

かし、運搬台車内枠、作業エリア床、踏み台で一般生菌数は $10^4 \sim 10^7$ cfu/100cm²、大腸菌群が $10^2 \sim 10^4$ cfu/100cm² を示した。運搬台車については、汚れやすい構造であること、洗浄及び殺菌が不十分であることが原因と推測された。また、床については、常にウエットな状態であること、粗いコンクリート状で付着した汚れを抱え込みやすい構造であること、移動の多い作業員の長靴からも汚染された可能性も考えられた。特に長靴については、出入り口に洗い場を設けていたが、外部と内部で長靴を変えるなど外部からの汚染を防ぐ取り組みが必要である。また、床がウエットであるため跳ね返りを想定した運搬台車や作業台の高さの調整などの工夫や、定期的な手指のアルコール洗浄も重要と考えられた。

- 該当なし
- 2. 実用新案登録
該当なし
- 3. その他
該当なし

E. 結論

調味カズノコ製造施設において、原材料から最終製品に至る過程でリステリア菌に対する危害分析を行った。いずれの製造工程及び中間製品、最終製品からもリステリア菌は検出されなかった。なお、作業エリア床や製造工程に使用されている器具等で一般生菌数が高く、大腸菌群も検出されたものがあり、一般的衛生管理事項の再点検と改善および定期的に細菌検査を実施して、常に汚染状況を把握する必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

