

淀川水系に生息するレジオネラ属菌と宿主となる自由生活性アメーバに関する研究

地独) 大阪健康安全基盤研究所 生活環境課
枝川 亜希子

1. はじめに

レジオネラ属菌（以下、レジオネラ）は、浴槽水、冷却塔水、河川水、土壌など環境中に広く生息している。本菌を原因とするレジオネラ症の届出数は年々増加しており、昨年 2018 年には、過去最多の 2000 例を超えるに至った（図 1）。レジオネラ感染は、環境中のエアロゾルや土埃などに含まれるレジオネラを肺に取り込むことにより発症する（図 2）。ヒトからヒトへの感染はない。そのため、感染症を防止するためには、感染源となる環境中の生息状況を把握し、患者発生時には感染源を迅速に特定して感染拡大を防止することが公衆衛生上重要である。

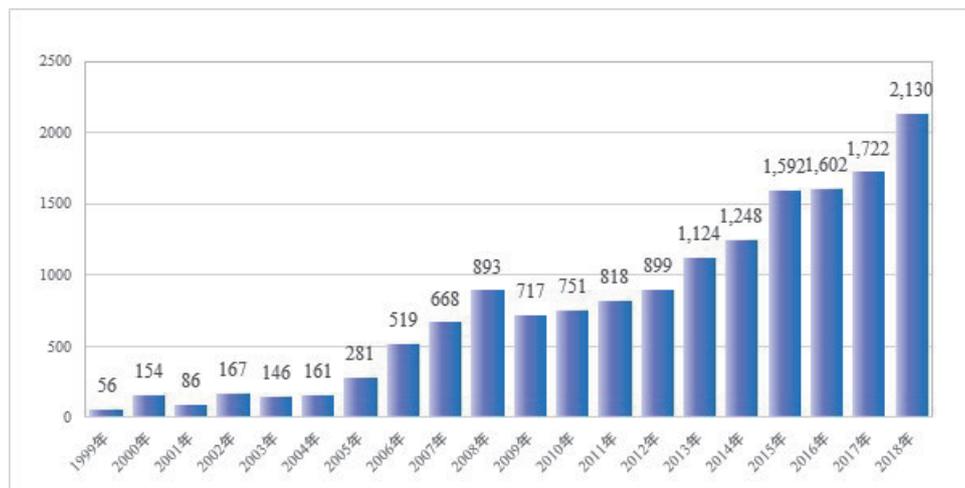


図 1. レジオネラ症患者届出件数¹⁾

環境中でレジオネラは、自由生活性アメーバ（以下、アメーバ）に寄生して増殖する。アメーバは、河川水、浴槽水、土壌など環境中に広く生息している。これらの多くは非病原性であるが、環境中で病原細菌類の増殖の場となり、感染症の発生に関与していることが明らかになってきた。これらアメーバに寄生する細菌類は、Amoeba-Resistant Bacteria (ARB) と称され、ARBのうちヒトに病原性を有する細菌として公衆衛生上、最も問題となるのはレジオネラである。レジオネラ自体は通常の塩素消毒で死滅するが、アメーバ内に寄生したレジオネラは外界から守られた状態にあるため十分に殺菌されない。また、宿主となるアメーバ自体もシストを形成すると薬剤に対し非常に強い耐性を持つため死滅しない。そのため、レジオネラ対策を行う際は、アメーバも含めた対策を行うことが必要となっている。

