

表2. 報告疾病の概略 (その1)

病名	報告数 (男/女)	平均 年齢		診断方法 (n, %)			診断から 報告日数	報告遅延数 (%)
		男	女	病原検査	血清学的検査	臨床決定		
オウム病	52 (18/34)	52.4 ± 12.5	45.6 ± 16.5	2 (3.8%)	46 (88.5%)	2 (3.8%)	8.7 ± 15.0	13 (25.0%)
エキノコックス 症	31 (13/18)	54.6 ± 18.7	61.2 ± 14.8	17 (54.8%)	23 (74.2%)	6 (19.4%)	8.4 ± 23.3*	4 (23.5%)*
狂犬病	0	-	-	-	-	-	25.6 ± 39.3**	5 (35.7%)**
腎症候性出血熱	0	-	-	-	-	-	-	-
Q 熱	41 (18/23)	31.5 ± 26.5	36.9 ± 26.5	22 (53.7%)	28 (68.3%)	12 (29.3%)	23.5 ± 47.6	13 (31.7%)
日本紅斑熱	77 (42/35)	54.7 ± 20.3	65.9 ± 12.7	5 (6.5%)	72 (93.5%)	27 (35.1%)	12.5 ± 28.5	19 (24.7%)
ライム病	26 (15/11)	49.3 ± 16.2	44.4 ± 21.1	5 (19.2%)	10 (38.5%)	21 (80.8%)	14.7 ± 27.2	7 (26.9%)
日本脳炎	12 (5/7)	54.4 ± 22.9	66.9 ± 19.0	0	12 (100%)	5 (9.6%)	4.1 ± 9.0	1 (8.3%)
デング熱	36 (25/11)	32.6 ± 10.5	37.0 ± 10.0	8 (22.2%)	28 (77.8%)	13 (36.1%)	2.3 ± 3.1	2 (5.6%)
マラリア	28 (218/70 8)	33.3 ± 10.9	33.4 ± 13.8	275 (95.5%)	19 (6.6%)	24 (8.3%)	4.3 ± 7.5	33 (14.5%)

* : 1999 年

** : 2000 年

表3. 報告疾病の概略 (その2)

病名	報告数	主な居住地	推定感染地	媒介動物等の 生息場所での活動	媒介動物関与	同様症状の発症者
オウム病	52	52 (日本国内)	51 (日本国内) 1 (カナダ)	41 (旅行同行者:1)	41 (旅行同行者:1)	9 同居者:5 その他:4
エキノコックス症	31	31 (日本国内)	30 (日本国内) 1 (アルゼンチン)	22	2	1 (検査中)
狂犬病	0	-	-	-	-	-
腎症候性出血 熱	0	-	-	-	-	-
Q熱	41	41 (日本国内)	39 (日本国内)	23	20 ネコ:12 イヌ:7 ハムスター:2 モルモット:1 野鳥:1	8 (同居者:8)
日本紅斑熱	77	77 (日本国内)	77 (日本国内)	72	72 マダニ:40 ツツガムシ:2 蚊:1 記載なし:29	16 同居者:9 同じ職場:1 地域住民:3 その他:3
ライム病	26	26 (日本国内)	26 (日本国内)	24	24 マダニ:20 記載なし:4	1 (関係不明)
日本脳炎	12	12 (日本国内)	12 (日本国内)	8 蚊:3 近くに養豚場:1 木の訓練所:1 推測・不明:1	9 蚊:8 記載なし:1	0
デング熱	36	30 (日本国内) 6 (海外)	36 アジア地域 ³¹ 中南米 ⁴ 不明 ¹	36	36 蚊:34 記載なし:2	7 同じ職場:5 その他:2
マラリア	288	87 (日本国内) 87 (海外) 3 (不明)	283 (日本国内) 5 (不明)	276	276 1 (再熱)	43 同居者:6 同じ職場:6 同行者:18 不明:10 記載なし:3 感染状況*:19

*ボランティア:8、仕事:6、遊び:5

表4. 発症から報告までの日数別件数

病名 m±SD (日数)	日数											計 (件)		
	同日	～10	～20	～30	～40	～50	～60	～70	～80	～90	91～		不明	
オウム病 31.6 ±21.3	-	2	15	10	7	5	2	-	-	-	2	1	8	52
エキノコックス症 94.0 ±99.1	-	-	1	1	1	1	-	-	-	-	-	2	25	31
Q熱 133.6 ±163.5	-	-	5	5	2	4	5	-	1	3	12	4	41	
日本紅斑熱 4.17 ±38.0	-	2	17	14	17	5	6	7	1	1	4	3	77	
ライム病 65.4 ±85.1	-	4	6	1	2	-	-	-	-	-	6	7	26	
日本脳炎 34.3 ±12.3	-	-	1	4	4	1	2	-	-	-	-	0	12	
デング熱 22.4 ±22.4	-	10	15	3	2	-	1	-	1	1	1	2	36	
マラリア 12.3 ±14.0	-	176	63	15	5	2	2	1	3	1	1	19	288	

m±SD : 平均日数±標準偏差値

表5. これからの動物由来感染症対策の拡充に向けて

- 1 発症から報告までの日数の短縮を計る
 - ・ 診断後、すみやかに報告する習慣の確立
- 2 診断能力の向上を計る
 - ・ 問診で動物・ベクターとの接触を必ず確認する
検査スピードの向上を計る
- 3 検査システムの整備を計る
 - ・ レファレンスセンターの整備
地域ブロック別相互協力検査体制の構築
- 4 感染源地域の特定と Geographical Information System の導入
- 5 以上の確立と整備を計っても人獣共通感染症（動物由来感染症）
のアウトブレイク対応は遅れることが推察される
 - 動物・ベクターの病原体保有サーベイランスを確立、実行する