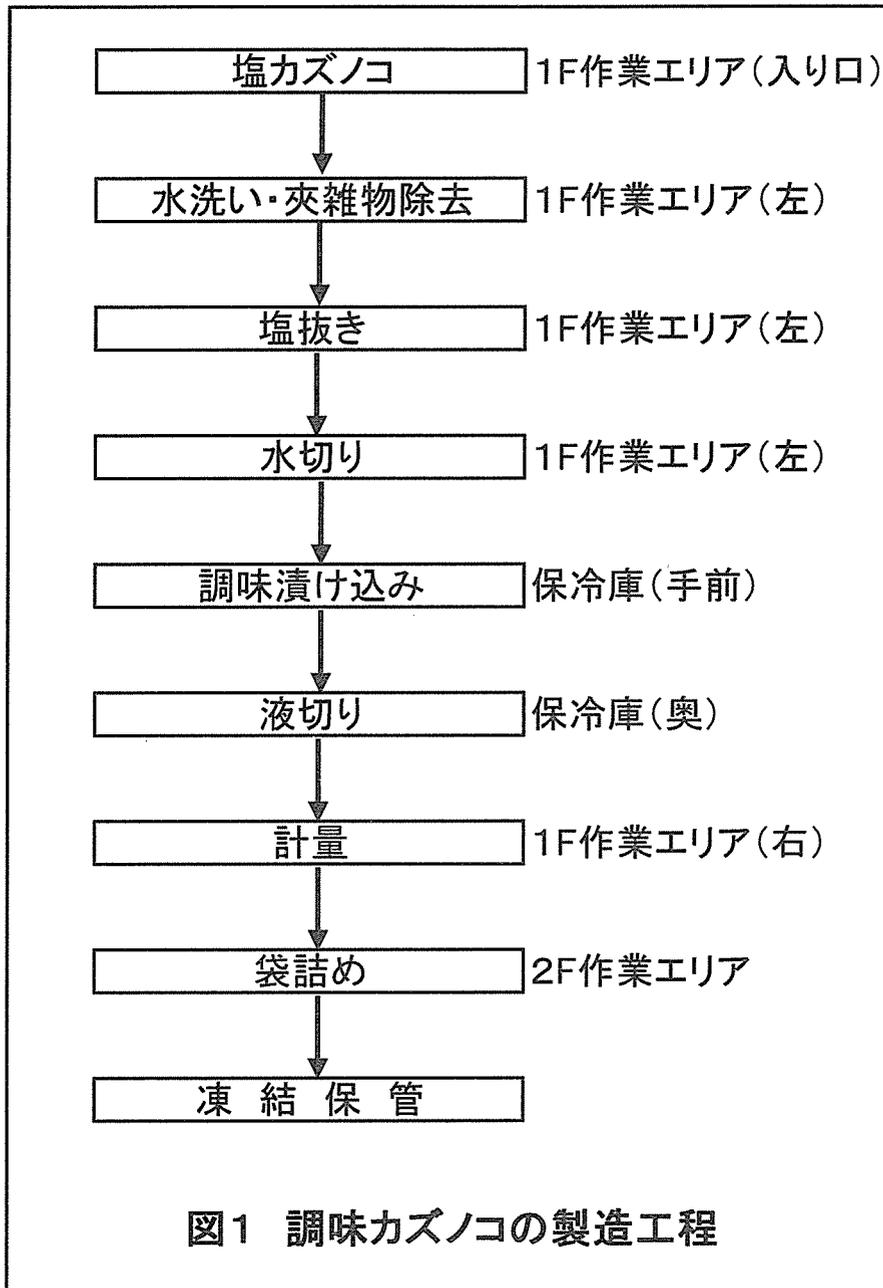
該当なし。

G. 研究発表

- 1. 論文発表
該当なし
- 2. 学会発表
該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

- 1. 特許取得



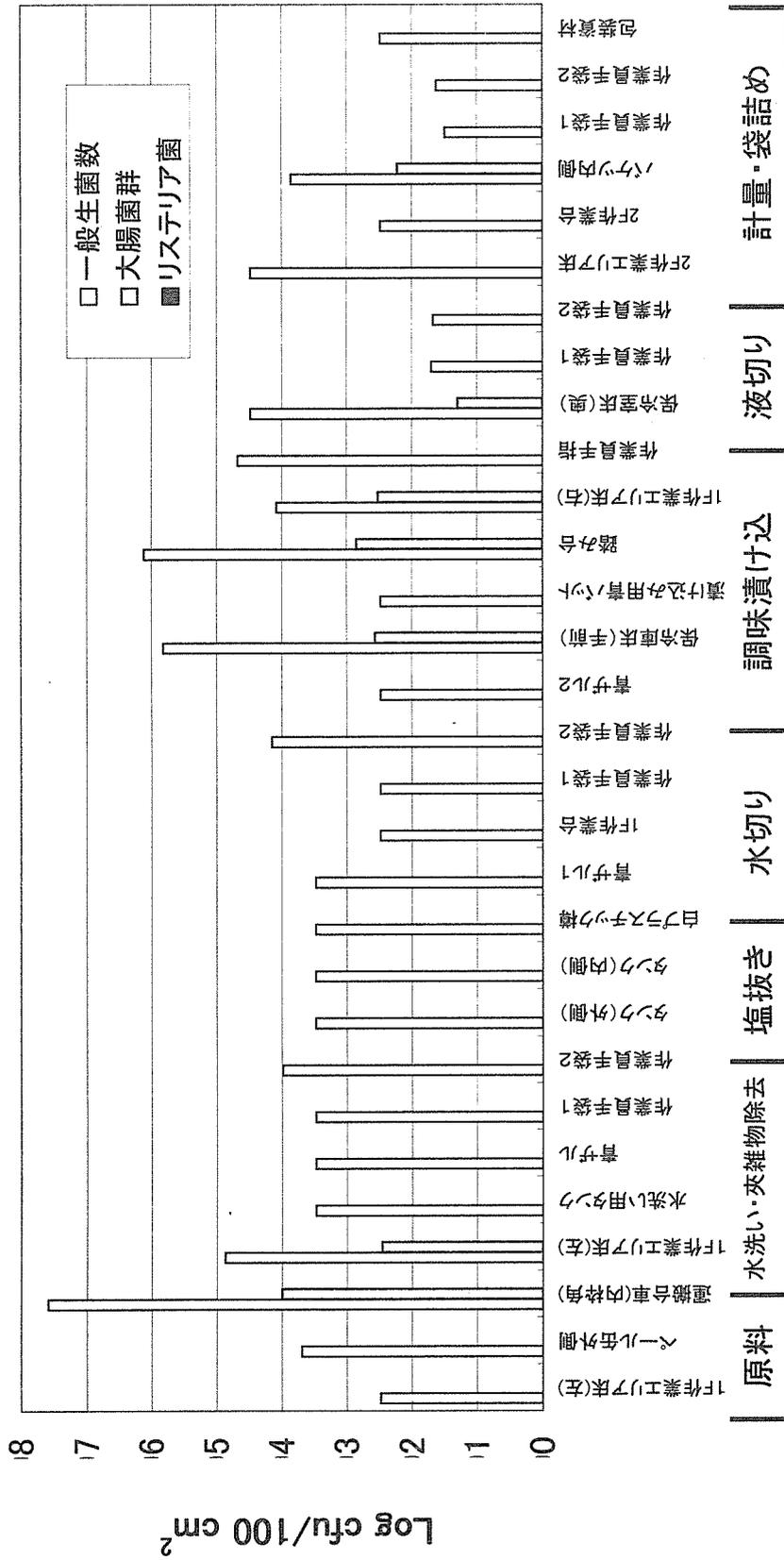


図2 調味カスノコ製造工程における拭き取り検査結果

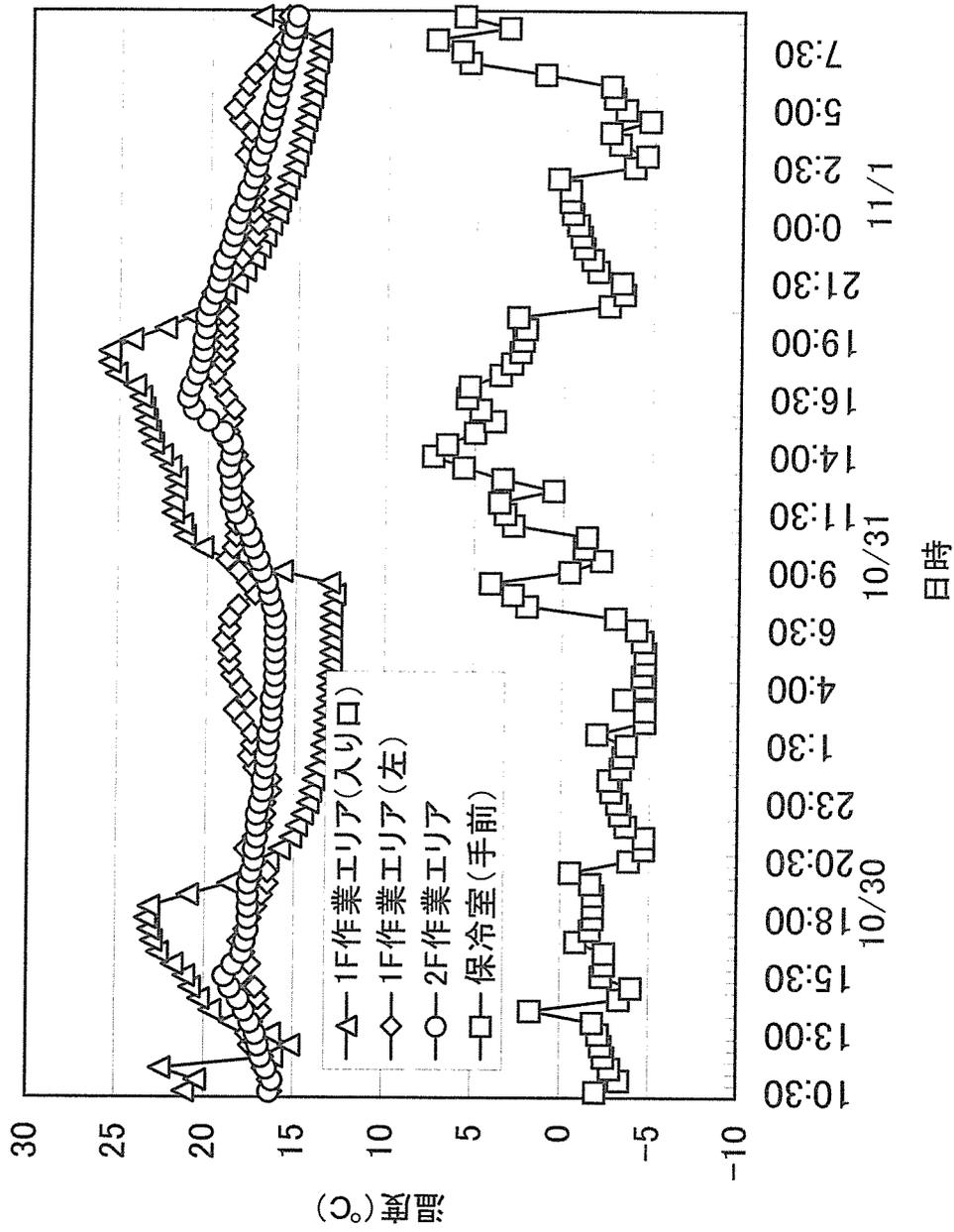


図3 各作業エリアにおける環境温度の変

表1 原料および中間製品の理化学的及び微生物学的性状

試料	pH	水分(%)	塩分(%)	水分活性	リステリア	一般生菌数	大腸菌群
①原卵	6.07	60.8	20.3	0.787	0	1.5×10^4	0
②塩抜き卵	6.11	78.6	0.2	0.998	0	1.8×10^3	0
③調味卵	5.65	76.3	2.1	0.986	0	<300	0
調味液	4.70		4.6				

H18.10.30～11.1採集検体(n=3)

表2 製品の理化学的及び微生物学的性状

試料	pH	水分(%)	塩分(%)	水分活性	リステリア	一般生菌数	大腸菌群
製品1	5.67	76.2	2.1	0.978	0	3.0×10^2	0
製品2	5.65	76.3	2.1	0.974	0	8.0×10^2	0
製品3	5.63	75.9	2.0	0.979	0	3.6×10^2	0

