

計畫編號：MOHW105-CDC-C-114-112601

衛生福利部疾病管制署 105 年委託科技研究計畫

計畫名稱：臺灣周邊水域及養殖物之人類腹瀉病原污染調查與致病風險
評估—以氣候變遷因子探究

105 年 度/全 程 研 究 報 告

執行機構：國立中正大學 地球與環境科學系

計畫主持人：許曷慕教授

研究人員：黃東益、施宜佳、陳榮盛、陳文仁、林重延

執行期間：105 年 1 月 1 日至 105 年 12 月 31 日

研究經費：新臺幣壹佰陸拾萬元整

*本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果
應事先徵求本署同意*

目 錄

頁 碼

封面

目錄

摘要 (I)

前言 (1)

材料與方法 (13)

結果與討論 (27)

結論與建議 (48)

重要研究成果及具體建議 (50)

參考文獻 (52)

圖與表 (62)

附錄 (93)

中文摘要:

多種細菌及病毒已經普遍被了解會透過水媒及食媒引發流行性疾病，尤其是養殖的雙枚貝類（如牡蠣、文蛤等）更具有濃縮水中病原物質之特性，透過受污染之養殖水體引發人體健康危害值得被關注。於海港水中之優勢致病菌為腸炎弧菌，其檢出率介於**45.2%到75%**。病毒檢測結果為**諾羅病毒**，檢出率介於**0%至21.7%**。未檢出的致病菌包含：曲狀桿菌、志賀氏桿菌、輪狀病毒及A肝病毒。水質指標檢定結果可發現，以鹽度對腸炎弧菌之影響力最大；水溫對諾羅病毒之影響力最高。強降雨事件結果發現平均雨量、水溫及濁度對腸炎弧菌及腺病毒具影響。本年度長期氣候資料結果以氣溫以及累積雨量進行探討，透過邏輯斯迴歸個別分析腸炎弧菌、諾羅病毒與氣象因子結果顯示，**以3天累積雨量對腸炎弧菌檢出率最具正向影響力**。而目前氣候因子對諾羅檢出在統計上無達到影響的顯著水準，但若比較估計係數，以當日平均氣溫及3天平均氣溫對檢出率具影響力。透過本年度氣象資料與檢出率的分析結果已有初步概念，未來將持續檢測周邊海域致病菌之發生率，並透過更長期的氣候資料進行分析。

關鍵字: 腸道致病菌、檢出率、優勢致病菌、腸炎弧菌、諾羅病毒、強降雨事件、氣候變遷

Abstract:

It is well accepted that aquaculture products of shellfish such as oyster and clam were primary sources of waterborne and foodborne diseases. Moreover, bivalves are able to concentrate the pollutants and pathogens during their life, which make them more hazardous for food consumption. Our results revealed that the dominant microorganisms were *Vibrio parahaemolyticus*, with detection rate from 45.2 % to 75% and norovirus with detection rate of 0% and 21.7% in the first three seasons. Pathogens such as *Campylobacter spp.*, *Shigella spp.*, Hepatitis A virus and rotavirus were not detected in samples from aquatic environments or shellfish. The first significant association was observed for the detected of *V. parahaemolyticus* in water with various salinity; moreover the first significant association was observed for the detected of norovirus in water with various temperature. Occurrence versus environmental factors after heavy precipitation indicated the detection rates were correlated with rainfall, temperature, and turbidity on *V. parahaemolyticus* and adenovirus. Our results of logistic regression analysis on the effects of climate changes to the occurrence of *V. parahaemolyticus* and norovirus showed a positive correlation of 3-day accumulated precipitation to the occurrence of *V. Parahaemolyticus*. No statistically significant difference was found in standardized coefficients versus the occurrence of norovirus. However, a trend of positive effects was observed in temperature of 3-day average and 1-day average to the occurrence of norovirus. Long-term monitor in pathogen detections in shellfish and aquatic environments is required to have meaningful data to interpret the effects of climate changes on microorganism adaptation.

Keywords: gastrointestinal pathogen, detection rate, dominant microorganisms, *Vibrio parahaemolyticus*, norovirus, extreme precipitation, climate change

一、報告本文

一、 前言

根據世界衛生組織(WHO)統計，在開發中國家約有 80 %的疾病與 33 %的死亡原因，與當地水源、水產、食品遭到致病性微生物污染有著密切的關係(WHO, 2003)。貝類被認為是美食佳餚的一項重要水產品，且在許多國家皆有生食或者未煮熟即食的習慣(Nishida et al., 2003)。全球的貝類病毒性疾病群聚感染報導，高達 63.3%的案例發生於日本，其原因顯然與日本的海鮮生食文化有關(Bellou et al., 2013)。近海水產養殖之致病原可能來自鄰近河川之畜牧糞污廢水排放、家庭生活污水、齧齒動物及野生動物排泄物，藉由正常流放或暴雨逕流而流入水產養殖區。貝類屬濾食性生物，如養殖水體遭受病原體污染，貝類容易累積水體中的病原體(Le Guyader et al., 2008)。鑑於上述資訊，台灣近海或沿海貝類等水產品的病原體存在情形及其養殖用水之微生物與水質參數分析之議題實有深入探討之必要。

根據衛福部統計，近年來國內水產品及食品中毒案每年平均約有四千多人受害(食藥署, 2012)。據 Scallan (2011) 的研究報告，每 6 個美國人中就有 1 個人(即 4,800 萬人)曾發生食物感染之中毒事件，其中 128,000 人住院，3,000 人死亡。分析其病原發現前五名，依序是 Norovirus (58%)、*Salmonella nontyphoidal* (11%)、*Clostridium difficile* (10%)、

Campylobacter spp.(9%)、*Staphylococcus aureus* (3%)。而根據食藥署統計，民國 100 年度共發生 426 案食品中毒事件，中毒人數 5,819 人，並有 1 人死亡。根據中毒食物分類發現，水產類及水產加工品中毒發生率約 21.3%，僅次於複合式調理食品(戚祖沅等,2012)。而美國多起食用牡蠣、文蛤引起感染之案例，事後調查皆顯示牡蠣、文蛤養殖環境中的衛生指標(糞便性大腸桿菌)都在合格範圍內，顯示單單衛生指標之控管，恐不足以保障人類食用牡蠣及文蛤的安全性(Daniels et al., 2000)。蠔類(牡蠣)、蛤蜊及文蛤等貝類水產品，具有濃縮水中病原物質的特性，因此國際間也常發生民眾因食用受污染水域生產的貝類水產品，而導致水產食媒疾病事件(Bellou et al., 2013; Lee et al., 2008)。這些案例不但突顯食品安全管理的重要性，亦使水媒及食媒性腹瀉疾病其來源及感染途徑之關係更受重視。

會引發水媒及食媒疾病流行的致病性微生物包括多種的細菌及病毒，這些致病性微生物的大小、生理特性以及感染宿主的情形都不相同，在水體中的生存及流佈狀況亦有很大的差異。由食物媒介病原引起的臨床症狀範圍廣泛，常造成困惑，如典型的食物中毒症狀為急性胃腸道障礙，如嘔吐、腹瀉或兩者兼具，並伴隨相關症狀如腹痛與不適。然而，腸道致病原也可引起急性且威脅生命的腸道外疾病，如呼吸道、腎臟和生產前後併發症等疾病。此等症狀可獨立出現，或隨典型胃腸道症狀而

發生。對於已開發國家，許多先前不明原因的食品中毒事件如今多可確定歸因於病毒感染。目前已知食媒性病原體有 30 幾種以上，其中與國人健康較相關的細菌病原包括沙門氏桿菌(*Salmonella spp.*)、曲狀桿菌(*Campylobacter spp.*)、志賀氏桿菌(*Shigella spp.*)、李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、致病性大腸桿菌(*pathogenic Escherichia coli*)、金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、創傷弧菌(*Vibrio vulnificus*)、霍亂弧菌(*Vibrio cholerae*)、腸炎弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)及困難梭狀芽孢桿菌(*Clostridium difficile*)。美國曾針對食用貝類造成相關疾病進行研究，統計結果顯示，細菌性感染疾病以弧菌類(*Vibrios spp.*)為主，約佔其所有貝類細菌性感染案例的 85.0% (546/642)，其次為志賀氏桿菌約 11.8%，接續為曲狀桿菌(1.9%)及沙門氏桿菌(1.2%)，此結果與一般食媒性感染的統計數據具有差異性。

曲狀桿菌症是常見的細菌性食物媒介疾病，只需 500 個細菌就可以致病，在已開發國家是常見的食媒性感染病原菌。美國 CDC 在 2000 年的統計數據顯示，每年約有 2 百萬人受感染，此外根據不同地區學者研究的統計數據顯示，由細菌引發的腸道傳染病案例當中，曲狀桿菌感染率與沙門氏桿菌在各地均高居第 1 及第 2，約各佔 35-38 % (Botticau et al., 2011; Stutman et al., 1994)。曲狀桿菌亦是引發開發中國家旅行者腹瀉症(Travelers' diarrhea)之重要致病菌(Botticau et al., 2011)。曲狀桿菌中

以人類 *C. jejuni* 和 *C. coli* 感染最常見。曲狀桿菌通常發現於野生或飼養牛、綿羊、豬、山羊、狗、貓、嚙齒類和所有各種鳥類之胃腸道，為其共生菌。大量動物宿主可能是人感染曲狀桿菌症最終來源，主要經由感染動物排洩物可能污染土壤、水或水產品，而人體透過食用其污染之食品、水產品和未處理或污染地表水導致疾病(蔡睦宗等, 2006)。

李斯特菌(*Listeria spp.*)包含 15 種菌種，但感染人類之病例都由 *Listeria monocytogenes* 引起(Wong et al., 1990; Hsieh et al., 2009; Huang et al., 2011)。此菌人類感染後主要症狀包括腦膜炎、腦膜腦炎、流產和敗血症。*L. monocytogenes* 亦可感染多種動物，包括水體、家禽、家畜以及嚙齒動物都易感染且常為本菌帶原宿主。根據 Diallo et al.研究指出從 1989 年至 1991 年在美國維吉尼亞州的水產貝類工場進行 3,057 個採檢樣本發現有 5.1%的樣本檢出 *Listeria monocytogenes*，且持續對 1991 到 1993 進行檢測，發現檢出率有上升趨勢。

沙門氏桿菌的感染通常會出現下列四種臨床症狀：(1)腸胃炎(從輕微到嚴重腹瀉、噁心、嘔吐)(2)菌血症或敗血症(3)傷寒熱或腸道熱(4)具傳染性(WHO, 2008)。沙門氏桿菌廣泛存在於環境水體，部分沙門氏桿菌血清型對感染之宿主具專一性，例如傷寒型沙門氏桿菌(*S. typhi*)及副傷寒型沙門氏桿菌(*S. Paratyphi*)，此二種沙門氏桿菌絕大部分僅發生在人類間的感染。而大部分的沙門氏桿菌血清型之感染則屬人畜共通，例

如鼠傷寒沙門氏桿菌 (*S. Typhimurium*) 以及腸炎沙門氏桿菌 (*S. Enteritidis*)，除了會感染人類以外，亦可以家禽、豬、牛、羊、鳥類、爬蟲類作為宿主(蔡睦宗等, 2006)。

致病性大腸桿菌(pathogenic *Escherichia coli*)分為六大類：腸毒素型大腸桿菌(ETEC)、腸侵襲性大腸桿菌(EIEC)、腸病原性型大腸桿菌(EPEC)、腸內附著性大腸桿菌(EAggEC)、棲息性大腸桿菌(Attaching and Effacing *E. coli*)、以及腸道出血性大腸桿菌(EHEC)。致病性大腸桿菌的分布很廣，在人類、溫血動物腸道及一般土壤中皆存在。雖然國內學者專家有對上述病原在人類和動物身上做過研究調查，但很少探討水媒及食媒上彼此之間的相關性。

腸炎弧菌引起的食品中毒，最早於 1950 年發生於日本，當時 272 人吃了污染此病菌的魚而發生集體中毒，其中有 20 人因急性胃腸炎而導致死亡，1953 年由日本學者 Fujino 等人由患者糞便及煮熟的沙丁魚中分離出腸炎弧菌(潘子明, 1999)。腸炎弧菌具有致病能力的因子有熱穩定溶血素(thermostable direct hemolysin; TDH)、類熱穩定溶血素(TDH-related hemolysin; TRH)與致死毒素(lethal toxin)(陳豪勇, 1999)。菌株對高、低溫敏感，含鹽份的海洋是腸炎弧菌最佳的生長環境；世界各地溫暖的海洋、近海河口水域均有分佈。且根據美國 CDC 統計在海鮮類的弧菌感染案例中以腸炎弧菌感染最為常見(CDC, 2007)，其次為創傷弧

菌。台灣地區水產貝類細菌性感染案例亦以弧菌類感染為主。因此，弧菌在水產品與其養殖環境的存在情形是值得監控與探討的重要議題 (Lee et al., 2008)。

創傷弧菌，俗稱：海洋弧菌(*Vibrio vulnificus*)，是一種棲息於海洋中的細菌。如果傷口暴露在含有這種細菌的海水中，創傷弧菌會在傷口上繁殖，可能引發潰爛，甚至導致組織壞死。若食用了遭污染的海鮮，也有罹患腸胃炎的可能。海洋弧菌的感染案例在台灣不常見，到目前為止，台灣發現的病例不超過 100 個(朱旆億等, 2015)，而案例多集中於中南部，尤其在高雄和台南。這種病菌不但在台灣少見，在歐洲國家更是少，原因是海洋弧菌大多生長在熱帶及亞熱帶的海洋地區，它與霍亂弧菌是屬於同一類的病菌，所需的溫度是攝氏 20 度左右，還有 0.7-1.6%鹽分的海水，夏日(8 月-10 月)較常見，出現此種病例的國家有中國、台灣、泰國、馬來西亞、澳洲、美國緯度較低的地方及日本都曾經發生過。感染海洋弧菌的途徑有兩種。一是食入含有海洋弧菌食物，例如甲殼類(螃蟹)、生蠔(牡蠣)、蚌類(文蛤)的海產及生魚片；二是從皮膚上直接感染，可能是從事挖生蠔工作，皮膚上常會有傷口，海洋弧菌就適時地侵入體內(Arias et al., 1998; Campbell et al., 2003; Cook et al., 2002)。

霍亂弧菌約有 150 種血清型，霍亂(cholera)是感染霍亂弧菌引起的急性腸病。自 1854 年發現以來在 19 及 20 世紀曾發生 7 次世界大流行，

都是由產毒性 O-1 血清型霍亂弧菌引起的，O-1 血清型又可分為典型生物型及艾托生物型(classical and El Tor biotype)，前 6 次大流行是由典型生物型引起的，自 1961 年起第 7 次世界大流行是由艾托生物型所引起。然而在 1992 年底在印度及孟加拉南部發現一種新型的霍亂弧菌引發大流行，由於起始於孟加拉灣沿岸城市，因此命名為霍亂弧菌 O-139 孟加拉型。目前 O-139 型和 O-1 型霍亂同樣列為我國之法定傳染病。霍亂的臨床症狀主要是嚴重腹瀉和嘔吐，病人通常不會發燒，其解出的水便因略呈灰色，有時有些黏液，不含血便，以及略帶甜味而被形容為似洗米過後的水('rice-water' stool)。受霍亂弧菌污染的食物，尤其是水產品，以及受污染的水是疾病初期的感染源。

金黃色葡萄球菌，25%的正常人與動物其皮膚、口腔、鼻、喉等黏膜附著金黃色葡萄球菌，生物體有傷口時即侵入內部引起化膿，故常由化膿之傷口及咽喉炎分泌物污染食品，因此造成腸胃炎。最常見的是吃了受污染的火腿等肉製品、乳製品、魚貝類便當或生菜沙拉所致。此菌分泌熱穩定性的細胞外腸毒素，受污染的食品經加熱後菌雖死滅，但因腸毒素為耐熱性，因此毒素量較多的時候仍會中毒(潘子明, 1999)。

志賀氏菌(*Shigella*)，也稱志賀菌或者痢疾桿菌，是一類革蘭氏陰性、不活動、不產生孢子的桿狀細菌，可引起人和其他哺乳類動物的細菌性痢疾(Yabuuchi, 2002)。志賀氏菌屬細菌存在于受感染者的大便中。微量

的受感染糞便進入他人的口、食物或水中，細菌便會在人際間傳播。而台灣常見的菌型為 *S. flexneri* 及 *S. sonnei* 兩型，*S. dysenteriae* 從 1950 年以後就很少見了(邱乾順等, 2001)。

仙人掌桿菌周身佈滿短鞭毛，形如仙人掌因而得名。在環境中分布廣泛，可由細菌本身或由細菌產生之毒素而導致食品中毒，引起之中毒症狀可分為嘔吐型及腹瀉型兩類。仙人掌桿菌極易由灰塵及昆蟲傳播污染食品，食品中帶菌率可高達 20~70%，而海鮮貝類(如生蠔)也略有所見 (West, 1989)。

困難梭狀芽孢桿菌(*Clostridium difficile*，簡稱 CD 菌)是一種革蘭氏陽性厭氧桿菌，這種細菌會產生腸毒素和細胞毒素，會造成大腸發炎 (*Clostridium difficile* infectio, CDI)，嚴重時會死亡。2010 年曾是美國院內感染菌種第一名(Natasha et al., 2015)。此菌廣泛分布於自然環境中，如土壤、乾草、沙、一些大型動物(牛、驢和馬)的糞便，及狗、貓、齧齒動物和人的糞便，除此之外還大量存在於水中(Ryan, 2004)。

常見食媒病毒方面有 A 型肝炎病毒(Hepatitis A virus, HAV)、沙波病毒(Sapovirus)、輪狀病毒(Rotavirus)和諾羅病毒(Norovirus)，根據國外文獻指出貝類病毒性群聚感染案例中，諾羅病毒感染案例最多，超過 80%，且諾羅病毒感染案例有逐年增加的趨勢，其次為 A 型肝炎病毒感染案例約 13%左右，其餘輪狀病毒及沙波病毒亦有零星群聚案例(Bellou et

al., 2013)。食用牡蠣及文蛤在貝類病毒性疾病群聚感染案例統計中分別佔 58.4%及 22.6% (Bellou et al., 2013)。A 型肝炎病毒(Hepatitis A virus, HAV)、沙波病毒(Sapovirus)、輪狀病毒(Rotavirus)和諾羅病毒(Norovirus)皆可透過糞口途徑傳播，經由攝食受病人排泄物或嘔吐物污染的水或食物而傳染，也可經由與病人密切接觸或吸入嘔吐所產生的飛沫而感染 (Valeria et al., 2015)。生蠔及文蛤等貝類水產品具有濃縮水中病原物質的特性，生食或食用未煮熟受污染水域生產的貝類，也容易感染病毒腸道致病原(Belloy et al., 2013)。台灣西部貝類水產品養殖場所多數鄰近河口淡海水混合區域，依據疾管署資料顯示，近年來，急性病毒性 A 型肝炎病毒、輪狀病毒、沙波病毒、諾羅病毒感染病例逐年增加(Wu et al., 2015; Tsai et al., 2011)。其中台灣地區首例沙波病毒感染腹瀉群聚事件於民國 96 年發生(吳芳姿, 2007)，與輪狀、諾羅病毒同為急性腸胃炎中主要病毒性感染源，在春夏交替時是容易發生感染的季節。

目前已有越來越多的證據顯示，全球暖化現象已足以引起許多地區氣候系統混亂、生態系統衝擊，並危及人類生存環境(IPCC, 2001)。受全球氣候變遷氣象因子改變的影響，自然生態及環境中植物、動物及各類微生物之繁衍與分布之改變，可能導致流行疾病的嚴重度與分佈狀況隨之改變(WHO, 2003)，特別是透過水及水產貝類為媒介傳播之疾病，其對於氣候條件之變異尤其敏感(Patz et al., 2000; Gubler et al., 2001;

Rose et al., 2001)。氣候變遷伴隨著各類生態系統之變化及對於生物多樣性之影響，亦可能間接影響微生物與各物種間之平衡狀態，進而對人類產生新興傳染病之危害。

傳統食品安全的管理策略為農場到餐桌模式(From Farm to Table)，這種源頭管理固然有效，然而不易做到百分之百防護。如：西方國家仍不時爆發大型水產品及食品污染事件。因此，有人提出完整的食品安全管理策略應是「From Farm to Flush」，即從源頭管理到食品吃下肚、馬桶沖水後的下游監控(Sari, 2009)。我國涉及水媒、水產食媒性腹瀉病原源頭管控的機構，包括農委會相關單位與衛福部疾病管制署、食品藥物管理署，因包含不同之專業及權責分工，致管理不易全面完善，造成國人健康風險，也使下游之疾病監控單位面臨病原追溯及防治之困難。因此，此議題應結合衛福部、農委會與環保署之跨機關及部會合作，經由全面性的整合，建構我國水域及水產養殖物之人類腹瀉病原監測防護網，強化並提升現有之監測、檢驗及調查等管理機制，並評估疫情風險，以科學研究證據促成政策作為，甚至修改水產品管理、市場銷售、衛生管理的法律條文或水產養殖管理方式，以降低水產品之食媒疫病的發生率，確保國人健康。藉由重要水域及水產養殖物之人類腹瀉病原調查研究與檢驗技術之開發與應用，比對分離自人、養殖環境、水產品之病原菌株的血清型、基因型，進行水域及水產養殖物之病原源頭及食媒腹瀉疾病

的即時監測，以推動有效的防治策略，降低腹瀉疾病流行，同時瞭解國內水域及水產養殖物之人類腹瀉疾病之背景資料與推估相關疾病負擔，實有其必要性及執行之意義。

由於國內外少有政府單位針對沿海漁港水體、貝類養殖場及魚市場貝類來源之食媒性病原訂定標準檢測方法，因此相關研究非常缺乏。本團隊將以歷年累積之檢測臨床、水媒及食媒病原之經驗，參酌國內外食品、臨床、環境領域之腹瀉食媒性病原標準檢測方法以及國內外學術論文中所發表之方法，並配合疾管署研檢中心之建議方法進行研究。透過計畫之執行，瞭解致病微生物存在於貝類水產品之可能來源為何？種類為何？及其在環境中的分佈與地理、氣候、環境參數關係為何？由於臨床與貝類水產品及環境水體之腸道病原菌，在血清學上的鑑定結果上可能有極大的差異，因此海水、貝類養殖場及貝類檢體腸道致病菌的研究，除了可以瞭解其潛在致病風險外，亦可透過腸道致病菌之檢測結果，追查水產養殖活動之近海及河川流域之環境水體的污染狀況。

本計畫以漁港水樣、貝類養殖場水樣及貝類水產品為檢測對象，針對可造成人類腹瀉水媒及食媒性疾病之細菌及病毒病原進行監測，了解台灣漁港、水產養殖場水媒及貝類食媒性病原帶原情形；比對地理環境鏈上之中下游之病原，了解可能之污染情形，追查污染源頭。為瞭解上述病原在養殖場的盛行率，本計畫亦將進行相關水質指標及氣候參數之

分析與比對，探討上述病原在水體與貝類中的流行現況及因氣候變異對致病原於環境及水產品中流佈之影響，預期可更深入的了解上述病原透過貝類之主要感染及傳播情形。

本計畫第一年度所得之成果為：(1) 選取台灣北、中、南、東四區域之海港水、市場及牡蠣養殖區之水樣及貝類樣本，進行腸道致病菌及病毒檢測分析。(2) 環境致病菌株分離與保存。(3) 水體樣本之致病菌分析流程與鑑定方法之標準操作程序建立。(4) 貝類樣本之致病菌分析流程與鑑定方法之標準操作程序建立。(5) 水體及貝類中致病菌分布情形、發生率及四季變化調查之建立。(6) 水體及貝類優勢致病菌檢測結果與其水質參數指標之相關性分析。(7) 強降雨事件對水體中優勢致病菌之影響。(8) 優勢致病菌與氣候資料連結分析之初步結果。(9) 第二年度計畫之建議與改進。

二、材料與方法

1. 樣本來源與採樣規劃

根據研究重點分析表，本研究樣本檢體需求為第一年每季選定漁港及養殖場水樣共 20 處，全年共計水樣 240 件。每月收集 20 處養殖場及魚市場貝類樣本，全年共計貝類樣本 240 件。而本團隊為因應研究之需求，貝類樣本檢測數將提升至 400 件(每月收集 20~60 處養殖場或魚市場貝類樣本)。本研究採樣區分為北、中、南、東四個區塊。為考慮行政單位之配合度及國內許多中小型養殖皆屬無照之小型規模養殖，本研究團隊將以協助水產健檢諮詢及協助養殖水處理檢測之方式與地方漁業及養殖業社團(如養殖漁業協會、水產協會、各地漁會產銷班)建立聯繫及採樣管道，另本團隊將再視每年合約內容增加採樣數量。