図1. 疾病別発症年齢分布

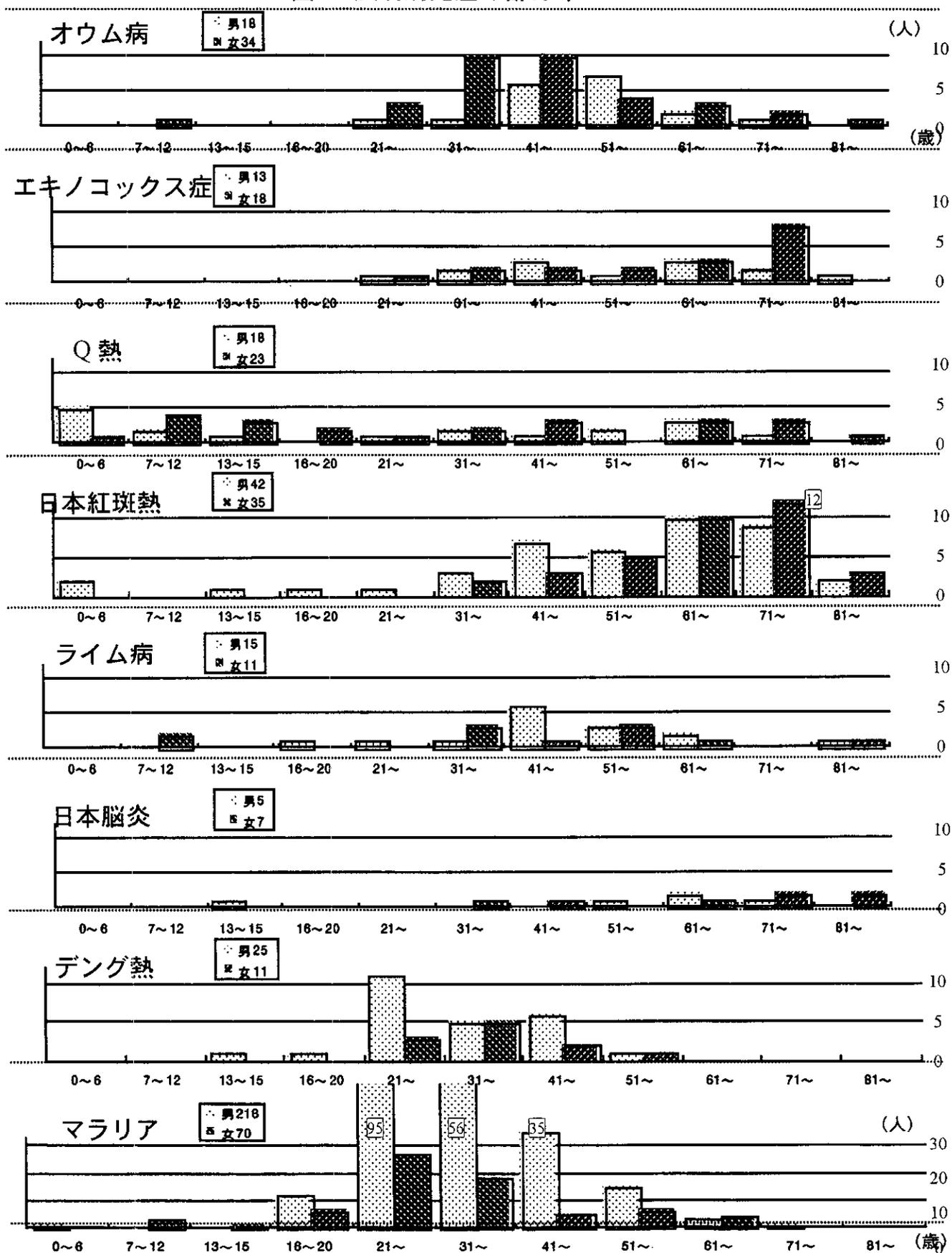


図2. 発病から初診までの日数分布

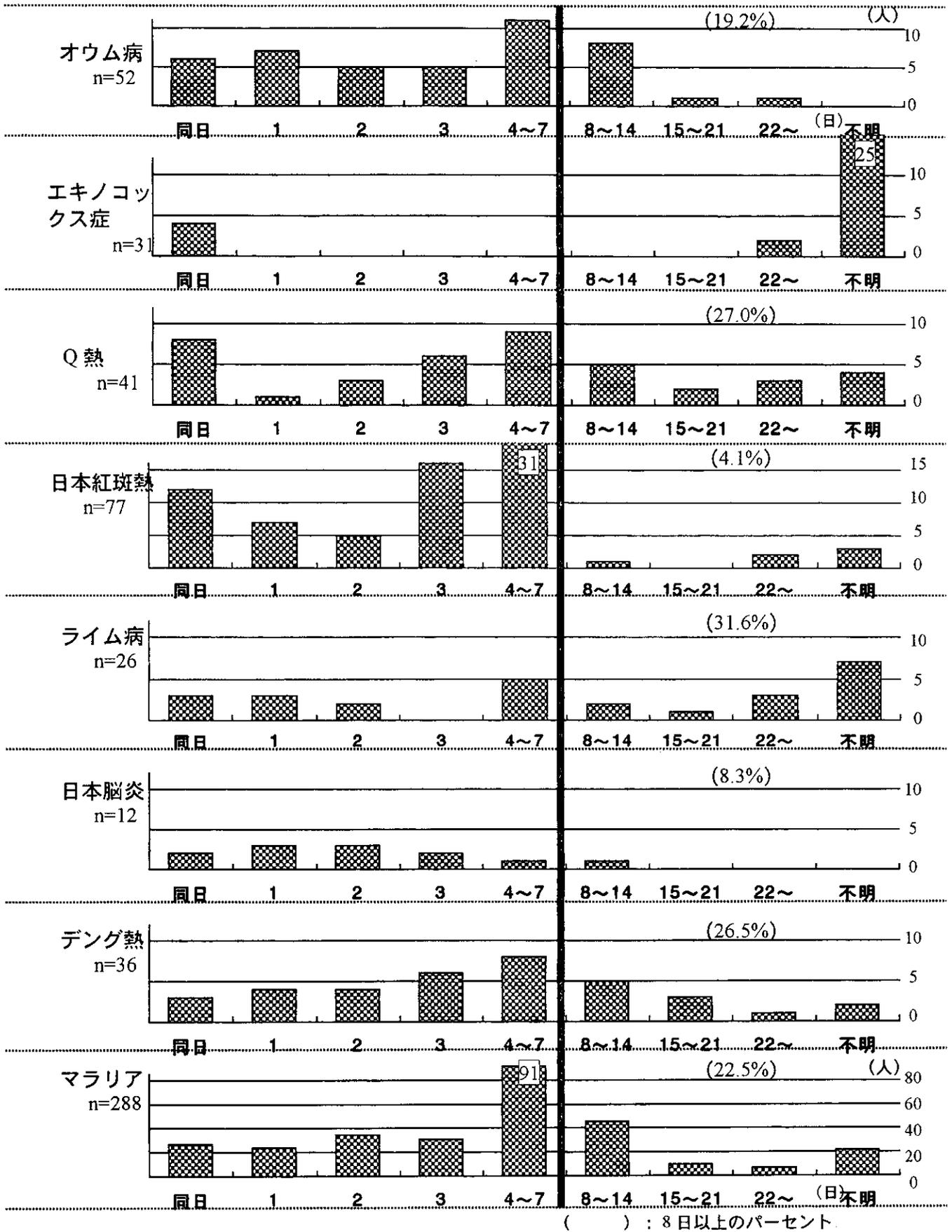
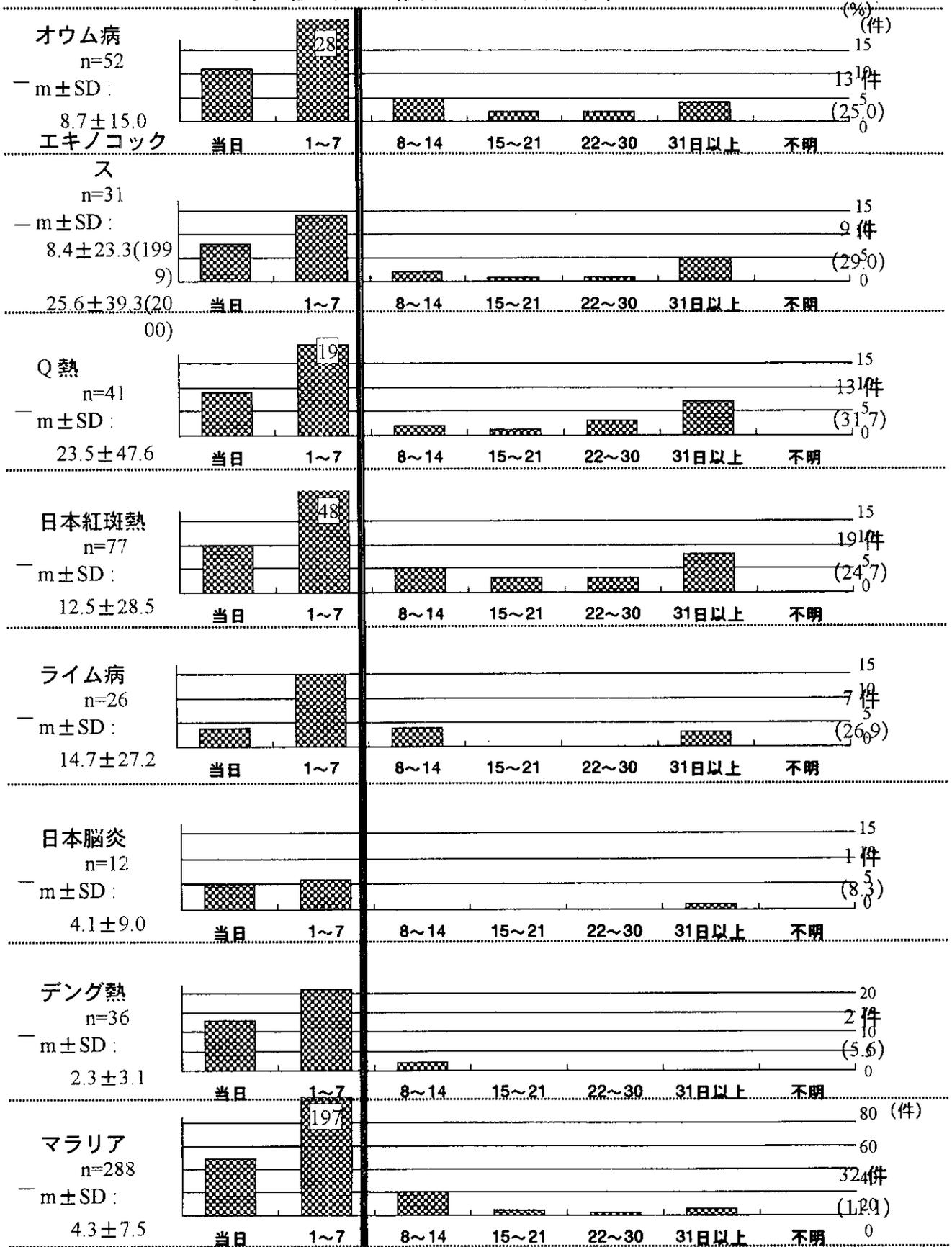


