

自來水水源中梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲存在性之調查

The Occurrence of *Giardia* Cysts and *Cryptosporidium* Oocysts in Taiwan Raw Water

許曷慕¹ 黃志彬² 胥直利³ 江國瑛¹

摘要

梨形鞭毛蟲(*Giardia*)及隱孢子蟲(*Cryptosporidium*)乃是人畜共通的腸道寄生性原蟲，極易因飲用水源受污染而引發大規模的感染病例。本研究乃對國內三大淨水場(板新、豐原、澄清湖)及十處位於苗栗、台中、南投縣境偏遠地區之簡易自來水以免疫螢光抗體技術進行梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲存在性之調查。檢測結果顯示，國內三大淨水場(板新、豐原、澄清湖)原水中檢測出梨形鞭毛蟲囊孢子的比例為80%，含量為40~160 cysts/100L，檢測出隱孢子蟲卵孢子的比例則高達100%，含量為10~40 oocysts/100L。國內中部地區簡易自來水中，檢測出梨形鞭毛蟲囊孢子的比例為35%，含量為3.3~16.3 cysts/100L，檢測出隱孢子蟲卵孢子的比例為60%，含量為3.3~19.3 oocysts/100L。

一、前言

梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲是一種能寄生在哺乳類、鳥類及魚類的人畜共通之致病性原生動物，在1971~1985年間，美國、英國及加拿大都曾經大為流行，根據 Craun 在1988年所做的報告，美國大約有50%以上的水媒疾病是由梨形鞭毛蟲所引起⁽¹⁾，由隱孢子蟲感染而引起人類發病的記錄也相當可觀，1984年在美國德州因隱孢子蟲感染而爆發水媒疾病大流行之後，飲用水安全與致病性原生動物間的關係

¹ 國立交通大學環境工程研究所研究生

² 國立交通大學環境工程研究所教授

³ 國立成功大學寄生蟲學科副教授

開始引起國際間廣泛的重視⁽²⁾。由於此類致病性原生動物一旦污染水源，極易造成大規模的感染，所以美國安全飲用水法(Safe Drinking Water Act)中規定⁽³⁾，若供水系統所使用之水源來自表面水或直接受表面水影響的地下水，則此水源應受表面水處理法則(Surface Water Treatment Rule)所管制⁽⁴⁾，此法則包括梨形鞭毛蟲之處理要求。另外，美國環保署亦研擬訂定比表面水處理法則更嚴謹的法令來保障飲用水安全，稱為表面水處理之加強法則(Enhanced Surface Water Treatment Rule)，此加強法則主要就是將隱孢子蟲處理要求列入。本研究乃對國內三大淨水場及十處簡易自來水設備(採樣次數共 26 次)進行調查，判定其水源是否受致病性原生動物之污染。另外，致病性原生動物採樣、濃縮及分析方法之建立則為本研究之另一目的。

二、研究方法與實驗設備

2-1 樣本採集與前處理⁽⁵⁾

採樣儀器包含連接管、入流管、壓力計、壓力閥、過濾器、1 μ m孔徑的濾心、出流管、流量計及流量控制閥，採樣器連接完成後開始進行採樣。採集水樣約 500-1000 L，採集完畢後，將濾心裝入採樣袋並保存於4°C的冰筒中，帶回實驗室。取出三個採樣袋並個別裝入1000 mL的流洗液，將切下來的濾心由內而外，依序放入三個採樣袋中揉洗，揉洗完畢後，收集流洗液，並倒入50 mL的離心管中，以1050 \times g的轉速離心10分鐘將上清液倒掉，並加入15 mL流洗液於離心管，以1050 \times g的轉速離心10分鐘，將上清液倒掉，並加入與沈澱顆粒等體積的10%福馬林溶液以震盪機震盪，再加入流洗液使總體積達20 mL，以震盪機震盪後靜置。將30 mL的Percoll-Sucrose(比重1.1)以注射管由溶液的下層注入，以1050 \times g的轉速離心10分鐘，吸取上層25 mL的溶液，置於新的離心管中，加入25 mL的流洗液，以1050 \times g的轉速離心10分鐘，將上層45 mL的溶液吸出，剩下的溶液保存於4°C的冰箱中。

