

ATP 法を用いた循環式浴槽水の清浄度評価

田栗利紹・山崎省吾・原 健志・山口明雄^{*1}・田中暢子^{*1}・藤山恵津子^{*1}・入江賢治^{*1}
大串潤一郎^{*1}・寺崎敬太^{*1}・入江 太^{*1}・佐々野恵美^{*1}・益田宣弘・村上正文

Hygienic Inspection of the Whirlpool Baths by Using
ATP Bioluminescence Method

Toshitsugu TAGURI, Shogo YAMASAKI, Kenshi HARA, Akio YAMAGUCHI^{*1}
Nobuko TANAKA^{*1}, Etsuko FUJIYAMA^{*1}, Kenji IRIE^{*1}, Junichiro OGUSHI^{*1}
Keita TERASAKI^{*1}, Futoshi IRIE^{*1}, Emi SASANO^{*1}, Nobuhiro MASUDA
and Masafumi MURAKAMI

For the *Legionella* control, the ATP bioluminescence method used as a biological screening test of the whirlpool baths in Nagasaki prefecture was investigated. The provisional threshold value, which was fixed from mean+2SD of the ATP bioluminescence value = Relative Light Unit (RLU) among samples under the minimum RLU sample with bacterial contaminant, could clearly divide low-contaminant water into the high-risk baths, which was contaminated with *Legionella spp.* and/or naked amoeba, at 4.07 logRLU/ml ($P < 0.01$). This value was therefore showed to be the utility as the administrative standard of the whirlpool baths with simultaneously testing of free available chlorine concentration.

Key words : *Legionella spp.* (レジオネラ属菌) / whirlpool baths (循環浴槽水) / ATP bioluminescence method (ATP 生物発光法) / Relative Light Unit (相対発光量)

はじめに

レジオネラ症は、近年の集団感染事故^{1,2)}により世間の注目を浴びることとなったが、日本人が好む温泉の歴史、文化および観光といった背景と複雑に絡み合っ、社会に大きな影響を及ぼしている。浴用施設のレジオネラ汚染は、主に循環式浴槽において重要な意味を持つことが知られており^{3,4)}、大畑らは、実験用に設置した循環式浴槽モデルにおいて、健康人の入浴からレジオネラ属菌が自然発生することを実証した⁵⁾。このことは、おそらく入浴者などを經由して外部環境から持ち込まれたレジオネラ属菌が浴槽内で循環されるうちに増幅して汚染源となることを示唆しており、このような施設では適切な管理がなされない限り常時レジオネラ汚染の危険がつきまとうことを意味している。

公衆浴場施設の衛生管理については、保健所の

環境衛生監視員により法律や各自治体の条例に基づく指導が行われている。公衆浴場における衛生管理要領⁶⁾には、浴槽水の消毒基準として遊離塩素濃度が明記されており、その測定が日常的な衛生管理手段の一つとなっている。塩素系薬剤による消毒は強い殺菌作用の反面で、泉質、pHおよび入浴者数などの様々な阻害要因との関係から測定濃度が必ずしも効果と直結しないことも予想される。例えば、最も汎用される次亜塩素酸ナトリウムでは、泉質が持つ高いpHや多数の入浴者により溶出する有機物との反応により阻害され効果を維持できないことなども考えられる。

最近、ATP 生物発光法 (以下 ATP 法) の衛生管理に対する有用性が食品製造分野で多数報告され⁷⁻⁸⁾、我が国においても広く利用されている⁹⁻¹⁰⁾。この方法は、ルシフェリン-ルシフェラーゼ発光反応により食品残渣や細菌の持つ ATP を感知させ

で数値化し、施設や作業従事者に対する清浄度の指標として衛生管理に利用するというものである。本方法は上水試験法解説編にも培養によらない検出法の一つとして紹介されており¹¹⁾、水の衛生管理に対する応用例も報告されている¹²⁻¹³⁾。

ATP を微生物汚染の指標として考えるならば、この汚染防止に直接使用される遊離塩素との間に関連があるはずである。著者らは、浴槽水内の ATP 濃度と微生物汚染および遊離塩素濃度との関係が解明できれば、迅速・簡便に浴槽水の消毒効果を微生物学的に確認することができ塩素剤の適正使用につながると考えた。本研究の目的は、浴槽水に対する衛生管理手段としての ATP 法の有用性を証明することにある。