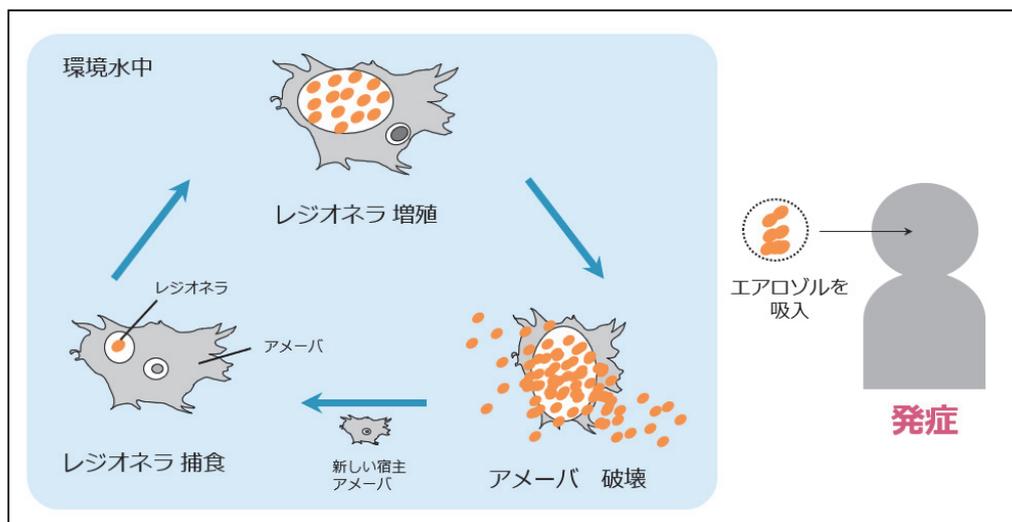


図 2. レジオネラ感染経路

これまで日本国内でのレジオネラ生息状況調査は、主に人工的に造られた水環境（浴槽水、冷却塔水など）を対象として実施されてきた。一方、諸外国では主な感染源として水道水系が挙げられている。米国では、水道水源をレジオネラが検出される河川に切り替えたことで、配水地域のレジオネラ患者報告数が増加したという事例が起きており、水道水源のレジオネラ汚染が周辺地域のレジオネラ症発生に関連している可能性や、配水システム内でのレジオネラ増殖がレジオネラ症発生と関連している可能性が指摘されている²⁾³⁾。このような背景から、日本国内でも水道水源として取水している河川水中のレジオネラやアメーバの生息状況を把握しておく必要があるが、日本国内での知見は非常に少なく、分布実態は明らかになっていない。

昨年度、関西の重要な水道水源である淀川水系を対象にレジオネラや宿主アメーバの分布実態調査を行った⁴⁾。その結果、レジオネラは培養法では検出されなかったが、リアルタイム定量 PCR 法（以下、リアルタイム qPCR 法）ではすべての試料が陽性となり、淀川水系の河川水中にレジオネラ遺伝子が広く存在することが明らかになった。培養法とリアルタイム qPCR 法では、検出対象や検出感度が異なる（図 3）。培養法では、人工培地で検出することができる生菌を検出するのに対し、リアルタイム qPCR 法は遺伝子の存在により陽性となる。レジオネラの場合、リアルタイム qPCR 法では培養法で検出可能な生菌の他に、死菌、VBNC（viable but non-culturable：生きているが人工培地では検出できない生理状態の菌）、培養不能菌種の存在により陽性となる。そのため、レジオネラ検出においては、主に用いられている培養法だけでなく、リアルタイム qPCR 法など複数の手法を合わせて行うことが重要である。

そこで今年度は、レジオネラをアメーバの中で増殖させてから検出する手法であるアメーバ共培養法を用いて、さらに詳細にレジオネラ生息状況を明らかにした。アメーバ共培養法は、レジオネラ症患者臨床材料を対象に試みられ、培養法など一般的なレジオネラ症診断検査で陰性と診断された肺炎患者の喀痰から本手法を用いてレジオネラが検出されている⁵⁾。我々はこれまでに、この手法を水試料に適用するための培養

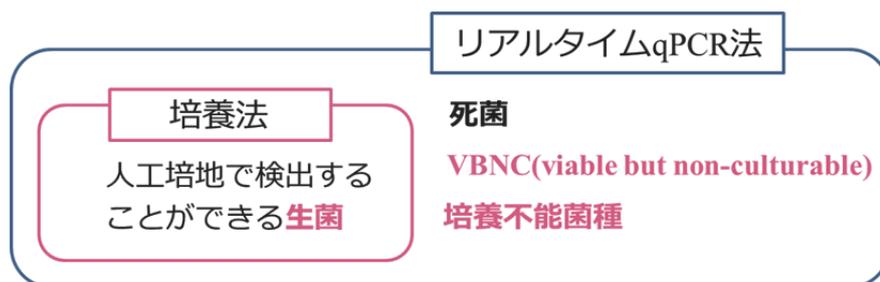


図3. 培養法とリアルタイムPCR法で検出可能なレジオネラ

条件を検討し、その確立した方法を用いて調査を行ってきた^{6,7)}。昨年度、レジオネラと宿主アメーバの分布実態調査時に、並行してアメーバ共培養法を実施し試料を保存した。今年度はこの保存試料について詳細に解析し、昨年度の結果との比較検討を行うことにより、淀川水系のレジオネラおよびアメーバの生息状況をさらに詳細に明らかにした。