實際採集情形，則分述如下，本研究團隊第一年每季選定漁港、養殖場水樣及朴子河流域共計 53 處(漁港水體 14 處、養殖場水體 15 處及朴子溪水體 24 處)，海港之採集地點計有 14 處(如圖 1)包括東部：富岡及花蓮兩處漁港；北部：富基漁港、永安漁港與新竹南寮三處漁港；中部：梧棲、台西、五條港、三條崙及箔子寮五處漁港；南部：東石、布袋、東港鹽埔及興達四處漁港。

此外，根據表 1 102 年漁業年報統計結果，淺海貝類養殖集中在彰化到台南一帶，尤其以嘉義縣產值最大，因此本研究選取最大產量之東

石布袋區域的牡蠣養殖場採樣點共選取 15 處，以東石外海(雲林外傘頂洲至嘉義布袋間的養殖場，並著重於朴子溪出海口(3 處)(圖 2)進行採集，另於每半年於彰化王功及台南七股潟湖區的牡蠣養殖場進行採集並分析。

本研究團隊先前已建立之朴子河流域(雲嘉地區)的水體環境監測網進行以點溯源之方式，找出潛在的畜牧及民生廢水污染源。本研究團隊累積歷年致病性微生物於環境流域及畜牧場檢體之調查成果發現朴子溪近海下游流域以及對朴子溪上游與牛稠河流域的河道、畜牧業及民生列管事業處對李斯特菌、沙門氏桿菌、抗藥性金黃色葡萄球菌、鮑氏不動桿菌、致病大腸菌、腺病毒、腸病毒、人類多瘤病毒以及諾羅病毒之檢測結果推估糞源污染熱點及上游檢出點如圖 3 及 4 所示(Huang et al., 2012; Hsu et al., 2014; Huang et al., 2014)，且朴子溪下游主要為貝類(含牡蠣與文蛤)養殖區域(圖 5)，因此本計畫為探討進行水媒及食媒之致病性微生物污染及流布探討模型所擬定之採樣地點共計 24 處進行採檢與水質分析，以利探討水源污染與貝類及其養殖水體相關性。並針對朴子溪口與沿海兩處之牡蠣養殖區進行樣本與其水體檢驗，將可分析於溪流出海口及沿海牡蠣養殖區域病原體存在之差異與溪流污染相關性，朴子溪採樣點選取如圖 6 所示。

2.海水及養殖水樣本之前處理

(1)指標性微生物、採樣點氣候資料收集及物理性指標檢測

微生物指標檢測項目包括總菌落數(Total bacterial count)、大腸桿菌(*E. coli*) 以及大腸桿菌群(Total coliform)。檢測方法為環保署所公告「水中總菌落數檢測方法-塗抹法(NIEA E203.52B)」及「水中大腸桿菌群及大腸桿菌檢測方法-酵素呈色濾膜法(NIEA E237.52B)。

物理性指標檢測項目(使用 HANNA 新型多功能防水測試儀, HI98196)包括：水溫、pH 值、濁度、溶氧量、氧化還原電位(ORP)及導電度($\mu\text{s}/\text{cm}$)、鹽度(Salinity)。

採樣點氣候資料收集來源：(一) 採樣當日現場記錄(含氣溫與降雨等資訊)。(二)當地鄰近氣候觀測站資料庫(含測站詳細氣候相關資訊)。

氣候觀測站資料庫來源：(一) 中央氣象局觀測資料查詢系統

(<http://e-service.cwb.gov.tw/HistoryDataQuery/index.jsp>)

(二) 行政院環保署海域監測資料

(<http://wq.epa.gov.tw/Code/Default.aspx?Water=Sea>)

(2)大量樣本之細菌前處理：

取 100~1000 mL 的環境水樣，以直徑 45 mm、孔徑 0.45 mm 之濾紙(PALL, GN-6 Metricel)進行過濾。以下分為兩個流程：培養增菌法及直接濃縮法。培養增菌法取下濾紙放入欲偵測的細菌培養基進行前增殖；直接濃縮法則取下濾紙置於含有 50 mL PBS 的容器中，搓揉濾紙上過濾物溶入 PBS 中。再將濾液分裝至 50 mL 離心管，以 $2,600 \times g$ 下離心

30 分鐘，去除上清液留下約 10 mL 之水體供作檢液。

(3)大量樣本之病毒前處理：

取檢體 100~1000 mL，加入氯化鎂(最終濃度 25 mM)，設置一水檢體過濾裝置(如圖 7)，將檢體加入過濾漏斗中，經由真空抽氣，將檢體通過無菌濾膜，以 0.5 mM 硫酸溶液 200 mL 沖洗濾膜，棄沖洗液，置換過濾吸引瓶成檢液收集裝置(如圖 8)，再以 1 mM 氫氧化鈉溶液 10 mL 洗滌濾膜，收集洗滌液至檢液收集裝置內之無菌離心管中，該離心管預先加入 50 mM 硫酸溶液 0.1 mL 及 100 倍三羥甲基胺基甲烷-乙二胺四乙酸溶液 0.1mL，取出離心管，將洗滌液倒入離心過濾管過濾槽中，於 4°C 以 3000×g 離心 20~30 分鐘，濃縮至約 0.5 mL 以下，將濃縮液吸取至 1.5 mL 微量離心管中，供作檢液。

(4)小量檢體之病毒前處理

檢體體積小於 100 mL 時，將檢體分次倒入離心過濾管過濾槽，於 4°C 以 3000×g 離心 20~30 分鐘，濃縮至約 0.5 mL 以下，吸取濃縮液至 1.5 mL 微量離心管中，供作檢液。

3. 食媒貝類檢測檢體細菌之前處理

貝類檢體取 10 至 12 個貝類之內部組織均質之，檢體之取樣應包括肉及液體，取樣儘可能包括整個貝體。將檢體以高速攪拌均質 90 秒，再取均質液 50 g，加入 PBS 稀釋液 450 mL，以 8,000 rpm 轉速攪拌 1

分鐘，作為 10 倍稀釋檢液。

4. 食媒貝類檢測檢體病毒之前處理

(1) 貝類檢體處理

貝類外殼用已滅菌小刀或鑷子打開，取出肉質部分並將外套膜及白色組織去除，白色組織儘可能剔除乾淨，留下中腸腺部分，供作檢體。如圖 9。

(2) 中腸腺前處理

取中腸腺 1.5 g，置於 50 mL 離心管，加入磷酸鹽緩衝溶液 10 mL，將離心管置於冰上，以均質棒進行 2 段式研磨，每段各 30 秒；續加入氯仿-丁醇溶液 6 mL，持續均質 30 秒，再以磷酸鹽緩衝溶液 3 mL 沖洗殘留於均質棒上之檢體。將研磨後之檢體於 4°C 旋轉混合均勻 1 小時，以轉速 12,000 ×g 離心 20 分鐘，取上層液。

(3) PEG 6000 濃縮處理：

PEG6000-氯化鈉溶液 10.5 mL 至上述之上層液中，充份混勻，混合液於 4°C 持續旋轉混合均勻過夜。混合液於 4°C 以 12000×g 以上之轉速進行離心 20 分鐘，去除上清液，續以市售套組操作抽取病毒 RNA。

上述方法參考自衛生福利部公告之食品中微生物檢驗方法—諾羅病毒之檢驗(103 年 6 月 27 日部授食字第 1031900867 號公告修正)及 A 型肝炎病毒之檢驗手冊內容(103 年 6 月 16 日部授食字第

1031900776 號公告訂定)。

5. 致病細菌之菌株分離、純化、鑑定與保存

(1) 致病菌株種類包括：沙門氏桿菌 (*Salmonella* spp.)、曲狀桿菌 (*Campylobacter* spp.)、志賀氏桿菌 (*Shigella* spp.)、單核球增多性李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*)、致病性大腸桿菌 (pathogenic *Escherichia coli*)、金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、創傷弧菌 (*Vibrio vulnificus*)、霍亂弧菌 (*Vibrio cholerae*)、腸炎弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)、仙人掌桿菌 (*Bacillus cereus*) 及困難梭狀芽孢桿菌 (*Clostridium difficile*)。正控制菌株樣本將從食工所購買，菌株名稱及編號如下：*Escherichia coli* (BCRC 11634)、*Salmonella enterica* (BCRC 12947)、*Shigella sonnei* (BCRC 15966)、*Vibrio vulnificus* (BCRC 12905)、*Vibrio parahaemolyticus* (BCRC 10806)、*Listeria monocytogenes* (BCRC 14848)、*Bacillus cereus* (BCRC 10446) 及 *Staphylococcus aureus* (BCRC 10451)。食工所資料庫缺少之菌株：*Vibrio cholera* (ATCC 14033)、*Campylobacter jejuni* (ATCC 43453) 及 *Clostridium difficile* (ATCC 43596) 將從國外菌株保存中心購置。

(2) 貝類樣本之致病菌檢測

各菌之分離與純化主要參照衛生福利部公告之食品微生物之檢驗方法，簡述如下，此外，各菌分離與純化流程整理於表 2 供作參照。

- (A) 仙人掌桿菌分離與純化將參照食品微生物之檢驗方法—仙人掌桿菌之檢驗手冊進行(101年11月19日署授食字第1011902826號公告)。
- (B) 曲狀桿菌分離與純化將參照衛生福利部公告之食品微生物之檢驗方法—曲狀桿菌之檢驗手冊進行(93年4月5日署授食字第0939306569號公告)。
- (C) 困難梭狀芽孢桿菌分離與純化將參考 Pasuale et al., 2012 所發表的論文進行，詳細步驟敘述請參照其論文進行。
- (D) 單核球增多性李斯特菌分離與純化將參照衛生福利部公告之食品微生物之檢驗方法-單核球增多性李斯特菌之檢驗手冊進行(103年1月9日部授食字第1021951354號修正)。
- (E) 致病性大腸桿菌分離與純化將參照衛生福利部公告之食品微生物之檢驗方法—病原性大腸桿菌之檢驗手冊進行(103年12月10日部授食字第1031901801號公告修正)。
- (F) 沙門氏桿菌分離與純化將參照衛生福利部公告之食品微生物之檢驗方法—沙門氏桿菌之檢驗手冊進行(102年12月23日部授食字第1021951187號公告修正)。
- (G) 志賀氏桿菌分離與純化將參照食品微生物之檢驗方法—志賀氏桿菌之檢驗手冊進行(104年4月29日部授食字第1041900638

號公告修正)。

(H) 金黃色葡萄球菌分離與純化將參照食品微生物之檢驗方法—金黃色葡萄球菌之檢驗手冊進行(98年6月9日署授食字第0981800188號公告訂定)。

(I) 霍亂弧菌及腸炎弧菌分離與純化將分別參照食品微生物之檢驗方法—霍亂弧菌之檢驗手冊(102年5月28日署授食字第1021900644號公告修正)及食品微生物之檢驗方法—腸炎弧菌之檢驗手冊進行(102年9月6日部授食字第1021950329號公告修正)。

(J) 創傷弧菌分離與純化將參考 Harwood et al., 2004, Cañigral et al., 2010 所發表的論文進行並參考食品微生物之弧菌屬檢驗方法，詳細步驟敘述參照其論文進行。

(3) 漁港及養殖場水樣之致病菌檢測

主要依據國內外政府單位公告方法及國際期刊發表之方法及本研究室修正過之方法進行，簡述如下，此外，各菌分離與純化流程整理於表3供作參照。

(A) 仙人掌桿菌以 Trypticase Soy Polymyxin Broth (TSPB) 進行前增殖，以 CHROMagar™ B.cereus, Mannitol Egg Yolk Polymyxin (MYP) Agar 進行純化。

(B) 曲狀桿菌以 Bolton's broth 進行前增殖，以 Charcoal Cefoperazone

- Deoxycholate modified Agar (CDDA)進行純化，培養過程維持厭氧條件。步驟參考 Denis et al., 1999, Wilkes et al., 2009 之文獻。
- (C) 困難梭狀芽孢桿菌以 Cycloserine-Cefoxitin Fructose Broth (CCFB)進行前增殖，以 CHROMagar™ C.difficile, Cycloserine-Cefoxitin Fructose Agar (CCFA)進行純化。
- (D) 單核球增多性李斯特菌以 1/2 Fraser broth 進行前增殖，以 CHROMagar™ Listeria, Polymyxin Acriflavin Lithium Chloride Ceftazidime Aesculin Mannitol (PALCAM) agar 進行純化。步驟參考 Doumith et al., 2004, Lyautey et al., 2007, Soni et al., 2013 之文獻。
- (E) 致病性大腸桿菌以 MacConkey broth, Brain-Heart Infusion Broth (BHIB), Tryptose Phosphate Broth (TPB) 進行前增殖，以 CHROMagar™ STEC , MacConkey agar 進行純化。
- (F) 沙門氏桿菌以 Buffered Peptone Water (BPW) Broth , Rappaport Vassiliadis (RV) Broth 進行前增殖，以 CHROMagar™ Salmonella, Xylose Lysine Deoxychola (XLD) Agar 進行純化。後續分析檢驗參照沙門氏桿菌食品檢驗鑑定標準方法及分子生物法。經純化之菌株將送至疾病管制署進行 PFGE 型別鑑定試驗及抗藥性分析。
- (G) 志賀氏桿菌以 Buffered Peptone Water (BPW) Broth , Shigella broth 進行前增殖，以 Xylose Lysine Deoxychola (XLD) Agar, SSA: Salmonella Shigella Agar 進行純化。

- (H) 金黃色葡萄球菌以含 6.5% NaCl Tryptose Phosphate Broth (TSB) 進行前增殖，以 CHROMagar™ MRSA, Baird-Parker Agar 進行純化。步驟參考 Lo et al., 2012, Fang et al., 2014 之文獻。
- (I) 霍亂弧菌及腸炎弧菌以 Alkaline Peptone Water (APW) 進行前增殖，以 CHROMagar™ Vibrio, Thiosulfate-Citrate-Bile salts-Sucrose (TCBS) Agar 進行純化。步驟參考巴西國家衛生單位(Brazil National Health Surveillance Agency, ANVISA)針對牡蠣養殖水體及其他水源檢測方法。
- (J) 創傷弧菌以 Alkaline Peptone Water (APW) 進行前增殖，以 CHROMagar™ Vibrio, Thiosulfate-Citrate-Bile salts-Sucrose (TCBS) Agar 進行純化。步驟參照 Harwood et al., 2004, 所發表的論文中針對環境水體樣本採檢分析方法進行。

6. 環境水樣本及貝類檢體致病細菌及病毒之分子生物檢測與鑑定

水媒環境樣本與食媒貝類檢體之前處理流程如圖 10, 處理後使用全自動核酸萃取設備抽取核酸，抽取原理及流程如下：

- (1) 全自動核酸萃取設備操作平台是利用機器內磁棒架上之磁棒，將吸附有核酸之磁珠移動至不同的試劑槽內，再利用套在磁棒外層之攪拌棒套，反覆地快速攪拌液體，造成均勻的混和，經過細胞裂解、核酸吸附、清洗與沖提，最終得到最乾淨的核酸。使用之萃取試劑將以 ZP02006 MagPurix Bacterial DNA Extraction Kit 及 ZP02003

MagPurix Viral Nucleic Acid Extraction Kit 先做測試。

(2) 以微量 DNA 分光光度計(NanoDrop1000)確認 DNA 的質量(260 nm/280 nm ratio)。

(3) 樣本中 PCR 抑制物之去除

(4) 偵測之致病菌包括沙門氏桿菌 (*Salmonella* spp.)、曲狀桿菌 (*Campylobacter* spp.)、志賀氏桿菌(*Shigella* spp.)、單核球增多性李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*)、致病性大腸桿菌 (pathogenic *Escherichia coli*)、金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、創傷弧菌 (*Vibrio vulnificus*)、霍亂弧菌(*Vibrio cholerae*)、腸炎弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)及困難梭狀芽孢桿菌 (*Clostridium difficile*)主要針對其特殊功能基因、特殊基因片段或特殊毒性基因序列進行引子。詳細引子資訊、作用配方、反應條件彙整於下表 4 及 5 以供參照。

(A) 仙人掌桿菌：Cytotoxin (*cyt K*), Enterotoxin (*nhe A*), Haemolysin BL (*hbl A*), Thuringiensis delta-endotoxin (*cry I A*)進行判斷。

(B) 曲狀桿菌 *Campylobacter jejuni*：以 16S rRNA 進行或是目前用作區分鑑定 *C. jejuni* 的引子共有 2 組，分別是針對其特有的 hippuricase 蛋白基因 *hip O* 以及毒素基因 *ceu E* 設計；而區分 *C. coli* 的引子也為 2 組，分別是針對其 Serine hydroxyme thyltransferase 蛋白基因

gly A 和毒素基因 ceu E。

(C) 困難梭狀芽孢桿菌：以 toxin A (tcdA), toxin B (tcdB), binary toxin (cdtA/cdtB)進行判斷。

(D) 單核球增多性李斯特菌：以 Ribose-phosphate pyrophosphokinase (prs), p60 extracellular protein(iap), Lysteriolysin O(hlyA)進行判斷。

(E) 致病性大腸桿菌：EHEC (stx1, stx2), ETEC (sth, stp, lth, ltp), EPEC (eaeA, bfpA), EIEC (invE)。

(F) 沙門氏桿菌：以 Invasion gene (invA)判斷。

(G) 志賀氏桿菌：以 Antigen H (ipaH), Lactose permease (lacY)偵測。

(H) 金黃色葡萄球菌：以 Nuclease (nuc),Penicillin binding protein 2(mec A)進行判斷。

(I) 霍亂弧菌：以 Outer-membrane protein W (ompW), Cholera toxin (ctx) 確認。

(J) 腸炎弧菌：以毒力基因 tlh, tdh, trh, collagenase(prtV)偵測。

(K) 創傷弧菌：以 Hemolyin/cytolysin (vvhA)判斷。

(5) 偵測之病毒中 Hepatitis A virus 與 Norovirus，其樣本之 RNA 偵測將參考衛生福利部公告之食品中微生物檢驗方法－諾羅病毒之檢驗(103 年 6 月 27 日部授食字第 1031900867 號公告修正)及 A 型肝炎病毒之檢驗手冊(103 年 6 月 16 日部授食字第 1031900776 號

公告訂定)之分子生物檢驗內容進行。詳細引子資訊、作用配方、反應條件彙整於下表以供參照。

- (6) 樣本之 Rotavirus 及 Sapovirus 檢驗方法則分別參考疾管局 93 年計畫 (DOH93-DC-2018)及 Oka *et al.*, 2006 所建議方式進行，並於檢驗過程中進行修正。詳細引子資訊、作用配方、反應條件彙整於表 6 以供參照。

7. 優勢致病菌種與水質指標參數、強降雨事件及氣候因子分析方法

本次研究主要優勢致病菌及病毒分別為腸炎弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, VP)、諾羅病毒 (norovirus, NoV) 及腺病毒 (human adenovirus, HAdVs)。本研究為首度執行長期海港水致病菌監測，考慮到樣本數量及資料分布問題，採無母數統計分析方法 Mann-Whitney U 檢定進行致病菌發生與水質指標之關係，指標包含生物性指標(總菌 (Heterotrophic plate count, CFU/ml)、大腸桿菌群 (Total Coliform, CFU/100ml)、大腸桿菌(*E. coli* (CFU/100ml))及物理性指標(水溫、酸鹼值、濁度、鹽度及溶氧量)。另外綜合水質指標與致病菌檢測結果，以及主要影響指標則利用邏輯斯迴歸模型之 multinomial 進行分析。

本研究初步探討全台長期氣候因子與優勢致病菌發生之相關性，本年度氣候因子初步篩選氣溫與雨量進行分析，採用 1 天、3 天前及 5 天前之平均氣溫(°C)及累積雨量(mm)進行分析，並了解每一自變相對檢

出有無之影響力，探討主要影響因子。統計方法參採蘇(2005)報告使用之邏輯斯迴歸分析(logistic-regression analysis) 之 multinomial 進行分析，其迴歸基本公式如下：

$$\text{logit}(p)=\beta_0+\beta_1x$$

β_0 表示 $x=0$ ， $\log(\text{檢出}/\text{無檢出之 odd})$ ；

β_1 表個連續變數(x_1)對該 odd 的貢獻量。

所有統計方法使用 Excel 2016、Paleontological STatistics (PAST) V. 3.14 及 SigmaPlot V.10.0 等軟體進行統計分析。

三、結果與討論

1. 採樣測站結果及討論

本研究海港水採樣點計有 29 處，朴子河流域計有 24 處，水體樣本共計採集 425 件，各季採集樣本數量分述如下：1 月-3 月(第 1 季)海水水體樣本 82 件，朴子溪水體樣本 24 件；4 月-6 月(第 2 季)海水水體樣本 60 件，朴子溪水體樣本 24 件；7 月-9 月(第 3 季)海水水體樣本 66 件，朴子溪水體樣本 24 件；10 月-12 月(第 4 季)海水水體樣本已採集 60 件，朴子溪水體樣本 24 件(表 7 及 8)。強降雨事件採集兩次計 61 件，包含 6 月份梅雨事件的 29 件水樣及 7 月份尼伯特颱風事件 32 件(表 9)。

採集之貝類樣本計有 424 件，各季採集樣本數量如下：1 月至 3 月市場購買樣本 87 件，牡蠣養殖區共採 16 件；4 月至 6 月市場購買樣本 83 件，牡蠣養殖區共採 15 件；7 月至 9 月市場購買樣本 88 件，牡蠣養殖區共採 18 件；10 月至 12 月已採集市場樣本計 79 件及牡蠣養殖區採集 15 件(表 7 及 8)。強降雨事件採集兩次計 23 件，包含 6 月份梅雨事件的 11 件貝類樣本及 7 月份尼伯特颱風事件 12 件(表 9)。

2. 檢測結果與討論

本研究檢測水樣項目包含：總菌、大腸桿菌群、大腸桿菌及腸道致病菌，其中腸道致病菌種類包含沙門氏桿菌(*Salmonella*)、曲狀桿菌

(*Campylobacter*)、志賀氏桿菌(*Shigella*)、李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、致病性大腸桿菌、金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、創傷弧菌(*Vibrio vulnificus*)、霍亂弧菌(*Vibrio cholerae*)、腸炎弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*)、困難梭狀芽孢桿菌(*Clostridium difficile*)及 A 型肝炎病毒(*hepatitis A virus*)、沙波病毒(*sapovirus*)、輪狀病毒(*rotavirus*) 及諾羅病毒(*norovirus*)等，而腺病毒(*adenovirus*)雖無列於本次計畫檢測項目，但腺病毒為環境水體中最易檢測出之 DNA 病毒(Sinclair et al., 2009)，因此於本研究中特別加入本類一同探討存在情況。

2.1 水體樣本腸道致病菌檢測結果與討論

依據表 7 結果顯示，在水體樣本中，腸道致病菌檢測結果以腸炎弧菌之檢出率最高，全年度已檢測樣本之檢出率介於 45.2%(38/84)至 75%(63/84)，以 4 月至 6 月檢出率最低，10 月至 12 月已檢測樣本的檢出率最高；次為霍亂弧菌，檢測率介於 0 (0/106)至 27.4% (23/84)間，以 1 月至 3 月檢測率最低，10 月至 12 月已檢測樣本的檢出率最高；第三為金黃色葡萄球菌，檢出率分別為 12.22% (11/90) (7 月至 9 月)及 6.0% (5/84) (10 月至 12 月)。其他具檢出率之腸道致病菌分別為創傷弧菌，檢出率介於 0 (0/106)至 6.67% (6/90)；沙門氏桿菌，1 月至 3 月為 1.9% (2/106)，4 月至 6 月為 2.4% (2/84)及 7 月至 9 月為 1.1% (1/90)；仙人

掌桿菌檢出率介於 4.8% (4/84)至 12.3% (13/106)間，1 月至 3 月檢出率最高，4 月至 6 月最低；困難梭狀桿菌僅 1 月至 3 月 (5.7% (6/106))及 4 月至 6 月有檢出(6% (5/84))。而水體樣本未檢出的腸道致病菌包含：曲狀桿菌、MRSA、李斯特菌及志賀氏桿菌。