方 法

1. 泉質および検体数

長崎県内の公衆浴場および旅館の 38 施設から採取した 73 検体（非温泉水 39 検体、温泉水 34 検体）を試験に供した。温泉水の内訳は、単純温泉 8 検体、リチウム泉 2 検体、炭酸水素塩泉 8 検体、塩化物泉 13 検体および含鉄塩化物塩泉 3 検体である。

2. 理化学検査

採水時に、水温、pH およびジエチル-P-フェニレンジアミン（N, N-diethyl-P-phenylenediamine ; DPD）を用いた比色法により遊離塩素濃度を測定した。

3. 微生物検査

(1) レジオネラ属菌検査

レジオネラ属菌数の測定方法は新版レジオネラ症防止指針¹⁴⁾に準拠した。即ち、検水 500ml を 25% チオ硫酸ナトリウム 1ml 入り滅菌ポリビン（アズワン）に採取し、冷蔵で運搬した。直径 47mm、孔径 0.45・m のメンブランフィルター（ADVANTEC、A045H047A）で吸引ろ過した後、滅菌蒸留水 5ml に浮遊させてフィルターを粉碎し、50°C、20 分間加温した上清の 0.1ml を GVPC 培地（日本ビオメリュー）に接種した。35°C で数日間好気培養し、レジオネラ属菌を疑うコロニーが検出された場合は血清型別試験および PCR 試験を用いて同定した。最終的に 10 日間まで培養して発育しなかったものを検出限界以下と判定した。

(2) アメーバ検査

アメーバ検査は新版レジオネラ症防止指針¹⁵⁾

に準拠した。簡潔に記すと、供試大腸菌株は国立感染症研究所から分与された DH1 株を用い、保存培地（ドルセット卵培地、ニッスイ）から普通寒天培地に移植して 35°C、48 時間培養した。滅菌蒸留水を用いて O. D. =3.0~5.0 程度の濃厚懸濁液を調製し、60°C、1 時間加温処理後急冷した。本懸濁液の菌量は約 10⁹CFU/mL であり、滅菌蒸留水を用いて 10 倍希釈した再懸濁液の 0.5ml を 1.5% 寒天平板（Bacto-Agar, BBL）の表面に均一に塗布した後十分に乾燥させて大腸菌塗布寒天平板培地（以下アメーバ培地）とした。

検水は 50ml 滅菌遠心ポリビン（岩城硝子）に採取し、常温で研究所に搬送した。検水 1ml をアメーバ培地に均一に塗布すると共に、残りを 3000rpm、5 分間遠心濃縮した残渣を別のアメーバ培地に接種した。表面を乾燥させた後に、30°C の孵卵器に移して 2 週間アメーバ由来のプラークを観察した。観察は肉眼および倒立型顕微鏡により毎日実施し、プラークを確認したものは、光学顕微鏡にて形態学的に同定した。

(3) 一般生菌数の検査

上水試験法¹⁶⁾に準拠した。即ち、適切に希釈した検水 1ml を滅菌シャーレ（岩城硝子）に挿入し、予め 121°C、15 分間高温加熱滅菌後 50°C で保温した標準寒天培地（栄研化学）15ml を加えて十分に混釈した。静置固化後に同じ培地 5ml を重層して平板に固め、37°C、48 時間培養後に、計数対象集落が平板 1 枚あたり 30~300CFU (Colony Forming Unit) 形成された平板について計数した。

4. 相対発光量の測定

ATP 検出装置および自動分注器は、AF-100 および DF-10（東亜電波工業）を用い、測定方法は羽田¹⁷⁾の方法に準拠した。即ち、レジオネラ検査用に採取した浴槽水 0.1ml をよく攪拌した後、口径 13mm 測定容器（AF-2S1, 東亜電波工業）に接種して AF-100 にセットし、DF-10 により微生物抽出試薬 0.1ml（AF-2K1, 東亜電波工業）と発光試薬 0.1ml（AF-2L1, 東亜電波工業）を自動注入して得られた発光量を相対発光量 (Relative Light Unit ; RLU) とした。得られた RLU は 1ml あたりの対数値 (logRLU/ml) で表記した。