2. 方法

2.1 試料

淀川水系試料の採水地点として、浄水場の取水口の位置などを考慮し、次の5地点を選定した（図4）。1. 枚方大橋（左岸）、2. 鳥飼仁和寺大橋（右岸）、3. 鳥飼大橋下流（右岸）、4. 豊里大橋（左岸）、5. 毛馬上流（左岸）。平成29年5月から12月まで1ヶ月に1回採水し、計40試料を採取した。

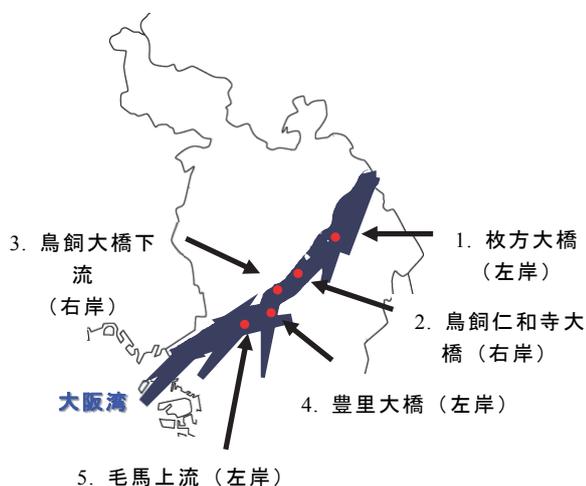


図4. 採水地点

2.2 試験項目

アメーバ共培養－リアルタイムqPCR法（以下、アメーバ共培養－qPCR法）によるレジオネラの検出（図5）、レジオネラ菌種の同定、アメーバ種の同定（*Acanthamoeba*）

昨年度までに、レジオネラ（培養法、リアルタイムqPCR法）、アメーバ、従属栄養細菌、ATP、濁度、色度、気温、水温、pHの測定を実施している。

3. 試験方法

3.1 試料水の濃縮

レジオネラ症防止指針⁸⁾に記載のろ過濃縮法に準じて行った。採取した河川水 400 mL を孔径 0.2 μm 、直径 45 mm の滅菌済ポリカーボネート製メンブランフィルター（アドバンテック）で吸引ろ過した。このフィルターを 4 mL の滅菌精製水が入った遠心管（50 mL）に入れ 1 分間ボルテックスミキサーで振盪した後、激しく上下に 50 回振盪し 100 倍濃縮試料を得た。このうち 1.5 mL をアメーバ共培養法に用い、1 mL をリアルタイム qPCR 法用濃縮試料として -20 °C で保存した。残りの濃縮試料は、培養法に使用した。

3.2 アメーバ共培養-qPCR 法

アメーバ共培養法は、純培養したアメーバの中で細菌類を増殖させてから目的とする細菌類を検出する手法である。この手法にリアルタイム qPCR 法を組み合わせた方法が、アメーバ共培養-qPCR 法である。本研究では、この手法を用いてレジオネラの検出を行った。

アメーバ共培養法には、純培養した *Acanthamoeba castellanii* ATCC30234 を使用した。*A. castellanii* は、25 cm^2 細胞培養フラスコを用いて PYGC 液体培地で培養後、12 ウェルのマイクロプレートに入れ、マイクロプレート表面に貼り付くまで 1 時間～半日静置した。その後培養液を取り除き、リン酸緩衝液で緩やかにマイクロプレート表面を洗った後、直ちに河川水濃縮試料 1.5 mL を添加した。30°C で 7 日間、乾燥を防いでアメーバと共培養を行った後、1.0 mL をマイクロチューブに採取し、リアルタイム qPCR 法用の試料として -20 °C で保存した。

