコウボク(282U/g生薬)と並び、高いSOD様活性を有していることが認められた。

メグスリノキは抽出溶媒の違いにより比活性値に若干差が見られるが、このことはSOD様活性本体の単離を行う場合の一資料になるとと思われる。

表1 各種生薬抽出エキスの収率とSOD様活性

生薬名	抽出溶媒	エキス収率 (%)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)	比活性 (U/g生薬)
メグスリノキ	EtOH	6.6	0.40	165
	50%EtOH	14.1	0.83	170
	10%EtOH	6.2	0.19	326
カンゾウ	EtOH	12.2	>5.0	—
クマヤナギ	EtOH	6.0	0.57	105
コウボク	EtOH	18.9	0.67	282
サンキライ	EtOH	4.6	0.53	87
ジュウヤク	EtOH	4.9	0.90	54
ソウハクヒ	EtOH	7.9	>5.0	—

##### 2. 浸出エキスのSOD様活性

以上のようにメグスリノキ抽出エキスにはSOD様活性が認められたので、次に、家庭で飲用する場合を想定した簡単な操作で得られる浸出エキスについて、SOD様活性を検討した。抗酸化作用を有すると報告されているジュウヤク(ドクダミ)<sup>9)</sup>は煎じ液が茶代わりに飲まれることがあるので比較の対象として選び、結果を表2に示した。

表2 メグスリノキとジュウヤクの浸出エキスのSOD様活性

試料	採取量 (g/100mL)	エキス 調製法	阻害率 (%)
メグスリノキ(切断) <sup>a)</sup>	4.0	煎じ	94.6
〃	2.5	浸出	63.1
メグスリノキ(粉末) <sup>b)</sup>	4.0	煎じ	93.6
〃	2.5	浸出	83.2
ジュウヤク <sup>c)</sup>	2.5	煎じ	100.8
〃	2.5	浸出	95.5

a) 市販の刻み生薬

b) a)を小型粉碎機で細かくした後18号ふるいを通したもの

c) 市販の全形生薬を小型粉碎機で荒く切断したもの

メグスリノキは、煎じた場合は形態に関わらず阻害率約94%という高い値を示したが、熱湯を注ぐだけの浸出法では値が減少し、特に刻み生薬を用いた場合は阻害率が約63%まで下がった。つまり、メグスリノキ浸出エキスにSOD様活性を期待するなら煎じるか、あるいはある程度長時間の浸出が必要であると推測される。これに対し、ジュウヤクはいずれの場合も阻害率95%以上の高いSOD様活性を示した。

#### まとめ

*In Vitro* で7種類の生薬抽出エキスのSOD様活性を測定し検討したところ、メグスリノキを含む5種類の生薬にSOD様活性が認められた。特にメグスリノキは高いSOD様活性を有しており、その作用は水で煎じた場合にも認められた。

#### 文献

- 1) 二木鋭雄ほか編：“抗酸化物質 フリーラジカルと生体防御”，学会出版センター，東京(1994)。
- 2) 田中俊弘編：“日本薬草全書”，新日本法規出版，東京，p.615(1995)。
- 3) 井上隆夫：薬誌，113，181(1993)。
- 4) 井上隆夫ほか：薬誌，98，41(1978)。
- 5) 古川尚子ほか：生薬，42，163(1988)。
- 6) 久保義博：富山薬研年報，20，95(1993)。
- 7) 金田尚志，植田伸夫編：“過酸化脂質実験法”，医歯薬出版，東京，p.144(1983)。
- 8) 福田寿之，北田好男：*Fragr. J.*，23，75(1995)。
- 9) 増田勝己ほか：仁愛女子短期大学研究紀要，27，67(1996)。

# 茨城県産ウバガイ(ホッキガイ)等の麻痺性貝毒

村上りつ子, 山本和則, 真原 進, 小室道彦, 山口克枝, 平岡洋典

(茨城県衛生研究所)

野口玉雄

(長崎大学水産学部)

## はじめに

麻痺性貝毒(PSP)を持つ、*Alexandrium spp.*などの有毒プランクトンを、プランクトンフィーダーである二枚貝が摂取することにより、PSPが貝体内に蓄積され、貝類が毒化する。このような貝類の毒化地域は拡大化の傾向にあり、しかも一旦毒化した地域では繰り返し毒化することが多いことから、これに対する対策は食品衛生上必須である。

しかし、毒化機構やその減毒機構などは、十分には解明されておらず、PSPにより毒化した貝類による深刻な食中毒を防止するためには、各地点での定期的な毒性モニタリング調査の果たしている役割が大きい。

茨城県でも、重要貝類であるチョウセンハマグリ *Meretrix lamarckii* およびムラサキガイ *Mytilus edulis* などの毒力調査を行ってきたが、1991(H3)年にムラサキガイが高濃度に毒化(244.6MU/g可食部)してから、1993(H5)にも毒化(58.4MU/g可食部)し、1994(H6)年にはムラサキガイ(13.0MU/g可食部)やチョウセンハマグリの毒化とともにうばがい(ホッキガイ) *Pseudocardium sachalinensis* の毒化が、起こり、関係者をあわてさせた。このときの毒力値は可食部25.8MU/g、中腸線143.7MU/gであり、同時に毒化したチョウセンハマグリ(5.4MU/g可食部、59.7MU/g中腸線)よりも高い値を示した。その後、1996(H8)年にもウバガイ(ホッキガイ)から規制値を超えるPSPが検出された。