5. データの解析

(1) ATP 濃度と微生物数の相関

ATP 濃度は大腸菌数などとの相関が知られており、微生物定量に適用できる可能性がある。ATP

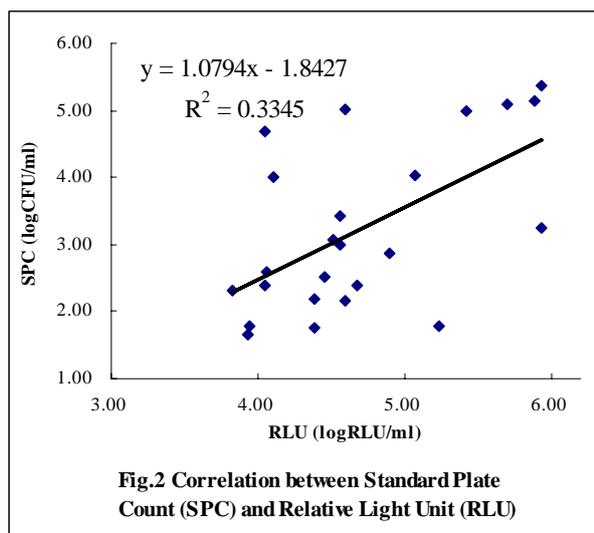
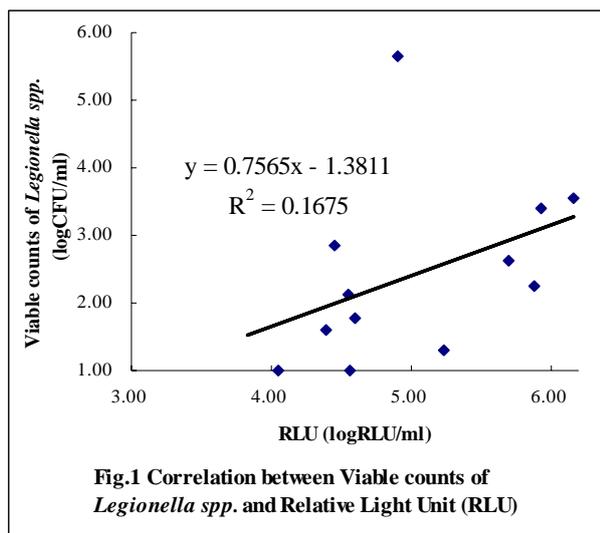
濃度と微生物数との関係の評価するために RLU と
レジオネラ属菌数および一般生菌数の相関をみた。
(2)遊離塩素濃度と ATP 濃度の相互関係に基づ

く微生物汚染の評価
遊離塩素濃度と ATP 濃度との相関図にレジオネ
ラ属菌数や一般生菌数データを追加して解析した。

Table 1. Result of Whirlpool baths tested.