リアルタイム qPCR 法は、レジオネラの 16S rRNA を標的とした Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit (Takara Bio Co.) を用いて行った。保存したアメーバ共培養法後の濃縮試料 1.0 mL は、QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出し、この溶液を PCR 法用鋳型 DNA として用いた。リアルタイム qPCR の試薬組成や反応条件等は添付文書のプロトコール通りに行った。ABI PRISM 7900HT (Applied Biosystems) を用いて測定し、SDS v2.4.1 software (Applied Biosystems) により解析を行い、レジオネラ菌数を計測した。

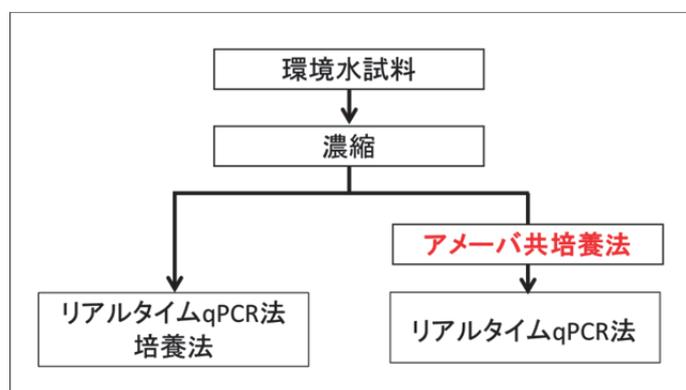


図 5. レジオネラの検出

3.3 アメーバ共培養法により菌数が増殖したレジオネラ菌種

アメーバ共培養法を行うことにより、qPCR法の検出菌数が10倍以上増加した試料について、PCR法とそれに続くシーケンス法によりレジオネラ菌種の同定を行った。PCR法は、レジオネラの16S rRNA遺伝子を標的としたMiyamotoらの方法⁹⁾により行った(654bp)。PCR増幅産物は、BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied biosystems)を用いたダイレクトシーケンス法により行った。塩基配列の解析は、ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)を用い、得られた塩基配列は、BLASTによってデータベースに登録されている遺伝子配列との相同性検索を行った。

3.4 アメーバ種の特定

昨年度、フィルター貼付による培養法によりアメーバを検出し、形態学的同定により *Acanthamoeba* spp.を2株分離した。この2株について、アメーバ分離用寒天培地を用いて継代維持し、PCR法による *Acanthamoeba* 属の確認とダイレクトシーケンス法によるアメーバ種の同定を行った。

アメーバ分離用寒天培地に形成したプラークの辺縁部を2×0.5 cm程度、寒天培地ごと白金線で切断した。切断した寒天培地を1.5 mLチューブに移し、滅菌精製水200 µLを添加し、ピペットを用いてアメーバが寒天培地からはがれるように勢いよく洗い流した。このアメーバを含む滅菌精製水を、寒天が混入しないように注意して新しい1.5 mLチューブに移し、5000 rpm、5分間、遠心分離後、沈査を得た。沈査に1% Triton-X100を含むTE buffer 100 µLを加え、100 °Cで15分加熱処理をし、この溶液をPCR用鋳型DNAとして用いた。PCR法は、*Acanthamoeba* 属18S rRNAを標的とし、Schroederらの条件により行った¹⁰⁾。PCR法増幅産物は電気泳動後、UVランプ下でゲルを撮影し、増幅断片長の確認を行った。

PCR法増幅産物は、上記3.3レジオネラ菌種の同定と同様の方法により塩基配列を決定し、データベースに登録されている遺伝子配列との相同性検索を行った。

4. 結果と考察

4.1 レジオネラの検出

昨年度の調査において、河川水40試料のうちレジオネラは、培養法ではすべて不検出、リアルタイムqPCR法ではすべてが陽性であった。今年度、アメーバ共培養-qPCR法を用いてレジオネラを検出した結果、40試料すべてが陽性であった。検出したレジオネラ菌数は、 1.2×10^2 (試料 No.24) ~ 2.3×10^5 (No.7) copy/testであった(表1)。(レジオネラ検出結果及び水質項目、その他細菌類等の結果は、平成29年度報告書に記載)。

