

醫院環境監視專欄(四)

飲水衛生的檢查

•林金絲醫檢師•



前 言：

由於水的純淨與否和疾病的傳播有關，因此飲用水必須經常進行微生物檢查，以確保安全。雖然自來水廠對飲用水加氯消毒，控制良好，然而輸送水的管線有些老舊，甚至裂縫使糞便等種種不潔之物污染管道，造成不堪飲用的自來水。1983年三重地區發生流行性傷寒，即因管線破裂受糞便污染而引起。例行檢查飲用水中的各種病原菌並不實際，因為即使發現傷寒桿菌或霍亂弧菌，疾病已在社區散播。尤其病原菌僅有少量存在於水中，取檢體往往遺漏。基於上述原因，水的安全性檢查，係以偵測某些特定的指示細菌為目標，這些指示菌的特點為(i)存於腸道，且數目眾多。(ii)於水中生存期的長短至少需要與病原菌相同。(iii)可利用簡單試驗方法偵測。一般用的指示菌為腸內菌(Coliform)，腸內菌的定義為一群嗜氣性

或兼性厭氣性革蘭氏陰性不產芽胞之桿菌，在 35°C 培養48小時內可發酵乳糖，產生酸和氣體。由於一些腸內菌並非僅存於腸內，有些亦經常存於植物或土壤。因此，飲用水檢查常需針對糞便腸內菌(fecal coliforms)，也就是大腸桿菌(E. coli)。糞便腸內菌與非糞便腸內菌必須區分，才能肯定飲水是否遭受人類糞便污染；一般而言，在正常情況下，腸內菌並非病原菌，雖然有時也可引起衰弱病人的機緣性感染。

水檢體的收集：

水檢體的收集是否正確關係隨後的各種微生物檢查，因此必須特別注意。通常，水檢體必須以清潔且無菌的容器收集。檢體必須得自飲水機，而非從自來水管或儲水桶收集，並且讓水流2至3分鐘再收集。檢體量至少200毫升。若以濾膜法操作，水檢體的量要超過250ml，若以MPN法操作，也需超過100ml。水收集後，其容器必須標示良好，以免混淆。

水之總生菌量計數：

水的微生物檢查除了偵測飲用水是否遭受糞便污染外，亦必須進行水之總生菌

作者簡介：

國立陽明醫學院醫事技術學系畢業，
三軍總醫院感染管制委員會專任醫檢
師

量計數，若發現水質總生菌量甚高或比平常的計數高出甚多，即代表水質不良，甚為骯髒，不適於飲用，水之總生菌量計數主要方法有二：(i)標準平板計數(ii)濾膜法。

(一)標準平板計數(Standard plate Count)

標準平板計數方法，為偵測水中嗜氧及兼性厭氧菌之標準方法，並不適用於厭氧菌之計數。

一、檢體之採集：

採集至少100毫升水檢體，若同時欲進行其他細菌學檢查，可依需要增加採集量（如300毫升）。最好在8小時內操作完畢，否則需儲存於4°C至8°C冰箱，以不超過30小時為原則。

二、檢體的稀釋

(1)在稀釋前準備6個無菌塑膠培養皿($15 \times 100\text{mm}$)標示 10^0 ， 10^{-1} ， 10^{-2} 各乙個，同時標示檢體名稱或號碼及日期。

(2)操作時將檢體混合均勻，然後依照指示稀釋。（請參照蔡文城先生編著之實用臨床微生物診斷學第六版第962頁）一般醫院或食品工廠用自來水，僅作三個稀釋即可；若懷疑檢體的菌量較高，可再進一步稀釋，但僅將三種釋度（如 10^2 ， 10^3 及 10^4 稀釋倍數）進行倒平板。

三、倒平板：

常用於標準平板計數之培養基為Tryptone glucose extract agar(TGEA)，可分裝18ml至 $20 \times 150\text{mm}$ 具螺旋蓋玻璃試管，高壓蒸氣滅菌後，置4°C冰箱保存。進行檢體檢查前1至2小時，取出6根加熱至沸騰，然