そこで、毒力の消長に関する知見を得るため、これらの毒力およびPSP組成について検討し、毒化したウバガイ(ホッキガイ)については、部位別の毒力およびPSP組成についても検討をおこなった。

## 実験方法

ウバガイ(ホッキガイ)は、茨城県久慈浜で、チョウセンハマグリおよびムラサキガイは鹿嶋で採取されたものを試料とした(図1)。また、1996(H8)年のウバ

ガイ(ホッキガイ)とチョウセンハマグリの一部は、各々のサンプリングの際、同時に採取されたものを比較試料とした。



図1 二枚貝採取地点

毒力は、公定法のマウスアッセイ法により、測定した。PSP組成は中腸線または部位別にした試料を、80%エタノール(pH3.5)により毒成分を抽出し、ジクロロメタンで脱脂後、Sep Pak C18カートリッジカラム(Waters社製)に付し、得られた液を試験溶液として、ポストカラム蛍光法による高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により検討を行った。PSP成分のうち、PX(C)成分については、塩酸酸性下、沸騰水中、15分間加熱後、同様にHPLCを行い、確認、定量を行った。

## 結果及び考察

1991(H3)年から1996(H8)年までの中腸線の最高毒力は、ウバガイ(ホッキガイ)は1996(H8)年に212.1MU/g、ムラサキガイ、チョウセンハマグリはそれぞれ、1991(H3)年に299.2MU/g、1995(H7)年に107.3MU/gを示し、3種とも100~300MU/gの範囲にあった。

毒化は、各種貝に共通して、例年、3月下旬から4月初めに始まり、4月に最高値を示し、5月中旬には規制値を下回った。しかし、その推移には貝の種類により、差がみられた。すなわち、ウバガイ(ホッキガイ)はチョウセンハマグリに比べて、毒力の上昇は急激で、その低下も速やかであった(図2)。

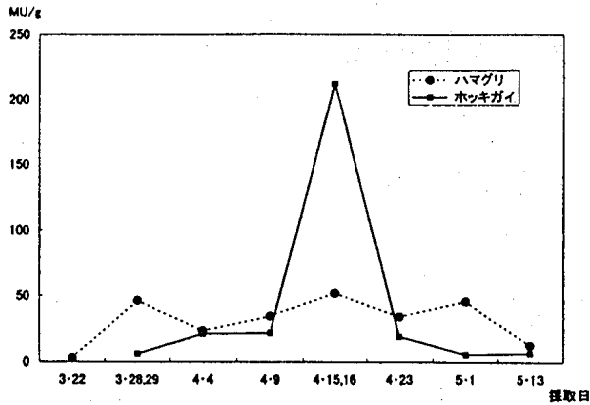


図2 ホッキガイとハマグリの麻痺性毒力の推移(1996年)

中腸線のSPS組成については、各年を通じて、3種の貝ともゴニオトキシン (GTX) 1, 2, 3, 4 および弱毒成分であるPX(C)群が主成分であった。サキシトキシン (STX) 群はほとんど検出されなかった。しかし、貝の種類によって、組成比に特徴がみられた。ウバガイ (ホッキガイ) ではPX(C)成分が比較的多く、N1-OHトキシンのGTX 1またはGTX 4が主成分であったが、ムラサキガイではさらにGTX 1またはGTX 4が多く、合わせて80 mole%以上であった。チョウセンハマグリでは、N1-OHトキシンのGTX 3が主成分であることが多かった。

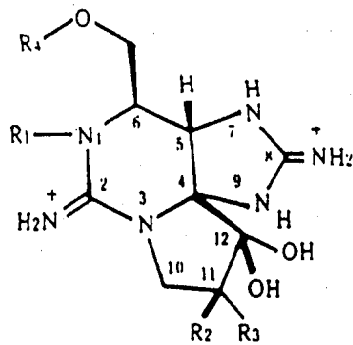


図3 PSP成分の構造

部位別にしたウバガイ (ホッキガイ) では、毒力は中腸線が最も高く、1994 (H6) 年の試料では、次いで腸管、えら、外とう膜の順であった。1996 (H8) 年でも中腸線が最も高い毒力値を示し、あらたに調べた晶体、生殖線を除けば同様の毒力順であったが、晶体は中腸線に次いで高く、生殖線は腸管に次いで高かった。

また、PSP組成については、筋肉部と内臓部ではHPLCクロマトグラム上のPSPパターンは明らかに異なっていた (図4)。このような違いはムラサキガイではみられなかった。

以上のように、ほぼ同時期、同地点の毒化にもかかわらず、貝の種類により、PSP組成比に特徴がみられた。また、ウバガイ (ホッキガイ) では、部位によって、PSP組成比にも差がみられたことから、貝体内での代謝が示唆されたが、このような代謝には、貝の種類によって特異的な部分があると考えられた。

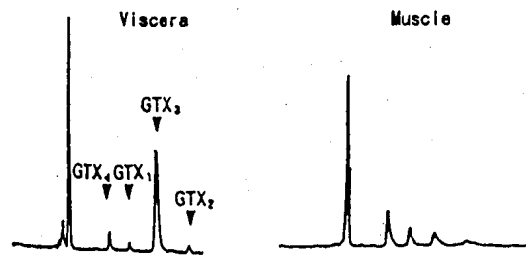


図4 毒化ウバガイのPSP

第34回全国衛生化学技術  
協議会年会講演要旨  
(平成9年11月14日)