Sample number	Water quality of spa	Temperature (°C)	pH	Free abairable chlorine concentration (mg/L)	Relative lights unit (logRLU/ml)	Standard plate counts (CFU/ml)	Viable counts of <i>Legionella</i> spp. (CFU/100ml)	Viable counts of naked amoeba (PFU/50ml)
1	Simple spa	42.5	8.4	1.0	3.12	30>		
2	Simple spa	41.2	8.4	1.0	3.85	30>		
3	Simple spa	41.0	8.7	1.4	4.08	30>		
4	Simple spa	41.5	8.6	0.3	4.39	5.80E+01		
5	Simple spa	42.0	8.4	0.6	4.07	30>		
6	Simple spa	42.5	9.0	1.6	3.39	30>		
7	Simple spa	43.5	8.5	2.0<	4.57	30>		
8	Simple spa	42.5	8.6	0.7	4.01	30>		
9	Lithium	40.0	8.2	0.4	4.57	30>		
10	Lithium	40.4	8.6	0.0	3.93	4.60E+01		
11	Iron (II)-Na/Mg/Ca-Chloride	39.5	6.6	0.0	4.59	1.02E+05	6.00E+01	1
12	Iron (II)-Na/Mg/Ca-Chloride	42.0	6.9	0.0	3.83	2.10E+02		
13	Iron (II)-Na/Mg/Ca-Chloride	39.0	6.9	0.0	4.05	2.40E+02	1.00E+01	
14	Na/Ca-Chloride	40.5	7.0	0.9	3.83	30>		
15	Na/Ca-Chloride	42.5	7.0	0.7	4.29	30>		
16	Na/Ca-Chloride	42.0	6.8	0.2	3.62	30>		
17	Na-Chloride	39.8	8.2	0.0	5.02	30>		
18	Na-Chloride	43.0	8.4	0.5	4.17	30>		
19	Na-Chloride	40.0	7.4	0.2	3.46	30>		
20	Na-Chloride	38.1	6.6	1.0	3.56	30>		
21	Na-Chloride	40.6	7.6	0.4	4.66	30>		
22	Na-Chloride	37.4	6.2	0.5	ND ^a	30>		
23	Na-Chloride	41.2	7.6	0.3	5.08	1.10E+04		
24	Na-Chloride	41.6	7.0	1.8	3.84	30>		
25	Na-Chloride	38.5	7.2	0.0	3.42	30>		
26	Na-Chloride	39.5	8.4	0.0	4.06	3.90E+02		
27	Na-Chloride/Hydrogencarbonate	43.3	8.4	0.6	6.17	30>	3.61E+03	
28	Na-Chloride/Hydrogencarbonate	41.7	8.6	0.1	4.90	7.50E+02	4.50E+05	2
29	Na/Mg-Hydrogencarbonate	44.1	7.0	1.0	3.66	30>		
30	Na/Mg-Hydrogencarbonate	41.7	7.2	0.0	4.39	1.50E+02	4.00E+01	
31	Na-Hydrogencarbonate	30.5	8.4	0.0	5.93	1.82E+03		
32	Na-Hydrogencarbonate	40.5	8.4	0.3	4.72	30>		
33	Na-Hydrogencarbonate	34.5	8.4	0.0	4.05	5.00E+04		
34	Na-Hydrogencarbonate	40.0	8.6	0.2	4.56	1.00E+03	1.00E+01	
35	Not spa baths	41.7	7.0	2.0<	5.17	30>		
36	Not spa baths	37.0	8.3	0.1	5.70	1.25E+05	4.20E+02	1
37	Not spa baths	40.0	8.4	0.1	5.88	1.36E+05	1.80E+02	4(NL ^b ,Pt ^c)
38	Not spa baths	23.0	8.2	2.0<	4.50	30>		
39	Not spa baths	35.0	8.5	0.1	5.93	2.35E+05	2.52E+03	5(NL)
40	Not spa baths	42.0	7.7	0.1	5.23	6.00E+01	2.00E+01	5(Ht ^d ,Pt)
41	Not spa baths	40.3	7.4	1.5	3.93	30>		
42	Not spa baths	39.6	7.0	0.1	4.83	30>		
43	Not spa baths	38.3	6.9	0.1	5.42	9.50E+04		1(NL)
44	Not spa baths	40.3	6.8	1.5	4.25	30>		
45	Not spa baths	41.0	7.6	1.1	3.98	30>		
46	Not spa baths	44.3	7.0	0.4	3.78	30>		
47	Not spa baths	39.5	6.8	0.8	3.93	30>		
48	Not spa baths	42.0	7.2	1.1	4.59	1.45E+02		
49	Not spa baths	41.5	8.8	2.0<	4.51	1.20E+03		
50	Not spa baths	43.0	7.8	0.0	4.45	3.20E+02	7.00E+02	
51	Not spa baths	41.4	7.2	0.3	3.51	30>		
52	Not spa baths	40.8	7.0	2.0<	4.51	30>		
53	Not spa baths	40.5	7.6	0.3	4.67	2.38E+02		
54	Not spa baths	42.3	7.8	0.3	ND ^a	30>		
55	Not spa baths	40.3	7.4	2.0<	4.77	30>		
56	Not spa baths	40.3	7.6	0.0	4.55	2.70E+03	1.30E+02	4
57	Not spa baths	40.4	7.0	2.0<	4.86	30>		
58	Not spa baths	39.0	7.0	0.8	4.89	30>		
59	Not spa baths	36.5	7.6	0.6	3.77	30>		
60	Not spa baths	41.5	7.2	2.0<	4.16	30>		
61	Not spa baths	41.0	7.2	1.3	4.68	30>		
62	Not spa baths	42.5	7.2	0.3	3.00	30>		
63	Not spa baths	43.0	7.2	1.8	2.68	30>		
64	Not spa baths	29.5	8.6	2.0<	4.72	30>		
65	Not spa baths	42.0	8.9	0.2	2.93	30>		
66	Not spa baths	16.5	8.4	2.0<	4.65	30>		
67	Not spa baths	25.5	8.7	2.0<	4.53	30>		
68	Not spa baths	42.0	8.9	0.6	3.95	6.00E+01		
69	Not spa baths	40.4	7.7	0.6	3.66	30>		
70	Not spa baths	41.5	6.8	0.4	4.11	1.00E+04		
71	Not spa baths	41.0	7.2	1.5	4.24	30>		
72	Not spa baths	41.0	7.6	2.0<	4.05	30>		
73	Not spa baths	43.0	7.8	0.5	2.89	30>		