図3. 診断から報告までの日数分布

報告遅延数

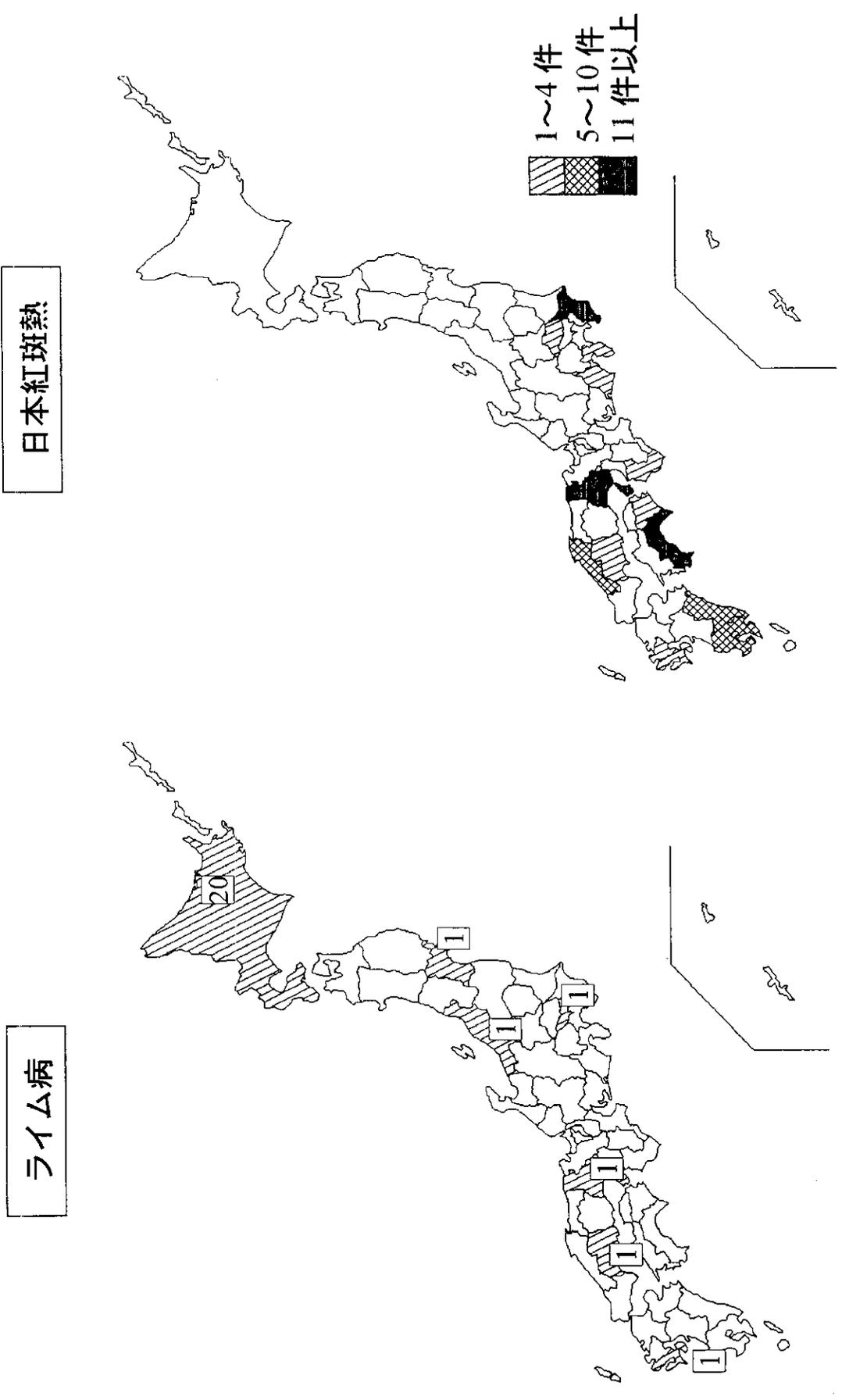


-m±SD: 平均日数±標準偏差値

図4. 都道府県別疾患報告状況：その1（1999, 2000年度）



図5. 都道府県別疾患報告状況：その2（1999, 2000年度）



Simian herpes B virus 感染カニクイザルの 三叉神経節における潜伏感染に関する研究

分担研究者 本藤 良 日本獣医畜産大学獣医畜産学部 教授
協力研究者 植田富貴子 日本獣医畜産大学獣医畜産学部 助教授

研究要旨

Simian herpes B virusに感染した輸入カニクイザルにおいて、両側および片側の三叉神経節での潜伏感染が35%潜在することが明らかになった。平成12年度の本研究事業報告書で明らかにした成績と合わせて考察すると、SHBVに感染したサルで、三叉神経節に潜伏感染を起こしている確率は、35%から50%であると推測される結果を得た。この事実は、三叉神経節に潜伏感染を起こしているサルが、その再活性化により感染源となり得ることを示唆することで意義あるものと考ええる。

A. 研究目的

Simian herpes B virus (SHBV) 感染ザルは、後根神経節に潜伏感染を起こし、ウイルスを保有していると考えられる。特に三叉神経節に潜伏感染している場合には、その再活性化により、口腔領域にウイルスが分泌される可能性があり、ヒトやサルへの主要な感染源となり得ることで重要である。従って、今年度は、SHBV抗体を保有している輸入カニクイザルの三叉神経節から、平成12年度の本研究事業報告書で明らかにした、PCR-Microplate・Hybridization法を用いて、SHBVゲノムの検出を試み、三叉神経節における潜伏感染の状態を解析することにした。

B. 研究方法

1. PCR-Microplate・Hybridization法のターゲット領域

PCR-Microplate・Hybridization法のターゲット領域を図1. に示した。SHBVゲノムの検出に高い特異性を持つ、ゲノム上のUs領域内に局在するCとE領域を用いた。単純ヘルペスウイルス(HSV)では、1型、2型で共通して検出できる、DNAポリメラーゼをコードする領域の330bpをターゲットにした。ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)では、サルサイトメガロウイルス(SCMV)との共通して検出できる、ゲノム上のVP25をコードする610bp領域を用いた。

2. PCR-Microplate・Hybridization法

PCR-Microplate・Hybridization法は、図2. に示した本藤らの方法に準じて実施した。PCRによるゲノムの検出にはE領域を、ビオチン標識・DNAプローブの作製にはC領域でのPCR増幅DNA断片を用いた。