平成 18 年度厚生科研報告書（追加）
魚卵製品におけるリステリア菌汚染実態調査

武士甲一¹⁾，木村 稔²⁾，北川雅彦³⁾

¹⁾帯広畜産大学畜産学部 ²⁾北海道立中央水産試験場 ³⁾北海道立釧路水産試験場

北海道で製造される魚卵製品のリステリア菌に対する危害分析の一環として，味付けカズノコ及びすじこのリステリア菌による汚染実態調査を行った。味付け数の子については1ロットから5製品を抽出し，筋子については1ロットから1製品を抽出して検査に供した。その製品情報を表1に示す。検査項目については厚生労働省からの通知（イクラ製品の衛生的取扱いについて，衛乳第231号，平成10年9月18日）に基づいて一般生菌数，腸管出血性大腸菌 O157，*L. monocytogenes* の3項目とし，試験法については食品衛生検査指針にしたがった。

表 1. 調査試料の情報

すじこ		味付け数の子（無漂白数の子使用）	
製造者 住 所	釧路東水冷凍(株) 釧路市海運3丁目1-3 TEL:0154-25-0191	製造者 住 所 原材料	古平町水産加工協同組合 古平郡古平町大字入舟町17番地 にしんの卵（カナダ産），カツオだし [醤油，大豆（遺伝子組み換えでないものを分別・小麦お含む），清酒，砂糖，コンブだし
原材料	鮭卵（北海道産），食塩，酸化防止剤（ナイアシン，ビタミンC），発色剤（亜硝酸ナトリウム）	内容量 保存法 包装材質	200g 要冷凍（-18℃以下） 袋：ポリエチレンナイロン，印刷に有害な重金属を含むインキを使用していません
内容量 保存法	1kg 要冷凍		