^anot detectable. ^bGenus *Naegleria*. ^cGenus *Platyamoeba*. ^dGenus *Hartmannella*.



同じ手法で遊離塩素濃度と水温および pH との関係を評価した。

結 果

1. 理化学検査結果

水温および pH の範囲と平均±標準偏差は、それぞれ 16.5～44.3℃と 39.7±4.6℃および 6.2～9.0と 7.72±0.72 であった。測定した浴槽水の 43% は 0.2～1.0・g/ml の範囲に収まっていたが、30% は 1.0・g/ml を越え、26% は 0.2・g/ml を下回っていた (Table1)。含鉄塩化物泉の 3 検体は高濃度塩素を添加しているにも関わらず遊離塩素濃度が計測できなかった。

2. 微生物検査結果

Table1 に微生物検査の結果を示した。レジオネラ属菌は 10～4.50×10⁵ CFU/100ml の範囲で 16% の検体が陽性を示した。含鉄塩化物泉と塩化物・炭酸水素塩泉においてレジオネラ属菌の陽性率が高い傾向を認めた。裸アメーバは 1～5 PFU (Plaque Forming Unit) /50ml の範囲で 11% の検体が陽性を示した。レジオネラ属菌の宿主となると報告されている属で同定できたのはハルトマネラ属、ネグレリア属およびプラッティアメーバ属であった。一般生菌数は 23% の検体が 30 CFU/ml 以上を計測し、最大値は 2.35×10⁵ CFU/ml を示した。全般的に 0.2・g/ml を上回る塩素濃度を維持している施設では各種微生物は検出されない傾向にあった。

3. 相対発光量の測定

RLU 対数値は 2.08～6.17 の範囲で、平均±標準偏差 4.31±0.73 (logRLU/ml) を示した (Table1)。塩化物泉で 1 検体、非温泉水で 1 検体が検出され