3. 検体

解析に用いた検体の概要を表1. に示した。中国から輸入したカニクイザルの内、SHBVに対する抗体が陽性で感染の明らかなサル20頭を対象にした。その内訳は♂11頭、♀9頭で、それらの左右三叉神経節を採取して、常法によりDNAを抽出し、実験に用いた。

（倫理面への配慮：実験に用いたカニクイザルの解剖には麻酔による安楽死で配慮した）

C. 研究結果

1. SHBV・E領域の特異性と検出効率

SHBVゲノムの検出にあたり、最初にE領域での特異性と検出効率を検討し、その結果を図3. に示した。特異性の検討では、HSV-1,2型、HCMV、SCMVの各分離株とSHBV-pDNAを鋳型として、E領域でのPCRで検討した（図3. : a、b）。PCRの増幅産物の電気泳動では、設定領域のサイズに対応してSHBV-pDNAでのみ増幅され、1本のDNA断片のバンドとして確認された。また、HSV-1,2型、HCMV、SCMVの各分離株では増幅DNA断片が検出されないことから、その特異性を

明らかにした。

検出効率の検討では、SHBV-pDNAを10倍段階希釈して鋳型に用いた。その結果、PCRと電気泳動では鋳型量100fgまで検出可能であったが、このPCR産物にMicroplate・Hybridization法を併用することにより、10fgまで検出することができ、感度が上がると同時に同定が可能であった。

2. 三叉神経節からの潜伏SHBVゲノムの検出

1) カニクイザルNo.1からNo.10の左右三叉神経節から抽出したDNAについて、PCR-Microplate・Hybridization法でSHBVゲノムの検出を行った。その結果を図4. に示した。PCRでは、サルNo.2の両側(2R,2L)とNo.4の片側(4R)から泳動で検出された。これらのPCR産物にMicroplate・Hybridizationを併用することにより、PCR・泳動によるDNA断片ではバンドとして検出されなかった、No.3の片側(3R)から新たに検出された。また、No.6からNo.10についての結果も同様に、PCRとMicroplate・Hybridizationにより、No.9の両側(9R,9L)から新たに検出された。

2) 同様に、検体No.11からNo.20での結果を図5. に示した。No.11からNo.15についての結果では、PCRではバンドとして検出されない検体のPCR産物について、Microplate・Hybridizationを併用することにより、No.12の片側(12R)、No.14の両側(14R,14L)から、また、No.16からNo.20の検体では、No.16の両側から検出された。

3) 検体No.1からNo.20の検体で、片側および両側で陽性となった症例の各両側(No.2, 3, 4, 9, 12, 14, 16)について、nested PCR と PCR-Microplate・Hybridizationでの再確認と同定を試みた。その結果を図6. に示した。最初のPCR産物を鋳型とした、nested PCRとPCR-Microplate・Hybridization法の併用では、全く同様の結果が得られた。また、Microplate・Hybridization法では、HSVとの交叉反応も観察されなかったことから、検出されたDNA断片がSHBV特異性のゲノムと同定された。以上の結果より、両者検出法に感度における差もないことから、PCR-Microplate・Hybridization法は検出と同定を備えた、DNA診断法の最適な一手法であると考えられた。

4) 今回検討した検体でのPCR-Microplate・Hybridization法によるSHBVゲノムの検出・結果

をまとめて表2. に示した。輸入カニクイザル20頭の三叉神経節からSHBVゲノムが検出されたのは7頭の35%で、その内、両側から4頭、片側から3頭であった。また、オスとメス間では大差は認められなかった。

D. 考察

SHBVの自然感染は東南アジア産のマカク属のサルが主で、ニホンザルも含まれている。SHBV感染ザルの多くは不顕性感染の経過をとり、ヘルペスウイルスの特性から後根神経節に潜伏感染を起こし、ストレスや免疫低下などの要因により再活性化を繰り返す。この過程で口腔内粘膜、唾液、結膜などからウイルスが分泌され、咬傷や引っかき傷などの接触感染によって伝播すると考えられている。感染ザルでは軽症(不顕性感染、口腔内潰瘍)だが、ヒトに感染すると致死的な脳脊髄炎症状を引き起こし、致命率は約50%である。

今回の実験により、SHBV感染カニクイザル20頭の中国産グループでは、両側および片側による三叉神経節での潜伏感染が35%潜在することが明らかになった。平成12年度の本研究事業報告書で明らかにした、同じく中国産のSHBV感染カニクイザル10頭のグループでの成績では、5頭の両側および片側の三叉神経節からSHBVゲノムが検出されている。両者の成績を合わせて考察すると、SHBVに感染したサルで三叉神経節に潜伏感染を起こしている確率は単純計算で35%から50%であると推測される。この事実は、潜伏感染を起こしているサルで、その再活性化により、感染源となり得る確率を知る意味から意義あるものと考えられる。

また、Bウイルス感染症においては、種々の理由からその診断が難しいとされている。その一つとしてウイルス分離には、バイオハザード・レベルでP3~P4施設が必要であり、現実的にはまず不可能と思われる。また抗体の検出には現在、ELISA法、ウエスタンブロット法、免疫蛍光間接法などが使われているが、近縁ヘルペスウイルス、特にHSV-1型、2型との共通抗原性が高いため確定診断が非常に困難である。これらの理由から、我々が開発した特異ウイルスゲノムの検出と同定が可能でPCR-Microplate・Hybridization法は、DNA診断と分子疫学的解析を試みる上で非常に有用な手法の一つと考えて

いる。

E. 結論

今回の実験により、SHBV感染ザルにおいて、両側および片側による三叉神経節での潜伏感染が35%潜在することが明らかになった。平成12年度の本研究事業報告書で明らかにした成績と合わせて考察すると、SHBVに感染したサルで、三叉神経節に潜伏感染を起こしている確率は、単純計算で35%から50%であると推測される結果を得た。この事実は、潜伏感染を起こしているサルが、その再活性化により感染源となり得る確率を知る意味で重要なことである。

三叉神経節における潜伏感染の状態を明らかにすることは、潜伏ウイルスの再活性化を含めた感染様式を解析する上でも意義あることと考える。

F. 健康危険情報

諸外国における本感染症のヒトでの発生状況をみると、現在までに少なくとも30数例が報告されている。そのなかには潜伏ウイルスの再活性化とみられる再発症例や2次感染例も含まれている。現在まで、本邦での感染症の発生例は存在しないが、ウイルス感染等の実験にサル類の使用が増加していることに加えて、最近ではペットや動物園などの展示サルからヒトへの感染なども懸念されていることで、その類別診断法の確立が重要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 弘重光一、池田稔、本藤良：Ramusay Hunt 症候群の涙液および唾液における水痘・帯状疱疹ウイルスDNAの検出。日本耳鼻咽喉科学会会報103、928-36 (2000)
- 2) 安孫子譲、池田稔、本藤良：ベル麻痺患者の涙液および唾液における単純ヘルペスウイルスの分泌とその動態。日本耳鼻咽喉科学会会報104、1078-1088 (2001)
- 3) 本藤良：Bウイルス感染症におけるDNA診断とその応用。第8回ヘルペス感染症フォーラム。ヘルペス感染症研究会 (2002)