その結果，いずれの試料からも腸管出血性大腸菌 O157 および *L. monocytogenes* は検出されず，一般生菌数については味付け数の子で $10^2 \sim 10^3$ cfu/g，すじこでは $10^3 \sim 10^4$ cfu/g の範囲であった。その結果を表2に示す。これらの試料は厚生労働省からの通知による微生物学的規格基準を満たしており，また，*L. monocytogenes* が検出されなかったので衛生的な良好な製品であると考えられた。

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）
（協力研究報告書）

無調理摂取食品におけるリステリア食中毒の予防に関する研究
PCR法を用いたチーズ増菌培養液からの *Listeria monocytogenes* 検出方法の検討

協力研究者 仲真晶子 東京都健康安全研究センター 微生物部 主任研究員

研究要旨

PCR法を用いてチーズから *L. monocytogenes* を迅速に検出する方法を検討した。チーズのEB増菌液およびhalf fraser増菌液に *L. monocytogenes* を接種しDNAを抽出してPCR法を実施したところ、アルカリ熱抽出のみでは 10^6 /mlで検出できない場合があった。市販抽出キット3種類（Prep Man、High Pure、QIAmp）のうち最も感度の良かったQIAmpキットを用いた場合でも安定して検出できたのは 10^5 /mlまでであった。一方、チーズ25g当たり10cfuレベルの *L. monocytogenes* を接種し、24時間増菌培養後の菌数を測定したところ、EB培地で $10^3 \sim 10^6$ /ml、half fraser培地で $10^2 \sim 10^5$ /mlであった。これらの結果から、増菌後の菌数が低い場合には増菌液から直接PCR法による検出は困難であると考えられた。チーズはタンパク質、脂肪などPCR反応を阻害する物質が多いため、さらに今後の検討が必要である。

A. 研究目的

リステリア症の原因食品としてチーズは最も重要なものの一つである。2001年に北海道で発生したリステリア症の集団事例も本菌に汚染されたチーズを喫食したことが原因であった。リステリア症の拡大を防止するためには、一刻も早く原因食品を特定することが必要であり、迅速な検出法の開発が望まれる。チーズからの *L. monocytogenes* 検出法としては、平成5年に当時の厚生省により通知された方法が広く用いられている。しかし、この方法は、増菌培養→分離培養→確認培養の手順がとられているため、結果を得るまでに5～7日を要する。本研究はチーズの増菌培養液からPCR法を用いて本菌を簡易迅速に検出することを目的として実施した。

B. 研究方法

B-1 供試材料

あらかじめ *Listeria* 属菌に汚染されていないことを確認した白カビタイプ、青カビタイプ、ウォッシュタイプ、セミハードタイプの4種類のチーズを供試した。

選択増菌培地は、*Listeria* enrichment Broth (IDF-FIL) (MERCK) (以下EB)およびhalf Fraser培地を使用した。half Fraser培地はFraser基礎培地(MERCK)にSelective supplement (MERCK)をFraser培地の半量を加え調製した。

供試菌株は、*L. monocytogenes* 血清型4b (ATCC43256, 米国California州で発生したチーズによる集団事例由来株)を用いた。保存株をBrain heart infusion (DIFCO)で30℃、18時間の条件で3代継代培養して接種菌液とした。

B-2 試料の作成

チーズ 25g に増菌培地(EB または half Fraser)225ml を添加し、30℃、24 時間培養した。その培養液をよく攪拌し、10ml をスピッツ管(15ml 容)に採取した。

L.monocytogenes 菌液をペプトン加リン酸緩衝食塩液(以下希釈液)で希釈して 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 cfu/ml レベルになるように増菌液にそれぞれ接種した。攪拌後、30 分間静置し、中間層から PCR 用試料を採取した。また、EB 培地にチーズを加えず *L.monocytogenes* のみ添加した試料も供試した。

B-3 PCR 用テンプレート DNA の調製

① アルカリ熱抽出法

試料液 0.5ml を 12,000rpm、10 分間遠心し、その沈渣を 25mM NaOH 液 100 μ l に懸濁、100℃、10 分間加熱後、2/25mM Tris-HCl 液(pH7.0)を 100 μ l 加えて中和、12,000rpm、3 分間遠心し、上清をテンプレートとした。

② 市販 DNA 抽出キットによる抽出

High Pure(Roche)、QIAamp(QIAGEN)、Prep Man(ABI)の各キットを用いて各々の使用説明書に従い、上記の試料からテンプレートを作製した。

B-4 PCR 法

プライマーは *hly* 遺伝子を標的とする LM1 および LM2(Border et al.,1990)を用いた。

PCR 反応溶液は、テンプレート 2.0 μ l、10 倍濃度反応緩衝液 2.5 μ l、DNA 構成デオキシヌクレオチド(dNTPs : dATP、dTTP、dCTP、dGTP(各 2.5mM、タカラバイオ) 2.0 μ l、プライマー(10mM) 各 0.25 μ l、Taq DNA ポリメラーゼ (タカラバイオ) 0.1 μ l に滅菌蒸留水を加え、全量 25 μ l に調製したものをを用いた。PCR 反応は、94℃、5 分間前熱変性後、熱変性(94℃、1 分)、アニーリング(55℃、1 分)、伸長(72℃、1 分)