アメーバ共培養法の有無によるqPCR法の結果について表1に示す。リアルタイムqPCR(アメーバ共培養法なし)、アメーバ共培養-qPCR法(アメーバ共培養法あり)、共にレジオネラはすべて陽性となり検出率は同等であった。アメーバ共培養法を行うことにより、レジオネラ菌数が10倍以上増加した試料は、2試料(5.0%、No.7、No.17)であり、いずれも 10^1 程度の菌数増加であった。我々がこれまでに行った浴槽水を対象としたアメーバ共培養-qPCR法を用いた生息調査では、アメーバ共培養法を行うことにより、qPCR法のレジオネラ陽性率が67.6%から83.8%に上昇している。また、qPCR法が陰性であった30.9%の試料のうち、76.2%がアメーバ共培養法を行うことにより陽

性に転じた。本調査でのアメーバ共培養法を実施した陽性率の上昇は、これらの結果と比較して低い結果であった。

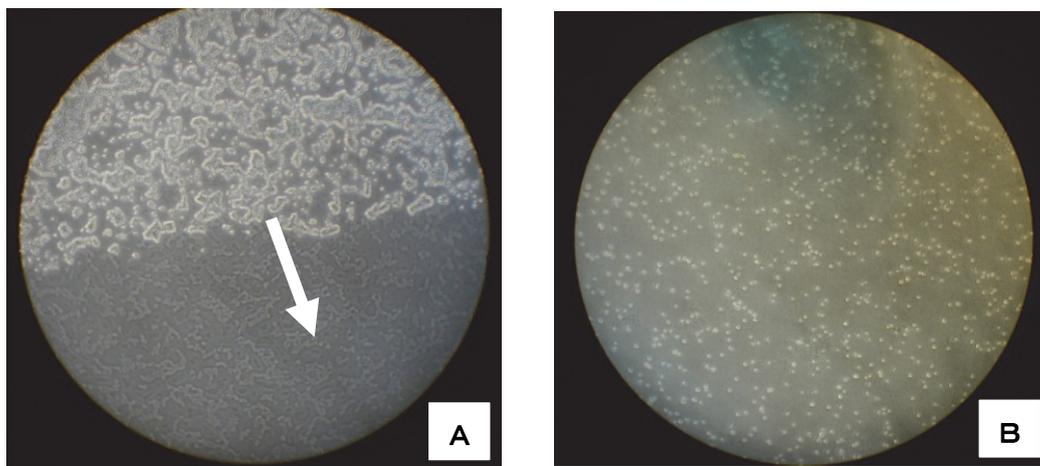


写真. アメーバ分離用寒天培地上に形成したプラークの顕微鏡写真

A：プラーク辺縁部

上部がプラークの中心側。上半分はアメーバ栄養体で埋め尽くされている。下半分は、寒天表面に塗抹された大腸菌が確認でき、大腸菌を捕食しながら矢印の方向に増殖する。

B：プラーク中心部

寒天表面に塗抹された大腸菌は食べ尽くされているため、A下部のような大腸菌は確認できない。プラーク中心部では栄養体は確認できず、シストが確認できる。

(アメーバの生活様式には細菌等を捕食し活発に増殖する栄養体と、栄養体が乾燥や栄養状態の悪化などの要因で休眠状態となるシストがある)

4.2 アメーバ共培養法によりレジオネラが増殖した試料

アメーバ共培養法を行うことにより 10 倍以上の菌数増加が確認された試料は 2 試料であった。この増殖した試料のレジオネラ属菌種の同定を試みた。リアルタイム qPCR 法は遺伝子の存在により陽性となるため、生菌死菌を区別することができない。そのため、本調査で qPCR 法が陽性となった試料のレジオネラ生死は不明であるが、アメーバ共培養法を行うことにより 10 倍以上の菌数増加が確認された試料については、アメーバ内増殖能を有する生きているレジオネラと考えられる。レジオネラの 16S rRNA 遺伝子を標的とする PCR 法を行った結果、1 試料 (No.17) が陽性となり、ダイレクトシーケンス法により遺伝子配列の解析を行った。その結果、*Legionella-like amoebal pathogen 2* (LLAP-2) と 97%一致した。LLAP とは、人工培地では増殖しないがアメーバ内でのみ増殖生息することができるレジオネラ培養不能菌種である。近年、日本国内での冷却塔などから、アメーバ共培養法を用いて行うことにより検出されている。これらの菌種は従来法である培養法では検出することはできない。本調査において、淀川水系には培養法では検出できないが、アメーバ内で増殖することがきる培養不能レジオネラ菌種が生息していることが明らかとなった。