若將採樣水體區分為海水樣本及淡水樣本之檢測結果，如表 8，兩種水體仍以腸炎弧菌檢出率最高，在海水樣本檢測率落在 48.3% (29/60)至 90% (54/60)間，朴子溪檢出率則介於 8.3% (2/24)至 37.5% (9/24)間。霍亂弧菌於海水水體中僅第 3 及第 4 季已檢測樣本中有被檢出，檢出率分別為 9.1% (6/66)及 36.7% (22/60)；朴子溪 4 至 12 月枝採樣具檢出，其比率介於 4.2% (1/24)及 25% (6/24)。創傷弧菌僅於第 2 及第 3 季海水水體中被檢測出，檢出率為 1.7% (1/60)及 9.1% (6/66)；在朴子溪僅有第 2 及第 4 季檢出(12.5% (3/24)及 20.8% (5/24))。沙門氏菌檢出結果，在海水水體中僅第 1 及 2 季有被檢出，檢出率分別為 2.4% (2/82)及 1.7% (1/60)；朴子溪在第 2 及 3 季中有被檢出，檢出率皆為 4.2% (1/24)。仙人掌桿菌第 1 至 3 季在兩種水體中皆有被檢測出(第 1 季：海水檢出率 15.9% (13/82)，朴子溪檢出率 0 (0/24)；第 2 季：海水檢出率 5% (3/60)，朴子溪檢出率 4.2% (1/24)；第 3 季：海水檢出率 12.1% (8/66)，朴子溪檢出率 4.2% (1/24))。金黃色葡萄球菌第 3 季海水檢出率為 7.6% (5/66)，朴子溪檢出率為則僅在海水水體中被測出 25% (6/24)；第 4 季已檢測海

水標本共 60 件，其中 5 件呈陽性反應 (檢出率=8.3%)，朴子溪無檢出。困難梭狀桿菌目前僅第 1 及 2 季於海水水體中具陽性反應，其檢測率分別為 7.3% (6/82)及 8.3% (5/60)。

另外本研究也可發現腸炎弧菌在第 1 及 2 季有相對較低檢出率 (55.7%及 45.2%)，其水體均溫分別為 19.34 度及 27.54 度，而超過 28 度之水溫檢出率則相對較高(68.9%及 100%)，後續將針對水質指標與其檢出率進行探討。

2.2 水體樣本病毒類檢測結果與討論

病毒於水體樣本檢測結果如表 7，僅有腺病毒、沙波病毒及諾羅病毒具有檢出率，輪狀病毒及 A 肝病毒並無檢出結果。腺病毒檢出比例最高，前 3 季已檢測樣本之檢出率介於 40.5% (34/84)至 42.4% (45/106)，以第 1 季檢測樣本之檢出率最高，第 2 季檢出率最低。海水中諾羅病毒為次高存在的病毒，1 月至 9 月已檢測樣本之檢出率為 0 (0/90)至 21.7% (23/106)。沙波病毒僅於第 1 季具檢出率(2.8% (3/106))，第 2 及第 3 季已檢測樣本之檢出率皆為 0。

將海水及朴子溪水體樣本檢測結果分開探討(表 8)，腺病毒主要存在於朴子溪，第 1 至第 3 季檢測率，海水檢出率僅落在 28.1% (23/82)至 31.8% (21/66)，朴子溪檢出率則高達 70.8% (17/24)至 91.7% (22/24)間。諾羅病毒則在第 1 季有明顯的相似結果，海水的檢出率僅有 13.4%

(11/82)，但在朴子溪的檢出比率則為 50% (12/24)；但在第 2 季僅於海水樣本檢出諾羅病毒(3.3% (2/60))。沙波病毒僅第 1 季具檢出(3.7% (3/82))且全部存在於海水樣本中。

2.3 貝類樣本腸道致病菌檢測結果與討論

依據表 7 結果顯示，在貝類樣本中，腸道致病菌檢測結果仍以腸炎弧菌之檢出率最高，第 1 至第 4 季已檢出率介於 27.2% (28/103)至 73% (54/74)，以第 1 季檢出率最低，第 4 季檢出率最高；次為金黃色葡萄球菌，第 3 及 4 季檢測率分別為 17.0% (18/106)及 33.8% (25/74)；霍亂弧菌檢出率介於 0 至 10.8% (8/74)，以第 4 季已檢測樣本檢出率最高，第 3 季檢出率則為 1.9% (2/106)。其他具檢出率之腸道致病菌分別為困難縮狀桿菌及沙門氏桿菌僅第 1 季具檢出率，分別為 1.9% (2/103)及 1.0% (1/103)；仙人掌桿菌及李斯特菌，僅第 2 季被檢出，檢出率分別為 3.1% (3/98)及 1.0% (1/98)；MRSA 僅於第 3 季被檢出，檢出率為 1.9% (2/106)。而貝類樣本未檢出的腸道致病菌包含：創傷弧菌、曲狀桿菌、及志賀氏桿菌。

若將貝類檢體細分為市場及養殖採樣之檢測結果(如表 8)，兩種採樣區域仍以腸炎弧菌檢出率最高，在市場樣本檢測率落在 25.29% (22/87)至 69.5% (41/59)間，養殖區貝類的檢出率則介於 37.5% (6/16)至 86.7% (13/15)間。霍亂弧菌於檢測結果僅出現在市場採集樣本中，檢測率為

2.3% (2/88)至 13.3% (3/23)。金黃色葡萄球菌在市場採集之貝類樣本檢出率介於 17.1% (15/88)至 43.5% (10/23)；養殖區目前僅測得第 3 季之結果，檢出率為 16.7% (3/18)。沙門氏菌及困難縮狀桿菌僅於第 1 季市場貝類中具檢測，檢測結果分別為 1.2% (1/87)及 2.3% (2/87)。第 2 季則測出仙人掌桿菌，其市場檢體及養殖區檢體之檢出結果分別為 2.4% (2/83)及 6.7% (1/15)。李斯特菌於第 2 季市場貝類檢體檢出(1.2% (1/83))。MRSA 於第 3 季市場貝類中被檢出(2.8% (2/88))。

2.4 貝類樣本病毒類檢測結果與討論

貝類樣本中仍以腺病毒、沙波病毒及諾羅病毒具有檢出率，輪狀病毒及 A 肝病毒並無檢出結果。腺病毒前 3 季已檢測樣本之檢出率介於 4.1% (4/98)至 9.7% (10/103)，以第 1 季檢測樣本之檢出率最高，第 2 季檢出率最低。諾羅病毒僅第 1 及 2 季具檢出，檢出率為 3.1% (3/98)至 18.5% (19/103)。沙波病毒僅於第 1 季具檢出率(1.0% (1/103))，第 2 及第 3 季已檢測樣本之檢出率皆為 0 (表 7)。

將市場及養殖區採集樣本檢測結果分開探討，腺病毒第 1 至第 3 季市場貝類樣本檢測率介在 4.8% (4/83)至 9.2% (8/87)，養殖區檢出率介於 0% (0/15)至 20% (3/15)。諾羅病毒第 3 季皆無檢出，第 1 及第 2 季市場貝類樣本檢測率分別為 20.7% (18/87)及 3.6% (3/83)，養殖區僅第 1 季有檢出(6.3% (1/16))。沙波病毒僅第 1 季於市場貝類檢體中被檢出(表

8)。

腺病毒於環境中常為優勢致病原，較一般 RNA 病毒數量更多 (Huang et al., 2015)，在一般水體中，腺病毒的發生率也較其他病毒為高 (Dong et al., 2009)，另依 Sinclair et al. (2009) 報告中指出，腺病毒在環境水體中是最常被檢測出的病毒，且發生的區域包含游泳池、池塘或湖泊中，且會藉由環境水體中引起群聚感染的病毒。本研究發現本研究首次調查海水環境之腺病毒存在情況，也是以腺病毒的發生率最高。另外諾羅病毒檢出率依季節變暖有明顯變動，尤其在第 3 季（7 至 9 月）為台灣夏季，其檢出率為 0，本種類本就有好發在冬季的現象，適合生存於較低水溫中，和本研究結果相符。

2.5 各類腸道致病菌及病毒分布與討論

本章節分別依據各類腸道致病菌及病毒於全台分布情況進行探討，最高頻度出現的以腸炎弧菌為主，於本研究採樣之 14 個港口、東石布袋外海牡蠣養殖區及朴子溪出海口之測站皆有分布，且於水體及貝類當中皆有檢出，根據 Frazier & Westhoff (1988) 及 Haddock & Cabanero (1994) 的報告指出，腸炎弧菌在海水、貝類及魚類體中為常見之菌種，因其為嗜鹽菌，適合生長於河口與海交界區域 (潘，1998)，與本研究調查之優勢菌種相符，另本研究亦選取本種致病菌與水質資料和氣候資料等進行進一步分析，下一年度亦針對本年度純化之菌株，進行其分型結

果探討，用來了解台灣周邊海域常見型別及其致病力。另外由本研究貝類檢體樣本結果中也可發現，腸炎弧菌仍為主要優勢菌種，潘(1998)也指出，春夏季時腸炎弧菌會寄居在魚貝類中，依據該報告指出市場魚貝類受到腸炎弧菌的污染比率高達 44.4%，又以貝類被污染的比率最高超(過 60%之檢測率)，本研究結果發現貝類腸炎弧菌的檢出率從春季開始有上升現象，且污染比例最高可達 78.26%。

依據圖 11 顯示台灣海港水體致病菌分之布情形發現，沙門氏菌僅第 2 季分布於興達漁港，其餘海港水體無檢測結果。圖 12 則顯示朴子溪流域及東石布袋沿海養殖區致病菌之分布情況，發現本類致病菌分別於第 2 季在 PR09 測站及第 3 季 PR32 測站具零星檢出。根據過去研究顯示沙門氏菌可在河口及沿岸水體中被檢測，有些國家檢測出的比率還可達 35.1% (Catalao Dionisio et al., 2000)，相較之下，本年度檢出比率較低。另外在全台貝類致病菌檢出之分布結果(圖 13)顯示本次研究僅於第一季興達港市場之採檢貝類中被發現 1 株致病菌之存在。

霍亂弧菌之分布多出現於第 3 季，偶發在第 2 季，海港水體包括永安、興達、鹽埔及富岡漁港，朴子溪流域則於在 PR10、PR12、PR14、PR25、PR30、PR31、PR34 及朴子溪出海口的養殖皆具分布(圖 11 及 12)；另依圖 13 探究貝類檢體之分布情況可發現，僅於第 3 季之布袋漁港具檢出果，而 Lyon (2001)研究也指出，牡蠣體內曾有純化出霍亂弧

菌之案例。純化之菌株已於本研究進行 PCR 初步篩選 O1 及 O139 等致病型別(Huang et al., 2009)，並將初步判定之菌株送 CDC 進行後續分析結果發現，雖本年度檢測出之霍亂弧菌其型別非主要致病型別，但仍建議持續進行本種類致病菌之調查及追蹤，後續則利用分子技術進行不同分布區之親緣關係，嘗試判別本種類在水體及食媒中流佈情況。

創傷弧菌與其他弧菌屬種類相同，為嗜鹽性常存於海水中的致病菌種類(Lyon, 2001; Cañigrala et al., 2010)，台灣容易在河海交界與魚貝類中分離出來(朱等，2015)，本年度計畫之海港水體主要於第 3 季可檢測本種類，主要分布於 3 處西部漁港區(台西漁港、布袋漁港及鹽埔東港漁港)(圖 11)；朴子溪流域及東石布袋養殖區則於第 2 及第 3 季皆有零星分布，由圖 12 可以發現，主要分布地點在朴子溪出海口 PR31 測站與養殖區，而在貝類檢體中並無出現本類細菌，建議長期監測本種類群後將保存之純化菌株進行後續分析。

金黃色葡萄球菌，僅於第 3 季之東石漁港測得金黃色葡萄球菌，朴子溪則於 PR08、PR14、PR27、PR28、PR29、PR31 及朴子溪出海口養殖區為分布地點(圖 11 及 12)；另外在貝類致病菌檢出分布結果中亦發現，本種類主要分布在台西漁港、東石漁港、布袋漁港、及外傘頂洲及布袋沿海養殖區域 (圖 13)。根據過去研究指出此菌種可能透過廢水汙染而存在海水中(Efstratiou et al., 1998)，從本年度結果可以大約看出其

分布情況，期藉由長期監測結果了解其分布已及被貝類帶原之相關性。

仙人掌桿菌，在全台海港水體僅出現於第 1 季及第 3 季，測得港口包含富基漁港、永安漁港、南寮漁港、梧棲漁港、三條崙漁港、箔子寮漁港、布袋漁港、花蓮漁港及富岡漁港(圖 11)；朴子溪則於 PR31、PR34 及東石沿海、外傘頂洲及布袋沿海之養殖區為分布地點(圖 12)；在貝類致病菌檢出分布結果中亦發現，本種類主要分布在布袋漁港及外傘頂洲養殖區域 (圖 13)。根據研究發現，本種類廣布於台灣沿海區域，過去研究指出此菌種於生鮮貝類(如生蠔)略見(West, 1989)，而由本年度結果可以規劃下年度之採樣方法，藉由長期監測結果探討其於海水中長期分布情況與貝類之帶原情況。

困難梭狀桿菌，主要分布於台西漁港、五條崙漁港、三條崙漁港、箔子寮漁港及東港鹽埔漁港(圖 11)及朴子溪出海口之養殖區(圖 12)；貝類檢體分布結果也僅於第一季於布袋漁港市場購買之貝類具檢出，其檢出率與其他種類相比略為偏低。另外，李斯特菌本年度僅於第 2 季市場貝類檢體中被檢出 1 次(圖 13)，本種類致病菌則無存在於水體環境。

採檢之水體及貝類並未測得之致病菌包括**曲狀桿菌**、**多重抗藥金黃色葡萄球菌(MRSA)**、**致病性大腸桿菌**及**志賀氏桿菌**等致病菌。然而過去研究指出上述種類皆曾經於海水及貝類中被檢測出(Hernandez et al., 1995; Goodwin et al., 2012; Nakamura et al., 1964)，明年度將持續針對本

些種類進行監測。

根據 Polo et al (2015)的研究顯示，在西班牙養殖區貝類會有 A 肝及諾羅病毒的存在，其中諾羅病毒檢出率可達 32.1%，A 肝則可檢出 10% 以上，而本研究貝類檢體之病毒主要檢出為諾羅病毒。其他如沙波病毒則僅具零星檢出，其水體檢測結果主要分布於第 1 季之台西漁港；貝類分布結果則僅於第 1 季於布袋漁港的市場檢體具檢出(圖 13)。A 肝及輪狀病毒則於本年度結果中無檢出。

本研究主要檢測出的種類為易引起急性腸胃炎群聚感染之諾羅病毒(Ballard et al., 2015)，依據其水體檢測分布結果可發現，諾羅病毒好發於較冷之第 1 及第 2 季，主要分布之海港包含富基漁港、台西漁港、五條崙漁港、三條崙漁港、東石漁港、東港等地(圖 11)；朴子河流域具檢測之測站則包含 PR01、PR03、PR07、PR09、PR12、PR16、PR18、PR20、PR21、PR21、PR30、及布袋沿海之養殖區域(圖 12)；貝類檢體則主要分布於富基漁港、永安漁港、南寮漁港、五條崙漁港、東石漁港、布袋漁港、興達漁港、東港漁港及花蓮漁港，外傘頂洲之養殖區也有分布(圖 13)。

本研究同時利用分子生物技術毒檢測其型別並繪製親緣關係樹(圖 14)，發現台灣海水周邊諾羅病的分布與臨床病例型別主要包含兩大類群，分別為 GI 及 GII，GI 之基因型分析出 2,4,7 及 9 等 5 型；GII 之

基因型則可分為 3, 4, 5, 13, 17 及 GII oyster 等 6 型。在海水樣本中無 GI 型別的檢出，而檢測出 GII 型別包括 13, 17 及 GII oyster 等 3 型；朴子溪水體樣本則主要檢出型別為 GII 4, 13, oyster 等 3 型以及 GI 9 型；貝類檢體樣本檢測之 GI 類群型別包含 2, 4, 7 及 9 等 4 型，另外 GII 型別之 3, 4, 13, 17 及 oyster 等 5 型，檢測結果也發現貝類樣本中帶有的型別較廣，且部分型別於水體中並無檢出，如 GI-2,4 及 7 型以及 GII-3。可能因為貝類採集地點包含市場購買，在運送、保存或販售過程中有遭受污染之可能。

另根利用水體環境及貝類檢體純化之病毒與台灣臨床病毒株基因型繪製親緣圖(圖 14)，發現台灣水體環境之諾羅病毒其型別具多樣性。經分析，其基因型也與臨床或鄰近國家環境之病毒株親緣關係相近。另外根據文獻指出，主要使人類發生群聚感染爆發之型別為 G2 型中的基因型 4 (Mattison et al., 2007; Lindesmith et al., 2008; Robilotti et al., 2015)，這個型別主要存在台灣水體環境中，目前並無於貝類檢體被測出，推測其存在於水體可能遭受人類排放水之污染。另外近兩年在亞洲主要爆發的型別為 G2 中的基因型 17 (Graaf et al., 2015)於本年度海水及貝類檢體亦存在，明年度將持續追蹤本類群之來源及傳播途徑，用以提供後續疾病管制及預警之評估。

3. 優勢致病菌及病毒與水質指標檢定結果及討論

扣除強降雨事件採集之 61 筆資料及有誤無法使用之水質資料 38 筆後，第 1 至第 4 季腸炎弧菌共分析已檢測樣本共分析 316 筆；諾羅病毒及腺病毒可分析樣本計有 287 筆。統計 U 檢定結果顯示，腸炎弧菌與 pH、濁度、鹽度及溶氧量等物理性水質指標具顯著差異，生物性指標 1 不具顯著差異，表示這些指標變動可能會對檢出造成影響(表 10)。另邏輯斯迴歸分析檢定結果可由機率值($Pr > Chi^2$)小於 0.1 時判定，該結果表示在 10%顯著水準下呈現顯著關係，而估計係數(value)則可探討其呈現正或負相關性。

圖 15 結果顯示鹽度(估計係數=7.24, 機率值<0.01)對腸炎弧菌之正向影響力最高，次為總菌數量的變化(估計係數= 3.10, 機率值<0.01)。依過去研究顯示弧菌類群主要為嗜鹽菌，因此本研究將朴子溪監測點與海港水之結果一併分析探討，亦符合其檢出率會與鹽度具差異性，另外根據過去研究雖顯示，腸炎弧菌適存溫度介於 35 至 37 度間(潘, 1998)，本研究全年採集之溫度介於 17 至 34 度間尚未到達腸炎弧菌之適溫環境，因此溫度對於其檢出率並無顯著差異。根據 Watkins and Cabelli (1985)報告中指出，腸炎弧菌在自然環境中生長最容易受到溶氧量之影響，且 Parveen et al. (2008)進一步研究結果也顯示，腸炎弧菌生長與溶氧量為正相關，本研究也結果顯示溶氧量的改變會影響檢出結果。

羅病毒與水質指標間檢測結果如表 11，除濁度、溶氧量及 *E. coli* 對

其無顯著影響外，其他水質指標皆具顯著影響($p < 0.05$)。依據迴歸非析結果發現，溫度(估計係數=-0.59, 機率值 < 0.01)對諾羅病毒之負向影響力最高，次為鹽度(估計係數=-0.46, 機率值=0.05)，亦為負向影響力(圖16)。多數的研究都指出，諾羅病毒具有季節性分布，好發在低溫時節，俗稱冬季嘔吐病毒(Wong et al., 2012)，也與本研究檢定結果相符，與水溫具差異性，當水溫越高，越不利諾羅病毒生長，進而導致本研究在樣本檢出率，有明顯的隨季節趨暖，檢出率降低的結果。

腺病毒與水質指標間的檢測結果如表 12，僅水溫對檢出率無顯著影響，其他水質指標皆具顯著影響，圖 17 顯示各類水質指標對腺病毒之影響，分析結果發現 *E. coil* 正向影響力遠高於其他水質指標(估計係數=23.48, 機率值=0.007)，次具正向影響力之水質指標則為濁度(估計係數=0.82, 機率值=0.002)。

4. 強降雨事件發生與水體微生物和優勢致病菌之相關

本研究強降雨事件定義則以中央氣象局「新雨量分級」定義為據，每 24 小時降達 100 毫米或每 1 小時降達 40 毫米以上稱之大雨事件；每 24 小時降達 200 毫米或每 3 小時降達 100 毫米雨量以上稱之豪雨事件。而本研究選定之 6 月份梅雨事件，與 7 月份尼伯特颱風事件分別達到大雨及豪雨標準。採樣地點則以東石布袋漁港之養殖區及朴子溪出海口為監測點，共計採集八處，按強降雨事件完全停止後的第 1 天、第 3

天、第 8 天及第 12 天進行採集，6 月份梅雨事件採集 29 件水樣，7 月份尼伯特颱風事件採集 32 件水樣，兩次計採 61 件(表 9)。

針對強降雨事件水體之水質指標與按季採集之水體樣本水質指標進行 ANOVA 分析，探討強降雨事件，水體之水質指標是否有顯著變異。其中梅雨季節之背景資料選定份 4 月至 6 月採樣之水質指標數據；颱風季節之背景資料則選定 7 月至 9 月採樣之水質指標數據。分析顯示梅雨季節之強降雨事件發生後第 1 天，溶氧量具顯著上升(強降雨事件平均溶氧量：5.34mg/L；一般氣候平均溶氧量：4.83mg/L； p -Value<0.05)，接下來按第 3 天(強降雨事件平均溶氧量：4.74mg/L；一般氣候平均溶氧量：4.83mg/L； p -Value<0.05)、第 8 天(強降雨事件平均溶氧量：4.23mg/L；一般氣候平均溶氧量：4.83mg/L； p -Value<0.05)及第 12 天(強降雨事件平均溶氧量：3.91mg/L；一般氣候平均溶氧量：4.83mg/L； p -Value<0.05)；其餘水質指標則與背景值並無顯著差異(p -value>0.05)。

分析颱風強降雨事件發生後水體與一般氣候之水質指標發現，採樣第 1 天具顯著差異的包括溶氧量(強降雨事件平均溶氧量：7.40mg/L；一般氣候平均溶氧量：4.99mg/L； p -Value=0.003)及鹽度(強降雨事件平均鹽度：2.92‰；一般氣候平均鹽度：18.3‰； p -Value=0.002)，接下來於第 3 天(強降雨事件平均鹽度：2.97‰；一般氣候平均鹽度：16.3‰； p -Value<0.05)及第 12 天(強降雨事件平均鹽度：15.34‰；一般氣候平均鹽

度: 18.35mg/L; p -Value=0.01)之鹽度具顯著變化；其餘水質指標則與背景值並無顯著差異(p -value>0.05)。兩次強降雨事件發生可了解瞬間大雨可以擾動水體，並增加含氧量程度，且颱風事件之雨量已達豪大雨事件，因此事件發生後的 12 天內，對鹽度變化也有顯著的影響。

以兩次降雨事件中之間期間累計雨量平均、平均水溫及濁度分別視為變因探討與水中總菌、大腸桿菌群、大腸桿菌與優勢致病菌與雨量間趨勢的關係。兩次事件將視為獨立事件分別探討，優勢致病菌仍為腸炎弧菌、腺病毒與諾羅病毒為主，惟諾羅病毒僅有零星檢測結果，在梅雨強降雨事件發生後第 8 天(1/8(12.5%))及第 12 天(1/8(12.5%))之水體樣本才具檢出率，其餘時間(包含颱風事件 4 次採集)皆無檢出，因此該資料難以進行統計分析。另為探討降雨事件與水中微生物指標的相關性，因此本次研究以總菌、大腸桿菌群、大腸桿菌之數量與腸炎弧菌及腺病毒的檢出率與強降雨事件選定的氣候變因進行探討。

依據中央氣象局發布之監測資料顯示，6 月 11 日至 12 日 2 日累積降雨量為 161 毫米，本次事件採集時間自事件結束後第 1 天 6 月 13 日起按時序進行採集，累積雨量平均最高出現在事件結束後第 1 天(53.67mm)，按第 3 天(33.00mm)、第 8 天(16.70mm)、第 12 天(12.07mm)逐漸下降(表 13)。7 月尼伯特颱風期間，7 月 9 日至 10 日 2 日累積降雨量為 293.5 毫米，本次事件採集時間自事件結束後第 1 天 7 月 11 日起