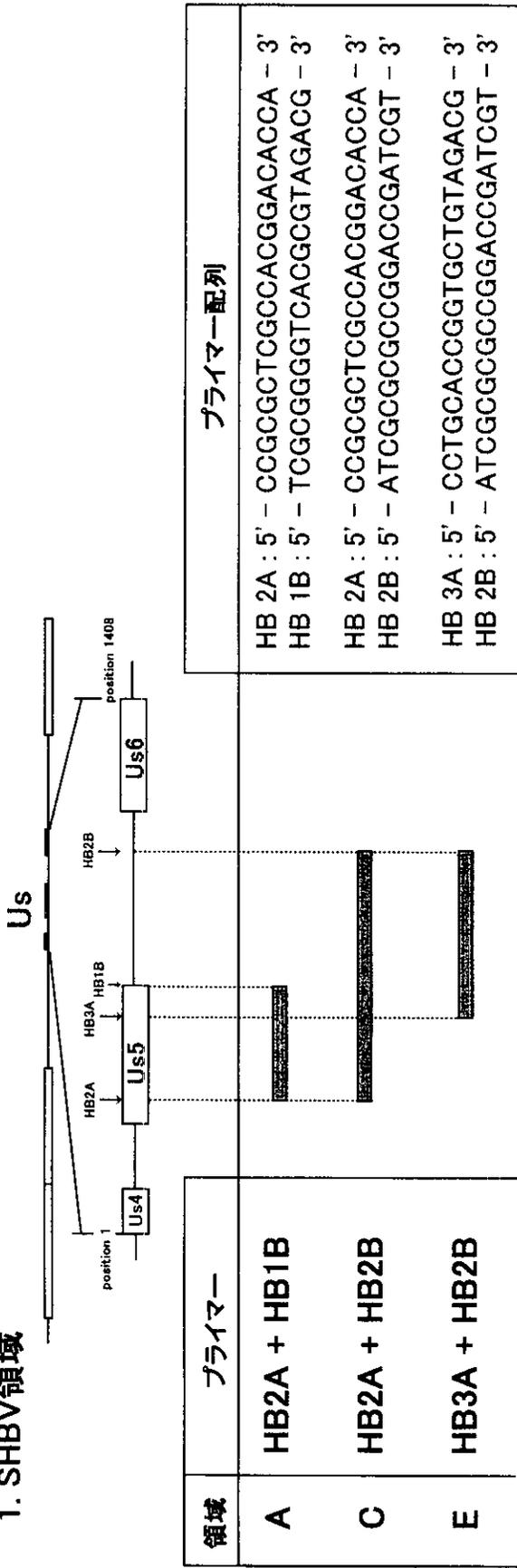
2. 学会発表

- 1) 我孫子譲、弘重光一、池田稔、木田亮、本藤良。ベル麻痺患者の涙液および唾液におけるHSV DNAの検出と型別判定。ベル麻痺患者の涙液および唾液におけるHSV DNAの検出と型別判定。第100回日本耳鼻咽喉科学会総会 (1999)
- 2) 上村暁子、大屋知香、植田富貴子、本藤良、向井遼三郎、棚林清、山田章雄、吉川泰弘。BウイルスのDNA診断と分子疫学に関する基礎的研究 (1) PCR法によるプライマーの設定とその特性。第129回日本獣医学会 (2000)
- 3) 大屋知香、高野貴士、谷内洋次郎、植田富貴子、本藤良、山田章雄、吉川泰弘。Bウイルス感染のDNA診断と分子疫学に関する基礎的研究 (2) PCR Microplate-hybridizationの条件設定とその応用)。第131回日本獣医学会 (2001)
- 4) 本藤良、植田富貴子、向井遼三郎、棚橋清、山田章雄、吉川泰弘。Bウイルス感染のDNA診断と分子疫学に関する基礎的研究。第49回日本ウイルス学会 (2001)
- 5) 谷内洋次郎、高野貴士、大屋智香、本藤良、吉川泰弘。Bウイルス感染のDNA診断と分子疫学に関する基礎研究 (3) 輸入カニクイザル・三叉神経節におけるBウイルスの潜伏感染。第133回日本獣医学会 (2002)
- 6) 高野貴士、谷内洋次郎、大屋智香、植田富貴子、本藤良、吉川泰弘。Bウイルス感染のDNA診断と分子疫学に関する基礎的研究 (4) 輸入カニクイザル・三叉神経節由来Bウイルスゲノムの構造解析。第133回日本獣医学会 (2002)

図1.

PCR - Microplate - Hybridization 法のターゲット領域

1. SHBV領域



2. HSV-1, 2型領域: HSV-1型 (K8, K200, 198, HF株)、HSV-2型 (79-29, 27, 111, UDO株)

DNAポリメラーゼをコードする領域の 330 bp

1、2型共通プライマー (KM-1、KM-2)

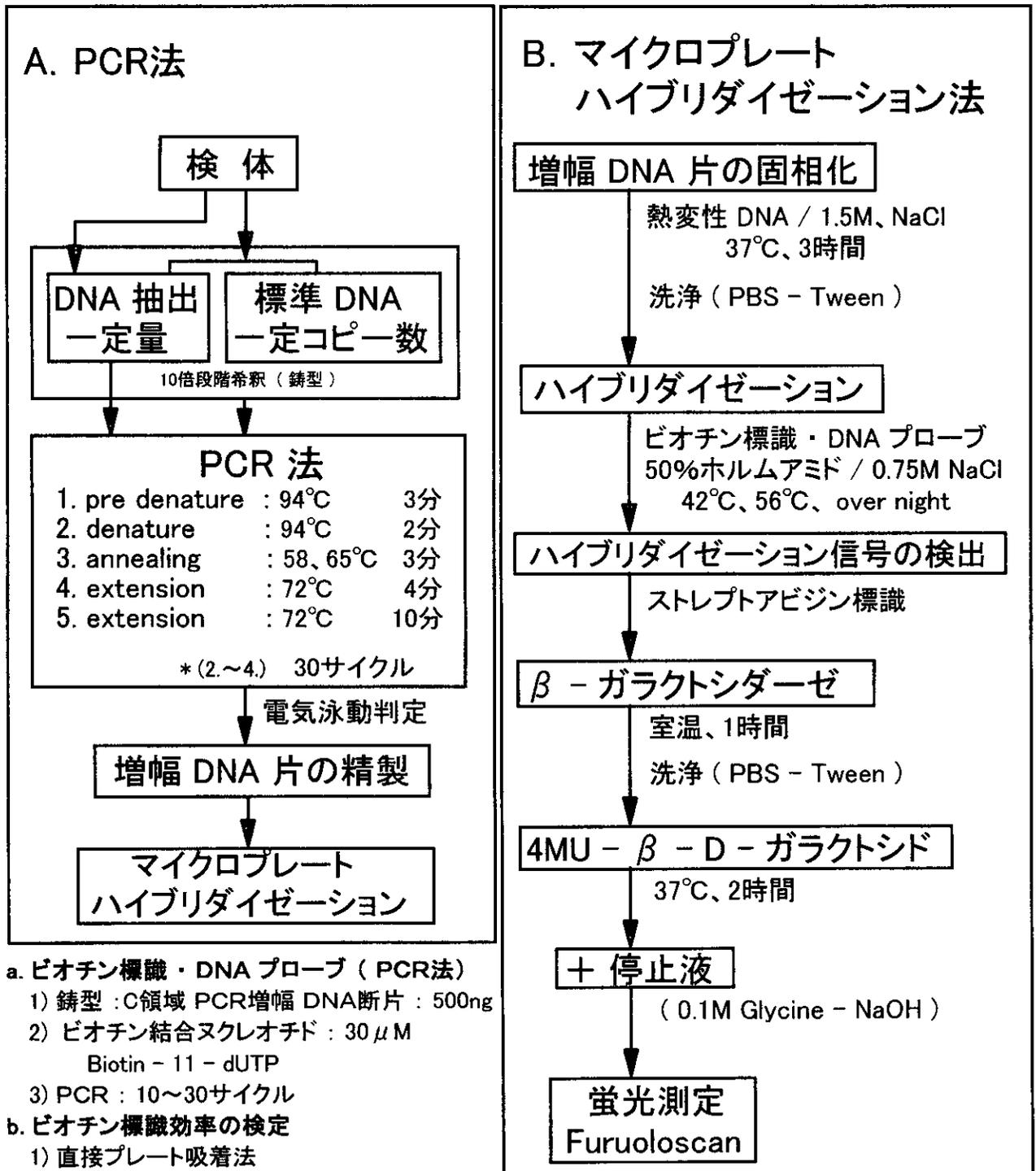
3. HCMV, SCMV領域: HCMV (Towne / pDNA, AD169, KH, OK-1株)、SCMV (68-1, 1090K株)

VP25 をコードする領域の 610 bp

プライマー (CM-3、CM-2)

図2.