表1 アメーバ共培養法の有無によるリアルタイム定量 qPCR 法の結果

| 試料番号 | リアルタイムqPCR法 (copy/test) | |
|------|---------------------------|---------------------------|
| | アメーバ共培養法 なし ¹⁾ | アメーバ共培養法 あり ²⁾ |
| 1 | 5.3 ×10 ⁴ | 6.6 ×10 ⁴ |
| 2 | 3.1 ×10 ⁴ | 1.0 ×10 ⁴ |
| 3 | 4.0 ×10 ⁴ | 7.1 ×10 ⁴ |
| 4 | 2.0 ×10 ⁴ | 3.7 ×10 ⁴ |
| 5 | 2.1 ×10 ⁴ | 5.2 ×10 ⁴ |
| 6 | 1.7 ×10 ⁴ | 5.2 ×10 ⁴ |
| 7 | 1.4 ×10 ⁴ | 2.3 ×10 ⁵ * |
| 8 | 1.3 ×10 ⁴ | 1.2 ×10 ⁵ |
| 9 | 2.0 ×10 ⁴ | 8.3 ×10 ⁴ |
| 10 | 2.3 ×10 ⁴ | 1.1 ×10 ⁴ |
| 11 | 2.8 ×10 ⁴ | 5.8 ×10 ⁴ |
| 12 | 3.1 ×10 ⁴ | 7.7 ×10 ⁴ |
| 13 | 2.1 ×10 ⁴ | 5.4 ×10 ⁴ |
| 14 | 2.8 ×10 ⁴ | 6.1 ×10 ⁴ |
| 15 | 3.2 ×10 ⁴ | 4.5 ×10 ³ |
| 16 | 2.0 ×10 ³ | 2.3 ×10 ³ |
| 17 | 9.2 ×10 ² | 1.2 ×10 ⁴ * |
| 18 | 9.0 ×10 ² | 1.0 ×10 ³ |
| 19 | 5.9 ×10 ² | 2.3 ×10 ² |
| 20 | 8.7 ×10 ² | 1.3 ×10 ³ |
| 21 | 5.2 ×10 ³ | 3.2 ×10 ³ |
| 22 | 2.1 ×10 ³ | 4.7 ×10 ² |
| 23 | 2.1 ×10 ³ | 1.3 ×10 ³ |
| 24 | 1.5 ×10 ³ | 1.2 ×10 ² |
| 25 | 8.7 ×10 ² | 1.3 ×10 ³ |
| 26 | 4.1 ×10 ³ | 4.9 ×10 ³ |
| 27 | 4.1 ×10 ³ | 5.5 ×10 ³ |
| 28 | 3.6 ×10 ³ | 5.8 ×10 ³ |
| 29 | 4.6 ×10 ³ | 6.0 ×10 ³ |
| 30 | 5.5 ×10 ³ | 2.5 ×10 ³ |
| 31 | 4.3 ×10 ³ | 2.6 ×10 ³ |
| 32 | 6.1 ×10 ³ | 8.4 ×10 ² |
| 33 | 5.0 ×10 ³ | 9.4 ×10 ² |
| 34 | 4.6 ×10 ³ | 5.5 ×10 ² |
| 35 | 4.5 ×10 ³ | 5.1 ×10 ² |
| 36 | 1.0 ×10 ⁴ | 4.4 ×10 ³ |
| 37 | 9.1 ×10 ³ | 2.1 ×10 ³ |
| 38 | 8.6 ×10 ³ | 1.5 ×10 ³ |
| 39 | 6.3 ×10 ³ | 2.4 ×10 ³ |
| 40 | 5.6 ×10 ³ | 3.6 ×10 ³ |