なかった。

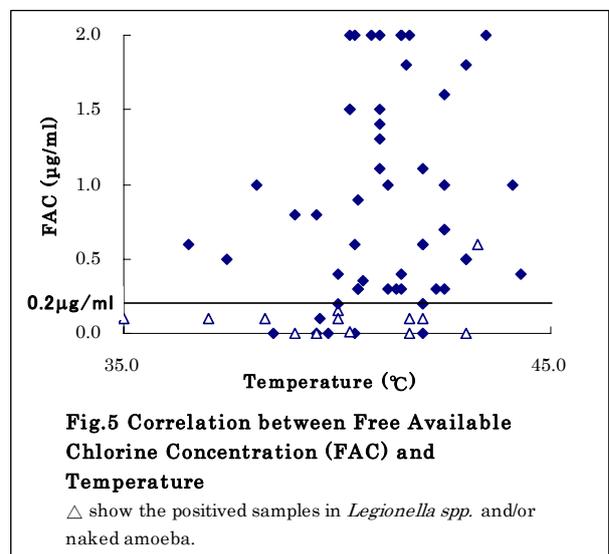
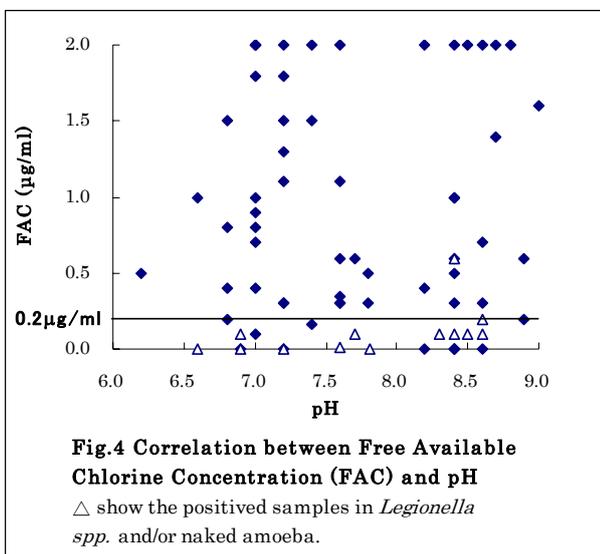
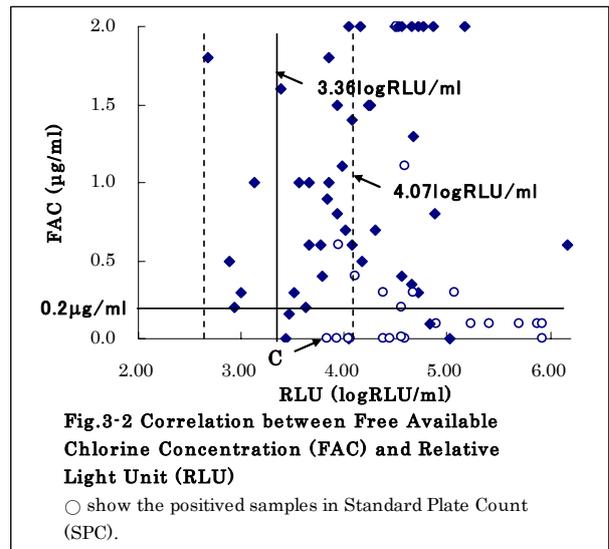
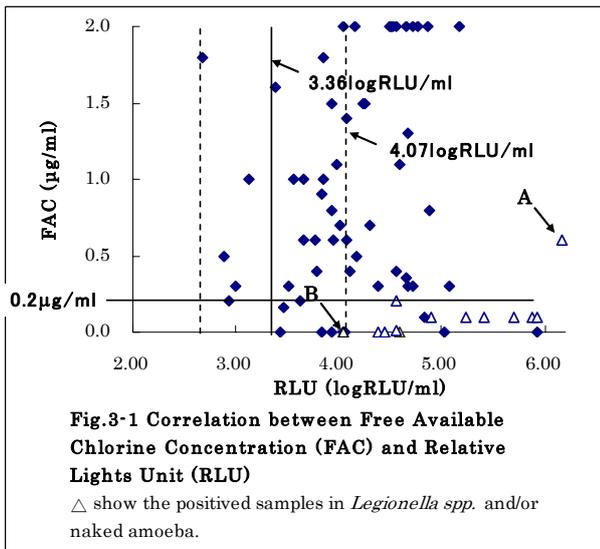
4. ATP 濃度と微生物量の相関

ATP 濃度とレジオネラ属菌数および一般生菌数との相関図をそれぞれ Fig. 1 および Fig. 2 に示した。各々の相関係数はそれぞれ R²=0.1675 および R²=0.3345 で両者ともに相関を認めなかった。

5. 遊離残留塩素濃度と ATP 濃度、水温および pH の相関に基づく微生物汚染の評価

Fig. 3-1 に、遊離塩素濃度と ATP 濃度との相関図を示した。本図はレジオネラ属菌か裸アメーバが検出された検体を区別したもので、陽性検体を△で示した。A は遊離塩素濃度が維持されているにも関わらずレジオネラ属菌が高濃度に検出された検体である。陽性検体は高濃度 RLU 側に偏在する傾向にあった。

Fig. 3-2 は Fig. 3-1 と同じく遊離塩素濃度と ATP 濃度との相関図であるが、一般細菌数が計測された検体 (○) を区別したものである。C はこれらの中での最小 RLU を示した検体であり、検体 (C) を下回る検体群を用いて平均と標準偏差 (mean±2SD (Standard Deviation)) を計算すると 3.36±0.7 logRLU/ml であり、上限値の 4.07 logRLU/ml を管理基準値として設定した。管理基準値はレジオネラ属菌が検出された検体の最低 RLU (4.06 logRLU/ml) とほぼ一致し、これを境界として値が高い検体群と低い検体群の RLU に対して student の t 検定を実施したところ両者の間に有意差を認めた (P<0.01)。Fig. 4 と Fig. 5 には、それぞれ遊離塩素濃度と pH および水温との相関図を示した。両者ともに Fig. 3-1, 2 のような汚染検体の偏在は認めなかった。