後將溶解之TGEA放在48°C±2°C之水槽。倒平板時，必須將試管口在酒精燈焰上處理，然後倒入前述的平板，至少順時針轉動6次及逆時針轉動6次，使之混合均勻。

四、培養：

待TGEA凝固後，倒轉培養在35°C培養箱36至48小時；若檢體為瓶裝水，則培養68至72小時。

五、菌落之計數：

培養後應立即計數，可用菌落計數器或肉眼為之。若有所拖延，應放在4°C至8°C冰箱保存，以不超過24小時為原則。

- (1)通常計數出現30至300菌落之平板，得平均數後可提出報告，單位是每ml檢體中之總菌量。
- (2)若沒有30至300菌落之平板，則選一個或二個超過300菌落之平板，以最近300個菌落為優先，再乘以稀釋倍數，而以每ml檢體之“估計標準總菌量”提出報告。
- (3)若每一平板均無生長，則以<1乘以最低稀釋倍數，提出報告，例如 10^{-2} 稀釋倍數，其平板無生長，則以“<100/ml檢體之估計標準總菌量”提出報告。
- (4)若平板的菌落數遠超過300，不要報告為“Too Numerous To Count”(TNTC)，應選擇代表區進行計數，再乘以適當倍數以得到大約數目，再乘以稀釋倍數。

(二)濾膜法計數(membrane filter count)

取100ml水檢體通過孔徑0.45/ μm 的濾膜(Millipore過濾系統或類似裝置)，然

後將濾膜放置於含有Nutrient broth的紙墊上。（此紙墊係放在55mm塑膠培養皿中）；然後置於35°C培養箱，培養24至48小時，計算總菌量即可得到每100ml水檢體所含的總生菌數。

Coliform的偵測和計數

除總菌量關係飲用水的品質外，coliform的存在，尤其是E.coli可代表飲用水可能受糞便污染，而帶有病原菌。coliform的偵測和計數必須利用幾種選擇區分性培養基，其方法常用者有二：第一種為MPN法或多管發酵法（multipletube fermentation technique），此技術偵測coliform分為三個階段：假設性，確定及完全試驗（請參閱蔡文城實用臨床微生物學第965頁）。假設性試驗的方法為將水檢體進行各種稀釋，然後加至lactose broth (phenol red Lactose broth或其他數種培養基)，在35°C培養24至48小時，若lactose被發酵而產生酸（由紅變黃）及氣體（杜蘭管內有氣泡）則為陽性反應。第二種偵測coliform之方法為濾膜法，取100ml水檢體通過0.45 μ m孔徑的濾膜，使水中的細菌保留在濾膜表面，然後將濾膜放置於含有適當養分紙墊上，然後置於35°C培養箱，培養24至48小時，coliform將出現特殊顏色；若沒有出現coliform菌落，則視為良好的飲用水。

水中E. coli的簡便偵測法：

蔡文城等最近改良任氏所設計的榮總自動式遠篩培養法，將20ml Bacto-endo Agar在雙相培養瓶製成斜面然後將水檢體約30ml傾入瓶中。在室溫或30°C培養24至48小時，再判讀結果，若發現產氣或瓶

中液體呈現朱紅色或深紫紅色，則可能為E.coli，在此裝置能產氣泡的coliform有E.coli，klebsiella pneumoniae及Citrobacter freundii；而能呈現朱紅或深紫紅色者有E.coli及K. pneumoniae。又Staphylococcus aureus約需3天培養時間，可產生類似朱紅色，但屬革蘭氏陽性；此方法之優點為簡便，因檢體可直接傾入雙相瓶中培養，免除繁瑣的實驗室工作，對繁忙的醫院飲用水，飲水機供應水、冰塊、復健游泳水之檢查均可以此方法為之。同時因利用此方法可節省檢驗室的人力、物力，故可增加水之檢查次數。須注意的是，此法僅能適用於檢查醫院、工廠、公司、家庭之用水，而不適於河水污染之調查。

水微生物檢查之判讀：

- (1)僅檢查一次的飲用水並不一定能保證其安全性。
- (2)通常100ml水檢查必須不含coliform及E.coli。若無coliform，卻發現Enterococci (Streptococcus faecalis) 及Clostridium perfringens，表示在較長時間前發生污染，因為這些細菌在水中比Coliform生存較久。

水微生物檢查結果不合格之處理：

通常水微生物檢查結果不合格的理由包括(1)總生菌量過高；(2)E.coli存在；(3)Coliform存在或其菌數過高；若發現任何品質不良的情況，則採取如下步驟：(i)重新調查水中氯氣是否達正常濃度；(ii)檢查水管是否有裂縫；(iii)清潔飲水機過濾裝置；(iv)清潔供應水塔及(v)其他步驟。