¹⁾リアルタイムqPCR法、²⁾アメーバ共培養-qPCR法

* : アメーバ共培養法を実施することにより、レジオネラ菌数が10倍以上増加した試料

(リアルタイムqPCR法の検出下限値は 5×10^1 copy/test)

4.3 アメーバの検出

アメーバは、河川水 40 試料のうち 25 試料 (62.5%) から検出した。検出したアメーバ種は、*Naegleria* spp.、*Acanthamoeba* spp.、*Vannella* spp. などレジオネラの宿主となる種であった。*Naegleria* spp.と *Vannella* spp.は、いずれかの採水月に 5 地点すべてから検出した。*Acanthamoeba* spp.は、毛馬 (試料 No.5) と鳥飼仁和寺大橋 (試料 No.7) の

2 地点から検出した。採水地点ごとの検出アメーバ種の傾向などはみられなかった。これまでに我々が行った大阪府内の河川水中の病原性アメーバ生息調査では、68.7%からアメーバを検出している¹¹⁾。この結果と比較して、同等程度の検出率であった。

4.4 アメーバ種の同定

フィルター貼付による培養法を用いて分離した *Acanthamoeba* spp.2 株について、PCR法による *Acanthamoeba* 属の確認とダイレクトシーケンス法によるアメーバ種の同定を行った。その結果、2 株共に *Acanthamoeba lenticulata* と 99% (試料 No.7)、98% (試料 No.5) 一致した。*A. lenticulata* は、河川水などの環境中に生息するアメーバ種であるが、*A. castellanii*、*A. polyphaga*、*A. hatchetti*、*A. astronyxis* などと共にアcantアメーバ角膜炎を惹起するアメーバ種として知られている。アcantアメーバ角膜炎は、角膜の潰瘍や混濁を伴い重度の視力障害をもたらす疾患である。我が国では今から約30年前に報告されて以来、ソフトコンタクトレンズ使用者を中心に増加傾向にある。主な感染源はコンタクトレンズ保存ケース内に混入したアメーバであるが、コンタクトレンズや保存ケースの洗浄等に水道水を使用することが一因であるとされている¹²⁾。アcantアメーバは、水道水への混入が問題となるクリプトスポリジウムと同様に塩素に対して強い耐性を持つ。加えて、アメーバの中に寄生して生息する病原細菌類は塩素消毒の効果が十分に得られない。そのため、水道水への混入が起きた場合、*Acanthamoeba* 自体の病原性に加え、寄生する病原細菌類に関連する感染症の発生が危惧される。これらの感染症を防止するために、今後も環境中の生息調査およびこれら微生物類の関連性について検討を継続する。

5. まとめ

今回の研究により、レジオネラは培養法では不検出であったが、リアルタイム PCR法ではすべての試料が陽性となり、淀川水系の河川水中にレジオネラ遺伝子が広く存在することが明らかになった。従来法に加えて、レジオネラをアメーバの中で増殖させてから検出するアメーバ共培養法を用いることにより、培養法で不検出の試料にレジオネラ培養不能菌種が存在することが明らかとなった。アメーバは、淀川水系河川水試料の62.5%に生息しており、形態学的な種の同定によりレジオネラの宿主となる *Naegleria* や *Acanthamoeba* などを検出した。*Acanthamoeba* について種の同定を行った結果、ヒトに角膜潰瘍炎を引き起こす原因となる *A. lenticulata* であった。

WHO (World Health Organization) の飲料水水質ガイドライン¹³⁾では、飲料水を介して伝播する病原体としてレジオネラなどの細菌類および *Acanthamoeba*、*Naegleria* などの病原性を有するアメーバ類が列挙されている。国内においても、水道水を含む給湯水系でのレジオネラ汚染が確認されており¹⁴⁾、近年では、病院内における給湯水系を原因とするレジオネラ院内感染が起きている¹⁵⁾。このような背景に加え、先に示した米国での事例²⁾を踏まえ、水道原水中に生息するレジオネラとアメーバを検出する目的で本調査を実施した。これまでに、日本国内の水道原水を対象としたレジオネラおよびアメーバの生息実態を明らかにする調査研究は報告されていない。安全な水道水を供給するためには、水道原水の現状把握とその情報に基づいた対策を講じることが重要である。本研究の成果を公表することにより、水道水に関する衛生行政およびレジオネラ対策の一助となり得るものと考えられ、引き続きこれら微生物や水質との関連性について検討を進める。