PCR - Microplate - Hybridization 法



* Hondo, Jpn. J. Med. Sci. Biol., 48, 1995

表1.

検体：SHBV・抗体陽性カニクイザル

1) 輸入カニクイザルの概要

No.	個体番号	性別	体重(kg)
1	96C0819	♂	3.65
2	96C0527	♂	2.90
3	97C0123	♂	3.05
4	96C0389	♂	2.45
5	97C0633	♂	2.50
6	96C0129	♂	3.30
7	96C0627	♂	3.20
8	96C0743	♂	2.85
9	96C0115	♂	3.10
10	96C0558	♀	3.00

No.	個体番号	性別	体重(kg)
11	96C0576	♀	3.15
12	96C0220	♀	2.90
13	96C0304	♀	2.60
14	96C0384	♀	2.60
15	96C0306	♀	2.35
16	96C0296	♀	2.65
17	C965546	♀	3.00
18	C967547	♀	2.55
19	C965285	♂	3.05
20	C965411	♂	3.25

解剖日時：2000年9月11日実施

2) 検体採取：三叉神経節・右(R), 左(L)

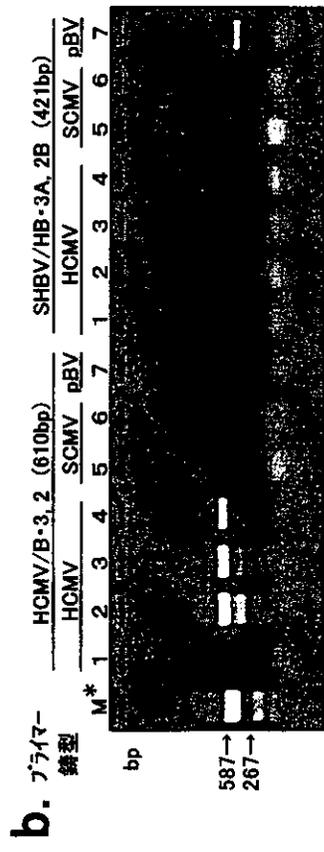
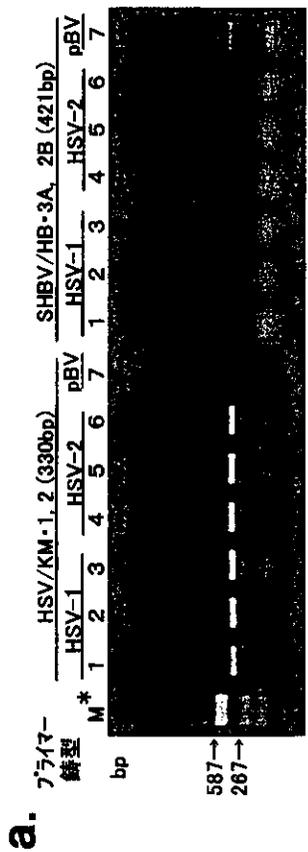
3) 検体DNA：各左右三叉神経節から常法によりDNAを抽出

図3.

SHBV・E領域の特異性と検出効率

PCR・アガロースゲル電気泳動法による検出効率

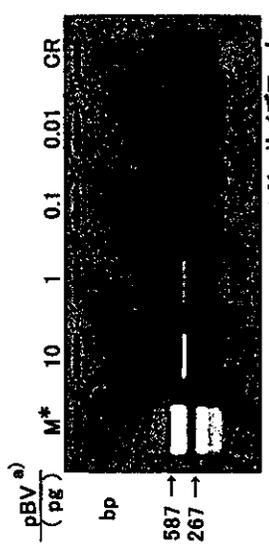
E領域：SHBV/HB-3A, 2Bプライマー (421bp) の特異性



a) HSV-1, 2型との特異性：HSV-1-DNA/1(K8), 2(K200), 3(198)
HSV-2-DNA/4(79-29), 5(27), 6(111)
pBV (pBlueSK+2.6Kbp)/Bウイルス・プラスミドDNA/7

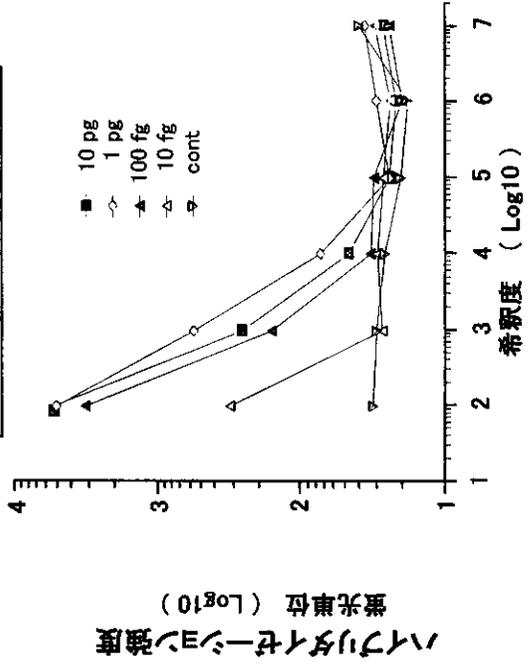
b) HCMV, SCMVとの特異性：HCMV-DNA/1(Towne/pDNA), 2(AD₆₉), 3(KH), 4(OK-1)
SCMV-DNA/5(68-1), 6(1090K)
pBV (pBlueSK+2.6Kbp)/Bウイルス・プラスミドDNA/7

* M: サイズマーカー
PCRの条件: 1) 熱変性: 94°C 2分、 2) アニール: 55~58°C 3分、
3) 伸張: 72°C 4分、 4) サイクル: 30回



* M: サイズマーカー
a) SHBV-pDNA (pBlueSK + 2.6K)

Microplate Hybridization

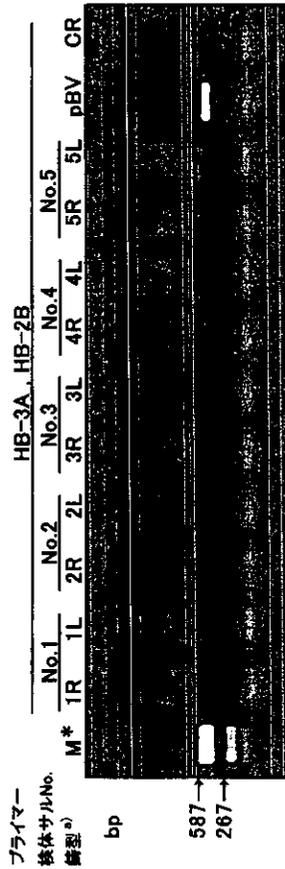


a) DNA プローブ：SHBV-pDNA / C (641bp)
b) Hybridization 温度：56°C

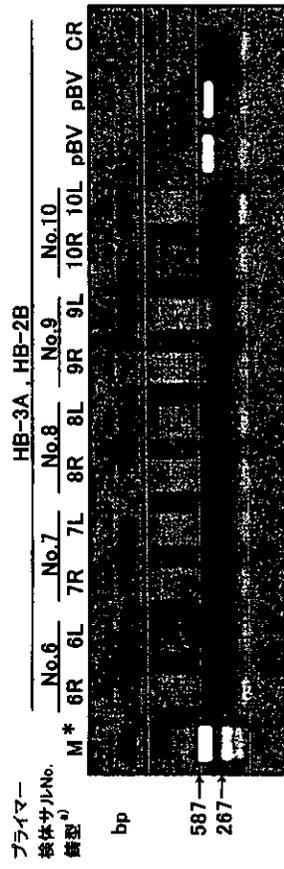
図4.