2-2 免疫螢光抗體法之操作步驟

配置螢光抗體試劑並將支撐濾紙及醋酸纖維濾紙先以1 \times 的PBS浸泡，將支撐濾紙及醋酸纖維濾紙平鋪在十管過濾器的濾口，並以1磅重的鋼圈固定，每個

濾管中加入 2 mL 1% 的 BSA，並以抽氣幫浦抽乾。各濾管中加入 1 mL 經前處理過的採樣溶液，並隨同各組實驗做一正控制組及負控制組。各濾管中加入 0.5 mL 1% 的 BSA 及 0.5 mL 的 10% Normal Goat Serum，並以幫浦將液體抽乾，於各濾管中加入第一劑抗體試劑(Primary Antibody Reagent) 0.5 mL，並於室溫中反應 25 分鐘，反應後以幫浦將試劑抽掉，並以 2 mL 的 1 × PBS 來沖洗濾紙，重複四次。於各濾管中加入標示劑(Labeling Reagent) 0.5 mL，並於室溫且無光源的環境下反應 25 分鐘，反應後以幫浦將試劑抽掉，並以 2 mL 的 1 × PBS 來沖洗濾紙，重複四次。於各濾管中依序加入 10、20、40、80、90.2% 含 5% 甘油的酒精溶液 1.9 mL，用來脫水。在載玻片上滴上 75 μ L 2% 的 DABCO-Glycerol 並將玻片放入烘箱中，使玻片的溫度維持在 37 $^{\circ}$ C，隨後將醋酸纖維濾紙放在玻片上，並讓 DABCO-Glycerol 將濾紙透明化以及穩定待測物。蓋上蓋玻片並以指甲油將玻片封住。

2-3 鏡檢

以螢光相位差顯微鏡觀察玻片標本，顯微鏡須加上適當的激光及濾光設備(Band Pass Filters)，以便觀察接上異硫氰酸鹽(Isothiocyanate)螢光劑的玻片標本。首先使用螢光顯微鏡來觀察正控制的玻片上是否有發出螢光蘋果綠的梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲。假如觀察不到蘋果綠的螢光原蟲體，表示螢光染色的過程有問題，或是正控制的準備過程發生錯誤，要等到檢查出問題後才可以測試溶液中的原蟲。觀察負控制樣本時，假如沒有發現任何原蟲，而且背景的螢光強度非常弱，才可繼續做水樣原蟲的玻片觀察。在確定正負控制都沒問題後，用螢光顯微鏡觀察整個蓋玻片的範圍。觀察時，放大倍率不得小於 200 倍。當有橢圓形或卵形的螢光出現時，將鏡頭轉為油鏡鏡頭或是相位差顯微鏡鏡頭以觀察原蟲內部構造，並記錄、計數空囊體及有胞器的囊體數目，兩者相加即為梨形鞭毛蟲囊孢子用免疫螢光抗體法計數得出的總數。

2-4 統計分析

在計算梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲之相關係數以及梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲和濁度相關係數之前，必須先將原始數據進行對數轉換。至於梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲的風險分析則使用指數風險估計模式^(6,7)(Exponential Risk Assessment Model)

$$P = 1 - \exp(-rN) \quad (1)$$

式中 P 表示每人每天飲用2升飲用水的潛在風險， N 表示2升水中原蟲之含量，另外梨形鞭毛蟲的 r 值為0.0198，隱孢子蟲的 r 值為0.004。

三、結果與討論

3-1 梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲在水體中分佈情形

本研究對國內三大淨水場及十處簡易自來水廠之原水在一年內進行二次採樣。表1乃對採樣點、採樣體積、採樣日期及梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲之存在性做整理。結果顯示，梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲廣泛存在於台灣的表面水中。在26組水樣中有42.3%檢測出梨形鞭毛蟲，65.4%檢測出隱孢子蟲，26組水樣中含有梨形鞭毛蟲或隱孢子蟲的比例更高達69.2%。表1同時也顯示第一次採樣與第二次採樣之結果，十處簡易自來水檢測出梨形鞭毛蟲的比例乃由第一次採樣的20%增加到第二次採樣的50%，而隱孢子蟲則由50%增加到70%。梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲在第二次採樣時之含量如表2所示，表2也顯示各採樣點水樣之濁度及pH值。簡易自來水中梨形鞭毛蟲囊孢子的含量為3.3~16.3 cysts/100L，算數平均值為4.9 cysts/100L，隱孢子蟲卵孢子的含量為3.3~19.3 oocysts/100L，算數平均值為6.4 oocysts/100L。而由國內板新、豐原、澄清湖三大淨水場中梨形鞭毛蟲囊孢子的含量為40~160 cysts/100L，算數平均值為60 cysts/100L，隱孢子蟲卵孢子的含量為10~40 oocysts/100L，算數平均值為28.5 oocysts/100L。