考 察

生物発光法は、生体の保持するATPにルシフェリン-ルシフェラーゼを反応させて発光量を測定することにより、試料中のATPを定量する方法である⁷⁻¹⁰⁾。検査時間が数分で携帯用の測定器も開発されていることから、食品工場などの衛生管理に応用されている。本来生物の持つATP量は生物種に固有のもので、コントロールした細菌に限りて定量も可能であり様々な応用がなされてきたが^{12,17,18)}、環境に生息する微生物は多種多様である上に、VNC¹⁹⁾状態の微生物のことを考慮せねばならず、ATP濃度と微生物数の関係で検量線を引くのは非常に困難であるとされる^{10,12)}。

今回の試験において、ATP濃度とレジオネラ属菌数および一般生菌数との間には相関を認めな

った (Fig.1, Fig.2)。しかし、遊離塩素濃度とATP量との相関図に微生物数データを追加すると、レジオネラ属菌、裸アメーバおよび一般生菌数を検出した検体が局在することが明らかとなった (Fig. 3-1, 3-2)。図のとおり、遊離塩素濃度はほぼ0.2・g/mlで区分され、RLUは微生物汚染を認めない浴槽水の平均RLU+2SD (4.07 logRLU/ml)からなる境界線により区分された。後者においてATP法の大腸菌や黄色ブドウ球菌に対する検出下限はほぼ10³CFU/mlであることと^{17,18)}、今回の調査が保健所を介した事前通達後に実施したため予め清掃していた施設が多かったことから、この値は調査施設における最も清浄な浴槽水の上限を表すと考えられた。また、本基準値の高低に位置する検体群におけるt検定の結果によっても、清浄度の

境界線としての有効性が支持された。

Fig. 3-1 に示したように、条例等²⁰⁾で規定されている遊離塩素濃度基準値の有効性(0.2～1.0・g/ml)が確認されたが、検体 A のように0.6・g/ml であるにもかかわらずレジオネラ属菌が高濃度に検出された例も認められた。本浴槽水のRLUは6.17 logRLU/ml と非常に高い値を示しており、ATP 濃度を測定にしていれば改善措置などの対応が可能であったと考えられた。この原因として浴槽水を取り巻く施設環境汚染との関係が疑われるが、詳細は不明である。一方で、検体 B のようにATP 濃度が4.05 logRLU/ml と比較的低い値であるにもかかわらず、一般生菌数およびレジオネラ属菌を検出した例があった。当該浴槽水の泉質は含鉄(Ⅱ価)塩化物塩泉で還元による阻害などが原因と考えられるが、これも詳細不明で今後の説明が待たれる。

遊離塩素濃度と pH および水温との相関図(Fig. 4, 5)において、レジオネラ属菌は各々の検出範囲全般にわたって検出され、衛生管理の指標としては適切でないと考えられた。

これらのことから、ATP 濃度は、遊離塩素濃度と共に浴槽水清浄度の管理指標として有効であることが示唆された。

遊離塩素濃度と ATP 量との相関図(Fig. 3-1, 3-2)において、レジオネラ属菌よりも一般生菌数の方が比較的低濃度で検出されたことから清浄度の基準という点に関しては前者よりも後者で求めた数値の方が適切であると考えられ、実施数を増やすことによりさらに的確な数値が設定できると予想される。これらの一方で、ATP 濃度と微生物数との相関が認められなかったことから、汚染度という観点から見ると ATP 法だけで浴槽水の評価することに問題が残っており、定量性を向上させるさらなる検討が期待される。

現在、公衆浴場等において浴槽水の清浄度を測る有効な指標は遊離塩素濃度測定以外になく、生物学的に評価するためには検査機関で試験するほかない。近年のレジオネラ症事件発生を契機として^{1,2)}、条例に基づく公衆浴場等への管理指導も厳しくなり衛生管理が徹底されたが^{6,20)}、レジオネラの自然発生メカニズムを考慮すると当該施設のレジオネラリスクが完全に払拭されたとは言えない。実際に本研究の中で実施したアンケート(データ未掲載)では、ほぼ 100%の施設が塩素剤を

利用し条例を遵守していたにも関わらず、26%の検体がレジオネラ属菌陽性を示した。このような矛盾点を考えると、日常的に実施できる塩素効力確認の手段あるいは生物学的汚染評価の手段がないことが浴槽水管理において大きな悪影響をおよぼしているように思えてならない。