を 35 サイクル行った。

PCR 産物はアガロースゲル電気泳動を行い、エチジウムブロマイドによる染色の後、702bp の DNA 断片の有無を確認した。

B-5 選択増菌培養液中の菌数の測定

チーズ 25g 当り 10cfu レベルになるように *L.monocytogenes* を接種し、EB 培地あるいは half Fraser 培地を 225ml 加え、30℃で 24 時間増菌培養した。増菌培養液中の *L.monocytogenes* 菌数測定は、PALCAM 培地 (Merck) および CHROMagar Listeria (CHROMagar)(以下 CHROMagar)を使用し、ミスラ法を用いて行った。

C. 研究結果

C-1 *L.monocytogenes* 検出のための PCR 法の感度

EB 培地に *L.monocytogenes* を 10^3 ~ 10^6 cfu/ml 接種し、PCR を行った結果、 10^4 cfu/ml まで検出することができた。

C-2 チーズ増菌培養液を対象とした PCR 用テンプレート DNA の調製法の検討
増菌培地(EB または half Fraser)で 24 時間培養したチーズ増菌培養液に *L.monocytogenes* を接種して PCR 用テンプレート DNA 調製について検討した結果を表 1 にまとめた。

①アルカリ熱抽出法

EB 培地でセミハードタイプが 10^5 cfu/ml、half Fraser 培地でウォッシュタイプとセミハードタイプが 10^5 cfu/ml まで検出できた。しかし、それ以外のチーズと増菌培地の組み合わせでは 10^6 cfu/ml でも検出できなかった。

②市販の DNA 抽出キットを用いた抽出

High Pure を用いた場合、EB 培地でセミハードタイプは 10^5 cfu/ml まで、白カビタイプ、青カビタイプ、ウォッシュタイプでは 10^6 cfu/ml で検出できたのみであった。

half Fraser 培地では青カビタイプで 10^6 cfu/ml、白カビタイプ、ウォッシュタイプ、セミハードタイプでは 10^5 cfu/ml まで検出できた。

QIAamp を用いた場合、EB 培地では青カビタイプで 10^4 cfu/ml まで検出できたが、白カビタイプ、ウォッシュタイプ、セミハードタイプでは 10^5 cfu/ml までの検出であった。half Fraser 培地では、ウォッシュタイプで 10^4 cfu/ml まで検出できたが、白カビタイプ、青カビタイプ、セミハードタイプでは 10^5 cfu/ml までの検出であった。

Prep Man では、全ての試料で検出できなかった。

C-3 24 時間増菌後の培養液中の *L.monocytogenes* 菌数

チーズ 25g 当り 10cfu レベルになるように *L.monocytogenes* を接種し、EB 培地および half Fraser 培地で 24 時間増菌培養したときの菌数を調べた結果を表 2 に示した。

EB 培地で増菌した場合は $10^3 \sim 10^6$ cfu/ml、half Fraser 培地で増菌した場合は $10^2 \sim 10^5$ cfu/ml であった。

D. 考察

PCR 法を用いた増菌培養液からの *L.monocytogenes* の簡易迅速な検出方法を検討した。EB 培地に *L.monocytogenes* を接種し、アルカリ熱抽出法による検出感度を検討したところ 10^4 cfu/ml であった。しかし、チーズに増菌培地(EB または half Fraser)を添加し、24 時間培養後の培養液に *L.monocytogenes* を接種し、同様にアルカリ熱抽出法で PCR を行ったところ、 10^6 cfu/ml でも検出できない場合があった。このことから、チーズの成分によって PCR 反応が阻害されていると考えられた。そこで、市販の DNA 抽出キットを用いた抽出を検討した。最も検出感度のよかったものは QIAamp キットであったが、この方法で

も安定して検出できたのは 10^5 cfu/ml までであった。

チーズ 25g 当たり 10cfu のレベルで菌を接種して EB 培地あるいは half Fraser 培地で 24 時間培養後の培養液中の *L.monocytogenes* の菌数を測定したところ $10^2 \sim 10^6$ cfu/ml であったため、増菌後の菌数が低い場合に上記の方法では検出ができないと考えられた。チーズはタンパク質、脂肪など PCR 反応を阻害する物質が多いため一次増菌液から簡易に DNA サンプルを作製することは容易ではなく、今後の検討が必要である。

E. 結論

チーズの増菌培養液から *L.monocytogenes* を PCR 法によって検出するために DNA 抽出法を検討した。アルカリ熱抽出法では本菌が 10^6 /ml あっても検出できない場合があった。市販キット 3 種類のうち最も感度の良かった QIAamp を用いた場合でも安定して検出できたのは 10^5 /ml までであった。一方、通常の汚染菌数と同等レベル (10 cfu /25g) の菌をチーズに接種し増菌したところ、24 時間後の菌数は $10^2 \sim 10^6$ /ml であった。以上の結果から 24 時間培養の一次増菌液から直接 PCR 法により検出することは困難であることが示唆された。チーズはタンパク質、脂肪など PCR 反応を阻害する物質が多いため、さらに今後の検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

仲真晶子. 食品の *Listeria monocytogenes* 汚染実態. 日本食品微生物学会雑誌, 23(4) : 183-189 (2006).

仲真晶子. 食品媒介リステリア症. 臨床栄養, 108(5) : 512.

2. 学会発表

樋口 篤、仲真晶子、小西典子、下島優香子、尾畑浩魅、門間千枝、矢野一好、甲斐明美、福山正文、山田澄夫. チーズからの *Listeria monocytogenes* 検出法の比較検討. 第 27 回食品微生物学会学術集会. 平成 18 年 9 月. 大阪.

