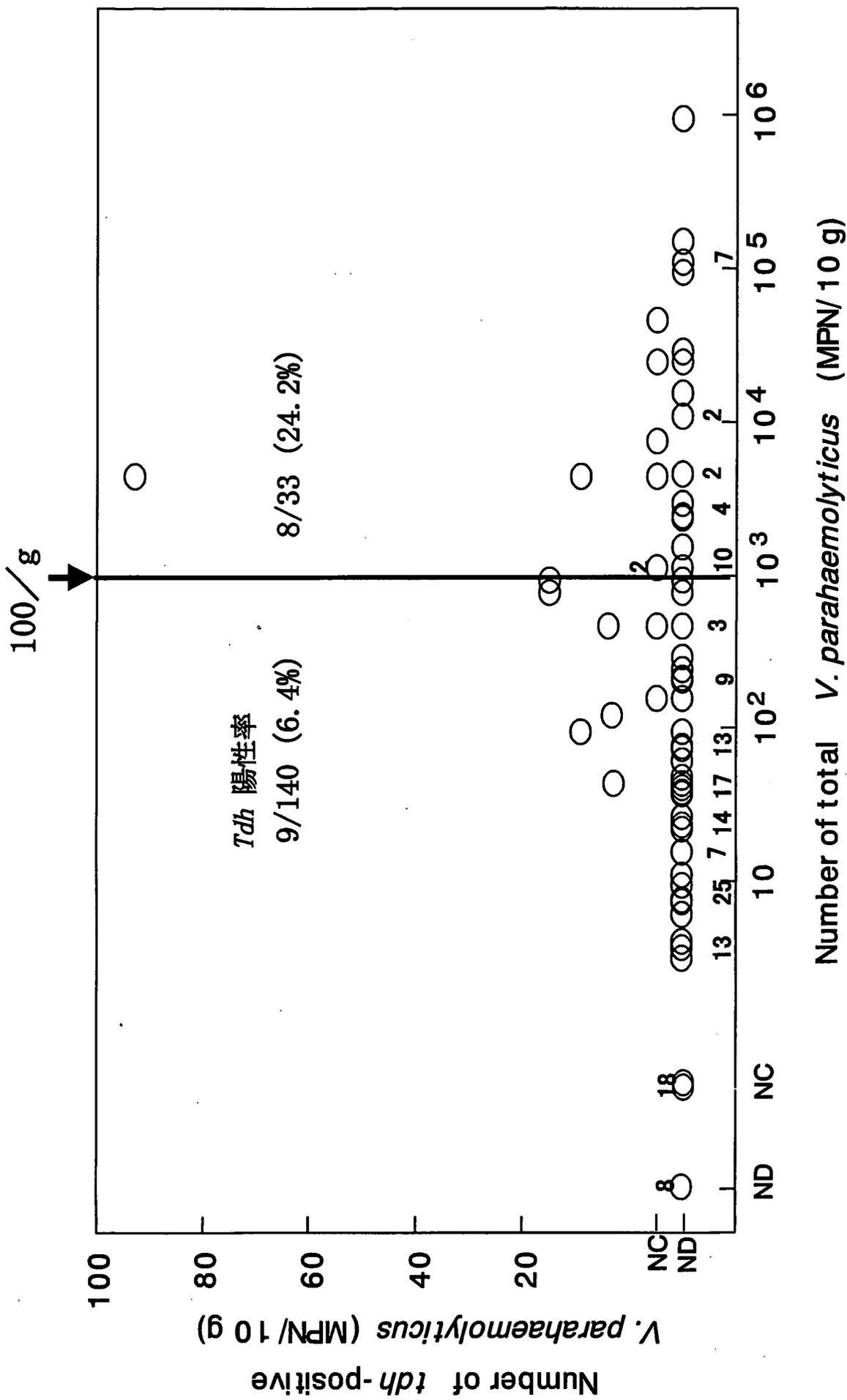


図1 腸炎ビブリオ食中毒の推移



ND: not detected in 25 g of sample, NC: detected in 25 g of sample but not countable

図2 2001年の魚介類からの腸炎ビブリオ検出結果

表1 国内における魚介類からの *tdh*陽性および全腸炎ビブリオの検出 (2001年)