按時序進行採集，累積雨量平均最高仍出現在事件結束後第 1 天(97.83mm)，按第 3 天(63.30mm)、第 8 天(32.40mm)、第 12 天(23.14mm)逐漸下降(表 13)。

各類致病菌與微生物指標與兩次事件期間累積雨量平均、平均水溫及濁度之趨勢關係，圖 18 顯示總菌數與累積雨量平均、平均水溫及濁度分析結果，顯示兩次事件總菌量與雨量平均和濁度具正向相關，當雨量與濁度越高時(亦為強降雨事件發生時)，總菌數量升高；反之平均水溫則為負向相關，表示水溫較低時，總菌數量較高。大腸桿菌群與大腸桿菌與總菌之趨勢相似，圖 19 顯示大腸桿菌群與三項變因之相關趨勢與總菌相似，當平均雨量和濁度升高時，大腸桿菌群之量也升高；而水溫若升高，則大腸桿菌群量則降低。圖 20 顯示強降雨事件與大腸桿菌之趨勢也和總菌及大腸桿菌相似。

優勢致病菌之結果分述如下：腸炎弧菌 2 次事件檢出結果發現當平均雨量越高且水質濁度高時，其檢出率明顯降低(圖 21)；而水溫越高則檢出率越高(圖 21)，整體而言腸炎弧菌檢出率明顯按事件發生後的天數逐漸上升，至第 12 天的水體樣本檢測率腸炎弧菌檢測率為 100%(表 13)。

依本研究按四季在東石布袋區域進行採樣之腸炎弧菌檢測率可知，全年度已檢測樣本其腸炎弧菌發生率介於 81.3%(13/16)至 100%(15/15)

間，為該區主要優勢致病菌，而分析兩次強降雨事件結果及本研究四季採樣結果顯示，大雨發生第 1 天，腸炎弧菌檢出率僅有 40% (2/5) 及 75% (6/8)，低於一般時期的檢測水準，而隨降雨事件時序拉長後，至第 12 天腸炎弧菌才會回復至 100% (8/8) 檢測結果(表 9 及 13)。本研究首次針對 2 次強降雨事件進行探討，而強降雨發生時，平均雨量越高，對水體之溶氧量及鹽度皆有影響，依據 Sterk et al. (2013) 的報告指出，降雨事件或氣候的變異都可能間接改變水體環境，例如鹽度、pH 甚至鐵離子濃度，此外過去研究顯示水溫、溶氧及鹽度也是腸炎弧菌生長之影響因子(潘，1998；Watkins and Cabelli, 1985；Parveen et al., 2008)，本次研究結果可以初步看到強降雨事件與腸炎弧菌生長的相關性，未來待資料更為充足時，將進一步分析推測強降雨事件發生與各類水質因子的變動關係，探討這些間接的變動是否會對與腸炎弧菌生長造成影響。

強降雨發生時期腺病毒的檢測率趨勢則與腸炎弧菌相反(表 13)，結果顯示 2 次強降雨事件之雨量、水溫及濁度皆與檢出率具相關性，當雨量平均越高且水質濁度高時，其檢出率明顯升高(圖 22)；但水溫越高檢出率越低(圖 22)；7 月份颱風之強降雨結果也具相同趨勢，整體而言腺病毒於事件發生後的會有較高的檢出率，按事件發生後天數逐漸下降，直至第 12 天下降至 12.5% (1/8) 至 37.5% 間 (3/8) (表 13)。

以四季正常氣候下，同樣地區的腺病毒檢出率約介於 0 至 13.3% 之

間，而大雨事件後第一天腺病毒檢出率可高達 62.5%至 80%，檢出率則隨時間遞減，至第 12 天才會接近平均檢出水準，而根據過去報告指出，腺病毒與總菌與大腸桿菌群有類似功能，可以檢測水體被汙染的情形，因此推測降雨事件會將汙染源沖刷至海水，造成檢出率變高，但隨事件影響減弱後，腺病毒的檢出率亦回復至一般水準。

綜上結果發現，常被視作主要的物理水質指標及微生物指標之總菌、大腸桿菌群及大腸桿菌以及腺病毒，在大雨事件發生時，皆可能透過大雨沖刷將汙染源由土壤、鄰近溪流甚至河口區帶入至沿岸區，由檢出結果可以發現，總菌數量在大雨發生後的第一天時達到 86,093 到 314,381 CFU/ml，隨事件發生時序拉長，其數量才會降下，其他兩種指標微生物之數量也是在事件發生後第一天數量最多(大腸桿菌群：2,390-9,700 CFU/100ml；大腸桿菌：133-557 CFU/100ml)，這些結果也顯示強降雨事件容易造成水體汙染，這些致病細菌的存在也可能透過水域場所遊憩或養殖魚貝類食用造成人類感染腹瀉疾病的風險，未來建議可長期監測並且配合我國訂立的水體環境微生物指標進行分析，在強降雨事件發生時，提供疾病防治之對策。

5. 前三季優勢致病菌與氣候資料的初步探討

的根據過去研究指出(Sterk et al., 2013；Wu et al., 2016)，全球氣候變遷會直接或間接地影響致病菌的發生，例如對致病菌的生活週期、棲

地、分布情況、組成比例、傳播路徑等造成影響，也已經有多項研究顯示溫度改變會直接造成各類致病菌的滋生或死亡(Bunyavanich et al., 2003)，或透過氣溫改變與降雨事件間接改變環境水體，例如改變水表面溫度、鹽度進而導致致病菌發生及組成，提高人類染病的風險。因此本年度研究初步以季節性採樣檢測率與氣候資料進行分析。

本年度計畫選取自 105 年 1 月至 9 月之氣溫及累積雨量作為氣候因子，探討氣溫及雨量之變化分別對發生頻度最高的腸炎弧菌、諾羅病毒及腺病毒之檢出率是否有影響，本年度初步以採樣日當天、前 3 天及前 5 天之氣溫與雨量進行運算，氣溫以平均氣溫當作自變相，雨量則以期間累積雨量作為自變相，整合探討對於優勢致病菌發生影響最高之因子為何，檢定結果可由機率值($Pr > Chi^2$)小於 0.1 時判定，該結果表示在 10% 顯著水準下呈現顯著關係，而估計係數(value)則可探討其呈現正或負相關性。

根據表 14 及圖 23 腸炎弧菌與氣溫和雨量分析結果顯示，3 天累積雨量(估計係數=5.384, 機率值=0.1)是影響力最大之因子，其與腸炎弧菌的檢出率為正相關影響，而 5 天之平均氣溫之估計係數雖為最高(估計係數=-7.005)，但其機率值無達到 10%顯著水準(機率值=0.21)。

Hsiao et al. (2016)主要利用台灣 2000-2011 年間腸炎弧菌發病之比率與氣候因子間的相關性進行分析，發現平均氣溫、平均海水溫、6 個

月前的海水鹽度、每日最大降雨量及平均相對濕度等因子，對發病率皆有影響。而本研究首次針對台灣環境水體間的腸炎弧菌檢出率與氣候因子進行探討，初步結果發現選定的氣候因子中，以 3 天累積雨量對檢出率最具正向影響力。

表 15 及圖 24 顯示諾羅病毒與氣溫和雨量分析結果，發現 6 項自變相對檢出率之機率值皆大於 0.1，顯示在統計上並無自變相達到影響的顯著水準，但若比較估計係數，以當天氣溫(估計係數=-8.21, 機率值=0.12)及 3 天平均氣溫(估計係數=-8.53, 機率值=0.18)對檢出率具影響力；相對下累積雨量則對檢出率的影響較氣溫小。根據過去文獻指出，諾羅病毒好發在低溫時節，溫度對發病影響力大(Wong et al., 2012)，雖目前氣候因子的結果並無法達到統計意義，但從估計係數結果可初步發現氣溫對其檢出影響較雨量大。

腺病毒與氣候因子間的關係則如表表 16 及圖 25，檢視各類自變相對檢出結果可發現，當天氣溫對其發生率之影響力最高(估計係數=-5.62, 機率值=0.06)，次為 5 天累積雨量 (估計係數=1.95, 機率值=0.06) 及 3 天累積雨量 (估計係數=-1.56, 機率值=0.07)。由結果可發現，腺病毒受雨量影響較大，比較本年度強降雨事件的檢定結果顯示，也可發現腺病毒與累積雨量具正相關性，並再次推測降雨事件會將污染源沖刷至海水，改變水體環境使腺病毒之檢出率變高，但隨事件影響減

弱後，腺病毒的檢出率亦回復至一般水準。

依據蘇(2009)研究報告顯示，氣候因子的改變會間接的修正流行疾病發生的時間和空間分布。例如傳染性疾病會因為氣溫上升及氣候改變時程拉長等，造成流行期間的延後或延長。由此可知，這些長期氣候因子的變動，最直接的便是造成這些疾病媒介，由本年度分析結果已有初步概念，惟本年度資料量仍不夠長期(本年度僅分析 38 筆資料)，因此可能影響氣溫及雨量和檢出率間的統計檢定結果，明年度將持續檢測周邊海域該類致病菌，並透過更長期的資料量進行分析。

四、結論與建議

1. 本研究已建立不同水體之腸道致病菌及病毒之採檢流程及檢測方法的標準程序，有利於後續進行持續監控水體環境中腸道致病原及病毒之檢驗。
2. 完成全台漁港水及朴子河流域不同水體之腸道致病菌及病毒四季發生率檢測情形。結果顯示在水體環境中，主要優勢致病菌為嗜鹽性之腸炎弧菌，腺病毒於每季皆有檢出，諾羅病毒之發生主要在冬季及春季。
3. 腸炎弧菌與諾羅病毒和部分水質指標間具有顯著相關性，顯示水質受到環境汙染或氣候的改變皆可能影響環境中微生物的存在，建議應持續長期監測，並探討分析汙染或環境變遷對水質之影響。
4. 本年度2次強降雨事件與優勢致病菌發生率之關係可累積平均雨量、水溫與濁度皆與檢出率據相關趨勢，明年度可對特定檢出熱點，進行強降雨事件之採樣工作，嘗試將採樣時序拉長以觀察後續變動情形。
5. 本研究首次針對台灣環境水體間的腸炎弧菌檢出率與氣候因子進行探討，以3天累積雨量(估計係數=5.384, 機率值=0.1)為最具影響力之氣候因子，惟一年度之統計資料量仍稍不足(本年度僅分析38筆資料)，明年度將持續檢測周邊海域該類致病菌，以更長期的資料量進行分析。

五、重要研究成果及具體建議

1. 已建立台灣地區全年度海港水、朴子溪及貝類等 3 種不同來源的四季腸道致病原分布情形及檢出率調查(成果)。
2. 已初步了解海洋水體環境中主要優勢弧菌類群為腸炎弧菌，病毒則以諾羅病毒及腺病毒為主；而台灣海水環境中可見之諾羅病毒之型別包含能發生群聚感染之型別(GII4 及 17 型)。(成果)。
3. 水體及貝類中均有檢出高致病風險之諾羅病毒型別及弧菌類群，故建議食用全熟之養殖貝類，減少生食行為，另外於觀光漁港地區遊憩活動時均須注意衛生，避免傷口碰觸海水，免疫力較低之族群，例如老人及幼童等，應更注意避免傷口汙染與嗆水(建議)。
4. 利用統計分析方式判定優勢致病原與水質指標具相關性，議持續監測環境因子等資訊，用以建立致病原受環境因子影響之分佈與變遷分析，期望後續持續研究(成果與建議)。
5. 本研究初步探究長期氣候因子與氣候變異對水體致病菌之影響，已有前期成果，可發現氣溫、雨量與濁度對於檢出之影響，惟氣候變遷之研究多以長時間序列為分析依據，因此期望後續持續按期監測，與氣象資料進行長時間分析，並增加臨床病例資料與病原體發生相關性分析，用以評估疾病發生及分布之評估(建議)。
6. 與氣象單位合作建立採樣點氣候變異與長期觀察，以大數據方式進

行探討，建立更完善分析以利獲得最佳結果(建議)。

六、參考文獻

- Arias CR, Aznar R, Pujalte MJ, Garay E (1998) A comparison of strategies for the detection and recovery of *V. vulnificus* from marine samples of the western Mediterranean coast, *Syst Appl Microbiol.*, 21: 128-134.
- Bellou M, Kokkinos P, Vantarakis A (2013) Shellfish-borne viral outbreaks: a systematic review. *Food Environ Virol.*, 5(1): 13–23
- Bottieau E, Clerinx J, Vlieghe E, Van Esbroeck M, Jacobs J, Van Gompel A, Van Den Ende J (2011) Epidemiology and outcome of *Shigella*, *Salmonella* and *Campylobacter* infections in travellers returning from the tropics with fever and diarrhoea. *Acta Clin Belg.*, 66(3): 191-195.
- Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA (1992) Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene, *J Clin Microbiol.*, 30(7): 1654–1660.
- Cañigral I, Moreno Y, Alonso JL, González A, Ferrús MA (2010) Detection of *Vibrio vulnificus* in seafood, seawater and wastewater samples from a Mediterranean coastal area, *Microbiol Res.*, 165(8): 657-664.
- Campbell MS and Wright AC (2003) Real-time PCR analysis of *Vibrio vulnificus* from oysters, *Appl Environ Microbiol.*, 69(12): 7137-7144.
- Chankhamhaengdecha S, Hadpanus P, Aroonual A, Ngamwongsatit P, Chotiprasitsakul D, Chongtrakool P, Janvilisri T (2013) Evaluation of multiplex PCR with enhanced spore germination for detection of *Clostridium difficile* from stool samples of the hospitalized patients, *BioMed Res Int.*, 03(1): **875437**
- CDC (2007) Preliminary foodnet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food --- 10 States, 2006.

MMWR, 56: 336-339.

Cook DW, O'Leary P, Hunsucker JC, Sloan EM, Bowers JC, Blodgett RJ and DePaola A (2002) *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in USA retail shell oysters : A national survey June 1998 to July 1999, J Food Prot., 65: 79-87.

Collee JG , Duguid JP , Fraser AG (1989) . Practical Medical Microbiology , 13th Ed . New York : Churchill Livingstone Co . 509-510p .

Daniels NA, MacKinnon L, Bishop R, Altekruuse S, Ray B, Hammond RM, Thompson S, Wilson S, Bean NH, Griffin PM, Slutsker L (2000) *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-1998, J Infect Dis., 181: 1661-1666.

Denis M1, Soumet C, Rivoal K, Ermel G, Blivet D, Salvat G, Colin P (1999) Development of a m-PCR assay for simultaneous identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*, Lett Appl Microbiol., 29(6): 406-410.

Di Pinto A, Ciccarese G, Tantillo G, Catalano D, Forte VT (2005) A collagenase-targeted multiplex PCR assay for identification of *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio parahaemolyticus*, J Food Prot., 68(1): 150-153

Diallo AA, Patel DR, Flick GR, Wittman RF, Skyles K, Croonenberghs RE (1995) Listeria in shellfish plant environments. Virginia Dept of Health Richmond, VA22319.

Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P (2004) Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR, J Clin Microbiol., 42(8): 3819-3822.

Efstratiou MA, Mavridou A, Richardson S C, Papadakis JA (1998) Correlation of bacterial indicator organisms with *Salmonella* spp.,

- Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* in sea water. *Letters in Applied Microbiology* 26: 342–346.
- Fang HW, Chiang PH, Huang YC (2014) Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST9 in pigs and related personnel in Taiwan, *PLoS One*, 9(2): e88826.
- Frazier WC , Westhoff DC (1998) *Food Microbiology* , 4th ed , New York : McGrawHill Book Co. , 404p .
- Gubler DJ (2001) Climate variability and change in the United States: potential impacts on vector- and rodent-borne diseases. *Environ Health Perspect.*, 109: 223-233.
- Goodwin KD, McNay M, Cao Y, Ebentier D, Madison M, Griffith JF (2012) A multi-beach study of *Staphylococcus aureus*, MRSA, and enterococci in seawater and beach sand. *Water Res.*46(13): 4195-207.
- Haddock RL , Cabanero AF (1994). The origin of non-outbreak *Vibrio parahaemolyticus* infections on Guam , *Trop Geogr Med* , 46 (1) : 42-43.
- Harwood VJ, Gandhi JP, Wright AC (2004) Methods for isolation and confirmation of *Vibrio vulnificus* from oysters and environmental sources: a review, *J Microbiol Methods.*, 59(3): 301-316.
- Hernandez J, Fayos A, Ferrus MA, Owen RJ (1995) Random amplified polymorphic DNA fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from human faeces, seawater and poultry products. *Research in Microbiology*, 146(8): 685-696.
- Hsieh WS, Tsai LY, Jeng SF, Hsu CH, Lin HC, Hsueh PR, Chen CY, Chou HC, Tsao PN, Yang PH (2009) Neonatal listeriosis in Taiwan, 1990-2007. *Int J Infect Dis.*, 13(2):193-195.

- Huang SL, Chou YT, Hsieh YC, Huang YC, Lin TY, Chiu CH (2011) Epidemiology and clinical characteristics of *Listeria monocytogenes* bacteremia in a Taiwanese medical center. *J Microbiol Immunol Infect.*, 43(6): 485-490.
- Huang YT, Chen SU, Wu MZ, Chen CY, Hsieh WS, Tsao BN, Horng CJ, Hsueh PR (2006) Molecular evidence for vertical transmission of listeriosis, Taiwan. *J Med Microbiol.*, 55(11): 1601-1603.
- Intergovernmental Panel on Climate Change; IPCC (2001) Climate change 2001: The science of climate change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Kalyan Kumar TD, Murali HS, Batra HV (2010) Multiplex PCR assay for the detection of enterotoxigenic *Bacillus cereus* group strains and its application in food matrices, *Indian J Microbiol.*, 50(2): 165-171.
- Karch H, Meyer T, Rüssmann H, Heesemann J (1992) Frequent loss of Shiga-like toxin genes in clinical isolates of *Escherichia coli* upon subcultivation, *Infect Immun.*, 60(8): 3464–3467.
- Kim JH, Lee DH, Joo Y, Zoh KD, Ko G, Kang JH (2016) Identification of environmental determinants for spatio-temporal patterns of norovirus outbreaks in Korea using a geographic information system and binary response models. *Science of the Total Environment*: 569-570.
- Kulldorff, M., Information Management Services, Inc. (2011) SaTScan™ V9.11: Software for the spatial and space-time scan statistics.
- Le Guyader FS, Le Saux JC, Ambert-Balay K, Krol J, Serais O, Parnaudeau S, Giraudon H, Delmas G, Pommepuy M, Pothier P, Atmar RL (2008) Aichi virus, norovirus, astrovirus, enterovirus, and rotavirus involved in

- clinical cases from a French oyster-related gastroenteritis outbreak. *J Clin Microbiol.*, 46(12): 4011–4017.
- Lee RJ, Rangdale E, Croci L, Hervio-Heath D, Lozach S (2008) Bacterial pathogens in seafood. In *Improving Seafood Products for the Consumer* Edited by T. Borresen. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition No. 158, 1-70.
- Lindqvist R (1999) Detection of *Shigella* spp. in food with a nested PCR method-sensitivity and performance compared with a conventional culture method, *J Appl Microbiol.*, 86(6): 971-978.
- Linton D, Owen RJ, Stanley J (1996) Rapid identification by PCR of the genus *Campylobacter* and of five *Campylobacter* species enteropathogenic for man and animals, *Res Microbiol.*, 147(9): 707-718.
- Lo YP, Wan MT, Chen MM, Su HY, Lauderdale TL, Chou CC (2012) Molecular characterization and clonal genetic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of pig origin in Taiwan, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.*, 35(6): 513-521.
- Lüscher D, Altwegg M (1994) Detection of shigellae, enteroinvasive and enterotoxigenic *Escherichia coli* using the polymerase chain reaction (PCR) in patients returning from tropical countries, *Mol Cell Probes.*, 8(4): 285-290.
- Lyautey E, Lapen DR, Wilkes G (2007) Distribution and characteristics of *Listeria monocytogenes* isolates from surface waters of the South Nation River watershed, Ontario, Canada, *Appl Environ Microbiol.*, 73(17): 5401-5410.
- Lyon WJ (2001) TaqMan PCR for Detection of *Vibrio cholerae* O1, O139, Non-O1, and Non-O139 in Pure Cultures, Raw Oysters, and Synthetic

- Seawater. *Applied and environmental microbiology*, 67(10): 4685-4693.
- Matheny SC, Kingery JE. (2012) Hepatitis A. *Am Fam Physician.*, 86(11): 1027–1034; quiz 1010–1022.
- Misturu N, Robert LS, Judith EK, Frank PP (1964) Survival of *Shigella* in Sea Water. *Nature* 203: 213-214.
- Nandi B, Nandy R K., Mukhopadhyay S, G. Nair , Shimada T, Ghose A C (2000) Rapid method for species-specific identification of *Vibrio cholerae* using primers targeted to the gene of outer membrane protein OmpW, *J Clin Microbiol.*, 38(11): 4145–4151.
- Natasha B, Krishna R, Preeti N. Malani (2015) Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review. *JAMA*, 27;313(4): 398-408.
- Nishida T (2003) Detection, quantitation, and phylogenetic analysis of noroviruses in Japanese oysters. *Appl Environ Microbiol.*, 69: 5782–5786.
- Oka T, Katayama K, Hansman GS, Kageyama T, Ogawa S, Wu FT, White PA, Takeda N (2006) Detection of human sapovirus by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, *J Med Virol.*, 78(10): 1347-1353.
- Panicker G1, Myers ML, Bej AK (2004) Rapid detection of *Vibrio vulnificus* in shellfish and Gulf of Mexico water by real-time PCR, *Appl Environ Microbiol.*, 70(1): 498-507.
- Pasquale V, Romano V, Rupnik M, Capuano F, Bove D, Aliberti F, Krovacek K, Dumontet S (2012) Occurrence of toxigenic *Clostridium difficile* in edible bivalve molluscs, *Food Microbiol.*, 31(2): 309-312.
- Patz JA, Engelberg D, Last J (2000) The effects of changing weather on

- public health. *Annu Rev Public Health.*, 21: 271-307.
- Rose JB, Epstein PR, Lipp EK, Sherman BH, Bernard SM, Patz JA (2001) Climate variability and change in the United States: potential impacts on water and foodborne diseases caused by microbiologic agents. *Environ Health Perspect.*, 109: 211-221.
- Ryan KJ, Ray CG (2004) *Sherris Medical Microbiology* 4th. McGraw Hill. 322–324.
- Ryu J, Si Hong Park, Yeom YS, Shrivastav A, Lee SH, Kim YR, Kim HY (2013) Simultaneous detection of *Listeria* species isolated from meat processed foods using multiplex PCR, *Food Control.*, 32(2): 659–664.
- Sakoulas G, Gold HS, Venkataraman L, DeGirolami PC, Eliopoulos GM, Qian Q (2001) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: comparison of susceptibility testing methods and analysis of mecA-positive susceptible strains, *J Clin Microbiol.*, 39(11): 3946-3951.
- Sari Edelstein (2009) Food and nutrition at risk in America: food insecurity, biotechnology, food safety, and bioterrorism. p.72.
- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM (2011) Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. *Emerg Infect Dis.*, 17(1): 7-15.
- Soni DK, Singh RK, Singh DV, Dubey SK (2013) Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from Ganges water, human clinical and milk samples at Varanasi, India, *Infect Genet Evol.*, 14: 83-91.
- Stutman HR (1994) *Salmonella, Shigella, and Campylobacter*: common bacterial causes of infectious diarrhea. *Pediatr Ann.*, 23(10): 538-543.
- Tsai CF, Lin DB, Chen SC, Chang YH, Chen CY, Lin JB (2011) Seroepidemiology of hepatitis A virus infection among schoolchildren