3-2 梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲的含量與水源型態之關係

三大淨水場之原水中所偵測到的梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲含量皆比簡易自來水高出許多。根據表2的實驗數據統計，三大淨水場的梨形鞭毛蟲含量約為簡易自來水的12.35倍，隱孢子蟲含量則為4.47倍。可能原因為國內三大淨水場之水源大多由台灣主要河流所供給，而且取水口位於較下游地區，容易因為家庭廢水及農業、畜牧廢水之匯入而受到污染。而簡易自來水廠之水源大多位於河川上游以及水源保護區內，受人為污染的機會較少。

表3乃將Rose J.B.等人⁽⁸⁾調查美國水源保護區之溪水和湖水中原蟲含量與台灣三大淨水場與十處簡易自來水原水中原蟲幾何平均含量做比較。在溪水部份，

其梨形鞭毛蟲含量分別為台灣淨水場與簡易自來水含量之一百八十一分之一及二十四分之一，隱孢子蟲則為台灣淨水場與簡易自來水含量之 1.2 倍及 3.9 倍。其湖水部份，梨形鞭毛蟲含量分別為台灣淨水場與簡易自來水廠含量之一百二十七分之一及十七分之一，隱孢子蟲則分別為 0.37 倍與 1.25 倍。本研究之數據亦和 Lechevallier M.V. 等人⁽⁹⁾對美國淨水場所做的梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲含量之調查結果作比較，發現美國淨水場梨形鞭毛蟲含量約為台灣大淨水場的 4.36 倍，隱孢子蟲含量則為 10.84 倍。原水中原蟲的含量除了與水源型態有關外，採樣點的選擇、採樣器材及前處理程序回收率的差異皆會影響調查結果。

3-3 梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲存在於水體之相關性

在本研究報告中梨形鞭毛蟲的幾何平均含量約為隱孢子蟲的 4.36 倍，此結果不同於 Lechevallier M.V. 等人於 1991 年所發表的研究報告⁽⁹⁾，其發現水體中梨形鞭毛蟲含量應比隱孢子蟲的含量少，相關係數(r)為 0.59，而本研究中所求得梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲含量之相關係數(r)為 0.729。

3-4 梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲與濁度之相關性

由表 2 得知，國內三大淨水場與十處簡易自來水原水中濁度的差異非常大，大淨水場的平均原水濁度為 3.6 NTU，簡易自來水的平均原水濁度則為 0.065 NTU。本研究中梨形鞭毛蟲與濁度的相關係數為 0.784，隱孢子蟲則與濁度無相關性，此結果雖與 Lechevallier M.V. 等人於 1991 年所發表的研究報告不同，其認為梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲與濁度皆具相關性，卻與 Rose 等人在 1988 年所發表的研究結果相同⁽¹⁰⁾。

3-5 梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲之風險度

致病性原生動物存於水體中是否會引發水媒疾病之流行，乃取決於水體中原蟲濃度及淨水處理程序之移除效果。目前台灣對於梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲存在於飲用水中之濃度上限並無規定，不過根據美國表面水處理法則中之規定，飲用水之風險度需低於 10^{-4} /每年。

根據本研究之統計，國內三大淨水場中梨形鞭毛蟲的算術平均含量為 60 cysts/100L 隱孢子蟲為 28.5 oocysts/100 L，而簡易自來水中梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲的算術平均含量則分別為 4.9 cysts/100 L 與 6.4 oocysts/100 L，根據本研究所使用

的評估梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲之風險模式可得出國內簡易自來水梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲的風險度分別為 7.01×10^{-1} /每年及 1.86×10^{-1} /每年。假設國內三大淨水場之淨水程序對梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲之去除率分別為 99.9%與 99%，則由原水中可預估清水中之梨形鞭毛蟲和隱孢子蟲含量，各為 0.06 cysts/100L 與 0.285 oocysts/100L，其預估風險度則分別為 8.7×10^{-3} /每年與 8.3×10^{-3} /每年。