地域	種類	<i>tdh</i> 陽性腸炎ビブリオ			全腸炎ビブリオ		
		検体数	<i>tdh</i> 陽性数	TDH産生株	検体数	分離検体数	検体数
北海道 東北	イワガキ	78	7	6	1	1	1
	ホタテ	29	0	NT	NT	NT	NT
	アワビ	18	0	NT	NT	NT	NT
	アオヤギ	7	1	0	4	4	4
	ウニ	3	0	NT	NT	NT	NT
	サザエ	1	0	NT	NT	NT	NT
	カキ	1	0	NT	1	1	0
	小計	137	8	6	6	6	5
関東 中部 近畿	アオヤギ	97	8	2	76	72	72
	アサリ	32	7	2	30	30	30
	アジ	9	0	NT	8	7	7
	シジミ	3	0	NT	3	3	3
	小計	141	15	4	117	112	112
中国 四国 九州	アジ	8	0	NT	7	6	6
	サザエ	6	1	0	6	5	5
	アサリ	4	1	0	4	4	4
	シジミ	2	0	NT	2	2	2
	ハマグリ	2	0	NT	2	2	2
	マテガイ	1	0	NT	1	1	1
	イモガイ	1	0	NT	1	1	1
	カキ	1	0	NT	1	1	1
	タイラギガイ	1	0	NT	1	1	1
	トコブシ	1	1	0	1	1	1
	小計	27	3	0	26	24	24
不明	アオヤギ	24	7	1	24	24	24
合計		329	33	11	173	165	165

(10%)

表2 2006年以降の腸炎ピブリオ食中毒事例の詳細

事例	発生年月日	原因施設都道府県	患者数	原因食品	血清型
1	2006年7月16日	和歌山市	334人	弁当	K56, K61
2	2006年9月18日	長崎市	150人	不明	04 : K68
3	2006年8月20日	藤沢市	42人	生しらす	03 : K6
4	2006年8月16日	横浜市	90人	のり巻き	03 : K6
5	2006年8月14日	千葉市	5人	弁当	03 : K57
6	2007年5月1日	倉敷市	7人	不明	03 : K6
7	2007年8月12日	福岡県	94人	会席料理	03 : K6
8	2007年9月8日	宮城県	595人	イカの塩辛	03 : K6

平成 19 年度 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）
細菌性食中毒の防止対策に関する研究
主任研究者 熊谷 進
（東京大学大学院生命科学研究科）

分担研究
腸炎ビブリオ食中毒の防止対策に関する研究
分担研究者 工藤由起子（国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部）

協力研究報告書
二枚貝等の鮮魚介類の腸炎ビブリオ汚染

研究要旨

腸炎ビブリオ食中毒は、平成 10 年（1998 年）までに急増した後に現在まで患者数は 1/10 以下に、事例数は 1/25 以下に減少している。しかし、その減少については対策の効果によるものか自然減少によるものか不明である。このため、対策を講じた時期の魚介類の腸炎ビブリオ汚染と現在の汚染状況が異なるのか調査の必要がある。今年度の研究では、二枚貝を中心とする魚介類の腸炎ビブリオ汚染実態を究明した。その結果、腸炎ビブリオは 75.7% の検体から分離され、*tdh* 遺伝子は 6.9% の検体で陽性であった。また、腸炎ビブリオ菌数 100MPN/g を超えると TDH 陽性腸炎ビブリオの汚染が約 5 倍に増加することが明らかになった。これらの結果から、腸炎ビブリオ食中毒発生が少なくなかった平成 13 年の調査時と、二枚貝を中心とする魚介類の腸炎ビブリオ汚染の状況は現在も大きく異なることが判明した。今後さらに、対策の取られた項目について調査の必要がある。

研究協力者

秋田県健康環境センター	齋藤志保子
埼玉県衛生研究所	大塚佳代子
静岡県環境衛生科学研究所	杉山寛治
長崎県衛生公害研究所	山崎省吾
熊本県保健環境科学研究所	八尋 俊輔、宮坂次郎
国立大学法人弘前大学大学院	大友良光
東海大学海洋学部	高橋貴一、小沼博隆
（財）日本食品分析センター	宇田川藤江、田中廣行
（株）BML フード・サイエンス	矢部美穂、中川 弘
（株）デンカ生研	権平文夫

A. 研究目的

腸炎ビブリオ食中毒は、平成 10 年（1998 年）までに急増した後、現在まで腸炎ビブリオ食中毒は減少し 2007 年には患者数は 860 名（1/10 以下）に、事例数は 29 件（1/25 以下）に減少している。しかし、その減少については対策の効果によるものか自然減少によるものか不明である。このため、対策を講じた時期の魚介類の腸炎ビブリオ汚染と現在の汚染状況が異なるのか調査の必要がある。今年度の研究では、平成 13 年の調査とほぼ同一の地域由来の二枚貝を中心とする魚介類を対象として、腸炎ビブリオ汚染実態を究明した。

B. 研究方法

材料と方法

1. 検体

平成 19 年 7～11 月に、平成 13 年の調査とほぼ同一の地域から 247 検体の二枚貝等の魚貝類を入手し検体とした。検体はアオヤギ、アサリ、イワガキ、ホタテ等を主とした（表 1）。検体由来地域は、北海道、東北、関東、中部・近畿、九州とした（表 2）。