仲真晶子、小西典子、下島優香子、石崎直人、尾畑浩魅、門間千枝、矢野一好、甲斐明美、五十君静信、諸角 聖、山田澄夫. *Listeria* のヒト糞便からの検出状況. 第 27 回日本食品微生物学会学術総会. 平成 18 年 9 月. 大阪.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

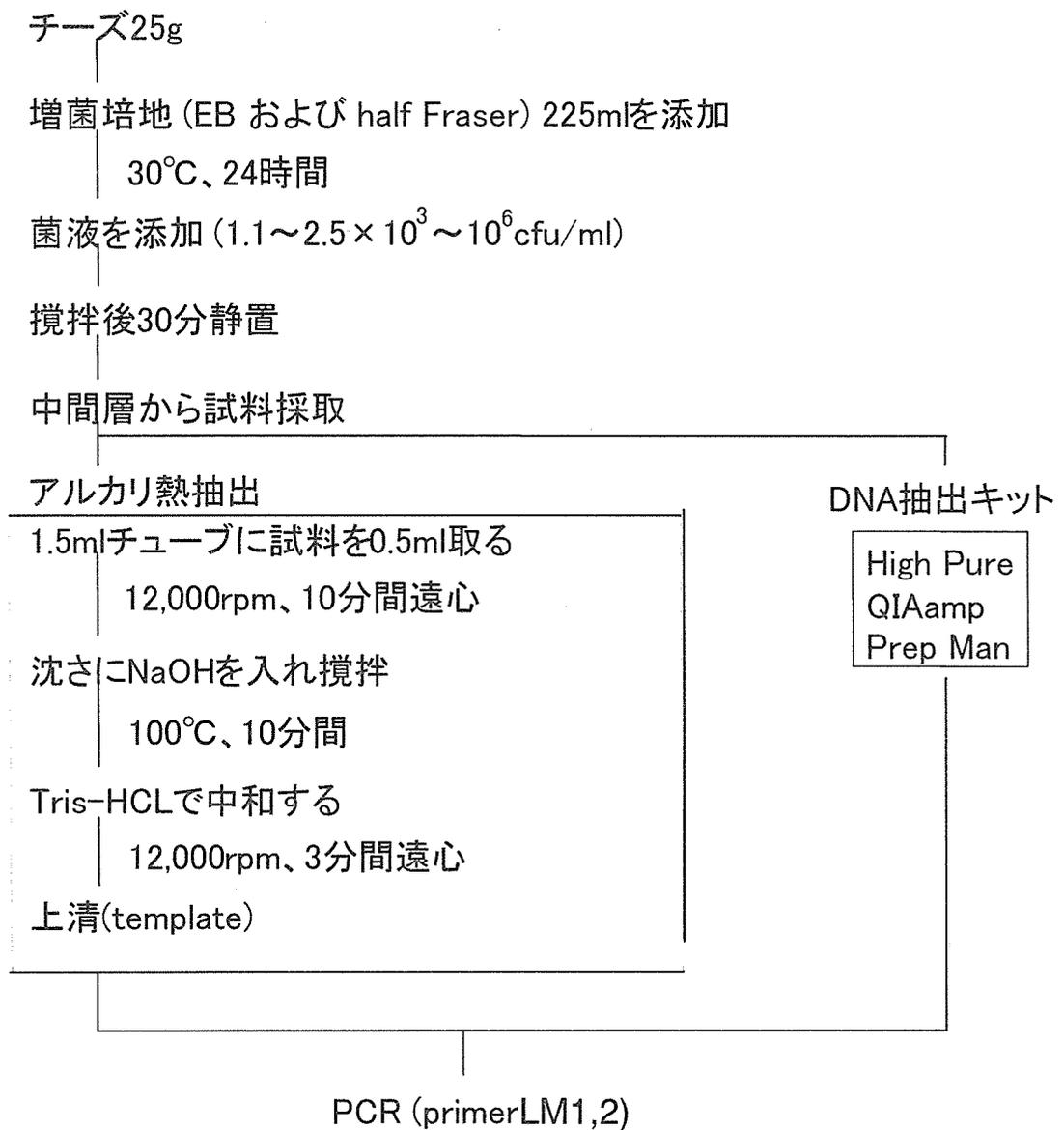


図1. PCR法を用いたチーズ増菌培養液からの
*L.monocytogenes*検出方法

表1. PCR法を用いたチーズ増菌培養液からの*L.monocytogenes*検出

抽出法	供試 チーズ (タイプ)	EB				h Fraser			
		10 ⁶ *	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³
アルカリ 熱抽出	白カビ	-	-	-	-	-	-	-	-
	青カビ	-	-	-	-	-	-	-	-
	ウォッシュ	-	-	-	-	+	+	-	-
	セミハード	+	+	-	-	+	+w	-	-
High Pure	白カビ	+w	-	-	-	+	+w	-	-
	青カビ	+	-	-	-	+	-	-	-
	ウォッシュ	+	-	-	-	+	+	-	-
	セミハード	+	+	-	-	+	+	-	-
QIAamp	白カビ	+	+	-	-	+	+	-	-
	青カビ	+	+	+	-	+	+w	-	-
	ウォッシュ	+	+	-	-	+	+	+	-
	セミハード	+	+	-	-	+	+	-	-
Prep Man	白カビ	-	-	-	-	-	-	-	-
	セミハード	-	-	-	-	-	-	-	-