大部份的簡易自來水由於沒有完善的淨水設備，所以使用者將暴露在較高的感染風險中，而三大淨水場雖有完善的淨水程序且能去除大部份的致病性原蟲，但風險度仍大，對於老人、小孩及免疫力較差的人仍須注意用水安全。

四、結 論

1. 板新、豐原、澄清湖三大淨水場之原水中含梨形鞭毛蟲的比例為 80%，含量為 40~160 cysts/100L，算術平均值為 60 cysts/100L，檢測出隱孢子蟲卵孢子的比例為 100%，含量為 10~40 oocysts/100L，算術平均值為 28.5 oocysts/100L。
2. 中部地區十處簡易自來水檢測出梨形鞭毛蟲囊孢子的比例為 35%，含量為 3.3~16.3 cysts/100L，算術平均值為 4.9 cysts/100L，檢測出隱孢子蟲卵孢子的比例為 60%，含量為 3.3~19.3 oocysts/100L，算術平均值為 6.4 oocysts/100L。
3. 水源中梨形鞭毛蟲之存在與濁度具正相關性，其相關係數(r)為 0.784。另外，水源中梨形鞭毛蟲之幾何平均含量為隱孢子蟲的 4.36 倍，兩者存在於水源中的相關性係數(r)為 0.729。
4. 依據美國表面水處理法則中之規定，飲用水之風險度需低於 10^{-4} /每年，所以目前台灣的飲用水並未達到生飲標準。

五、致 謝

本研究承蒙行政院環保署之經費補助(計畫編號 EPA-86-J102-03-20)及成大葉宣顯教授、環檢所許永華科長之協助，謹致謝意。

六、參考文獻

- (1) G. F. Craun, "Waterborne Diseases in the United States," CRC Press, 1988.
- (2) F. W. Crowley and R. F. Packham, "Water Treatment in Europe and North America," *IWEM*, 7:81-89, 1993.
- (3) 黃志彬譯, "美國飲用水法", 行政院環境保護署, 民國 83 年。
- (4) USEPA, "Surface Water Treatment Regulation," *Jour. AWWA*, 82:20-28, 1990.
- (5) *Methods for Detecting, Identifying, and Enumerating Giardia and Cryptosporidium in Water Samples*, Training Course in AWWA-WQTC, San Francisco, California, Nov. 10-11, 1994.
- (6) C. N. Haas, and J. B. Rose, "Reconciliation of Microbial Risk Models and Outbreak Epidemiology: The Case of the Milwaukee outbreak," *In Proc. Annual Conf. Am. Wat. Wks Assoc. New York*, 517-522, 1994.
- (7) J. B. Rose, C.N. Haas, and S. Regli, "Risk Assessment and Control of Waterborne Giardiasis," *Am. J. Publ. Hlth.*, 81:709-713, 1991.
- (8) J. B. Rose, C. P. Gerba, and W. Jakubowski, "Survey of Potable Water Supplies for *Cryptosporidium* and *Giardia*," *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 25, No. 8, 1393-1400, 1991.
- (9) M. V. Lechevallier, W. D. Norton, R. G. Lee, "Occurrence of *Giardia* and *Cyptosporidium* in Surface Water Supplies," *Appl. Environ. Microbiol.*, 57:2610-2616, 1991.
- (10) J. B. Rose, H. Darbin, and C. P. Gerba, "Correlations of the Protozoa *Cryptosporidium* and *Giardia* with Water Quality Variables in a Watershed," *Proc. Internat. Conf. Water and Wastewater Microbiol.*, Newport Beach, CA, Feb. 8-11, 1988.