殻付きの貝は、殻を取り除き中身を滅菌はさみで細断し検体とした。ただし、一つの貝の中身が 25 g 以上の検体は、1 個体を対象とした。

2. 検出方法

平成 13 年の調査時と同様の方法で試験を行った（図 1）。

① 増菌方法

2 種類の培地を組み合わせ、三段階増菌法にて培養した。まず、ストマッカー袋に入れた検体 25 g にアルカリペプトン水（日水製薬）225ml を加え、35～37℃で 18 時間培養した。この培養液 1 ml を食塩加ポリミキシンプイヨン（日水製薬）10 ml に加え 35～37℃で 18 時間培養した。さらに、この培養液 1 ml を事前に 35℃に加温した食塩加ポリミキシンプイヨン 10 ml に加え 35～37℃で 6 時間培養した。これらは、定性試験および定量試験（最確数法）の両方に共通して用いられた。

② 分離培養方法

定性試験の 3 段階目増菌培養液 1 ml を検体とし腸炎ビブリオ K6 抗原に対する免疫磁気ビーズを用いて免疫磁気ビーズ濃縮法を行った。まず、増菌液 1 ml をマイクロチューブに取り、免疫磁気ビーズ腸炎ビブリオ K6（デンカ生研）を約 25 ml 滴下し、10 分間室温放置後、混和させ 10 分間隔で 30 分反応させた。次に、磁石スタンドに 5 分間静置し、磁気ビーズを集め、上清を除いた。そこに洗浄液を 1 ml 加え、混和した。この作業を 3 回繰り返す。

返し行い、磁気ビーズを洗浄した。最終的に 0.1 ml の洗浄液にビーズを浮遊させ、これを濃縮菌液とした。このうち 10~20 μ l をクロモアガー・ビブリオ培地（クロモアガー社）に画線し、35~37°C で 18 時間培養した。*Tdh* 検出の PCR の結果が陽性の場合には多数のコロニーが釣菌できるよう希釈列を塗抹した。また、同増菌培養液 10 μ l をクロモアガー・ビブリオ培地に直接塗抹し、35~37°C で 18 時間培養した。

③ 腸炎ビブリオの確定試験

生育したクロモアガー・ビブリオ培地上のコロニーを観察し、腸炎ビブリオと思われる藤色のコロニーを釣菌し糖分解性試験、硫化水素生産性試験、塩分濃度耐性試験および *toxR* 遺伝子を標的にした PCR 法を行い確定した。糖分解性試験に 2% NaCl 添加 Triple Sugar Iron Agar (TSI) 半斜面培地、また、塩分濃度耐性試験に NaCl 添加 Nutrient Broth (NB) を使用した。分離した藤色のコロニーを釣菌し、0%、3%、7% および 8% NaCl 添加 NB 培地に浸した後、TSI 培地に画線および突刺し、それぞれ 35°C で 18 時間培養を行った。腸炎ビブリオの典型的な性状は NB 培地において、0% 塩濃度で生育せず、3%、7% および 8% 塩濃度で生育し、2% NaCl 添加 TSI 半

斜面培地において、斜面部が赤色、高層部が黄色を示す。また、各コロニーを腸炎ビブリオ *toxR* 遺伝子を対象にした PCR に供試した。

④ DNA 抽出方法

増菌液 1 ml および 0.1 ml を 10,000 $\times g$ で 10 分間遠心後、上清を除き沈殿に滅菌蒸留水を加え再浮遊させた。滅菌蒸留水量は、増菌液 1 ml には 0.1 ml（これを 10 倍濃縮とする）、増菌液 0.1 ml には 1 ml（これを 10 倍希釈とする）とした。その後、100°C で 5 分加熱し、10,000 $\times g$ で 5 分遠心して得られた上清を Template DNA とした。また、クロモアガー・ビブリオ培地上に生育した藤色のコロニーおよび 2% NaCl 添加 TSA 培地に生育したコロニーは、滅菌蒸留水 0.1 ml にコロニーを適量浮遊させ、100°C で 10 分間加熱し、DNA を抽出し、10,000 $\times g$ で 5 分遠心して得られた上清を Template DNA とした。

⑤ *tdh* 遺伝子検出 PCR 法

Template DNA の調整のために、培養液 1 ml および 0.1 ml を高速遠心（6,000 rpm 以上 10 分）し、上清を捨て沈殿に滅菌蒸留水を加え再浮遊させた。滅菌蒸留水量は、培養液 1 ml には 0.1 ml（10 倍濃縮）、培養液 0.1 ml には 1 ml とし（10 倍希釈）、使用