* 接種菌数 (cfu/ml)

表2. 増菌培養液中の*L.monocytogenes*菌数

供試チーズ (タイプ)	増菌(24時間) 培養液中の菌数	
	EB	h Fraser
白カビ	4.2 ~ 4.9 *	3.9 ~ 5.1
青カビ	3.4 ~ 4.2	2.9 ~ 5.9
ウォッシュ	4.7 ~ 6.2	3.3 ~ 5.0
セミハード	4.3 ~ 5.2	4.6 ~ 5.7

* Log cfu/ml

厚生労働科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

協力研究報告書

国内で分離された *Listeria monocytogenes* 臨床株の分子疫学的研究

協力研究者 岡田由美子

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部 主任研究官

研究要旨

Listeria monocytogenes（以下リステリア）はヒト及び動物に脳脊髄膜炎、流死産を引き起こすリステリア症の原因菌であり、土壌、河川水や様々な動物の腸管内から分離されることが知られており、人への感染源としてはナチュラルチーズ、食肉製品等の非加熱喫食食品を中心とする汚染食品の摂取が主となっている。本菌は食塩耐性、低温増殖能などの高度な環境抵抗性を持つため、食品やその原料への1次汚染や食品製造工程での2次汚染、保存過程での増殖の抑制は困難である。欧米では過去数十年に亘ってナチュラルチーズや食肉製品を原因食品とするヒトのリステリア症の集団事例が報告されている。わが国でも年間80例ほどの散発例の発生が推測されているが、髄膜炎等の重篤なリステリア症では潜伏期間が約1ヶ月と長期にわたるため、その原因食品が特定されないことが多い。本研究では、過去数年に国内で分離された臨床由来株33株について、リボタイピングの手法を用いた遺伝子型別を行った。その結果、30株が既存のDupont ID Number (DUP)に分類され、既存のDUPに分類されない株が3株見られた。また、全株中7株（21.2%）がDUP1038に分類された。

A. 研究目的

リステリア症の原因菌 *L. monocytogenes* は人へは主に汚染食品の摂取を通じて感染する。一方本菌は動物の腸管内や河川水等自然界に幅広く分布しており、また、4℃以下でも増殖可能な低温増殖能や20%もの高食塩濃度下でも生残できる高塩濃度耐性能を持つことから食品原料の一次汚染のみならず製造工程及び保存期間での二次汚染・食品内増殖を防ぐことも困難となっている。また、脳脊髄膜炎患者の潜伏期間が約1ヶ月と長期であり、流死産においては母親の症状は軽度の感冒様症状と軽微であることから、年間80例以上とされるリス

テリア症の国内散発例についてこれまで原因食品が同定された例はない。しかしながら食品媒介リステリア症の発生を減少させるにはその原因食品の同定が必要不可欠である。われわれは過去の厚生労働科学研究において、食品を通じた本菌のヒトへの感染リスクを明らかにする目的で、本菌の病原遺伝子を用いて臨床由来及び食品由来株の分子遺伝学的マーカーの検索を行い、食品由来株において特定遺伝子マーカーの保有率が低い群が存在していることを明らかにするとともに、ヒトへの感染リスクが低い菌株群がある程度存在している可能性を示した。しかし臨床株においては100%が調

査した病原因子を保有していたため、臨床株の分子疫学を行うためには別の手法を用いる必要があった。本研究では臨床由来株の簡便で効果的な型別法を検討する目的で、患者由来のリステリア 33 菌株についてリボタイピングの手法を用いて分子遺伝学的調査を行った。

B. 研究方法

1. 検体

全国の病院から送付された *Listeria monocytogenes* 臨床由来株 33 検体を使用した (表 1)。

2. リボタイピングの手法を用いた *L. monocytogenes* の型別

各菌株は Brain Heart Infusion 寒天培地 (Difco) 上で 37 °C 一夜培養後、RiboPrinter®System (DuPont) 及び RiboPrinter®System EcoRI Batch Kit (タカラバイオ) を用い、そのマニュアルに従って加熱処理後にリボタイピングを行った。制限酵素は EcoRI を使用した。

3. 血清型別

血清型が同定されていない菌株はリステリア免疫診断用血清「生研」(デンカ生研)を用いて血清型別を行った。

C. 研究結果

リボタイピングの結果から、今回調査した臨床由来リステリア菌株の 30 株が既存の Dupont ID Number (DUP) 15 種類に分類された。既存の DUP に分類されないもの (none) は 3 株見られ、そのうち 2 株は同一のリボパターン (none1) を示した (図 1、表 2)。また、33 株中 7 株 (21.2%) が DUP1038 に分類され、それらは全て血清型 4b であった。他にも複数の株が分類された DUP8 種のうち、

DUP18596 に型別された 3 株と DUP18611 に型別された 2 株が血清型 4b に属していた。

血清型 1/2a に属する 8 株は 7 種の DUP に、血清型 1/2b に属する 5 株は 4 種の DUP に、血清型 4b に属する 19 株は 9 種の DUP に型別された。一方、各 DUP に型別された複数の菌株の分離地区には特に傾向は見られなかったため、特定の分離地区に多い DUP は特になく思われた (表 3)。