- in Taiwan. *J Med Virol.*, 83(2): 196-200.
- Valeria Torok, Kate Hodgson, Jessica Tan (2015) Prevalence survey for norovirus and hepatitis A virus in fresh Australian Leafy Greens and berries at Retail. International Association for Food Protection, T5-05.
- Wong K, Fong TT, Bibby K (2012) Application of enteric viruses for fecal pollution source tracking in environmental waters. *Mariorosa Molina Environment International* 45 :151-164.
- West P A (1989), Human pathogens and public health indicator organisms in shellfish, in Austin B and Austin D A (Eds), *Methods for the microbiological examination of fish and shellfish*, Chichester, Ellis Horwood Ltd, 273-308.
- Wei S, Zhao H, Xian Y, Hussain MA, Wu X (2014) Multiplex PCR assays for the detection of *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, and *Vibrio cholerae* with an internal amplification control, *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 79(2): 115-118.
- Wilkes G, Edge T, Gannon V, Jokinen C, Lyautey E, Medeiros D, Neumann N, Ruecker N, Topp E, Lapen DR (2009) Seasonal relationships among indicator bacteria, pathogenic bacteria, *Cryptosporidium* oocysts, *Giardia* cysts, and hydrological indices for surface waters within an agricultural landscape, *Water Res.*, 43(8): 2209-2223.
- WHO (2003) *Disease Outbreak News*. World Health Organization Communicable Disease Surveillance and Response (CSR).
- WHO (2008) *Guideline for the Drinking-Water Quality*, 3rd edition, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Wong HC, ChaoWL, Lee SJ (1990) Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* in foods available in Taiwan. *Applied and*

- Environmental Microbiology, 56(10): 3101-3104.
- Wu FT, Chen HC, Yen C, Wu CY, Katayama K, Park Y, Hall AJ, Vinjé J, Huang JC, Wu HS (2015) Epidemiology and molecular characteristics of norovirus GII.4 Sydney outbreaks in Taiwan, January 2012–December 2013. J Med Virol., 87(9): 1462-1470.
- Yabuuchi E. (2002) *Bacillus dysentericus* (sic) 1897 was the first rather than *Bacillus dysenteriae* 1898. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 52: 1041-1041.
- Yuan Y, Xu W, Zhai Z, Shi H, Luo Y, Chen Z, Huang K (2009) Universal primer-multiplex PCR approach for simultaneous detection of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* spp. in food samples, J Food Sci., 74(8): 446-452.
- 朱旆億、姜湘楹、黃翌聰 (2015) 第四十九章創傷性弧菌症，疾病管制局。
- 吳芳姿等 (2007) 台灣地區首例沙波病毒腹瀉群聚感染事件，疫情報導，23 (11) : 614-622。
- 吳芳姿，王明琴，連怡佳(2004) 病毒性腹瀉症候群 Real Time RT- PCR 之發展及流行病學研究，行政院衛生署疾病管制局九十三年度科技研究計畫 DOH93-DC-2018。
- 陳豪勇 (1999) 第 29、31 章。陳豪勇著，最新醫用微生物學，第三版，301-308。
- 戚祖沅、郭家維、鄭維智 (2012) 100 年度台灣地區食品中毒案件分析，食品藥物研究年報, 3 : 138-144。

蔡睦宗、許清曉、李欣蓉 (2006) 曲狀桿菌症，人畜共通傳染病臨床指引第二版。

蔡睦宗、王淑芬、黃昱聰、陳宜君 (2006) 沙門氏桿菌症，人畜共通傳染病臨床指引第二版。

潘子明 (1999) 腸炎弧菌食品中毒，疫情報導, 13 (8): 245-250。

邱乾順，沈玉梅，楊麗珠，魏孝倫，廖采苓 (2001) 南投縣桿菌性痢疾流行概況-1995 至 1999 年，疫情報導。

高淑郁，林聖欽 (2010) 東石鄉牡蠣產業的經營與性別化空間的形塑，國立臺灣師範大學地理研究所碩士論文。

蘇慧貞、賴進貴、張照勤 (2005) 氣象因子變化及異常天候對我國特定疾病發生之衝擊，行政院環保署。

蘇慧貞 (2009) 氣候暖化對台灣防疫之風險與因應對策相關研究，疾病管制局。

七、圖表

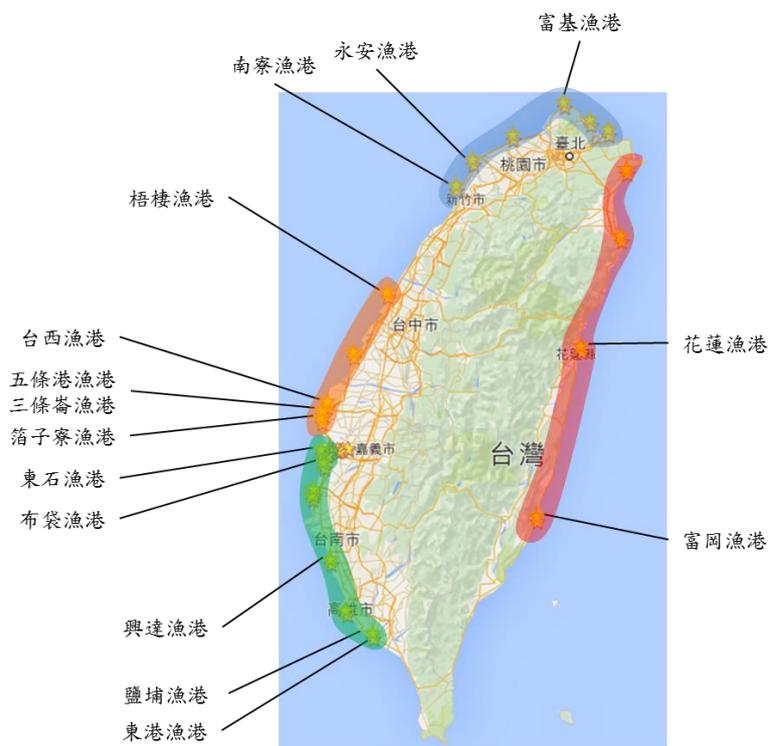


圖 1、全台北、中、南、東四區漁港普查分布圖。

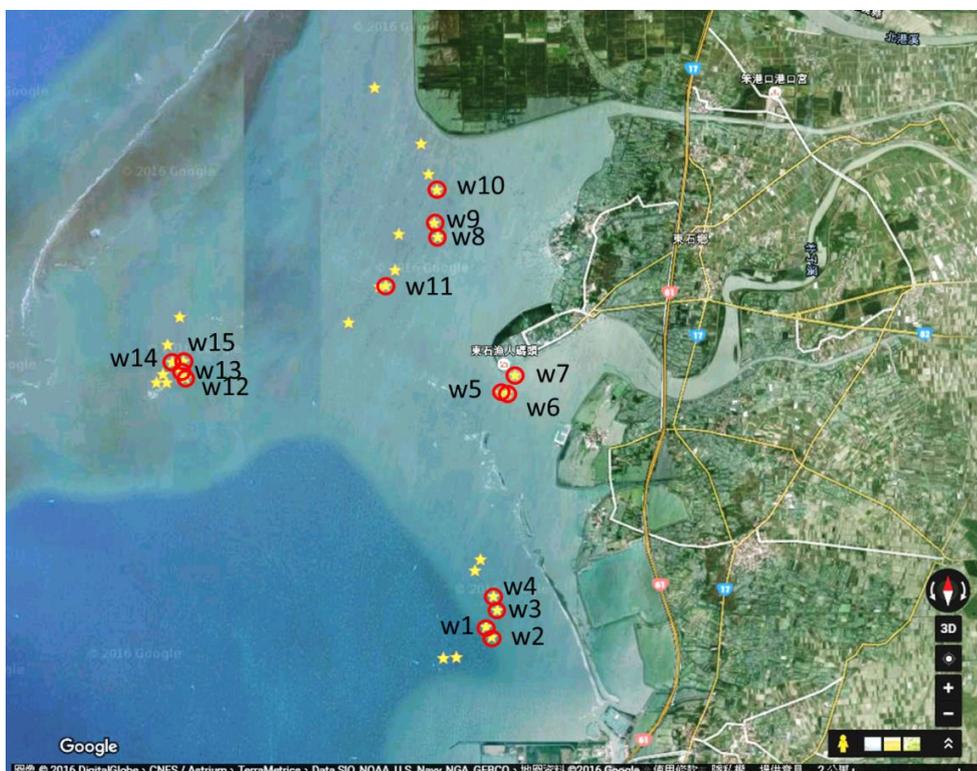


圖 2、雲林外傘頂洲至嘉義布袋間的養殖場調查位置分布圖。

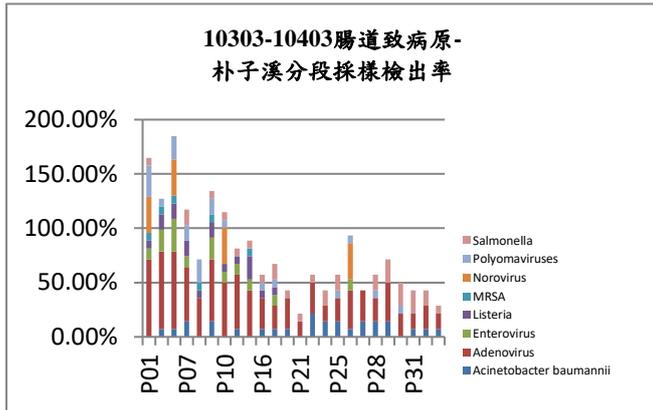
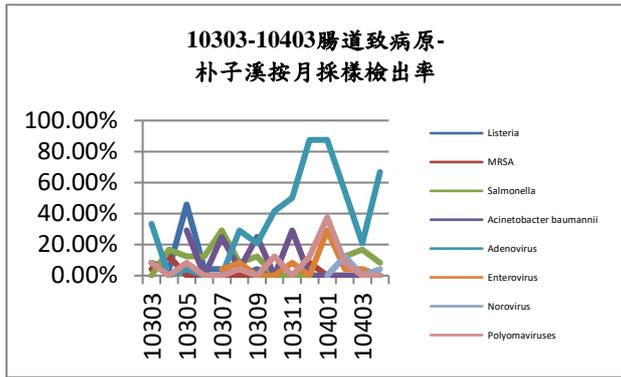