時まで -30°C で保存した。PCRはTadaらの方法(Molecular Cellular Prob. 1992, 6: 477-487)によって行い、反応試薬液 $45\mu\text{l}$ にTemplate DNA $5\mu\text{l}$ を加え計 $50\mu\text{l}$ の反応とした。PCR条件は、熱変性 94°C 1分、アニーリング 55°C 1分、伸長 72°C 1分を1サイクルとし、35サイクルとした。得られたPCR産物を泳動し*tdh*遺伝子の確認を行った。PCR産物は3%アガロースゲル(Nu Sieve 3:1 agarose: Cambrex Bio Science Rockland)にて電気泳動し産物の大きさの確認を行った(251 bp)。特に、目的の産物のサイズが小さい核酸フラグメントため近い大きさの産物を陽性と判定してしまう危険がある(図2)。これを避けるためにも産物がお適したアガロースゲルを選択することが必要であった。

⑥ 最確数(MPN)法

3管法の5段階までのMPN法にて腸炎ビブリオ菌数および*tdh*陽性菌数を測定した。検体乳剤の10 ml、1 mlおよび0.1 mlを3本ずつアルカリペプトン水10 mlに加えた。0.1 mlをアルカリペプトン水10 mlに加えたものについては、さらにその1 mlをアルカリペプトン水10 mlに加える。さらにこの1 mlをアルカリペプトン水10 mlに加え

た。これらを $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ で18時間培養した。次に、各培養液1 mlを食塩加ポリミキシンプイオン10 mlに加え $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ で18時間培養した。さらに、その1 mlを事前に 35 に加温した食塩加ポリミキシンプイオン10 mlに加え $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ で6時間培養した。

②の分離培養法に従い、各MPN試験管培養液をクロモアガー・ビブリオ培地に画線し $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ で18時間培養した。クロモアガー・ビブリオ培地上のコロニーを観察し、腸炎ビブリオと思われるコロニーを釣菌し性状試験を行い腸炎ビブリオであるか確認した。定性試験で*tdh*陽性検体については、*tdh*陽性菌をできるだけ分離するために多くのコロニーを⑤の方法に従いPCRにて試験した。また、各MPN試験管培養液についてもPCRを行った。

⑦ Box screening 法

クロモアガー・ビブリオ培地上に生育した藤色のコロニーにNo.1~100までの番号をつけた。その後、滅菌蒸留水0.1 mlに若い順にNo.1~10、No.11~20というように10番ずつ藤色のコロニーを同一のチューブに浮遊させた。また、同じように下一桁が同一の藤色のコロニーを同一のチューブに浮遊させた。合計20本のチューブについて 100°C で5

分間加熱し、 $10,000 \times g$ で 5 分遠心して得られた上清を Template DNA とした。これを用いて PCR 法にて *tdh* 遺伝子の有無を確認し、結果からいずれのコロニーが *tdh* 遺伝子陽性か判定した。

⑧ 菌の分離および血清試験

Tdh 検出の PCR で陽性の検体については、クロモアガー・ビブリオ培地上の 100 コロニーを選択し Box screening 法を利用し PCR にて *tdh* の有無を試験した。*Tdh* 陽性コロニーが分離できた場合は血清型を確認した。*Tdh* 検出の PCR で陰性の検体においても、一部コロニーについて血清（デンカ生研）による凝集試験を行ない血清型を判定した。スライド凝集法による K 型別試験を行った。混合血清での試験を行うために 2%NaCl 添加 TSA に生育したコロニーを釣菌し、スライドガラスの区画毎に各混合血清を約 $30 \mu\text{l}$ 滴下して混和した。透過光下でスライドガラスを前後に傾けながら 1 分間反応させて目視で凝集の有無を確認し、凝集が確認された菌株を陽性とした。混合血清で陽性と判定された場合、その混合血清を構成する単味血清を用いて同様の試験を行い、K 型を確定した。また、混合血清が全て陰性と判定された場合、K70 及び K71 の血

清を用いて同様の試験を行った。さらに、スライド凝集法による O 群別試験を行った。5%グリセリン加 3%塩化ナトリウム液 $300 \mu\text{l}$ に、2%NaCl 添加 TSA 培地で前培養したコロニーを釣菌し浮遊させた。その後、 121°C で 1 時間加熱処理を行い、 $900 \times g$ で 20 分間遠心分離し、上清を除き沈渣に 3%塩化ナトリウム液 0.5 ml を加え、浮遊させてスライド凝集法 O 群別試料とした。スライドガラスの区画毎に各混合血清を約 $30 \mu\text{l}$ 滴下した。そこに、O 群別試料 $5 \mu\text{l}$ を混和させた。透過光下で 1 分間反応させて目視で凝集の有無を確認し、凝集が確認された菌株を陽性とし O 群を確定した。