表 1 豐原、板新、澄清湖淨水場及國內十處簡易自來水兩次採樣之檢測結果^(註)

項目 採樣區域	採集水量 (單位：公 升)	檢測樣本中 梨形鞭毛蟲 囊孢子是否 呈陽性反應	檢測樣本中 隱孢子蟲卵 孢子是否呈 陽性反應	採樣日期
豐原淨水場 (1)	300	+	+	85 年 9 月 25 日
豐原淨水場 (2)	300	-	+	86 年 1 月 21 日
板新淨水場 (1)	300	+	+	86 年 1 月 22 日
板新淨水場 (2)	200	+	+	86 年 4 月 7 日
澄清湖淨水場 (1)	200	-	-	85 年 8 月 14 日
澄清湖淨水場 (2)	250	+	+	86 年 3 月 22 日
福興簡易自來水(1)	300	-	+	85 年 9 月 25 日
福興簡易自來水(2)	400	+	+	86 年 4 月 8 日
南港簡易自來水(1)	400	-	+	85 年 10 月 19 日
南港簡易自來水(2)	500	-	+	86 年 2 月 19 日
福龜簡易自來水(1)	400	-	-	85 年 10 月 19 日
福龜簡易自來水(2)	500	+	+	86 年 2 月 19 日
松鶴簡易自來水(1)	550	+	+	85 年 10 月 30 日
松鶴簡易自來水(2)	400	-	+	86 年 3 月 12 日
谷關簡易自來水(1)	400	+	+	85 年 10 月 30 日
谷關簡易自來水(2)	300	+	-	86 年 3 月 12 日
九芎簡易自來水(1)	800	-	-	85 年 11 月 27 日
九芎簡易自來水(2)	400	-	-	86 年 4 月 30 日
春陽簡易自來水(1)	600	-	-	85 年 11 月 27 日
春陽簡易自來水(2)	300	-	-	86 年 4 月 30 日
廬山簡易自來水(1)	550	-	-	85 年 11 月 27 日
霧社淨水場 (1)	300	+	+	86 年 4 月 30 日
東河簡易自來水(1)	500	-	+	86 年 1 月 9 日
東河簡易自來水(2)	300	-	+	86 年 3 月 24 日
蓬萊簡易自來水(1)	500	-	-	86 年 1 月 9 日
蓬萊簡易自來水(2)	300	+	+	86 年 3 月 24 日

^註 廬山簡易自來水之採樣點對其環境調查後發現其水源並無污染之虞，且第一次調查時以免疫螢光分析法偵測結果梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲皆呈陰性反應，故第二次採樣改採原水可能遭污染的霧社淨水場。

表 2 豐原、板新、澄清湖淨水場及國內十處簡易自來水第二次採樣檢測結果

項目 採樣地點	梨形鞭毛蟲的 含量 (cysts/100L)	隱孢子蟲的含 量 (oocysts/100L)	採集水樣之 濁度(NTU)	採集水樣之 pH 值
豐原給水廠	未發現	10.0	1.8	6.50
澄清湖給水廠	160.0	40.0	4.5	6.10
板新給水廠 ^{註1}	40.0	24.0	5.1	6.80
板新給水廠 ^{註2}	40.0	40.0	4.5	6.40
福興簡易自來水	3.3	6.6	0.17	5.70
南港簡易自來水	未發現	19.3	0.15	6.80
福龜簡易自來水	12.0	18.1	0.07	6.76
松鶴簡易自來水	未發現	5.2	0.02	6.21
谷關簡易自來水	5.9	未發現	0.12	6.46
九芎簡易自來水	未發現	未發現	0.14	7.03
春陽簡易自來水	未發現	未發現	0.10	6.82
霧社淨水場	16.3	3.3	0.16	6.78
東河村簡易自來水	未發現	5.6	0.16	6.50
蓬萊村簡易自來水	11.1	5.6	0.24	6.20

^{註1} 採樣點為原水與反沖洗水匯流處

^{註2} 採樣點為原水入口處

表 3 台灣與美國水體中梨形鞭毛蟲與隱孢子蟲含量之比較

項目 水樣種類	採樣次數	梨形鞭毛蟲 呈陽性反應 的水樣數	隱孢子蟲呈陽 性反應的水樣 數	梨形鞭毛蟲 的幾何平均 含量 (cysts/100L)	隱孢子蟲的 幾何平均含 量 (oocysts/100L)	參考文 獻
美國河水	59	4	19	0.35	29	8
美國湖水	34	4	18	0.5	9.3	8
美國自來水 廠原水	85	69	74	277	270	9
本省三大淨 水場原水	5	4	5	63.5	24.9	—
本省簡易自 來水原水	20	7	12	8.4	7.4	—