圖 3、103/3-104/04 朴子溪下游流域腸道致病菌檢測結果及糞源熱點推估。

列管事業&畜牧業&河道監控點分布

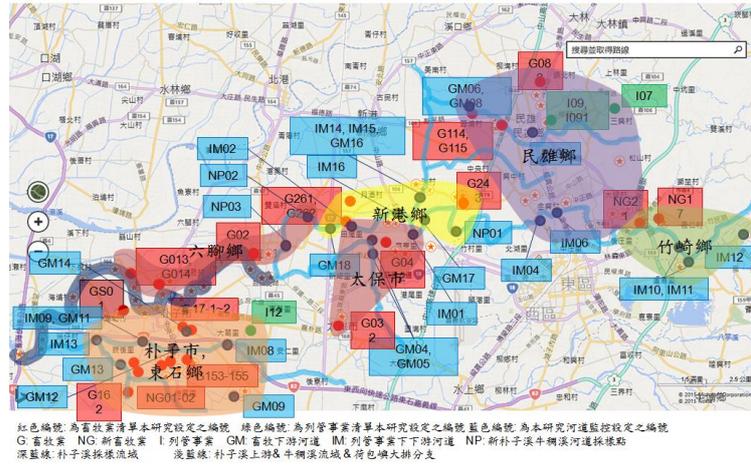


圖 4、朴子溪上游與牛稠溪河道、畜牧業、民生列管事業腸道致病菌佈點結果。

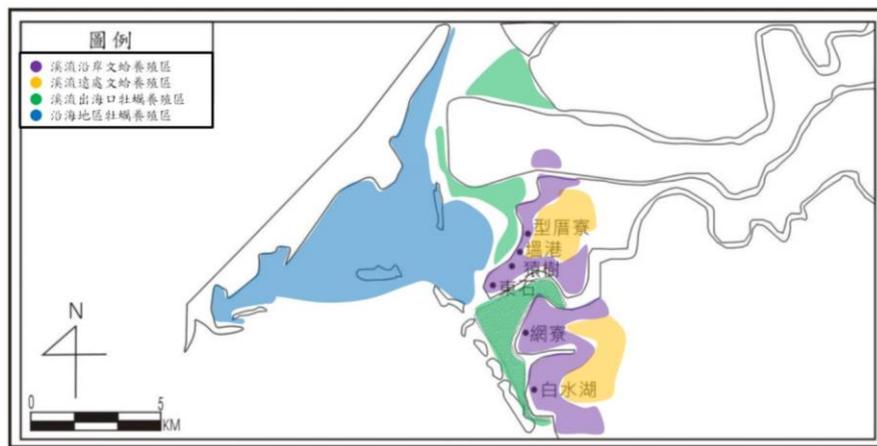


圖 5、朴子溪口與沿海貝類養殖區域分布圖。

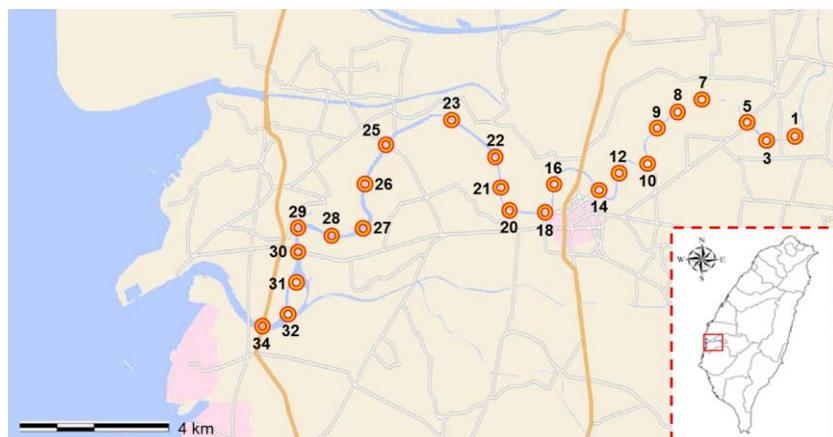


圖 6、本研究朴子溪採樣調查位置分布圖。

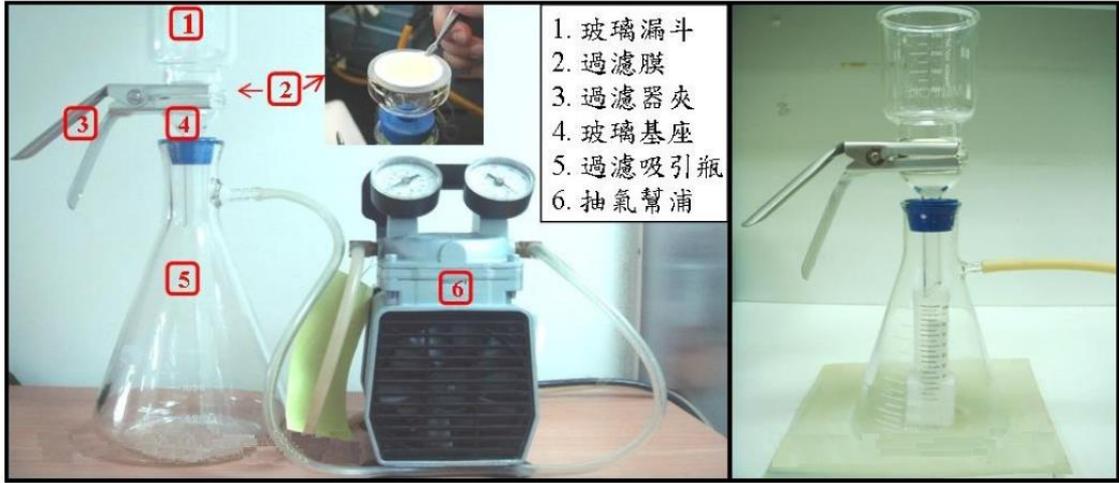


圖 7、水檢體過濾裝置

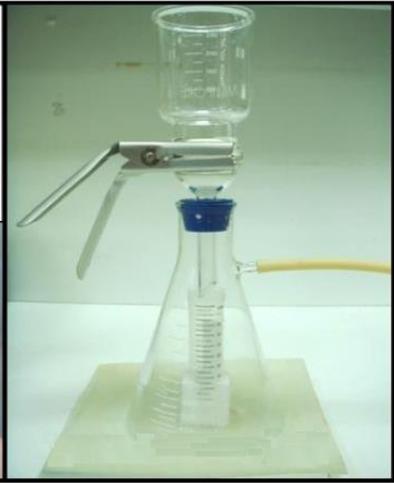


圖 8、濾液收集裝置

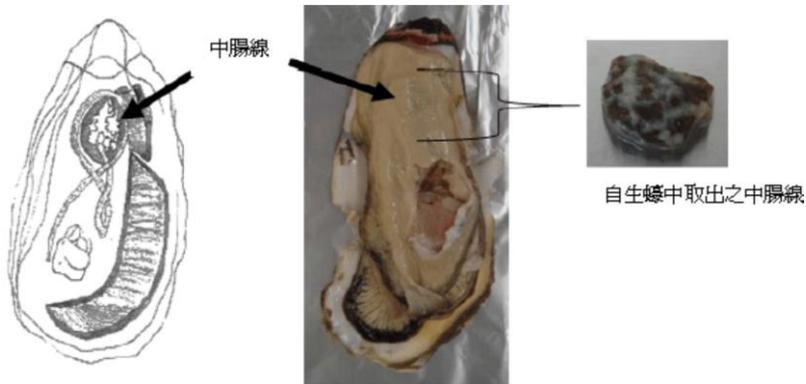


圖 9、生蠔中中腸線相對位置。

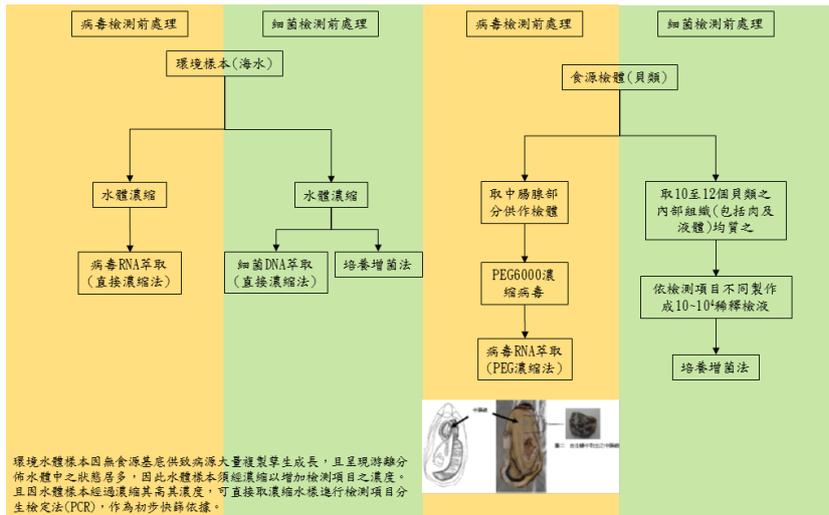


圖 10、水媒環境樣本與食媒貝類檢體之前處理流程圖。

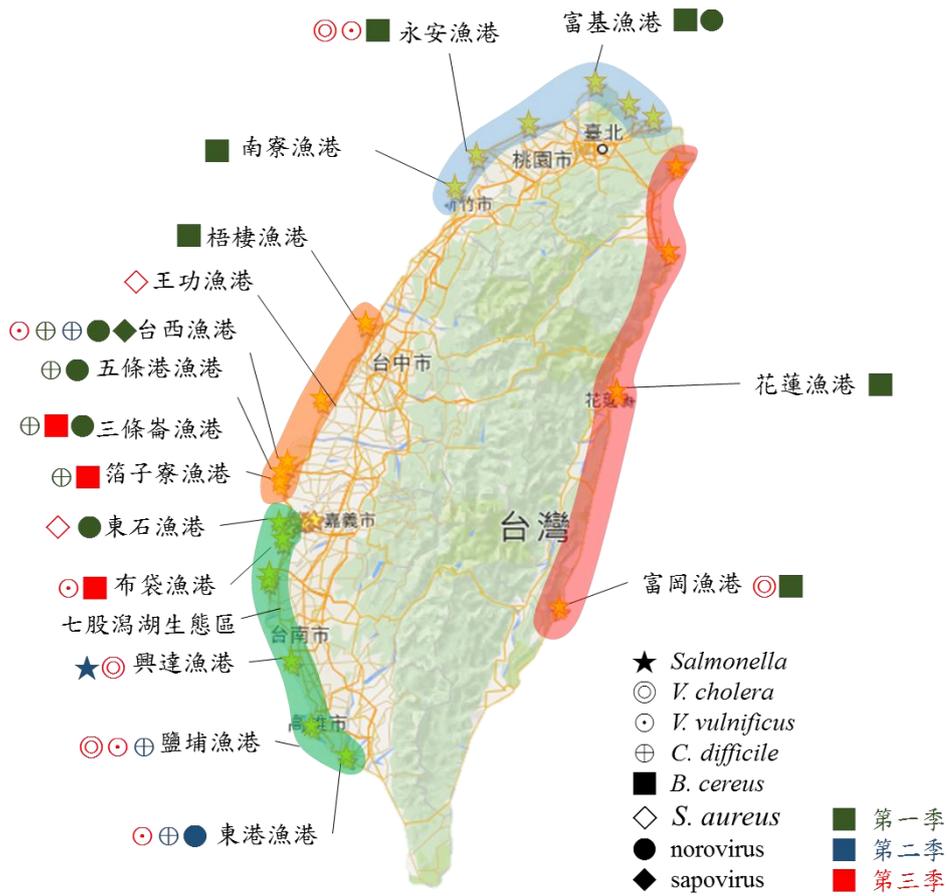


圖 11、台灣海港水體致病菌之分布。

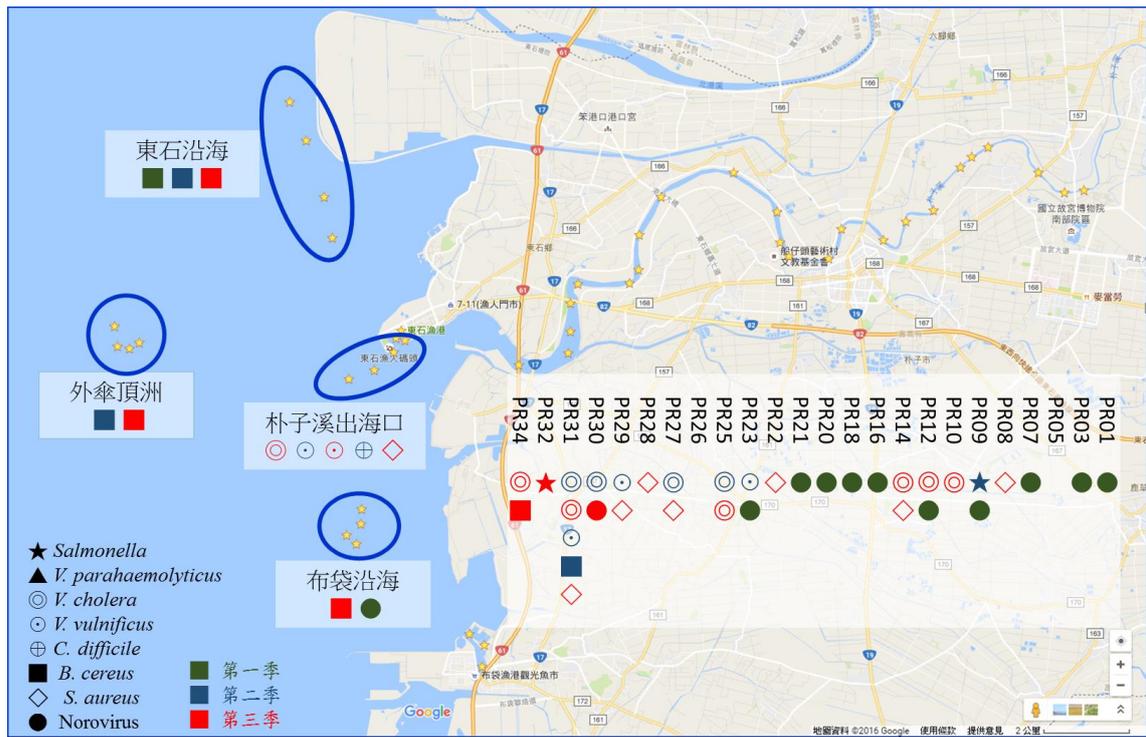


圖 12、朴子河流域及東石布袋沿海養殖區致病菌之分布。

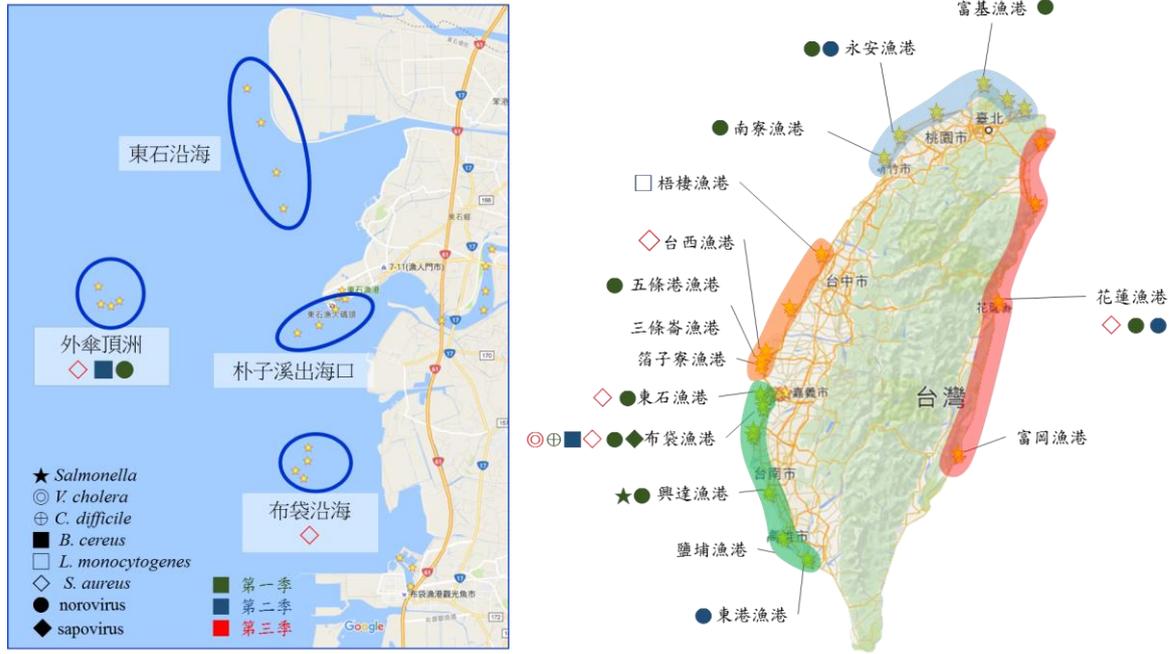


圖 13、全台貝類致病菌檢出之分布。

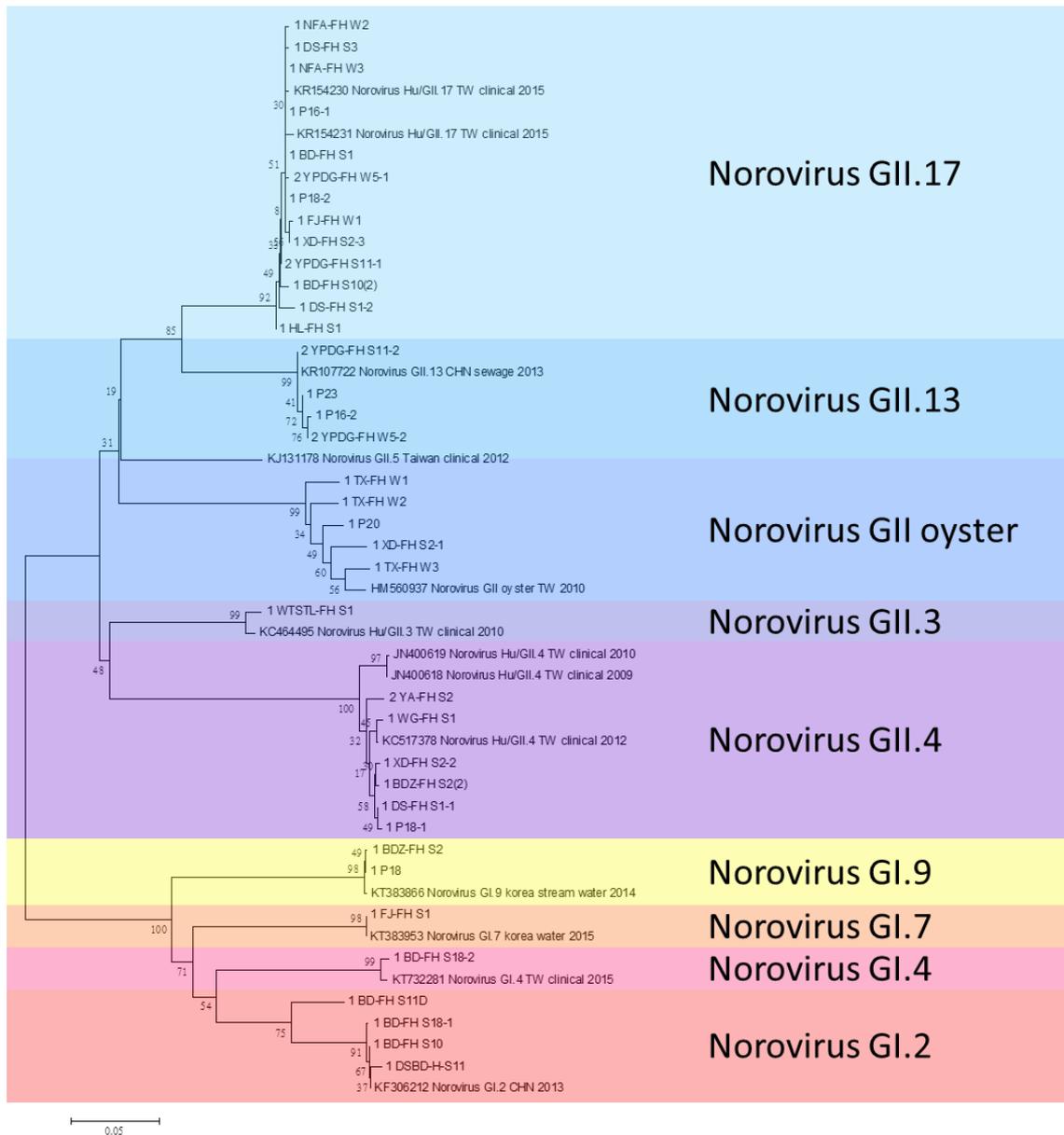


圖 14、環境及貝類存在之諾羅病毒型別與臨床菌株之親緣關係圖：W 表示水體樣本；S 表示貝類樣本；NFA 南方澳漁港；DS 東石漁港；BD 布袋漁港；YPDG 鹽埔東港；FJ 富基漁港；XD 興達漁港；HL 花蓮漁港；TX 台西漁港；WTST 五條崙及三條崙漁港；YA 永安漁港；WG 王功漁港；P 朴子溪。