三叉神経節からの潜伏SHBV・ゲノムの検出(1)
PCR-Microplate-Hybridization法

PCR・アガロースゲル電気泳動 (E領域)



a) 症例・三叉神経節左右抽出DNA: No.1 (1R, 1L), No.2 (2R, 2L), No.3 (3R, 3L), No.4 (4R, 4L), No.5 (5R, 5L)
pBV (pBlueSK + 2.6Kbp), CR (PCRコントロール), * M: サイズマーカー



a) 症例・三叉神経節左右抽出DNA: No.6 (6R, 6L), No.7 (7R, 7L), No.8 (8R, 8L), No.9 (9R, 9L), No.10 (10R, 10L)
pBV (pBlueSK + 2.6Kbp), CR (PCRコントロール), * M: サイズマーカー

b) PCRの条件: 1) Pre denature: 94°C 3分 4) extension: 72°C 4分
2) denature: 94°C 2分 5) extension: 72°C 10分
3) annealing: 65°C 3分 6) DMSO: 2.5%

Microplate-Hybridization

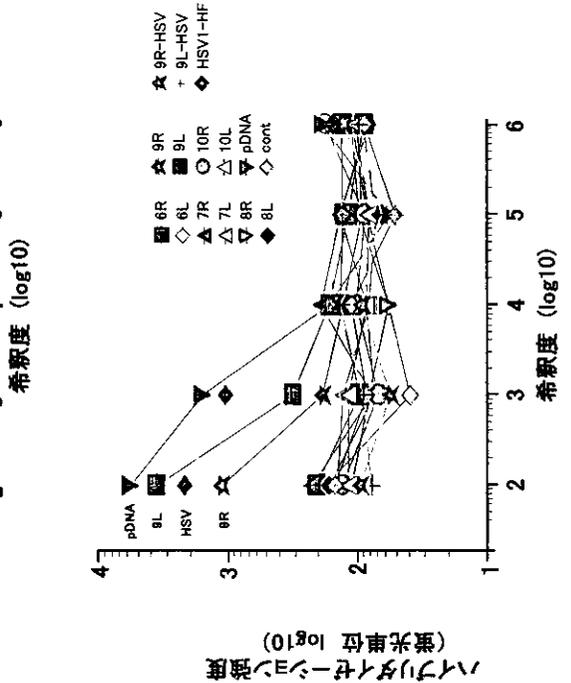
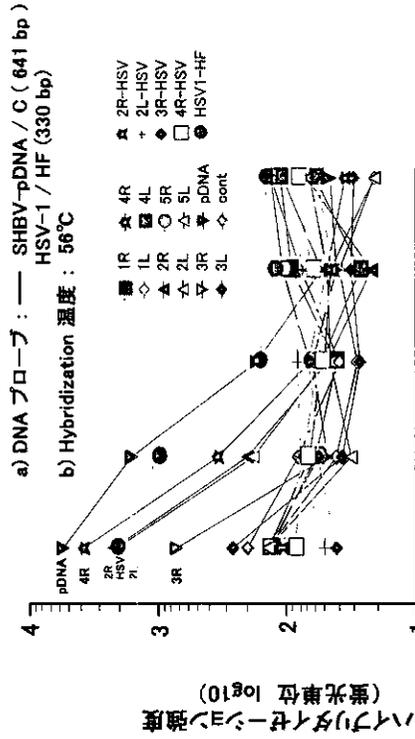
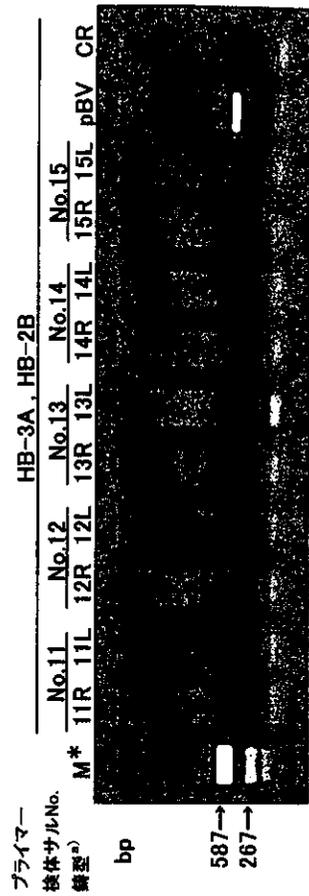


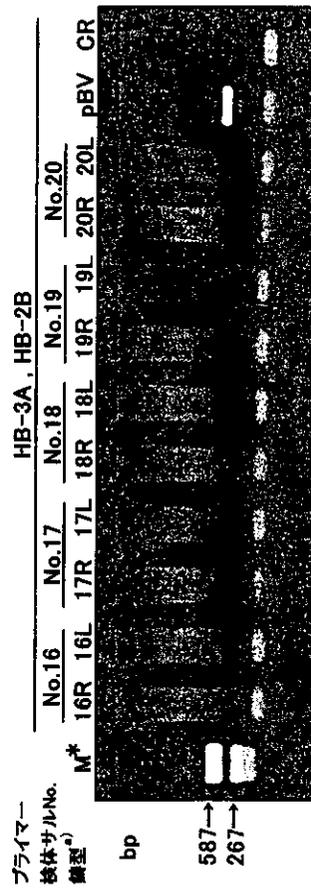
図5.

三叉神経節からの潜伏SHBV・ゲノムの検出(2)
PCR-Microplate-Hybridization法

PCR・アガロースゲル電気泳動 (E領域)



a) 症例・三叉神経節左右抽出DNA: No.11 (11R, 11L), No.12 (12R, 12L), No.13 (13R, 13L), No.14 (14R, 14L), No.15 (15R, 15L)
pBV (pBlueSK + 2.6Kbp), CR (PCRコントロール), * M: サイズマーカー



a) 症例・三叉神経節左右抽出DNA: No.16 (16R, 16L), No.17 (17R, 17L), No.18 (18R, 18L), No.19 (19R, 19L), No.20 (20R, 20L)
pBV (pBlueSK + 2.6Kbp), CR (PCRコントロール), * M: サイズマーカー

b) PCRの条件: 1) Pre denature: 94°C 3分 4) extension: 72°C 4分
2) denature: 94°C 2分 5) extension: 72°C 10分
3) annealing: 65°C 3分 6) DMSO: 2.5%

Microplate-Hybridization

a) DNA プローブ: — SHBV-pDNA / C (641bp)
HSV-1 / HF (330 bp)