D. 考察

1. 今回の研究により、以前行った 10 種の病原因子の保有状況では型別できなかった患者由来株の分子疫学的型別が、リボタイピングの手法を用いることにより可能となることが示された。また、もっとも普遍的に行われている本菌の型別方法である血清型別で同一のタイプに分類される菌株もリボタイピングにより更に細かな型別をしうることが示された。また、リボタイピングは試薬類及びリボプリンターシステムが高価であることが欠点ではあるが、大変簡便であり、操作者による結果の差が極めて少ないところが同じく本菌の遺伝子型別に用いられるパルスフィールドゲル電気泳動と比較して大変有用であると思われた。

2. 今回の結果から、全国各地で分離された患者由来株の 2 割以上が DUP1038 に型別される血清型 4b の菌株であった。今後国内産食品や輸入食品等から分離された本菌のリボタイピングによる型別を行うことで、同じ遺伝子型別に分類される菌株がどのような食品に多く含まれているかを明らかにすることが可能となり、食品媒介リステリア症の原因食品を迅速に同定するための有用な情報となりうると思われた。

3. 今回試験した臨床由来株 33 株のうち 3 株

は DuPont 社のデータベース上 (85 菌株が *L. monocytogenes* として登録) で同一とされる菌株が見られない株であり、国内に限局して存在している株である可能性が示唆された。

E. 結論

本研究の結果、国内で分離された患者由来株が多くのリボタイプに型別されたこと、それらの約 2 割が同一の型に分類されたこと、また、約 1 割は DuPont 社のデータベースに同一株が見られず未報告の株であったことなどが示された。また、今回行ったリボタイピングが従来から行われている他のリステリア型別法と比較して、患者由来リステリア菌株の遺伝子型別に大変有用であることが示された。今後、臨床由来及び食品由来株のデータを蓄積することにより、これまで実現されていないリステリア症の散发例における原因食品の同定につながる知見を得られると思われる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

(論文発表)

1. Okada Y, Okada N, Makino SI, Asakura H, Yamamoto S, Igimi S. (2006) The sigma factor, RpoN (sigma54) is involved in osmotolerance in *Listeria monocytogenes*. FEMS Microbiol Lett. 263(1):54-60.

(口頭発表)

1. Okada Y, Makino S-I, Okada N, Asakura H, Yamamoto S and Igimi S. Identification and analysis of the osmotolerance associated genes in *Listeria monocytogenes*. 10th International Symposium on Toxic Microorganisms. Washington DC USA.

November 8, 2006.

2. 岡田由美子、石和玲子、高谷幸、山本茂貴、五十君静信。未殺菌乳を原料とするチーズ製造工程における *Listeria monocytogenes* の消長。日本細菌学会 2007.3.26。大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1. 使用菌株

血清型	分離地区	菌株数
1/2a	北海道	2
	東北	1
	関東	4
	九州	1
1/2b	北海道	1
	関東	2
	山陽	1
	四国	1
4b	東北	2
	関東	10
	北陸	1
	中部	1
	関西	2
	山陽	1
	沖縄	2
4c	北陸	1
計		33

表 2. リボタイピング結果

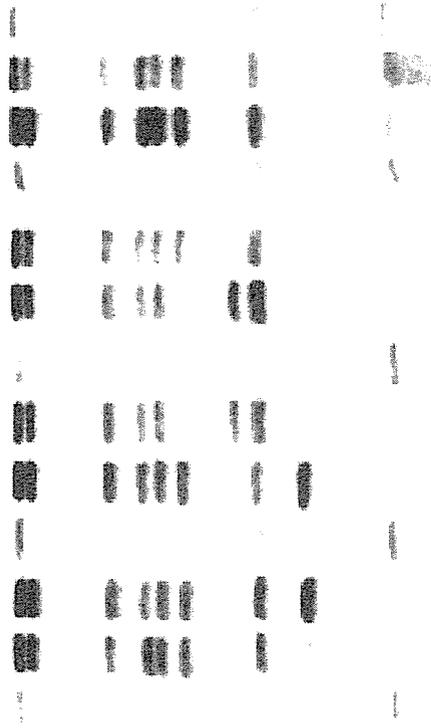
DUP	株数	%	血清型(株数)			
			1/2a	1/2b	4b	4c
1030	1	3	1			
1035	1	3			1	
1038	7	21.2			7	
1039	1	3	1			
1042	3	9.1		1	2	
16619	2	6.1	2			
18585	1	3			1	
18595	3	9.1		2	1	
18596	3	9.1			3	
18598	1	3	1			
18611	2	6.1			2	
19165	1	3	1			
19169	1	3	1			
19175	1	3		1		
19191	2	6.1		1	1	
none1	2	6.1			1	1
none2	1	3	1			
total	33	100	8	5	19	1

表 3. リボタイプと型別された菌株の分離地区

DUP	分離地区	菌株数	計
1038	東北	2	7
	関東	3	
	山陽	1	
	沖縄	1	
1042	関西	1	2
	山陽	1	
18595	関東	2	3
	四国	1	
18596	関東	2	3
	関西	1	
19191	関東	2	2
16619	北海道	1	2
	北陸	1	
18611	関東	1	2
	北陸	1	
none 1	北陸	1	2
	沖縄	1	

図1. リボタイピング結果(1)菌株1-8

M 1 2 M 3 4 M 5 6 M 7 8 M



M: Marker