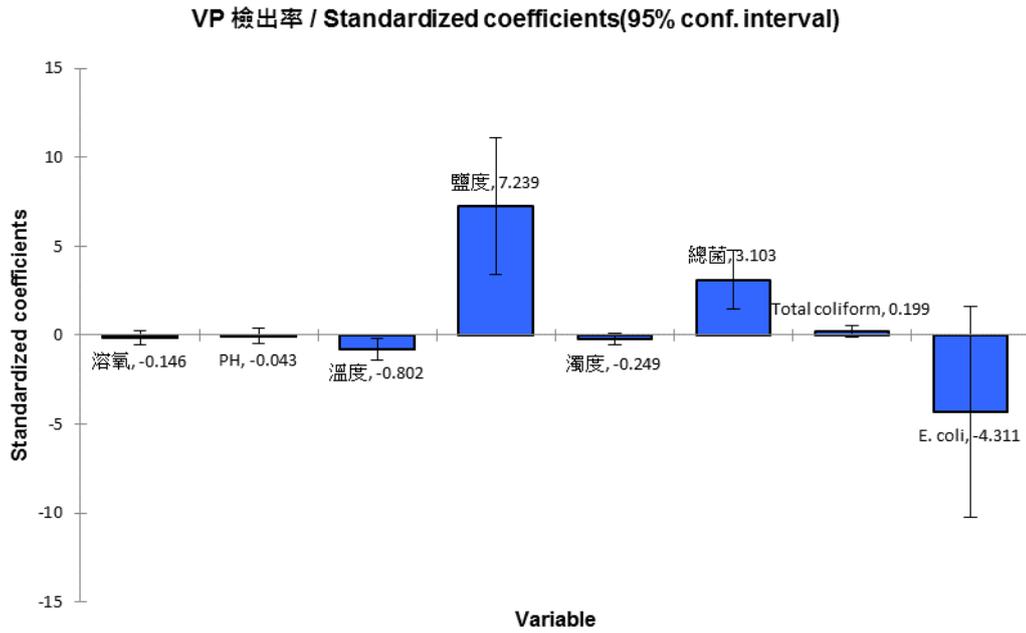


圖 15、各類水質指標對腸炎弧菌(VP)檢出之影響力。

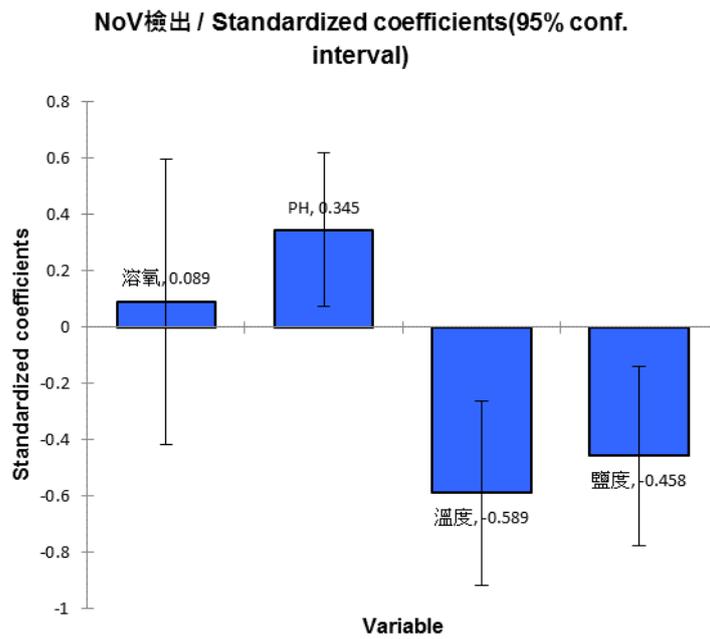


圖 16、各類水質指標對諾羅病毒(NoV)檢出之影響力。

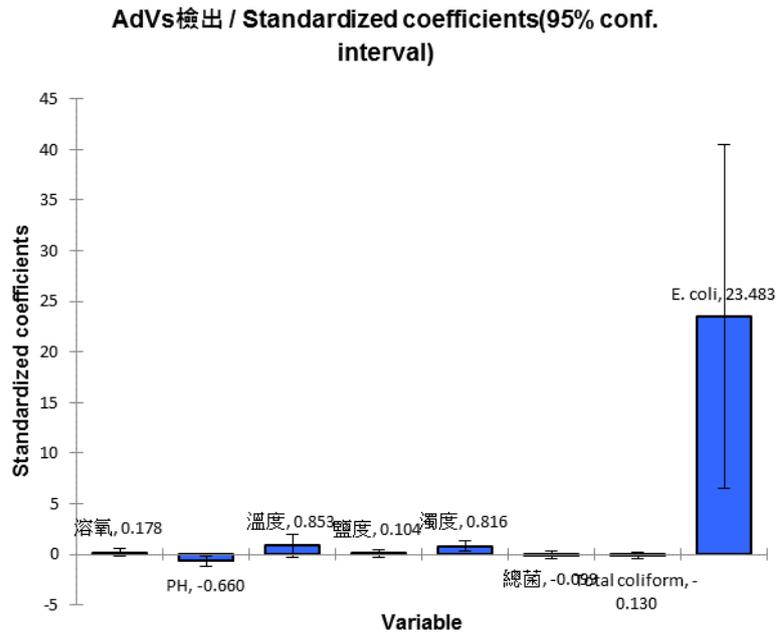


圖 17、各類水質指標對腺病毒(AdVs)檢出之影響力。

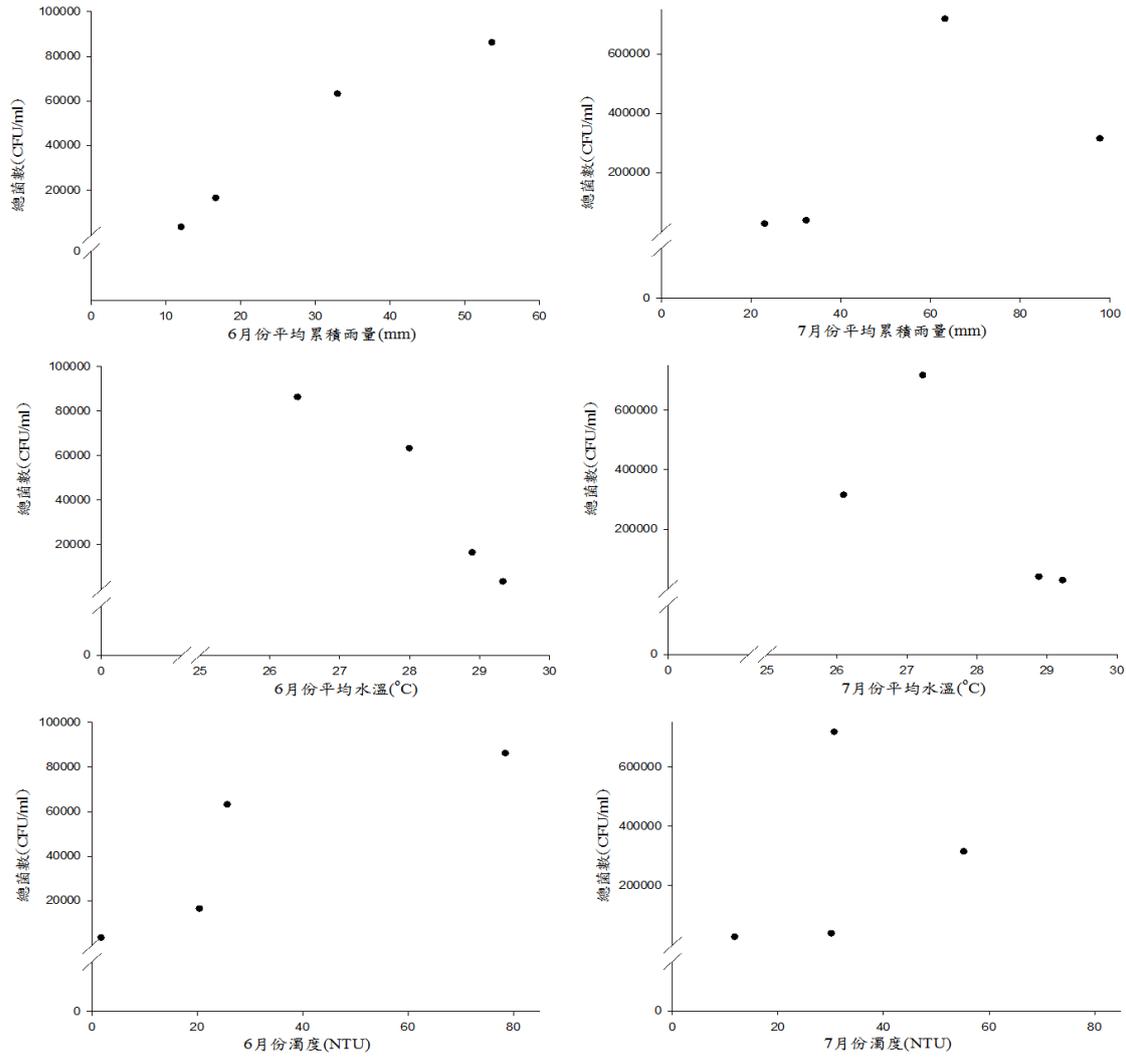


圖 18、總菌數(CFU/ml)與兩次強降雨事件期間累積平均雨量(mm)、平均水溫(°C)及濁度(NTU)之迴歸分析結果。

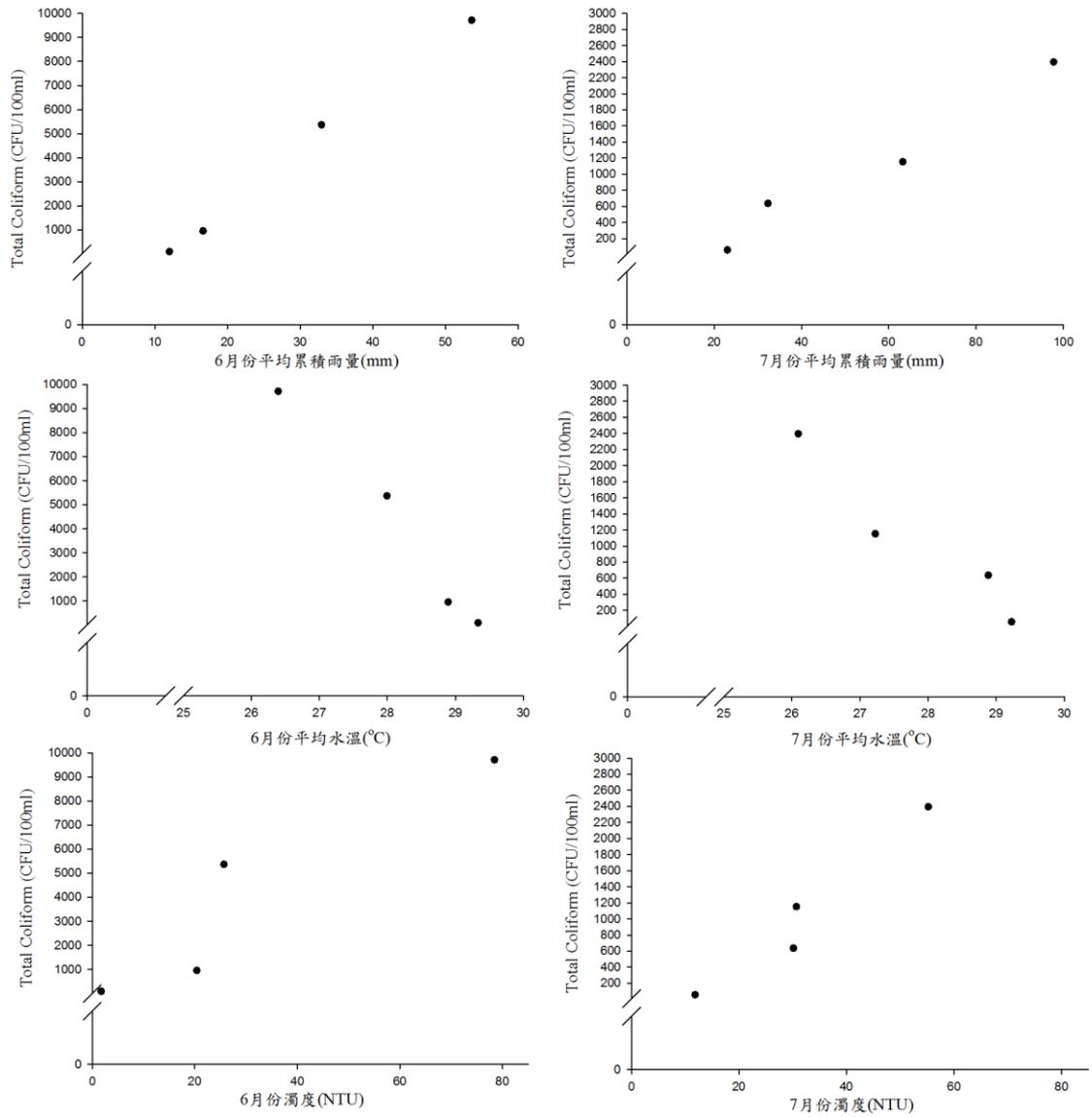


圖 19、大腸桿菌群(CFU/100ml)與兩次強降雨事件期間累積平均雨量 (mm)、平均水溫(°C)及濁度(NTU)之迴歸分析結果。

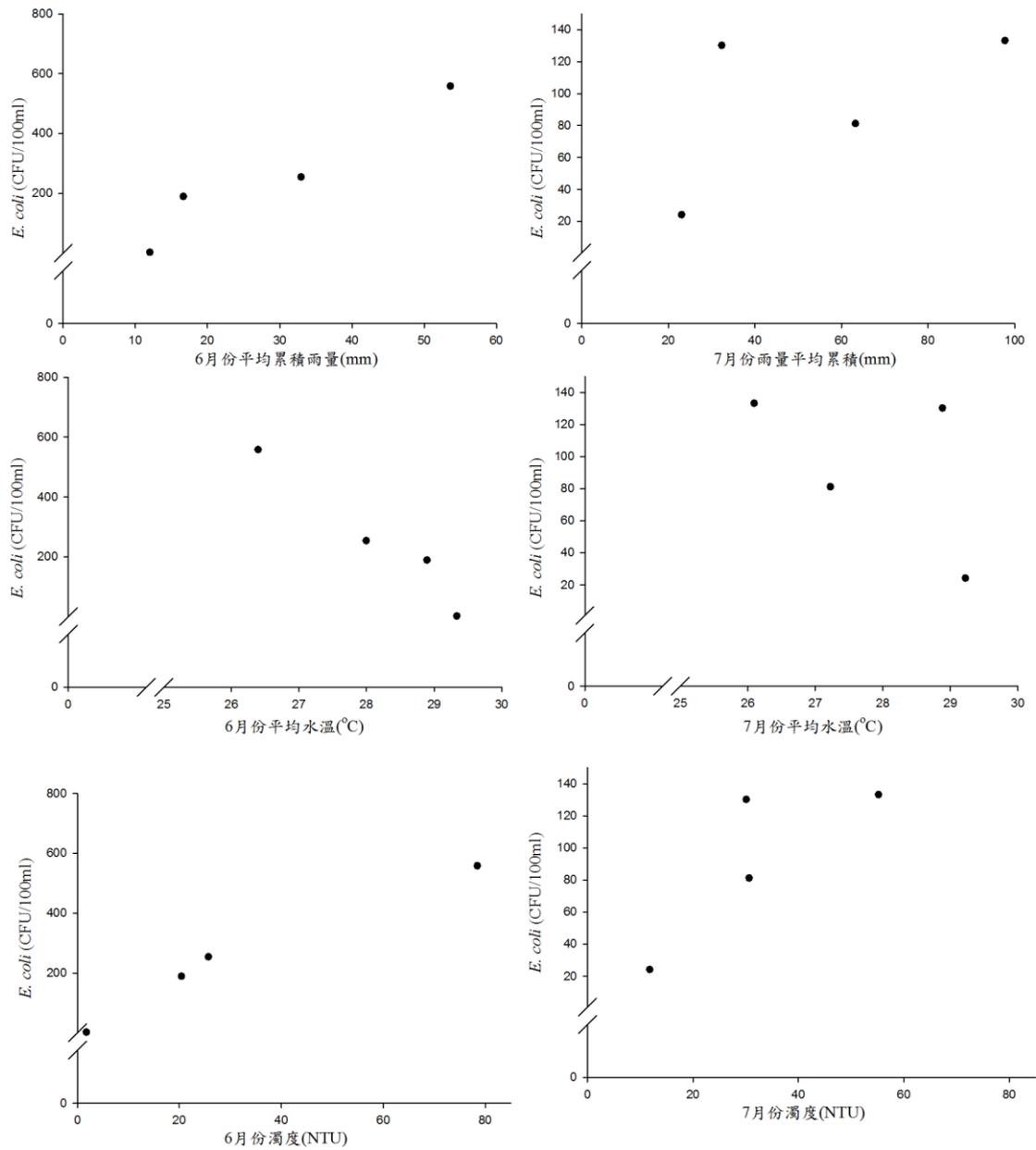


圖 20、*E. coli* (CFU/100ml)與兩次強降雨事件期間累積平均雨量(mm)、平均水溫(°C)及濁度(NTU)之迴歸分析結果。

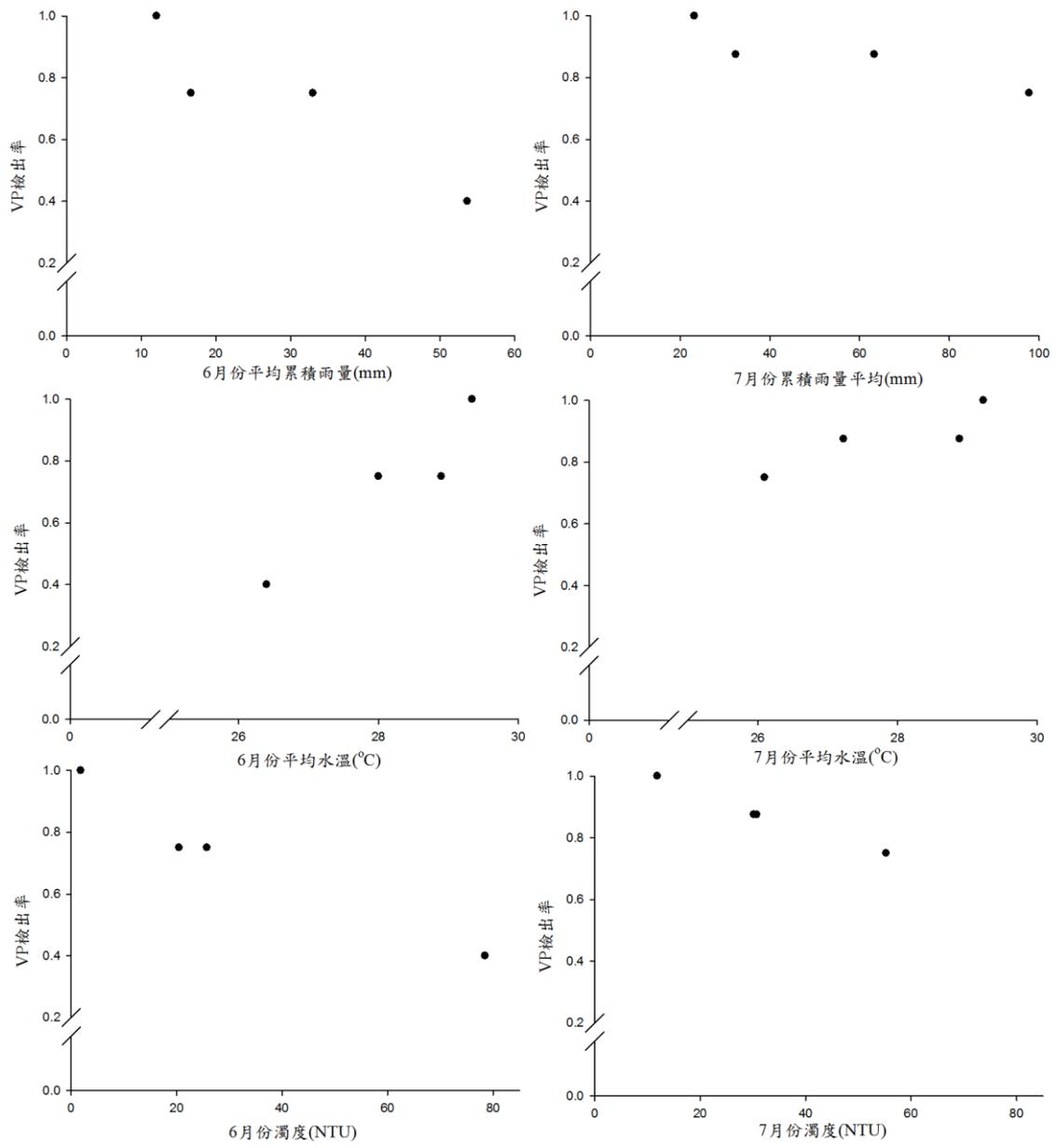


圖 21、腸炎弧菌(VP)檢出率與兩次強降雨事件期間累積平均雨量(mm)、平均水溫(°C)及濁度(NTU)之迴歸分析結果。

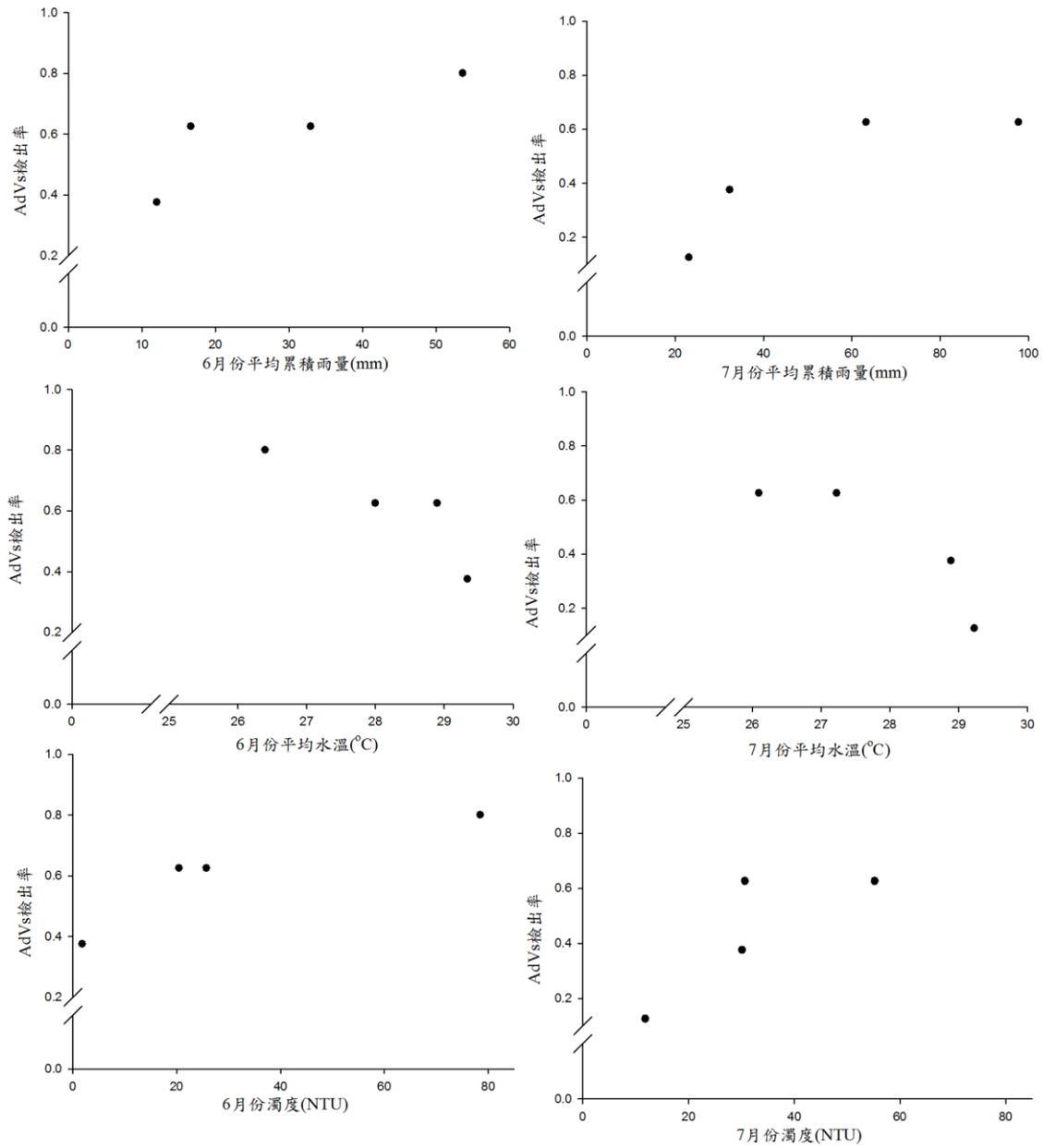


圖 22、腺病毒(AdVs)檢出率與兩次強降雨事件期間累積平均雨量(mm)、平均水溫(°C)及濁度(NTU)之迴歸分析結果。

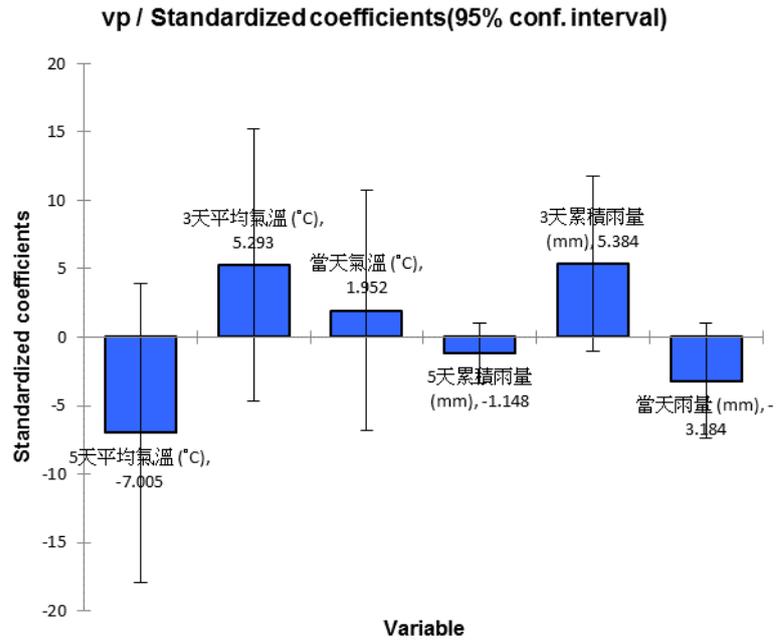


圖 23、氣候因子對腸炎弧菌(VP)檢出之影響力。

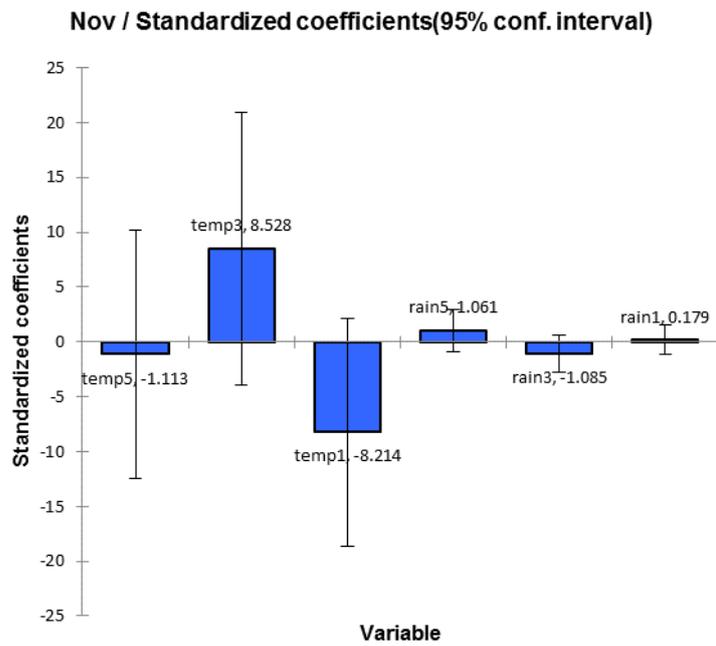


圖 24、氣候因子對諾羅病毒(NoV)檢出之影響力。

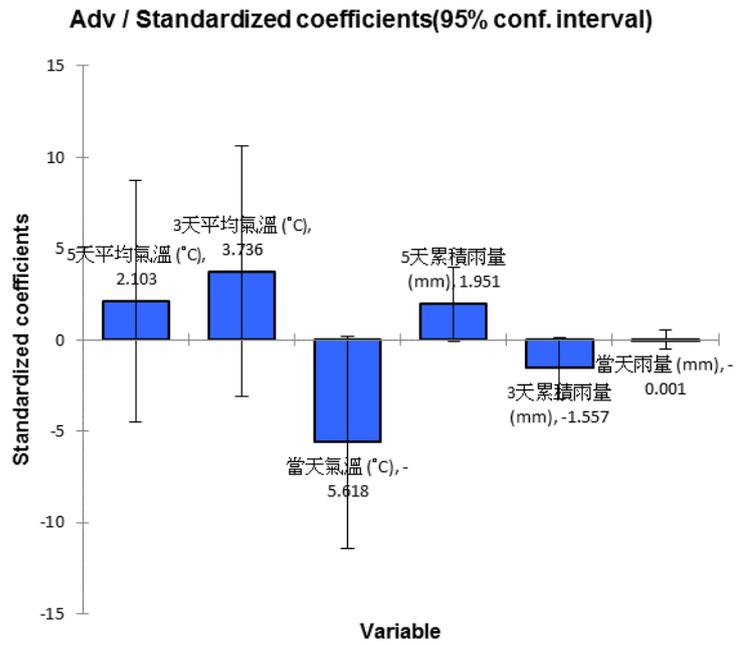


圖 25、氣候因子對腺病毒(AdVs)檢出之影響力。

表 1、102 年全台各縣市各類魚類生產量表

7-漁業生產量

7-FISHERIES PRODUCTION

單位：產量：公噸，千尾(觀賞魚)

Unit：Quantity：M.T.; 1000Pcs. by ornamental fish

(3) 縣市別魚類別生產量(續)

價值：新臺幣千元

(3) By type of district by species(Continued)

Value：Thousand NT \$

縣市別 District	魚類別 Species													
	甲 類 魚										貝 類			
	赤尾青鯧 6222		銀 姑 6300		鱸 6402		其他鱸蟹類 6499		小計 Sub Total		牡 蠣 6501		文 蛤 6502	
產量 Quantity	價值 Value	產量 Quantity	價值 Value	產量 Quantity	價值 Value	產量 Quantity	價值 Value	產量 Quantity	價值 Value	產量 Quantity	價值 Value	產量 Quantity	價值 Value	
總計 GRAND TOTAL	642	36,805	1,422	226,825	6,970	1,288,549	2,557	655,065	99,558	10,736,790	27,793	6,156,284	56,749	3,937,713
臺灣地區 TAIWAN AREA	642	36,805	1,422	226,776	6,958	1,283,824	2,557	655,065	99,368	10,701,241	27,675	6,128,836	56,741	3,936,497
新北市 NEW TAIPEI CITY	-	-	-	-	61	7,941	444	146,721	38	15,992	-	-	-	-
臺北市 TAIPEI CITY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
臺中市 TAICHUNG CITY	-	-	0	16	2	436	0	6	0	8	-	-	-	-
臺南市 TAINAN CITY	-	-	0	4	13	2,662	29	8,170	17,610	2,763,244	8,706	1,865,303	8,904	897,892
高雄市 KAOHSIUNG CITY	30	894	6	392	75	14,809	45	3,324	509	25,306	-	-	-	-
宜蘭縣 ILAN COUNTY	-	-	-	-	0	0	32	3,959	2	96	-	-	0	0
桃園縣 TAOYUAN COUNTY	-	-	-	-	-	-	0	1	1	69	-	-	-	-
新竹縣 HSINCHU COUNTY	-	-	-	-	-	-	-	-	12	265	-	-	12	265
苗栗縣 MIAOLI COUNTY	-	-	-	-	-	-	46	98,259	-	-	-	-	-	-
彰化縣 CHANGHWA COUNTY	-	-	-	-	7	1,235	35	4,117	19,321	1,400,277	2,696	539,160	7,959	485,493
南投縣 NANTOU COUNTY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
雲林縣 YUNLIN COUNTY	-	-	-	-	9	3,119	13	1,858	40,496	3,763,730	5,741	1,435,125	34,755	2,328,605
嘉義縣 CHIAYI COUNTY	-	-	2	172	43	8,493	7	1,135	14,688	2,378,795	9,572	2,153,795	5,110	224,125
屏東縣 PINGTUNG COUNTY	612	35,911	-	-	-	-	37	24,287	-	-	-	-	-	-
臺東縣 TAITUNG COUNTY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
花蓮縣 HWALIEN COUNTY	-	-	-	-	-	-	-	-	5,630	197,060	-	-	-	-
澎湖縣 PENGHU COUNTY	-	-	-	-	-	-	32	8,392	1,053	155,194	954	134,365	-	-
基隆市 KEELUNG CITY	-	-	1,414	226,192	6,747	1,245,128	1,730	335,898	-	-	-	-	-	-
新竹市 HSINCHU CITY	-	-	-	-	-	-	108	18,938	9	1,206	7	1,088	2	118
嘉義市 CHIAYI CITY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
金門地區 KINMA AREA	-	-	1	49	12	4,725	-	-	190	35,548	118	27,448	8	1,216
金門縣 KINMEN COUNTY	-	-	1	49	12	4,725	-	-	148	30,994	118	27,448	8	1,216
連江縣 LIANJIANG COUNTY	-	-	-	-	-	-	-	-	41	4,554	-	-	-	-
海外基地 OVERSEAS LANDING	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

註：1.民國99年以後觀賞魚改以高數計算，不合計產量只合計價值。
2.本表只揭露主要魚種，各魚種生產量價值之合計，將不等於總生產量價值。

1.The Ornamental fish were counted by number since 2010. Only the value was summed, but not the production.
2.Only major species are showed in this table, therefore the sum of production/value of species does not match the grand total.

表 2、食媒貝類致病菌之分離與純化流程

	<i>B. cereus</i>	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>C. difficile</i>	<i>L.</i> <i>monocytogenes</i>	Pathogenic <i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	Methicillin- resistant <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>V. cholera</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. vulnificus</i>
Pretreatment (diluted samples)	10X	10X	2, 5, 10X	10X	10-10 ⁴ X	10X	10X	10-10 ⁴ X	10-10 ³ X
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Enrichment	TSPB 30°C, 48h	CEB 30°C, 3h, 37°C, 2h ↓ 42°C, 48h 42°C, 52h(<i>C.</i> <i>fetus</i>) anaerobic condition	CDEB 37°C, 10days anaerobic condition ↓ alcohol shock 3 ml HCB + 3 ml 96% ethanol 50 min ↓ centrifugation (3,800×g 10 min)	UVMB 30°C, 24 h ↓ UVMB 37°C, 24-48 h	BHIB 37°C, 3h ↓ 5ml BHIB + 5ml TPB 44°C, 20h	UPB 37°C, 24h ↓ RVB 42°C, 24h	<i>Shigella</i> broth 44°C, 20h(<i>S.</i> <i>sonnei</i>); 42°C, 20h(<i>Shigella</i> <i>spp.</i>) anaerobic condition	TSB with 10% NaCl & 1% Sodium Pyruvate 37°C, 48h	APW 37°C, 6-15H
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Selective isolation	MYPA 30°C, 24-48h (pink with white halo)	CCDA 42°C, 2days 37°C, 2-3days(<i>C.</i> <i>fetus</i>) anaerobic condition (white)	CDCDMNHBA 37°C, 24-48 h anaerobic condition	MOXA 37°C, 24-48 h	MacConkey agar 37°C, 20 h	XLDA 37°C, 24h (red or red with black centres)	XLDA 37°C, 20h (red)	BKA 37°C, 48 h (black with halo)	TCBSA 37°C, 18-24h (<i>V. c.</i> : yellow, <i>V. p.</i> : blue to green centres <i>V. v.</i> : green (85%) or yellow (15%))
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Single colony broth	↓	↓	↓	BHIB 18-25°C, 16-18 h	↓	TSIA 37°C, 24h	TSIA 37°C, 24h	BHIB 37°C, 24 h	TSB with 2-3% NaCl 37°C, 18-24h
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Confirmation	Biochemical identification	Biochemical identification	PCR Checking	qPCR Checking & Biochemical identification	qPCR Checking & Biochemical identification	qPCR Checking & Biochemical identification	qPCR Checking & Biochemical identification	Biochemical identification	PCR & qPCR Checking & Biochemical identification
Reference	署授食字第 1011902826 號	署授食字第 0939306569 號	Pasquale <i>et al.</i> , 2011	部授食字第 1021951354號	部授食字第 1031901801 號	部授食字第 1021951187號	部授食字第 1041900638號	署授食字第 0981800188號	署授食字第 1021900644號, 部授食字第 1021950329號

APW: Alkaline Peptone Water

BHIB: Brain-Heart Infusion Broth

BKA: Baird-Parker Agar

CCDA: Charcoal Cefoperazone Deoxycholate modified Agar

CDCDMNHBA: *C. difficile* with CDMN selective supplement 5% Horse Blood Agar

CDEB: *C. difficile* Enrichment Broth

CEB: *Campylobacter* Enrichment Broth

HCB: Homogenized Culture Broth

MOXA: Modified Oxford Agar

MYPA: Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar

TCBSA: Thiosulfate-Citrate-Bile salts-Sucrose Agar

TSIA: Triple Sugar Iron Agar

TPB: Tryptose Phosphate Broth

TSB: Trypticase Soy Broth

TSIA: Triple Sugar Iron Agar

TSPB: trypticase Soy Polymyxin Broth

UPB: Universal Preenrichment Broth

UVMB: UVM Broth

XLDA: Xylose Lysine Deoxycholate Agar

表 3、水媒環境樣本致病菌之分離與純化流程

	<i>B. cereus</i>	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>C. difficile</i>	<i>L. monocytogenes</i>	Pathogenic <i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>V. cholera</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. vulnificus</i>
Filtration (Sample volume, filter membrane)	1 L, 0.45 mm GN6	1 L, 0.45 mm GN6	1 L, 0.45 mm GN6	1 L, 0.45 mm GN6	100 mL, 0.45 mm GN6	200 mL, 0.45 mm GN6	100 mL, 0.45 mm GN6	1 L, 0.45 mm GN6	1 L, 0.45 mm GN6
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Enrichment	TSPB 37°C, 24h	Bolton's broth 42°C, 24h, anaerobic condition	CCFB 37°C, 48h anaerobic condition	1/2 Fraser broth 30°C, 16 h ↓ 1/2 Fraser broth 37°C, 16 h	MacConkey broth 37°C, 24h ↓ BHIB 37°C, 3h ↓ 5ml BHIB + 5ml TPB 44°C, 20h	BPWB 37°C, 24h ↓ RVB 42°C, 24h (BPWB : RVB = 1:9)	BPWB 37°C, 16h ↓ <i>Shigella</i> broth 37°C, 24h	TSB with 6.5% NaCl 37°C, 16h	APW 37°C, 24h
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
1st Selective isolation	CHROMagar™ <i>B. cereus</i> 30°C, 18-24h (blue with white halo)	CCDA 42°C, 2days anaerobic condition (white)	CHROMagar™ <i>C. difficile</i> 37°C, 24 h (colourless & fluorescent under UV light at 365 nm) anaerobic condition	CHROMagar™ <i>Listeria</i> 37°C, 24 h (blue with white halo)	CHROMagar™ STEC 37°C, 24h	CHROMagar™ <i>Salmonella</i> 37°C, 24h (mauve)	XLDA 37°C, 24h (red)	CHROMagar™ MRSA 37°C, 24h (rose to mauve)	CHROMagar™ <i>Vibrio</i> 37°C, 24h (<i>V. c.</i> : green blue to turquoise blue, <i>V. p.</i> : mauve, <i>V. v.</i> : green blue to turquoise blue)
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
1st Single colony broth	TSPB 37°C, 24h	Bolton's broth 42°C, 24h, anaerobic condition	CCFB 37°C, 24-48h anaerobic condition	1/2 Fraser broth 37°C, 24 h	BHIB 37°C, 24 h	BHIB 37°C, 24 h	<i>Shigella</i> broth 37°C, 24h	BHIB 37°C, 16 h	APW 37°C, 24h
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
2nd Selective Isolation	MYPA 30°C, 24-48h (pink with white halo)	CCDA 42°C, 2days anaerobic condition (white)	CCFA 37°C, 24-48h anaerobic condition	PALCAM agar 37°C, 24 h (gray / green)	MacConkey agar 37°C, 24 h	XLDA 37°C, 24h (red or red with black centres)	SSA 37°C, 24h (straw)	BKA 37°C, 48 h (black with halo)	TCBSA 37°C, 24h (<i>V. c.</i> : yellow, <i>V. p.</i> : blue to green centres <i>V. v.</i> : green (85%) or yellow (15%))
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
2nd Single colony broth	TSPB 37°C, 24h	Bolton's broth 42°C, 24h, anaerobic condition	CCFB 37°C, 24-48h	BHIB 37°C, 24 h	BHIB 37°C, 24 h	BHIB 37°C, 24 h	<i>Shigella</i> broth 37°C, 24h	BHIB 37°C, 24 h	APW 37°C, 24h
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Confirmation	PCR Checking	PCR Checking	PCR Checking	PCR Checking	PCR Checking	PCR Checking	PCR Checking	PCR Checking	PCR Checking

APW: Alkaline Peptone Water

BHIB: Brain-Heart Infusion Broth

BKA: Baird-Parker Agar

BPWB: Buffered Peptone Water Broth

CCDA: Charcoal Cefoperazone Deoxycholate modified Agar

CCFB: Cycloserine-Cefoxitin Fructose Broth

CCFA: Cycloserine-Cefoxitin Fructose Agar

MYPA: Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar

PALCAM agar: Polymyxin-Acriflavin-Lithium Chloride-Ceftazidime-Aesculin-Mannitol Agar