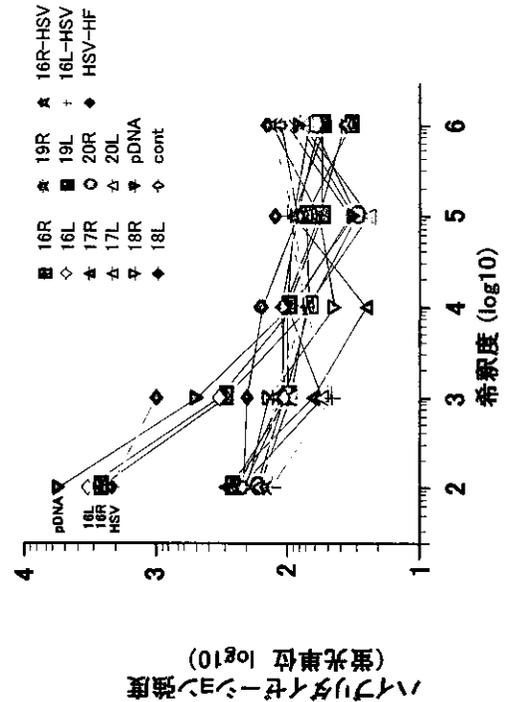
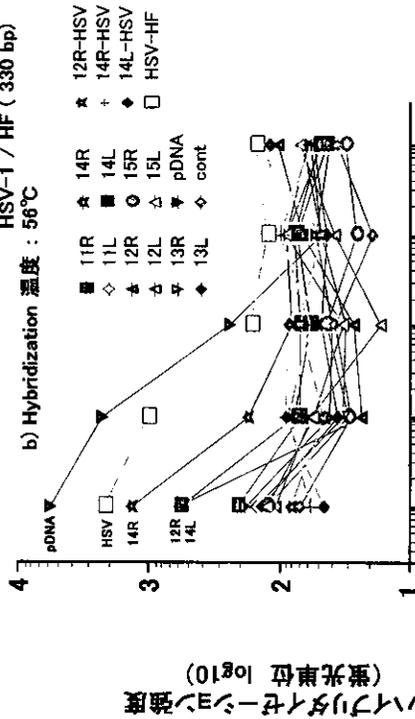
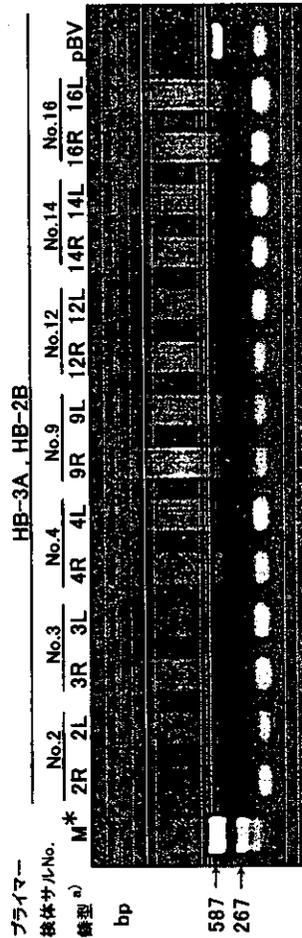


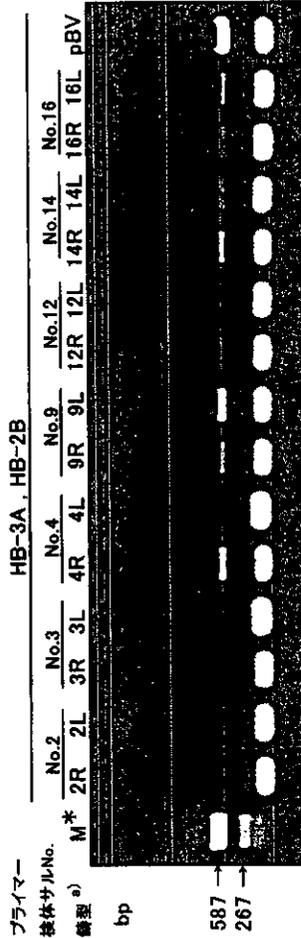
図6.

三叉神経節からの潜伏SHBV・ゲノムの検出 (3)
PCR-Microplate-Hybridization法

PCR・アガロースゲル電気泳動 (E領域)



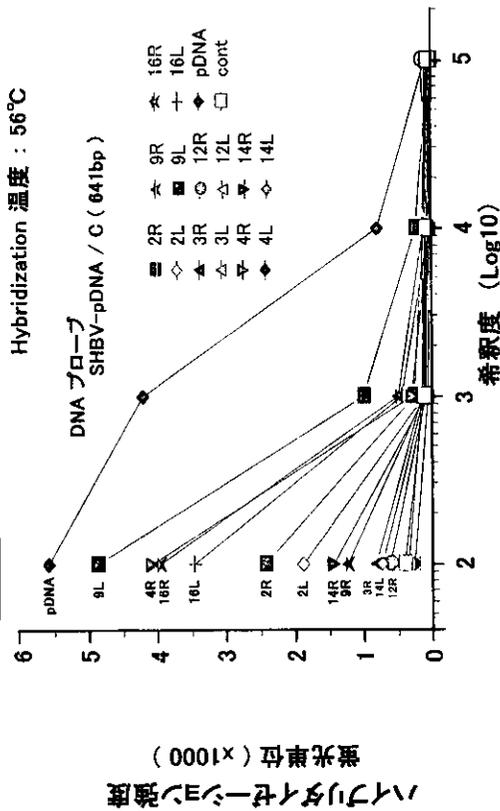
nested PCR・アガロースゲル電気泳動 (E領域)



a) 症例・三叉神経節左右抽出DNA : No.2 (2R, 2L), No.3 (3R, 3L), No.4 (4R, 4L), No.9 (9R, 9L), No.12 (12R, 12L), No.14 (14R, 14L), No.16 (16R, 16L)
pBV (pBlueSK + 2.8Kbp), * M : サイズマーカー

b) PCRの条件 : 1) Pre denature : 94°C 3分 4) extension : 72°C 4分
2) denature : 94°C 2分 5) extension : 72°C 10分
3) annealing : 65°C 3分 6) DMSO : 2.5%

Microplate-Hybridization



Microplate-Hybridization

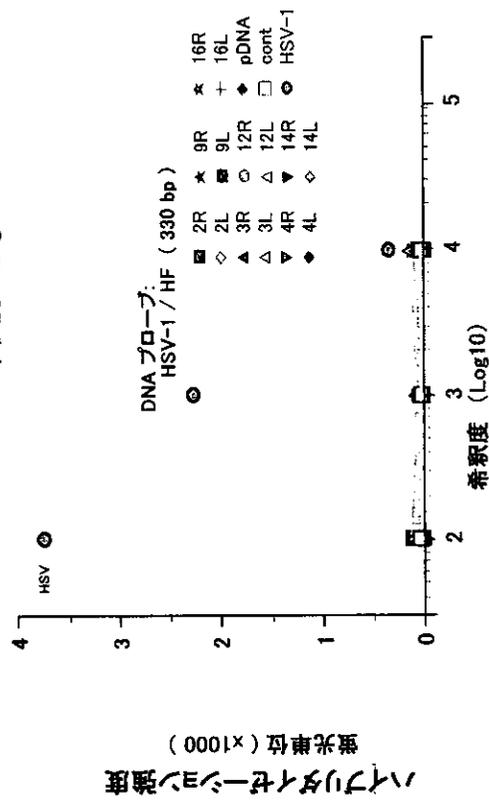


表2.

三叉神経節からの潜伏SHBV・ゲノムの検出
PCR - Microplate - Hybridization法

No.	個体番号	性別	体重(kg)	SHBV・検出 PCR Hybridization
1	96C0819	♂	3.65	右: (-) (-) 左: (-) (-)
2	96C0527	♂	2.90	右: (+) (+) 左: (+) (+)
3	97C0123	♂	3.05	右: (-) (+) 左: (-) (-)
4	96C0389	♂	2.45	右: (+) (+) 左: (-) (-)
5	97C0633	♂	2.50	右: (-) (-) 左: (-) (-)
6	96C0129	♂	3.30	右: (-) (-) 左: (-) (-)
7	96C0627	♂	3.20	右: (-) (-) 左: (-) (-)
8	96C0743	♂	2.85	右: (-) (-) 左: (-) (-)
9	96C0115	♂	3.10	右: (-) (+) 左: (+) (+)
10	96C0558	♀	3.00	右: (-) (-) 左: (-) (-)

No.	個体番号	性別	体重(kg)	SHBV・検出 PCR Hybridization
11	96C0576	♀	3.15	右: (-) (-) 左: (-) (-)
12	96C0220	♀	2.90	右: (-) (+) 左: (-) (-)
13	96C0304	♀	2.60	右: (-) (-) 左: (-) (-)
14	96C0384	♀	2.60	右: (-) (+) 左: (-) (+)
15	96C0306	♀	2.35	右: (-) (-) 左: (-) (-)
16	96C0296	♀	2.65	右: (+) (+) 左: (+) (+)
17	C965546	♀	3.00	右: (-) (-) 左: (-) (-)
18	C967547	♀	2.55	右: (-) (-) 左: (-) (-)
19	C965285	♂	3.05	右: (-) (-) 左: (-) (-)
20	C965411	♂	3.25	右: (-) (-) 左: (-) (-)