⑨ RPLA 法

逆受け身ラテックス凝集反応キット（KAP-RPLA, デンカ生研）を用いた。まず、分離菌株の白金耳量を釣菌し、5%食塩加マンニットペプトン水に接種し、 35°C で 18 時間培養を行った。その培養液 1 ml を $3,000 \times \text{rpm}$ で 20 分間遠心し、上清 0.1 ml を取りサンプルとした。その後、V 型マイクロプレートに希釈液 $25 \mu\text{l}$ を分注し、最前列の穴にサンプル $25 \mu\text{l}$ を滴下した。同一サンプルについて 4 段階まで 2 倍段階希釈を行った。同様に陽性コントロールとして対象耐熱

性溶血毒を用いて、上記と同様の操作を行った。さらに、感作ラテックスをそれぞれの系列に25 μ lずつ滴下して液を均一になじませ、18時間室温で静置後に結果の判定を行った。結果の判定は、V型マイクロプレート黒い台の上に置き、上から各穴のラテックス沈降像を肉眼で観察し、凝集を確認できたサンプルを陽性とした。

C. 結果

1. 腸炎ビブリオの分離での定性分析

全検体である247検体中の187検体(75.7%)で腸炎ビブリオが分離された(表2)。産地別では、北海道は60検体中の44検体(73.3%)、東北は94検体中の52検体(55.3%)、関東は33検体中の33検体(100%)、中部・近畿は19検体中の19検体(100%)、九州は38検体中の38検体(100%)で腸炎ビブリオが分離された(表2)。検体種別では、アオヤギは73検体中の57検体(78.1%)、アサリは54検体中の54検体(100%)、イワガキは40検体中の32検体(80%)、ホタテガイは37検体中の9検体(24.3%)で腸炎ビブリオが分離された。

2. *tdh*陽性腸炎ビブリオの定性分析

*tdh*遺伝子を対象としたPCR法では、247検体中の17検体(6.9%)で*tdh*遺伝子が検出された(表1)。検体の産地別では、北海道は62検体中の8検体(12.9%)であり、その全てはアオヤギであった。東北は94検体中のムラサキイガイ1検体(1.1%)であった。関東は33検体中の3検体(9.1%)であり、検体種はアサリ、アオヤギ、不明であった。中部・近畿は19検体中の3検体(15.8%)で*tdh*遺伝子が検出され、検体種はアサリであった。

3. 腸炎ビブリオの分離での定量分析

腸炎ビブリオが分離された32検体について総腸炎ビブリオ菌数を求めた。最大値は、本研究での測定範囲の設定を超え>140,000 MPN/10gであった(図3)が、最小定量値である3 MPN/10g未満のものが多かった。その他は、比較的偏り無く広い範囲の腸炎ビブリオ定量値を示した。

4. *tdh*陽性腸炎ビブリオの定量分析

定性分析で*tdh*遺伝子陽性の21検体について*tdh*遺伝子陽性腸炎ビブリオ菌数を求めた。最大値は、1,000 MPN/10gを越えていたが(図3)が、最小定量値である3 MPN/10g未満のもの

が多かった。10 MPN/10 g 以下の総腸炎ビブリオ菌数レベルでは、*tdh* 遺伝子が検出されなかった。各検体の総腸炎ビブリオ菌数と *tdh* 遺伝子陽性腸炎ビブリオ菌数をグラフにプロットして解析した結果、両者に相関は認められなかった (図 3)。

5. *tdh* 陽性の腸炎ビブリオ分離菌株

tdh 遺伝子陽性の 21 検体のうち 5 検体から *tdh* 遺伝子陽性菌株が分離された。*tdh* 遺伝子陽性菌株が分離された検体については、これら分離菌株の性状及び *toxR* 遺伝子の有無を試験した結果、全菌株が腸炎ビブリオの性状と一致し、*toxR* 遺伝子も検出された。

次に、分離菌株での TDH 毒素産生性を RPLA 法を用いて試験した。TDH 毒素産生は、ほとんどの株で確認されたが、1 検体から分離された 2 株では、*tdh* 遺伝子が検出されたが、TDH 毒素産生は認められなかった。

さらに、*tdh* 陽性株での血清型を確認した (表 3) ところ、04:K9、04:K37、04:K38、04:KUT、OUT:K37、OUT:K38、OUT:KUT であり、O 群は 04 および OUT であり、K 型は K37、K38 および KUT で類似していた。しかし、03:K6 は分離されなかった。

6. *tdh* 遺伝子陰性の腸炎ビブリ

オ分離菌株

tdh 遺伝子陰性菌株の血清型は、03:K6、011:K51、04:KUT、06:KUT、010:KUT、011:KUT、OUT:K37 および OUT:KUT であった。特に、03:K6 についてはアオヤギ、アサリ、ハマグリなどで分離された (表 4)。