# 平成9年度外部精度管理調査結果について

南指原浩一, 久保田かほる, 鈴木八重子, 小山田則孝  
(茨城県衛生研究所)

## The Results of External Quality Control on the Analytical Measures of Precision and Accuracy for Waterworks Groups in Ibaraki Prefecture

Kouichi NAJIWARA, Kaoru KUBOTA, Yaeko SUZUKI, Noritaka OYAMADA

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

### はじめに

茨城県水道水質管理計画に基づく、平成9年度外部精度管理を消毒副生成物ホルムアルデヒド、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、ジクロロアセトニトリル、抱水クロラールについて実施し、その結果をまとめたので報告する。

### 調査方法

#### 1. 実施期間

平成10年1月12日～1月29日

#### 2. 参加施設

平成9年度外部精度管理事業に基づき、県内水道事業所3施設、民間検査施設1箇所及び衛生研究所の5施設。

#### 3. 試料及び分析対象項目

試料は水道水に、ホルムアルデヒド、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸を $20\mu\text{g}/\ell$ 、ジクロロアセトニトリル及び抱水クロラールを $10\mu\text{g}/\ell$ を加えて混合し、2本に分け、一方(以下1液)にアスコルビン酸( $0.02\text{g}/300\text{ml}$ )を加え、他方(以下2液)にチオ硫酸ナトリウム( $0.1\text{mol } 0.5\text{ml}/300\text{ml}$ )を加えたものとした。

分析対象項目は、1液では、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、ジクロロアセトニトリル及び抱水クロラール、2液でホルムアルデヒドの5項目とした。

#### 4. 結果の解析及び評価

結果の評価は上水試験方法の精度管理に基づき、X-R管理図及び一元配置分散分析を行って評価した。管理限界を超える値については、Grubbsの方法により両側5%で棄却される数値を異常値として棄却した。

### 結果及び考察

すべての測定値の集計を表-1、項目毎の集計は表-2、X-R管理図を図-1～5、各項目の平均値±標準偏差を図6～10に示した。施設名はA、B、C、D及びEで示した。

#### 1. 測定結果

##### 1) ホルムアルデヒド

X管理図では、棄却された値はなかったが、B施設の1回目を除いては、ほとんどの値が許容範囲を超えていた(図-1)。平均値は $0.0257 \pm 0.00835 \text{ mg}/\ell$ であった。

R管理図ではC施設の2回目が許容範囲を超えたが、それ以外は許容範囲内で良好であった。

##### 2) ジクロロ酢酸

X管理図で、B施設以外はいずれの値も許容範囲を超えていたが、棄却された値はなかった(図-2)。平均値は $0.0288 \pm 0.00487 \text{ mg}/\ell$ であった。R管理図ではいづれの値も許容範囲内にあり良好であった。

##### 3) トリクロロ酢酸

X管理図で、3施設の7測定値が許容範囲を超えていたが、棄却された値はなかった(図-3)。平均値は $0.0318 \pm 0.00382 \text{ mg}/\ell$ であった。R管理図ではA施設の2回目の値が許容範囲を超えていたが、その他の値は許容範囲内にあり良好であった。

##### 4) ジクロロアセトニトリル

X管理図で、3施設の7測定値が許容範囲を超えていたが、棄却された値はなかった(図-4)。平均値は $0.0163 \pm 0.00261 \text{ mg}/\ell$ であった。R管理図ではいづれの値も許容範囲内にあり良好であった。



## 5) 抱水クロラール

X管理図で、A施設以外の他施設の値は許容範囲を超えていたが、棄却された値はなかった(図-5)。平均値は $0.0143 \pm 0.00451 \text{mg/l}$ であった。R管理図ではいずれの値も許容範囲にあり良好であった。

## 2. 標準偏差

各施設のそれぞれの項目の標準偏差(S)は、 $S \sqrt{B_4 S}$ ( $B_4: n=3$ の時 2.568)であり、良好であった。

## 3. 変動係数

それぞれの項目の変動係数をみるとE施設のホルムアルデヒドが14.6、15.1%、抱水クロラールが12.0%、13.4%と10%を超えた値を示したが、その他はいずれも10%以下であり良好であった。これはE施設では1回の試験操作では5項目同時に抽出-測定を行っているが、他の施設では同一項目を繰り返し抽出-測定を行っており、このためCV値に差がでたものと思われる。施設間ではホルムアルデヒドと抱水クロラールが32.5%及び32.0%であり、施設間の測定値のバラツキが大きかった。その他の項目では11.6~15.8%の範囲であった。

## 4. 分散分析

分析値の精度を一元配置の分散分析により解析したところ、F値はホルムアルデヒドが185.18、ジクロロ酢酸103.45、トリクロロ酢酸71.79、ジクロロアセトニトリル126.96、抱水クロラール79.11といずれもF分布表の値よりも大きく、施設間の測定値に有意の差が認められた(表-3)。

## 5. 分析方法、処理方法

各施設の分析方法を見ると、A、C、D施設は溶媒抽出-GC(ECD)法、B、E施設は溶媒抽出-GC-MS法で測定を行っていた。測定方法の違いによる測定結果について、平均値の差の検定を行ったところ、GC(ECD)法では、ホルマリリン、ジクロロアセトニトリル及び抱水クロラールがGC-MS法よりも有意(危険率5%)に高い値を示した。