ATP 法を利用した清浄度という指標が食品衛生分野で盛んに利用されている^{9,10)}。手指や器具などの衛生に関与する様々なサンプルに対して予め清浄時 RLU を測定しておき、これらを基にして管理基準値を設定する。作業工程の中で頻りに RLU を測定し、基準値を逸脱した場合は汚染とみなして手洗いや消毒を励行することで事故発生を未然に防止する。これまでに様々な実用例が報告され、今や清浄度検査法は HACCP(Hazard Analysis and Critical Control Point)実践のための必需品として高い認知を得ている¹⁰⁾。レジオネラ問題においても一定の基準値あるいは基準目標値を設定して管理に反映させる HACCP 方式が有効であることは明白であり、ATP 法はこの方式導入の一手段になりうると考えられる。

文 献

- 1) 国立感染症研究所(2003)レジオネラ症, 病原微生物検出情報, 24, 29-32.
- 2) 藪内英子, 縣 邦雄(2005)日向市の新設温泉施設を感染源とするレジオネラ症集団発生, 感染症誌, 78, 90-98.
- 3) 黒木俊郎, 佐多 辰, 山井志朗, 八木田健司, 勝部泰次, 遠藤卓郎(1998)循環式浴槽のアメーバと Legionella 属菌の生息状況, 感染症誌, 72, 1056-1063.
- 4) 野知啓子, 川本克也, 川村達雄, 稲葉克哉(1998)24 時間循環式浴槽システムにおけるレジオネラ属菌の挙動とその対策, 用水と廃水, 40, 967-973.
- 5) 大畑克彦, 鈴木光彰, 江塚安伸, 曾布川尚民, 杉山寛治(2004)実験用循環式浴槽水浄化装置を用いた自然汚染, 無殺菌条件下におけるレジオネラ属菌の消長, 防菌防黴, 32, 593-600.
- 6) 厚生労働省健康局長通知(2003)公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について, 健発第 0214004 号
- 7) Poullis J. A., Pijper M., Mossel D. A. A., Dekkers P. Ph. A.(1993) Assessment of cleaning and disinfection in the food industry with the

rapid ATP-bioluminescence technique combined with the tissue fluid contamination test and a conventional microbiological method, International Journal of Food Microbiology, 20, 109-116.

8) Gracias K. S., McKillip J. L. (2004) A review of conventional detection and enumeration methods for pathogenic bacteria in food, Canadian Journal of Microbiology, 50, 883-890.

9) 本間茂 (1996) 清浄度管理指標としての ATP の利用, 食品と開発, 31, 22-25.

10) 本間茂 (2002) ATP 法による清浄度の迅速検査技術-認知から活用段階に入った ATP ふき取り検査-, 食品と開発, 37, 16-18.

11) (社) 日本水道協会 (2001) 微生物試験共通事項, 上水試験方法解説編, 821-822.

12) Lee J., Deininger R. A., Fleece R. M. (2001) Rapid determination of bacteria in pools, J Environ Health., 64, 9-14.

13) Parker A., Wilfred A., Hidel B. (2003) Environmental Monitoring: The Key to Effective Sanitation, Lab Animal 32(5), 26-29.

14) (財) ビル管理教育センター, 厚生省生活衛生局企画課監修(1999) 新版レジオネラ症防止指針, 環境水のレジオネラ属菌検査方法, 85-94.

15) (財) ビル管理教育センター, 厚生省生活衛生局企画課監修(1999) 新版レジオネラ症防止指針, レジオネラ属菌宿主アメーバの検出方法, 95-98.

16) (社) 日本水道協会 (2001) 微生物試験 (現存量指標, 一般細菌), 上水試験方法, 605-606.

17) 羽毛田靖 (1997) ATP 法による細菌数測定装置の基礎と応用, 防菌防黴誌, 25, No. 8, 457-466.

18) 田栗利紹, 阿部久雄, 右田雄二, 上田成一 (2001) 銀系抗菌加工陶磁器製品の ATP 法による迅速抗菌力試験, 防菌防黴誌, 29, No. 8, 489-495.

19) 山本啓之, 木暮一啓 (1999) Viable but Non-Culturable (VNC) の概念による細菌感染症へのアプローチ, 日本細菌学雑誌, 54, 631-638.

20) 長崎県 (2003) 公衆浴場法施行条例, 平成 15 年条例第 18 条追加分