D. 考察

2001 年 (平成 13 年) 6 月に「食品衛生法施行規則」および「食品、添加物等の規格基準」の一部改正として通知され、規格基準の新設 (「生食用鮮魚介類」、「ゆでがに」)、規格基準の改正 (「食品一般の製造、加工及び調理基準」、「生食用鮮魚介類」、「冷凍食品 (生食用冷凍鮮魚介類)」、「ゆでだこ」)、成分規格 (「ゆでだこ」、「飲食の際に加熱しないゆでがに」) は腸炎ビブリオ陰性；生食用鮮魚介類、むき身の生食用かき、生食用冷凍鮮魚介類は 1g あたり腸炎ビブリオが 100MPN 以下)、10℃ 以下で管理することなどが示された。これらは翌月に施行に至った。この中の規格基準設定である「腸炎ビブリオ数 100MPN/g」を本研究データに当てはめてみると、これを超える検体は約 1 / 5 あった。*tdh* 陽性率は「腸炎ビブリオ数 100MPN/g」を越える検体では約 18.2% であったが、越えない検

体では約 4.4%であった。このことから、腸炎ビブリオ菌数 100 MPN/gを超えると TDH陽性腸炎ビブリオの汚染が約 4 倍に増加することが明らかになった。平成 13 年の調査では腸炎ビブリオ数 100 MPN/g を超える検体は 19.1%であり、その *tdh* 陽性率は 24.2%で、腸炎ビブリオ数 100 MPN/g以下の検体では *tdh*陽性率は 6.4%であった。以上の結果から、平成 13 年の汚染状況と大きくは異なっていないことが明らかになった。今後、市場海水の汚染実態、氷等の使用による保管状況など対策の行われた項目について調査をする必要があると考えられる。

本研究の結果から、腸炎ビブリオ食中毒発生が少なくなかった平成 13 年の調査時と、二枚貝を中心とする魚介類の腸炎ビブリオおよび *tdh* 陽性腸炎ビブリオ汚染率は現在も大きく異ならないことが判明した。しかし、1996 年に出現して以降、腸炎ビブリオ食中毒で主要な血清型とされる O3:K6 は検出されなかった。このため、腸炎ビブリオ食中毒の減少の理由として、魚介類の水揚げから市場、流通、消費の段階での魚介類取扱が改善されたこと、また、血清型 O3:K6 の *tdh* 陽性腸炎ビブリオの魚介類の汚染が減少したことが可能

性として考えられた。今後さらに、対策の取られた項目についての調査の必要性が強く考えられる。

E. 結論

腸炎ビブリオ食中毒は、平成 10 年 (1998 年) までに急増した後、現在まで患者数は 1/10 以下に、事例数は 1/25 以下に減少している。しかし、その減少については対策の効果によるものか自然減少によるものか不明である。このため、対策を講じた時期の魚介類の腸炎ビブリオ汚染と現在の汚染状況が異なるのか調査の必要がある。今年度の研究では、二枚貝を中心とする魚介類の腸炎ビブリオ汚染実態を究明した。その結果、腸炎ビブリオは 75.7%の検体から分離され、*tdh* 遺伝子は 6.9%の検体で陽性であった。また、腸炎ビブリオ菌数 100 MPN/gを超えると TDH陽性腸炎ビブリオの汚染が約 5 倍に増加することが明らかになった。これらの結果から、腸炎ビブリオ食中毒発生が少なくなかった平成 13 年の調査時と、二枚貝を中心とする魚介類の腸炎ビブリオ汚染の状況は現在も大きく異ならないことが判明した。今後さらに、対策の取られた項目について調査の必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Asai, Y., Kaneko, M., Ohtsuka, K., Morita, Y., Kaneko, S., Noda, H., Furukawa, I., Takatori, K. and Hara-Kudo, Y. *Salmonella* prevalence in seafood imported into Japan. J. Food Prot. In press.

永島江美子, 小田雄一郎, 小澤一弘, 仁科徳啓, 工藤由起子, 小沼博隆. *Vibrio vulnificus* の清水港湾内における分布. 日本食品微生物学会. 24:189-193, 2007.