C、D施設のホルマリリンが他の施設と比較して有意に高い値を示したが、これらの施設では検量線作成の際、配布した標準原液を使用せず、市販のホルムアルデヒドを評定して標準原液とし、これから検量線を作成していた。

## 6. 分析者の経験度

分析担当者の経験年数はA施設-1.5、1.0年、B施設-5年、C施設-1.8年、D施設0.5年、E施設-2.8

年であった。A施設は二人で分担して測定を行っていた。

## 7. 配布試料調査

配布された試料は授受後2日までには4施設で検査が開始された。1施設が授受後1週間後に検査を開始した。検査日数は9~17日であり、平均検査日数は12.8日であった。

## 8. その他

各施設の分析に当たって、次のようなコメントがあった。

1) 通常の業務で、消毒副成生物の検査は溶媒抽出-GC-MSで行っているが、GC-MSオーバーホール中のため測定はGC(ECD)を用いた(D施設)。

2) 試料調整に使用する水は、輸入ミネラルウォーター(A施設)、VOC測定水(B施設)新たに調整した超純水(E施設)を使用した。

3) 外部汚染を少なくするため、試料の調整は実験室外で行った(B施設)。

## まとめ

今回の精度管理はホルムアルデヒド、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、ジクロロアセトニトリル及び抱水クロラールを添加した水道水について実施した。測定値の分布において、Grubbsの方法により棄却された測定値を報告した施設はなかったが、ホルムアルデヒドと抱水クロラールで変動係数が10%を超えた施設があった。全体を見るといずれの項目も変動率が10%以上であったが、とくにホルムアルデヒドと抱水クロラールでは変動率が30%以上あり、各施設間の測定値のバラツキが大きかった。

## 文献

- 1) “上水試験方法”，日本水道協会編，東京，1993.
- 2) 柳井久江，長田理：“Lotus1・2・3医学生物学統計マニュアル”(1994)，朝倉書店。

表一 1 施設別項目測定値及び平均値

施設	ホルムアルデヒド		ジクロロ酢酸		トリクロロ酢酸		ジクロロアセトニトリル		抱水クロラール	
	測定値	平均値	測定値	平均値	測定値	平均値	測定値	平均値	測定値	平均値
A	0.0204		0.0374		0.0355		0.0156		0.0151	
	0.0207		0.0368		0.0350		0.0157		0.0151	
	0.0206	0.0206	0.0376	0.0373	0.0359	0.0355	0.0157	0.0157	0.0149	0.0150
	0.0204		0.0380		0.0400		0.0158		0.0149	
	0.0206		0.0361		0.0376		0.0158		0.0149	
	0.0206	0.0205	0.0349	0.0363	0.0360	0.0379	0.0155	0.0157	0.0144	0.0147
	0.0212		0.0378		0.0378		0.0155		0.0144	
	0.0210		0.0373		0.0373		0.0155		0.0142	
0.0210	0.0211	0.0394	0.0382	0.0394	0.0382	0.0150	0.0153	0.0145	0.0144	
B	0.0253		0.0301		0.0294		0.0161		0.0124	
	0.0252		0.0289		0.0282		0.0156		0.0120	
	0.0256	0.0254	0.0315	0.0302	0.0294	0.0290	0.0158	0.0158	0.0112	0.0119
	0.0240		0.0269		0.0253		0.0164		0.0140	
	0.0242		0.0266		0.0258		0.0162		0.0126	
	0.0241	0.0241	0.0271	0.0269	0.0257	0.0256	0.0161	0.0162	0.0128	0.0131
	0.0232		0.0277		0.0256		0.0155		0.0127	
	0.0234		0.0278		0.0261		0.0153		0.0117	
0.0234	0.0233	0.0282	0.0279	0.0265	0.0261	0.0152	0.0153	0.0110	0.0118	
C	0.0341		0.0246		0.0302		0.0216		0.0234	
	0.0369		0.0229		0.0281		0.0222		0.0228	
	0.0411	0.0374	0.0233	0.0236	0.0285	0.0289	0.0208	0.0215	0.0222	0.0228
	0.0388		0.0260		0.0307		0.0198		0.0199	
	0.0362		0.0267		0.0314		0.0189		0.0204	
	0.0343	0.0364	0.0236	0.0254	0.0288	0.0303	0.0190	0.0192	0.0194	0.0199
	0.0384		0.0255		0.0301		0.0228		0.0228	
	0.0359		0.0265		0.0315		0.0214		0.0225	
0.0381	0.0375	0.0273	0.0264	0.0321	0.0312	0.0219	0.0220	0.0246	0.0233	
D	0.0341									
	0.0338									
	0.0334	0.0338								
	0.0377									
	0.0378									
	0.0353	0.0369								
	0.0344									
	0.0361									
0.0354	0.0353									
E - 1	0.0216		0.0279		0.0334		0.0149		0.0127	
	0.0220		0.0269		0.0344		0.0153		0.0126	
	0.0225	0.0220	0.0281	0.0276	0.0330	0.0336	0.0166	0.0156	0.0134	0.0129
	0.0175		0.0288		0.0334		0.0141		0.0105	
	0.0174		0.0265		0.0342		0.0138		0.0102	
	0.0177	0.0175	0.0270	0.0274	0.0334	0.0337	0.0145	0.0141	0.0105	0.0104
	0.0167		0.0254		0.0325		0.0144		0.0107	
	0.0172		0.0270		0.0333		0.0139		0.0106	
0.0170	0.0170	0.0263	0.0262	0.0325	0.0328	0.0144	0.0142	0.0109	0.0107	
E - 2	0.0217		0.0281		0.0324		0.0158		0.0131	
	0.0214		0.0261		0.0322		0.0160		0.0132	
	0.0220	0.0217	0.0271	0.0271	0.0320	0.0322	0.0162	0.0160	0.0128	0.0130
	0.0176		0.0253		0.0303		0.0138		0.0105	
	0.0177		0.0272		0.0308		0.0142		0.0098	
	0.0173	0.0175	0.0254	0.0260	0.0310	0.0307	0.0140	0.0140	0.0106	0.0103
	0.0165		0.0260		0.0325		0.0140		0.0102	
	0.0162		0.0258		0.0329		0.0145		0.0107	
0.0166	0.0164	0.0298	0.0272	0.0328	0.0327	0.0147	0.0144	0.0106	0.0105	