6. 謝辞

本研究は、公益財団法人 琵琶湖・淀川水質保全機構の「平成30年度 水質保全研究助成」の援助を受けて実施いたしました。ここに記して、お礼申し上げます。

7. 引用文献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター, 感染症発生動向調査 IDWR (Infectious Diseases Weekly Report Japan)
- 2) State of Michigan, Flint Water Advisory Task Force FINAL REPORT (2016)
- 3) Zahran S, McElmurry SP, Kilgore PE, Mushinski D, Press J, Love NG, Sadler RC, Swanson MS, Assessment of the Legionnaires' disease outbreak in Flint, Michigan, *Proc Natl Acad Sci USA*. **20**:115(8) E1730-E1739 (2018)
- 4) 枝川亜希子, 平成29年度琵琶湖淀川水質保全機構水質保全研究助成 成果報告書
- 5) La Scola B, Mezi L, Weiller PJ, Raoult D, Isolation of *Legionella anisa* Using an Amoebic Coculture Procedure, *J. Clin. Microbiol.*, **39**: 365-366 (2001)
- 6) Edagawa A, Kimura A, Kawabuchi-Kurata T, Adachi S, Furuhashi K, Miyamoto H : Investigation of *Legionella* Contamination in Bath Water Samples by Culture, Amoebic Co-Culture, and Real-Time Quantitative PCR Methods, *Int J Environ Res Public Health*, **12**: 13118-13130 (2015)
- 7) 枝川亜希子, 木村明生, 足立伸一, 松島加代, 宮本比呂志, アメーバ共培養ーLAMP法を用いた水景施設におけるレジオネラ属菌生息調査, 日本防菌防黴学会誌, **44**: 585-589 (2016)
- 8) 日本建築衛生管理教育センター, 第4版レジオネラ症防止指針 (2017)
- 9) Miyamoto H, Yamamoto H, Arima K, Fujii J, Maruta K, Izu K, Shiomori T, Yoshida S, Development of a new seminested PCR method for detection of *Legionella* species and its application to surveillance of legionellae in hospital cooling tower water. *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**: 2489-2494 (1997)
- 10) Schroeder J, Booton GC, Hay J, Niszl IA, Seal DV, Markus MB, Fuerst PA, Byers TJ, Use of subgenomic 18S ribosomal DNA PCR and sequencing for genus and genotype identification of *Acanthamoeba* from humans with keratitis and from sewage sludge. *J Clin Microbiol* **39**:1903-1911(2001)
- 11) Edagawa A, Kimura A, Kawabuchi-Kurata T, Kusuhara Y, Karanis P, Isolation and genotyping of potentially pathogenic *Acanthamoeba* and *Naegleria* species from tap-water sources in Osaka, Japan., *Parasitology Research*, **105**: 1109-17 (2009)
- 12) Cope JR, Collier SA, Schein OD, Brown AC, Verani JR, Gallen R, Beach M2, Yoder JS, *Acanthamoeba* Keratitis among Rigid Gas Permeable Contact Lens Wearers in the United States, 2005 through 2011, *Ophthalmology*, **123**:1435-41 (2016)
- 13) WHO (World Health Organization), Guidelines for drinking-water quality, fourth edition, (2011)
- 14) Edagawa A, Kimura A, Doi H, Tanaka H, Tomioka K, Sakabe K, Nakajima C, Suzuki Y, Detection of culturable and nonculturable *Legionella* species from hot water systems of public buildings in Japan., *Journal of Applied Microbiology*, **105**: 2104-2114 (2008)
- 15) 厚生労働科学研究補助金「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」班及び「水道水質の評価及び管理に関する総合研究」班微生物分

科会, シンポジウム 医療機関の給湯・給水系に潜む レジオネラ感染リスク～
実態と予防策～ 抄録集 (2018)