工藤由起子. 季節と食中毒 夏の腸炎ビブリオ対策. 食と健康. 社団法人日本食品衛生協会. 51巻:6-15. 2007. 6月号

2. 学会発表

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

特になし

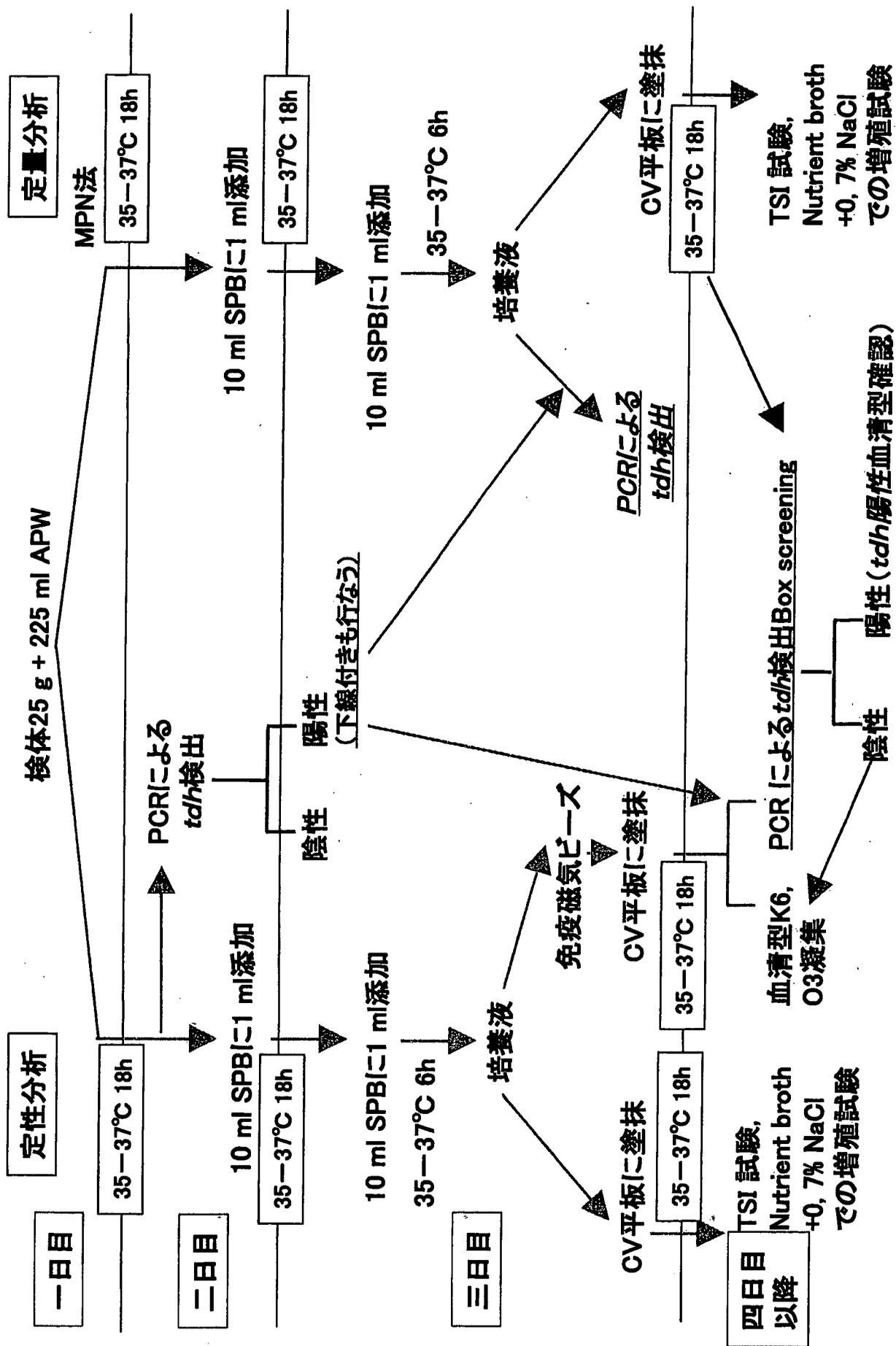


図1 腸炎ビブリオ検出方法のフローチャート

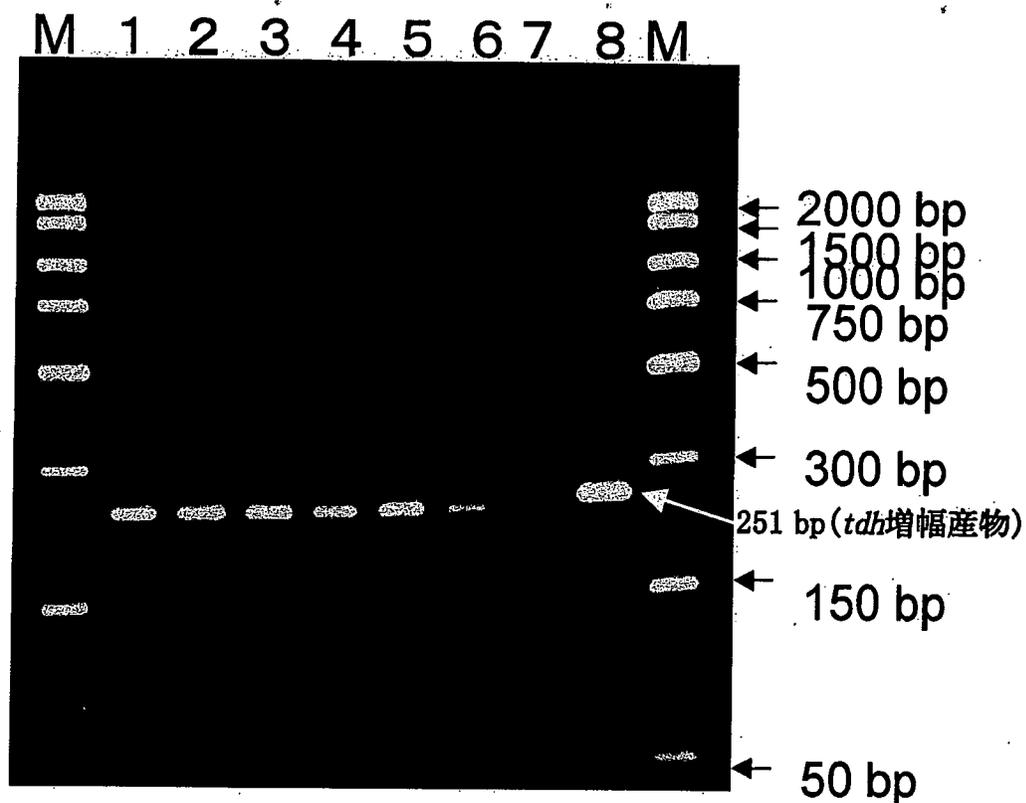


図2 *tdh* 遺伝子検出PCR法での偽陽性
(*tdh* 遺伝子産物と近い大きさの産物の検出)

Lane 1-6: 魚介類培養液でのPCR産物

Lane 7: 陰性コントロール(DW)

Lane 8: 陽性コントロール(*tdh* 陽性腸炎ビブリオ)

M: サイズマーカー

表1 供試検体の種類

種類	検体数
アオヤギ	73
アサリ	54
イワガキ	40
ホタテガイ	37
アワビ	8
ハマグリ	8
アカガイ	7
ムラサキイガイ	5
シオフキ	3
サザエ	3
テングニシ	2
ウニ	2
ホッキガイ	1
ツブガイ	1
マテガイ	1
その他のカイ	2
合計	247

表2 検体からの腸炎ビブリオ分離およびtdh陽性腸炎ビブリオの検出

地域	種類	検体数	総腸炎ビブリオ		tdh陽性腸炎ビブリオ	
			分離検体数	tdh陽性検体数	TDH産生株分離検体	
北海道	アオヤギ	60	44	8	4	
	ホッキガイ	1	0	0	0	
	ツブガイ	1	0	0	0	
	小計	62	44	8	4	
東北	イワガキ	40	32	0	0	
	ホタテガイ	37	9	0	0	
	アワビ	8	6	0	0	
	ムラサキイガイ	5	1	1	0	
	ウニ	2	2	0	0	
	サザエ	2	2	0	0	
	小計	94	52	1	0	
関東	アサリ	14	14	1	0	
	アオヤギ	10	10	1	0	