表-2 各項目及び施設別平均値等一覧

1) ホルムアルデヒド

分析施設名	1回目	2回目	3回目	平均	最大値★	最小値★	R(範囲)	標準偏差	変動係数	不偏分散
A	0.0206	0.0205	0.0211	0.0207	0.0212	0.0204	0.0008	0.00032	1.55	0.0000001
B	0.0254	0.0241	0.0233	0.0243	0.0256	0.0232	0.0024	0.00106	4.36	0.0000011
C	0.0374	0.0364	0.0375	0.0371	0.0411	0.0341	0.0070	0.00061	1.64	0.0000004
D	0.0338	0.0369	0.0353	0.0353	0.0378	0.0334	0.0044	0.00155	4.39	0.0000024
E-1	0.0220	0.0175	0.0170	0.0188	0.0225	0.0167	0.0058	0.00275	14.6	0.0000076
E-2	0.0217	0.0175	0.0164	0.0185	0.0220	0.0162	0.0058	0.00279	15.1	0.0000078
全体				0.0257	0.0411	0.0162	0.0249	0.00835	32.5	0.0000697

R=0.0013

2) ジクロロ酢酸

分析施設名	1回目	2回目	3回目	平均	最大値★	最小値★	R(範囲)	標準偏差	変動係数	不偏分散
A	0.0373	0.0363	0.0382	0.0373	0.0394	0.0349	0.0045	0.00095	2.55	0.0000009
B	0.0302	0.0269	0.0279	0.0283	0.0315	0.0266	0.0049	0.00169	5.97	0.0000029
C	0.0236	0.0254	0.0264	0.0251	0.0273	0.0229	0.0044	0.00142	5.66	0.0000020
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-1	0.0267	0.0274	0.0262	0.0267	0.0288	0.0254	0.0034	0.00060	2.25	0.0000004
E-2	0.0271	0.0260	0.0272	0.0267	0.0298	0.0253	0.0045	0.00067	2.51	0.0000004
全体				0.0288	0.0394	0.0229	0.0165	0.00487	16.9	0.0000237

R=0.0019

3) トリクロロ酢酸

分析施設名	1回目	2回目	3回目	平均	最大値★	最小値★	R(範囲)	標準偏差	変動係数	不偏分散
A	0.0355	0.0379	0.0382	0.0372	0.0400	0.0350	0.0050	0.00148	3.98	0.0000022
B	0.0290	0.0256	0.0261	0.0269	0.0294	0.0253	0.0041	0.00184	6.84	0.0000034
C	0.0289	0.0303	0.0312	0.0301	0.0321	0.0281	0.0040	0.00116	3.85	0.0000013
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-1	0.0336	0.0337	0.0328	0.0333	0.0344	0.0325	0.0019	0.00049	1.47	0.0000002
E-2	0.0322	0.0307	0.0327	0.0318	0.0329	0.0303	0.0026	0.00104	3.27	0.0000011
全体				0.0318	0.0400	0.0253	0.0147	0.00382	12.0	0.0000146

R=0.0014

4) ジクロロアセトニトリル

分析施設名	1回目	2回目	3回目	平均	最大値★	最小値★	R(範囲)	標準偏差	変動係数	不偏分散
A	0.0157	0.0157	0.0153	0.0155	0.0158	0.0150	0.0008	0.00023	1.48	0.0000000
B	0.0158	0.0162	0.0153	0.0157	0.0164	0.0152	0.0012	0.00045	2.87	0.0000002
C	0.0215	0.0192	0.0220	0.0209	0.0228	0.0189	0.0039	0.00149	7.13	0.0000022
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-1	0.0156	0.0141	0.0142	0.0146	0.0166	0.0138	0.0028	0.00084	5.75	0.0000007
E-2	0.0160	0.0140	0.0144	0.0148	0.0162	0.0138	0.0024	0.00106	7.16	0.0000011
全体				0.0163	0.0228	0.0138	0.0090	0.00261	16.0	0.0000068

R=0.0007

5) 抱水クロラール

分析施設名	1回目	2回目	3回目	平均	最大値★	最小値★	R(範囲)	標準偏差	変動係数	不偏分散
A	0.0150	0.0147	0.0144	0.0147	0.0151	0.0142	0.0009	0.00030	2.04	0.0000000
B	0.0119	0.0131	0.0118	0.0123	0.0140	0.0110	0.0030	0.00072	5.85	0.0000005
C	0.0228	0.0199	0.0233	0.0220	0.0246	0.0194	0.0052	0.00184	8.36	0.0000034
D	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E - 1	0.0129	0.0104	0.0107	0.0113	0.0134	0.0102	0.0032	0.00137	12.1	0.0000019
E - 2	0.0130	0.0103	0.0105	0.0113	0.0132	0.0098	0.0034	0.00150	13.3	0.0000023
全 体				0.0143	0.0246	0.0098	0.0148	0.00451	31.5	0.0000203

★) 全測定値の最大, 最小

R=0.0008

表-3 一元配置分散分析表

項 目	要 因	偏差平方和	自由度	不偏分散	F 値	P 値
ホルムアルデヒド	因子間変動	0.003125	5	0.000625	185.18	3.745E-30
	誤差変動	0.000162	48	3.38E-06		
ジクロロ酢酸	因子間変動	0.000828	4	0.000207	103.45	1.542E-20
	誤差変動	0.000080	40	2.001E-06		
トリクロロ酢酸	因子間変動	0.000522	4	0.000130	71.79	1.035E-17
	誤差変動	0.000073	40	1.82E-06		
ジクロロアセトニトリル	因子間変動	0.000733	4	0.000183	126.96	3.623E-22
	誤差変動	0.000058	40	1.44E-06		
抱水クロラール	因子間変動	0.000245	4	0.000061	79.11	1.884E-18
	誤差変動	0.000031	40	7.74E-07		

P 値 (危険率: 1%の時は0.01, 5%のときは0.05)

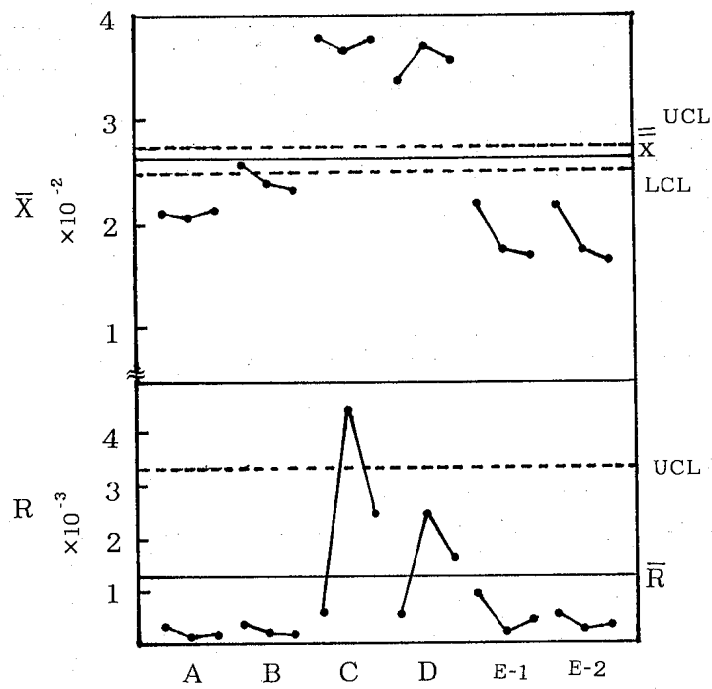


図-1 ホルムアルデヒドX-R管理図

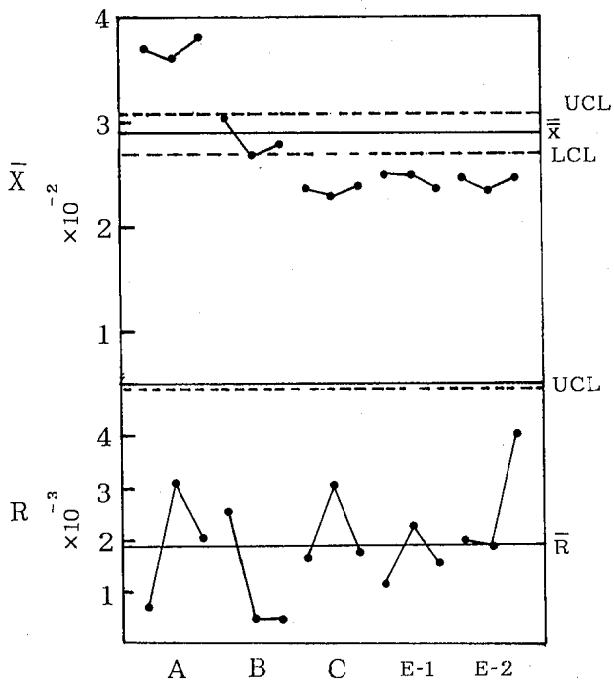


図-2 ジクロロ酢酸X-R管理図

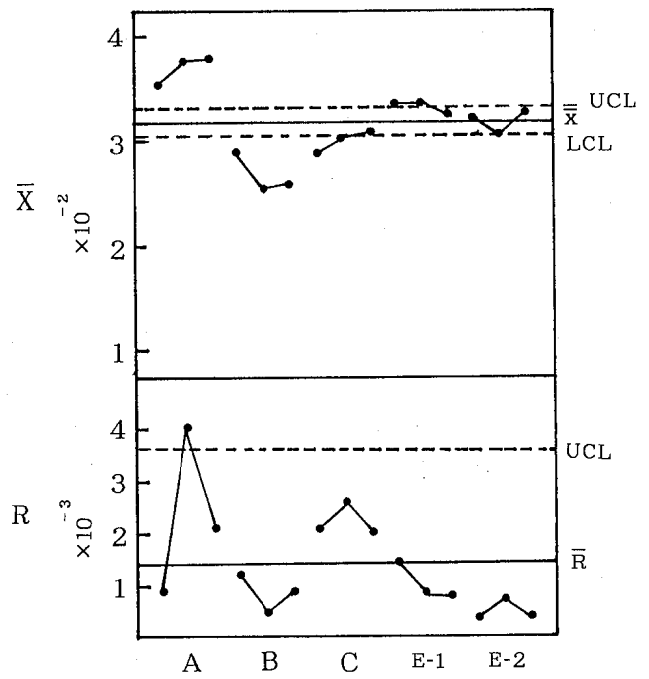


図-3 トリクロロ酢酸X-R管理図