	シオフキ	3	3	0	0	
	ハマグリ	4	4	0	0	
	不明	2	2	1	0	
	小計	33	33	3	0	
中部・近畿	アサリ	16	16	3	1	
	アオヤギ	3	3	0	0	
	小計	19	19	3	1	
九州	アサリ	24	24	1	0	
	アカガイ	6	6	0	0	
	ハマグリ	4	4	0	0	
	テングニシ	2	2	1	0	
	サザエ	1	1	0	0	
	マテガイ	1	1	0	0	
	小計	38	38	2	0	
不明	アカガイ	1	1	0	0	
合計		247	187	17	5	

表3 TDH陽性分離菌株

産地	検体番号	検体	血清型	分離株数	小計
北海道	22	アオヤギ	OUT:KUT	1	1
	25	アオヤギ	O4: K38	2	10
			O4: KUT	2	
			OUT:K37	5	
			OUT:KUT	1	
	28	アオヤギ	O4: K37	6	24
			O4: KUT	2	
			OUT:K37	15	
			OUT:K38	1	
	19	アオヤギ	NT (O3:K6陰性)	5	5
中部・近畿	8	アサリ	O4:K9	1	1
合計					41

表4 血清型O3:K6分離菌株(ただし、全株ともTDH陰性)

産地	検体番号	検体	分離株数
北海道	VT1	アオヤギ	2
	VT16	アオヤギ	3
	B20	アオヤギ	3
	B21	アオヤギ	3
関東	V1	アサリ	2
	V2	アサリ	2
	B1	アサリ	3
	S9	アサリ	1
	B2	アオヤギ	3
	B3	アオヤギ	3
	V4	不明	2
中部・近畿	1	アサリ	1
	2	アサリ	1
	8	アサリ	1
九州	K2	アサリ	1
	K4	アサリ	1
	K5	アサリ	2
	K7	アサリ	4
	K8	アサリ	4
	K9	アサリ	1
	K12	アサリ	4
	K13	アサリ	1
	N7	アサリ	2
	K6	ハマグリ	2
	K10	ハマグリ	4
	K11	ハマグリ	6
	N13	マテガイ	2
合計			46