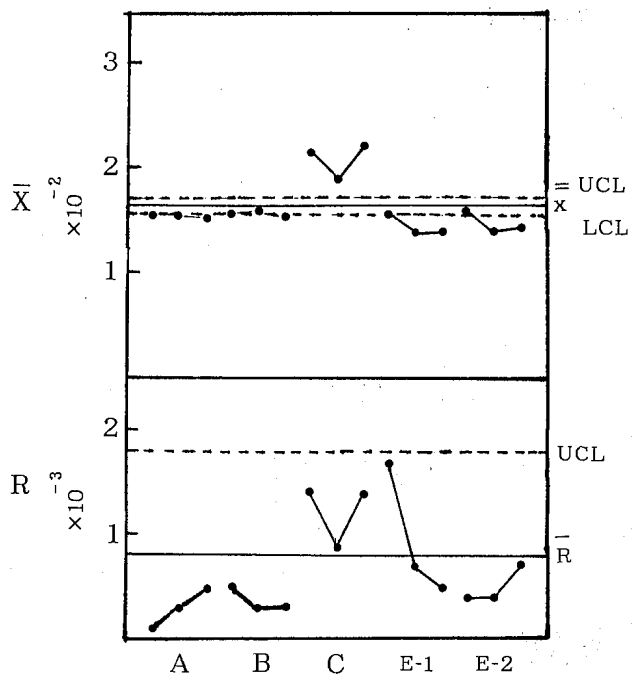


図-4 ジクロロアセトニトリルX-R管理図

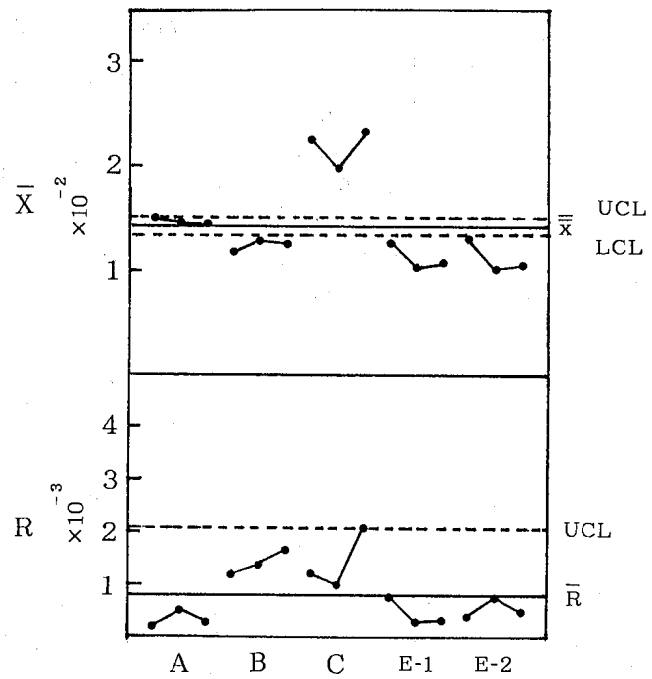


図-5 抱水クロラールX-R管理図

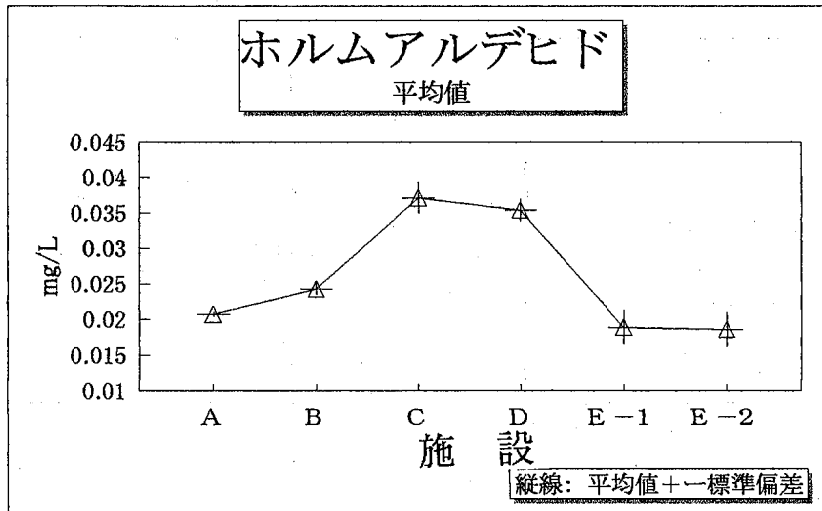


図-6

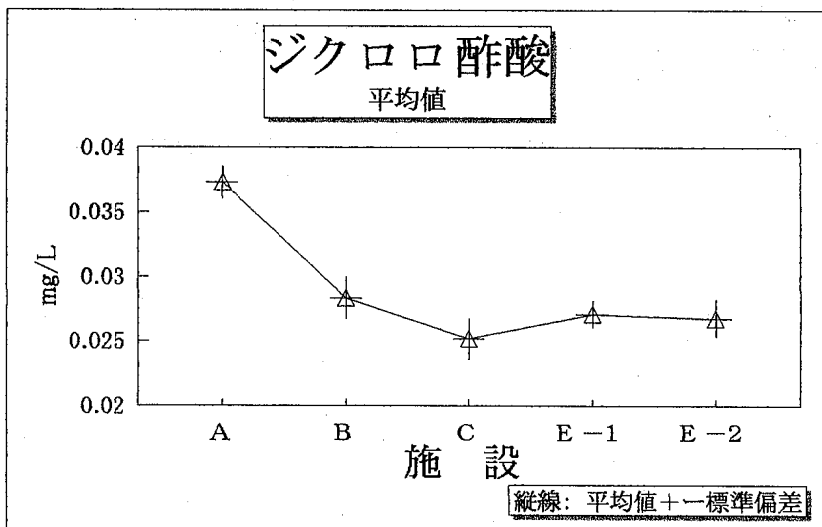


図-7

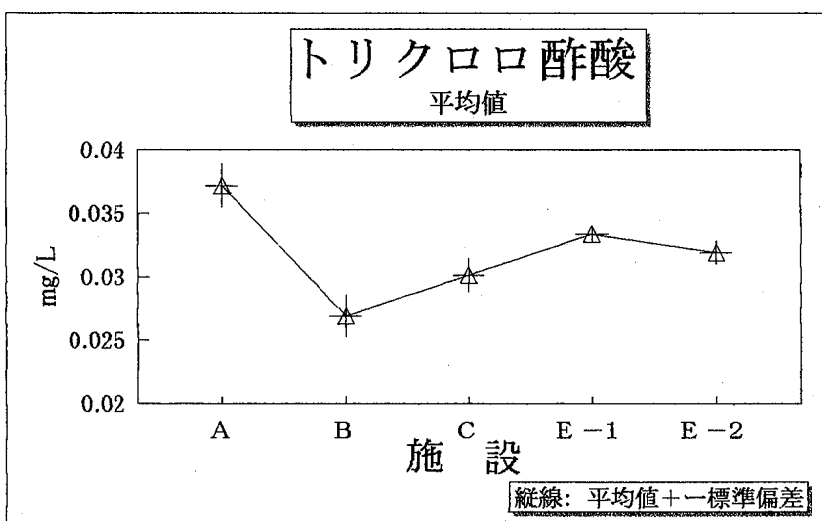


図-8

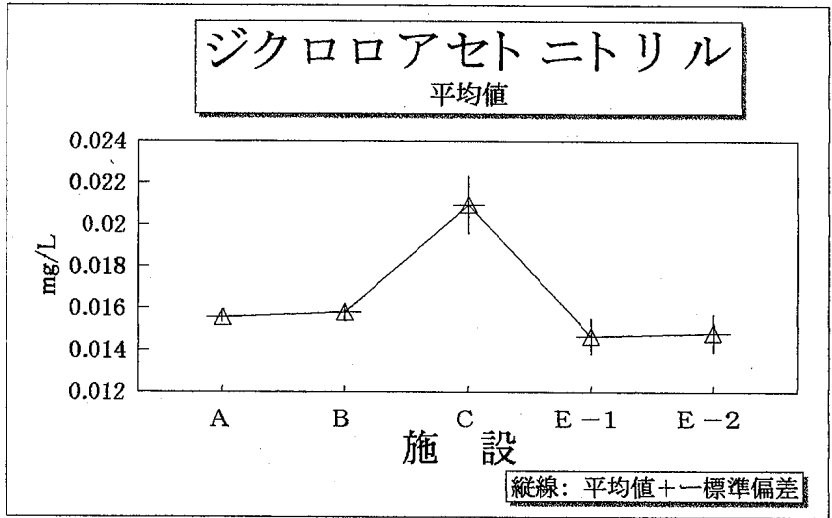


図-9

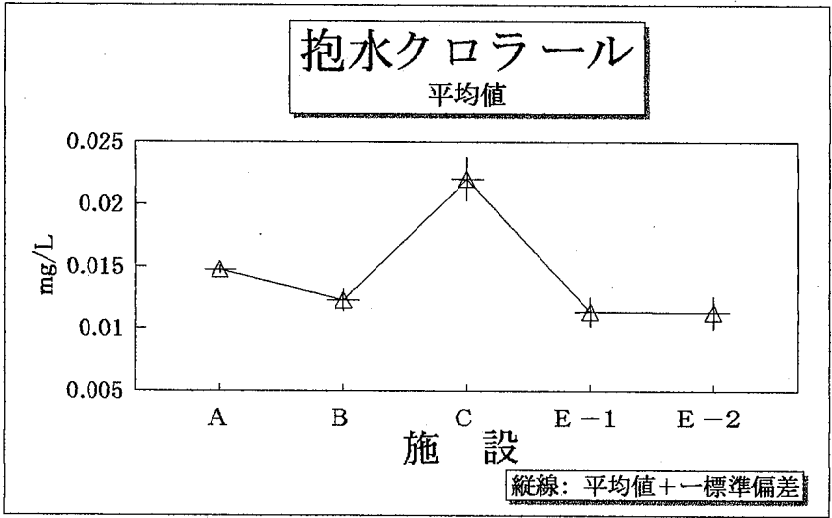


図-10