RVB: Rappaport Vassiliadis Broth

SSA: *Salmonella Shigella* Agar

TCBSA: Thiosulfate-Citrate-Bile salts-Sucrose

Agar

TPB: Tryptose Phosphate Broth

TSB: Trypticase Soy Broth

TSPB: Trypticase Soy Polymyxin Broth

XLDA: Xylose Lysine Deoxychola Agar

表 4、水媒環境樣本致病菌之分生檢測-引子資訊、作用配方、反應條件

Target gene	Size	Sequence (5' to 3')	Reaction Materials Final Volume: 25 µl	PCR Condition	Reference	
<i>B. cereus</i> <i>cyt K</i> <i>nhe A</i> <i>hbl A</i> <i>pag</i> <i>cry I A</i>	482, 553, 164, 1419, 413	cyt K F GGCCTAGTGCAACATTACG cyt K R TCATACCAGGAGAGAAACCGC nhe A F AAGGCGAATGTACGAGAGTGG nhe A R CTTCTCTCGTTTGACTACTGCGAG hbl F TTACCTGGTGAATCGTACAAGATC hbl R CCTGTATTAATCGCTTACCATTG pag F CAGGAGAACCGGTTATTAATG pag R GTTCGAGCCTGTATCCAC cry F AAGATGGGCACGCAAGACTAG cry R GTCCAGCAGGATAAGCCATT	DNA: Primer: 200 nM <i>cytK</i> FR, 400 nM <i>nheA</i> FR, 300 nM <i>hblA</i> FR, 200 nM <i>pag</i> , 300 nM <i>cry</i> FR, Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 94°C 5 min Denaturation: 94°C 60s Annealing: 57°C 60s Extension: 72°C 90s D.A.E. Cycles: 30 cycles Final extension: 72°C 6 min	Kalyan Kumar <i>et al.</i> , 2010	
<i>Campylobacter</i> spp.	16S rRNA	816	C412F: 5'-GAATGACACTTTTCGGAGC-3' C1228R: 5'-CATTGTAGCACGCTGTGTC-3'	DNA: 100-300 ng Primer: 400 nM Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 95°C 5 min Denaturation: 95°C 30s Annealing: 58°C 90s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 25 cycles Final extension: 72°C 7 min	Linton <i>et al.</i> , 1996
<i>C. difficile</i>	<i>tcdA</i> <i>tcdB</i> <i>cdtA</i> <i>cdtB</i>	632, 441, 260, 179	<i>tcdA</i> -F 5'-GTATGGATAGGTGGAGAAGTCAAGT-3' <i>tcdA</i> -R 5'-CGGTCTAGTCCAATAGAGTAGGTC-3' <i>tcdB</i> -F 5'-GAAGATTAGGAAATGAGAAGGTGA-3' <i>tcdB</i> -R 5'-AACCACATATTAACCTGCTGTGCC-3' <i>cdtA</i> -F 5'-ATGCACAAGACTTACAAGCTATAGTG-3' <i>cdtA</i> -R 5'-CGAGAATTTGCTTCTATTGATAATC-3' <i>cdtB</i> -F 5'-ATTGGCAATAATCTATCTCCGGA-3' <i>cdtB</i> -R CCAAATTTCCACTTACTTGTGTTG	DNA: 100 ng Primer: 25 nM <i>tcdA</i> FR, 10 nM <i>tcdB</i> FR, 200 nM, <i>cdtA</i> FR 500 nM, <i>cdtB</i> FR Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 93°C 2 min Denaturation: 93°C 20s Annealing: 60°C 65s Extension: 68°C 70s D.A.E. Cycles: 30 cycles Final extension: 68°C 5 min	Chankhamhaengdech <i>et al.</i> , 2013
<i>L. monocytogenes</i>	<i>prs</i>	370	<i>prs</i> -F: 5'-GCTGAAGAGATTGCGAAAGAG-3' <i>prs</i> -R: 5'-CAAAGAAACCTTGGATTTCGGG-3'	DNA: 150 ng Primer: 400 nM Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 95°C 5 min Denaturation: 95°C 30s Annealing: 60°C 30s Extension: 72°C 30s D.A.E. Cycles: 35 cycles Final extension: 72°C 5 min	Ryu <i>et al.</i> , 2013
<i>L. monocytogenes</i>	<i>lisA</i>	440	LM40-F: 5'- CCTTCCTTCCTCCCTCCATCATCGACGGCAACCTCGGAGAC-3' LM40-R: 5'- CCTTCCTTCCTCCCTCCACCACTCCCAAGCTAAACCAGTGC-3' UP: CCTTCCTTCCTCCCTCC-3'	DNA: 0.05-500 pg Primer: 100 nM FR, 300 nM UP Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 94°C 5 min Denaturation: 94°C 30s Annealing: 60°C 30s Extension: 72°C 50s D.A.E. Cycles: 35 cycles Final extension: 72°C 10 min	Yuan <i>et al.</i> , 2009
Pathogenic E. coli: ETEC EPEC EHEC	<i>LT</i> <i>eaeA</i> <i>stx1</i>	253, 384, 418	LT-S: 5'-TTTGTGATATGATGACGGGA-3' LT-A: 5'-ATTCCAGTCGATGCCAATACGGTTG-3' eaeAF: 5'-GACCCGGCACAAAGCATAAGC-3' eaeAR: 5'-CCACCTGCAGCAACAAGACC-3' Stx1 598: 5'-TTCCGGAATGCAAAATCAGTC-3' Stx1 1015: 5'-CCGGACACATAGAAGGAAACTCAT-3'	DNA: 100 ng Primer: 400 nM Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 95°C 5 min Denaturation: 95°C 30s Annealing: 58°C 40s Extension: 72°C 40s D.A.E. Cycles: 40 cycles Final extension: 72°C 7 min	Yong <i>et al.</i> , 2008 Karch <i>et al.</i> , 1992
<i>Salmonella</i>	<i>invA</i>	244	<i>invA</i> 1: 5'-ACAGTGCTCGTTTACGACCTGAAT-3' <i>invA</i> 2: 5'-AGACGACTGGTACTGATCGATAAT-3'	DNA: 100-300 ng Primer: 400 nM Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 95°C 10 min Denaturation: 95°C 45s Annealing: 56°C 45s Extension: 72°C 45s D.A.E. Cycles: 40 cycles Final extension: 72°C 10 min	
<i>Shigella</i>	<i>ipaH</i>	422	<i>ipaH</i> -F: 5'-TGGAAAAACTCAGTGCCCTCT-3' <i>ipaH</i> -R: 5'-CCAGTCCGTAATTCATTCT-3'	DNA: 100-300ng Primer: 500 nM Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 93°C 3 min Denaturation: 94°C 30s Annealing: 55°C 30s Extension: 72°C 20s D.A.E. Cycles: 35 cycles Final extension: 72°C 4 min	Luscher <i>et al.</i> , 1994
<i>Shigella</i>	<i>ial</i>	320, 217	<i>ail</i> -1: 5'-CTGGATGGTATGGTGAGG-3' <i>ail</i> -2: 5'-GGAGGCCAACAATATTTC-3' <i>ail</i> -3: 5'-TTTTTAATTAAGAGTGGGGTTTGA-3' <i>ail</i> -4: 5'-GAACCTATGCTACCTTACCAGAAAGT-3'	DNA: 100-300ng Primer: 500 nM Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 94°C 5 min Denaturation: 94°C 30s Annealing: 60°C 60s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 30 cycles Final extension: 72°C 10 min	Lindqvist 1999
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>nuc</i> <i>mecA</i>	270 448	<i>nuc</i> -F 5'-GCGATTGATGGTGATACGGTT-3' <i>nuc</i> -R 5'-AGCCAAGCCTTGACGAATAAGC-3' <i>mecA</i> -F 5'-CTCAGGTAAGTATCCACC-3' <i>mecA</i> -R 5'-CACTTGGTATATCTTACC-3'	DNA: 100-300 ng Primer: 400 nM <i>nuc</i> FR & <i>mecA</i> FR Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 95°C 5 min Denaturation: 94°C 60s Annealing: 55°C 60s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 30 cycles Final extension: 72°C 10 min	Brakstad <i>et al.</i> , 1992 Sakoulas <i>et al.</i> , 2001
<i>V. cholera</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. vulnificus</i>	<i>ompW</i> collagenase <i>vvhA</i>	427, 271, 205	VCompWF: 5'-CACCAAGAAGGTGACTTTATTGTG-3' VCompWR: 5'-CGTTAGCAGCAAGTCCCAT-3' VPC-F: 5'-CCTAGTGGCGGTGATCAGTGTG-3' VPC-R: 5'-GAAAGTTGAACATCATCAGCACGA-3' VVhA-F: 5'-TTCCAACCTCAACCGAATATGA-3' VVhA-R: 5'-ATTCCAGTCGATGCCAATACGTTG-3'	DNA: 100 ng Primer: 400 nM VCompWFR, 200 nM VPC FR 100 nM VVhA FR Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 94°C 1 min Denaturation: 94°C 30s Annealing: 59°C 90s Extension: 72°C 90s D.A.E. Cycles: 35 cycles Final extension: 72°C 10 min	Wei <i>et al.</i> , 2014 Nandi <i>et al.</i> , 2000 Di Pinto <i>et al.</i> , 2005 Panicker <i>et al.</i> , 2004
<i>V. cholera</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. vulnificus</i>	<i>ctx</i> <i>tdh</i> <i>vvhA</i>	167, 256, 505	<i>ctx</i> -F2: 5'-CAGTCAGGTGGTCTTATGCCAAGAGG-3' <i>ctx</i> -R2: 5'-CCCACTAAGTGGGCACCTTCTCAAAC-3' <i>tdh</i> -F: 5'-GTAAAGTCTCTGACTTTTGGAC-3' <i>tdh</i> -R: 5'-TGGAAATAGAACCCTCATCTCAC-3' FDAvvhA-F: 5'-CCGCGGTACAGGTTGGCGCA-3' FDAvvhA-R: 5'-CGCCACCACCTTTCCGGCC-3'	DNA: 200ng Primer: 300 nM <i>tdh</i> FR, 75 nM <i>ctx</i> FR, 300 nM FDAVvhA FR Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 94°C 3 min Denaturation: 94°C 60s Annealing: 60°C 60s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 30 cycles Final extension: 72°C 10 min	Wong <i>et al.</i> , 2010

表 5、食媒貝類致病菌之分生檢測-引子資訊、作用配方、反應條件

Target gene	Size	Sequence (5' to 3')	Reaction Materials Final Volume: 25 µl	PCR Condition	Reference
<i>L. monocytogenes</i>	<i>iap</i>	163 Lm835F: 5'-AACTGGTTTCGTAAACGGTAAATACTTA-3' Lm998R: 5'-TAGGCGCAGGTGTAGTTGCT-3' Lm918P: 5'-FAM-CTACTACTCAACAAGCTGCACCTGCTGC-BHQ-3'	DNA: 100 ng Primer: 400 nM FR, 200 nM P Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 95°C 20s Denaturation: 95°C 5s Annealing: 60°C 30s D.A. Cycles: 45 cycles	部授食字第 1021951354號
Pathogenic E. coli: EHEC EPEC EIEC	<i>stx1</i> <i>stx2</i> <i>sth</i> <i>stp</i> <i>ith, itp</i> <i>bfpA</i> <i>invE</i>	348, 584, 166, 186, 132, 326, 382 EHEC <i>stx1</i> LP30: 5'-CAGTTAATGTGGTGGCGAAGG-3' LP31: 5'-CACCAGACAATGTAACCGCTG-3' <i>stx2</i> LP43: 5'-ATCCTATTCGGGGAGTTTACG-3' LP44: 5'-GCGTCATCGTATACACAGGAGC-3' EPEC <i>sth</i> ST1b 1: 5'-CCCTCAGGATGCTAAACCAG-3' ST1b 2: 5'-TTAATAGCACCCGGTACAAGC-3' <i>stp</i> ST1a 1: 5'-TCTGTATTATCTTTCCCTC-3' ST1a 2: 5'-ATAACATCCAGCACAGGC-3' <i>ith, itp</i> LT-1: 5'-AGCAGGTTTCCCACGGATCACCA-3' LT-2: 5'-GTGCTCAGATTCTGGGTCTC-3' EIEC <i>bfpA</i> EP1: 5'-AATGGTCTTGGCGTTGCTGC-3' EP2: 5'-GCCGCTTTATCCAACCTGGTA-3' EIEC <i>invE</i> I-1: 5'-ATATCTCTATTTCGAATCGCGT-3' I-5: 5'-GATGGCGAGAAATTATATCCCG-3'	DNA: 100-300 ng Primer: 400 nM Master mix: 5 µl	EPEC, EIEC Pre-denaturation: 95°C 3 min Denaturation: 94°C 60s Annealing: 55°C 60s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 35 cycles Final extension: 72°C 5 min EHEC, EPEC Pre-denaturation: 95°C 3 min Denaturation: 94°C 60s Annealing: 56°C 60s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 35 cycles Final extension: 72°C 5 min	部授食字第 1031901801號
<i>Salmonella</i>	<i>invA</i>	116 qinvA-F: 5'-CAACGTTTTCGTGCGGTAAGT-3' qinvA-R: 5'-CCCGAACGTGGCGGATAAT-3' qinvA-P: 5'-(FAM)-CTCTTTCTGCTGGCATTATCGATCAGTACCA-(BHQ1)-3'	DNA: 100 ng Primer: 400 nM FR, 200 nM P Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 95°C 20s Denaturation: 95°C 15s Annealing: 60°C 30s D.A. Cycles: 40 cycles	部授食字第 1021951187號
<i>Shigella</i>	<i>ipaH</i> <i>lacY</i>	181, 102 qipaH-F: 5'-ACCATGCTCGCAGAGAAACT-3' qipaH-R: 5'-TACGCTTCAGTACAGCATGC-3' qipaH-P: 5'-(FAM)-TGCGGTGTCGGGAGTGACAGC-(BHQ1)-3' qlacY-F: 5'-CTGGCACTATTATGTCTGTA-3' qlacY-R: 5'-GGAACGGTACTTCAAACA-3' qlacY-P: 5'-(FAM)-CTCATCGTTCGCCACCTCAGC-(BHQ1)-3'	DNA: 100 ng Primer: 200 nM FR, 200 nM P Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 95°C 20s Denaturation: 95°C 3s Annealing: 60°C 30s D.A. Cycles: 40 cycles	部授食字第 1041900638號
<i>V. cholera</i>	<i>ompW</i> <i>ctx</i>	588, 399 qompWF: 5'-CACCAAGAAGGTGACTTTATTGTG-3' qompWR: 5'-GAACCTATAACCACCCGCG-3' qompWP: 5'-(FAM)-TACTGACAACATCAGTTTGAAGTCTCGCTCGT-(BHQ1)-3' qctx-F: 5'-CGTAATAGGGGCTACAGAGATA-3' qctx-R: 5'-GGTATTCTGCACACAAATCAG-3' qctx-P: 5'-(FAM)-CAGCAGCAGATGGTTATGGATTGGCAGGT-(BHQ1)-3'	DNA: 100 ng Primer: 400 nM FR, 200 nM P Master mix: 5 µl	<i>ompW</i> : Pre-denaturation: 95°C 20s Denaturation: 95°C 5s Annealing: 65°C 45s D.A. Cycles: 45 cycles <i>ctx</i> : Pre-denaturation: 95°C 20s Denaturation: 95°C 5s Annealing: 60°C 30s D.A. Cycles: 45 cycles	署授食字第 1021900644號
<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>tlh</i> <i>tdh</i> <i>trh</i>	450, 270, 500 L-TL: 5'-AAAGCGGATTATGCAGAAGCACTG-3' R-TL: 5'-GCTACTTTCTAGCATTTTCTCTGC-3' VPTDH-L: 5'-GTAAGGTCTCTGACTTTTGGAC-3' VPTDH-R: 5'-TGGAAATAGAACCTTCATCTTACC-3' VPTRH-L: 5'-TTGGCTTCGATATTTTCAGTATCT-3' VPTRH-R: 5'-CATAACAACATATGCCCATTTCC G-3'	DNA: 100-300 ng Primer: 500 nM Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 94°C 5 min Denaturation: 94°C 60s Annealing: 60°C 60s Extension: 72°C 120s D.A.E. Cycles: 35 cycles Final extension: 72°C 3 min	部授食字第 1021950329號
<i>V. vulnificus</i>	<i>vvhA</i>	205 VvhA-F: 5'-TTCCAACTTCAAACCGAAGTATGA-3' VvhA-R: 5'-ATTCCAGTCGATGCCAATACGTTG-3' SYBR Green	DNA: 100 ng Primer: 240 nM Master mix: 5 µl	Pre-denaturation: 94°C 2 min Denaturation: 94°C 15s Annealing: 56°C 15s Extension: 72°C 25s D.A.E. Cycles: 45 cycles	Panicker et al., 2004

表 6、水媒環境樣本及食媒貝類病毒之分生檢測-引子資訊、作用配方、反應條件

應條件

Target gene	Size	Sequence (5' to 3')	Reaction Materials Final Volume: 25 ml	PCR Condition	Reference
Hepatitis A virus	5'-UTR core 173, 369	HAV68: 5'-TCACCGCCGTTTGCCTAG-3' HAV240: 5'-GGAGAGCCCTGGAAAGAAAG-3' VP1-4: 5'-CGTTGCTTCCCATGTCAGAG-3' VP1-5: 5'-GACCTTCCCATAAACTTGTAG-3'	DNA: 100-300 ng Primer: 400 nM FR Master mix: 5 ml	1st Step: Pre-denaturation: 95°C 4 min Denaturation: 95°C 30s Annealing: 50°C 30s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 40 cycles Final extension: 72°C 7 min 2nd Step: Pre-denaturation: 95°C 4 min Denaturation: 95°C 30s Annealing: 60°C 30s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 40 cycles Final extension: 72°C 7 min	部授食字第 1031900776 號
Norovirus	ORF2 377, 330, 386, 344	第一群(Group I, GI) COG1F: 5'-CGYTGATGCGNTTYCATGA-3' G1-SKF: 5'-CTGCCCGAATTGTAAATGA-3' G1-SKR: 5'-CCAACCCARCCATRTACA-3' COG1F/G1-SKR增幅產物大小377 bp G1-SKF/G1-SKR增幅產物大小330 bp 第二群(Group II, GI) COG2F: 5'-CARGARBCNATGTTYAGRTGGATGAG-3' G2-SKF: 5'-CNTGGGAGGGCGATCGCAA-3' G2-SKR: 5'-CCRCCNGCATRHCCRTTRTACAT-3' COG2F/G2-SKR增幅產物大小386 bp G2-SKF/G2-SKR增幅產物大小344 bp	DNA: 100-300 ng Primer: 400 nM FR Master mix: 5 ml	1st Step: Pre-denaturation: 95°C 4 min Denaturation: 95°C 30s Annealing: 50°C 30s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 40 cycles Final extension: 72°C 7 min 2nd Step: Pre-denaturation: 95°C 4 min Denaturation: 95°C 30s Annealing: 60°C 30s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 40 cycles Final extension: 72°C 7 min	部授食字第 1031900867 號
Rotavirus	Group A VP6 201	con 1: 5'-TTGCCACCAATTCAAAATAC-3' con 2: 5'-ATTTCGGACCATTTATAACC-3'	DNA: 100-300ng Primer: 400 nM Master mix: 5 ml	Pre-denaturation: 94°C 3 min Denaturation: 94°C 30s Annealing: 42°C 30s Extension: 72°C 60s D.A.E. Cycles: 40 cycles Final extension: 72°C 7 min	疾管局93年計畫 DOH93-DC- 2018
Sapovirus	nORF1 103, 100, 106	SaV124F: 5'-GAYCASGCTCTCGCYACCTAC-3' SaV1F: 5'-TTGGCCCTCGCCACCTAC-3' SaV5F: 5'-TTTGAACAAGCTGTGGCATGCTAC-3' SaV1245R: 5'-CCCTCCATYTCAAACACTA-3' 124F/1245R 103bp 1F/1245R 100bp 5F/1245R 106bp SaV124TP: 5'-FAM-CCRCCATATRAACCA-MGB-NQF-3' SaV5TP: 5'-FAM-TGCCACCAATGTACCA-MGB-NQF-3'	DNA: Primer: 400 nM Master mix: 5 ml	Pre-denaturation: 95°C 15 min Denaturation: 94°C 15s Annealing - Extension: 62°C 30s D.A.E. Cycles: 40 cycles Final extension: °C min	Oka et al., 2006

表 7、105 年度水體及貝類總執行樣本數量及陽性反應數

	第一季(1-3 月)		第二季(4-6 月)		第三季(7-9 月)		第四季(10-12 月)	
	水體樣本(n=106)	貝類樣本(n=103)	水體樣本(n=84)	貝類樣本(n=98)	水體樣本(n=90)	貝類樣本(n=106)	水體樣本(n=84)	貝類樣本(n=94)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> *	59	28	38	48	62	61	63	54 (n=74)
<i>Vibrio cholera</i>	0	0	4	0	12	2	23	8 (n=74)
<i>Vibrio vulnificus</i>	0	0	4	0	6	0	5	0(n=74)
<i>Salmonella</i>	2	1	2	0	1	0	檢測中	檢測中
<i>Campylobacter</i>	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	1	0	0	0	0 (n=74)
MRSA	0	0	0	0	0	2	0	0 (n=74)
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	11	18	5	25(n=74)
<i>Shigella</i>	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中
<i>Bacillus cereus</i>	13	0	4	3	9	0	檢測中	檢測中
Pathogenic <i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中
<i>Clostridium difficile</i>	6	2	5	0	0	0	檢測中	檢測中
adenovirus	45	10	34	4	38	10	檢測中	檢測中
rotavirus	0	0	0	0	1	0	檢測中	檢測中
sapovirus	3	1	0	0	0	0	檢測中	檢測中
norovirus (G1/G2)*	23	19	2	3	0	0	檢測中	檢測中
HAV (hepatitis A virus)	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中

表 8、105 年度海水及朴子溪水體與市場及養殖貝類個別執行樣本數量及陽性反應數

	第一季(1-3 月)				第二季(4-6 月)				第三季(7-9 月)				第四季(10-12 月)			
	水體樣本 (n=106)		貝類樣本 (n=103)		水體樣本 (n=84)		貝類樣本 (n=98)		水體樣本 (n=90)		貝類樣本 (n=106)		水體樣本 (n=84)		貝類樣本 (n=94)	
	海水 (n=82)	朴子溪 (n=24)	市場 (n=87)	養殖 (n=16)	海水 (n=60)	朴子溪 (n=24)	市場 (n=83)	養殖 (n=15)	海水 (n=66)	朴子溪 (n=24)	市場 (n=88)	養殖 (n=18)	海水 (n=60)	朴子溪 (n=24)	市場 (n=79)	養殖 (n=15)
<i>V. parahaemolyticus</i> *	57	2	22	6	29	9	37	11	57	5	54	7	54	9	41 (n=59)	13
<i>V. cholera</i>	0	0	0	0	0	4	0	0	6	6	2	0	22	1	7 (n=59)	1
<i>V. vulnificus</i>	0	0	0	0	1	3	0	0	6	0	0	0	0	5	0 (n=59)	0
<i>Salmonella</i>	2	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
<i>Campylobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
<i>L. monocytogenes</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 (n=59)	0
MRSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0 (n=59)	0
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	5	6	15	3	5	0	25 (n=59)	0
<i>Shigella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
<i>B. cereus</i>	13	0	0	0	3	1	2	1	8	1	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
Pathogenic <i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
<i>C. difficile</i>	6	0	2	0	5	0	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
adenovirus	23	22	8	2	17	17	4	0	21	17	7	3	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
rotavirus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
sapovirus	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
norovirus (G1/G2)*	11	12	18	1	2	0	3	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中
HAV (hepatitis A virus)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	檢測中	檢測中	檢測中	檢測中

表 9、105 年度 2 次強降雨事件水體執行樣本數量及陽性反應數

	6 月 13 日至 24 日進行之梅雨季強降雨事件				7 月 11 日至 7 月 22 日尼伯特颱風事件			
	第 1 天水體樣本(n=5)	第 3 天水體樣本(n=8)	第 8 天水體樣本(n=8)	第 12 天水體樣本(n=8)	第 1 天水體樣本(n=8)	第 3 天水體樣本(n=8)	第 8 天水體樣本(n=8)	第 12 天水體樣本(n=8)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> *	2	6	6	8	6	7	7	8
<i>Vibrio cholera</i>	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Vibrio vulnificus</i>	0	0	0	0	2	1	0	0
<i>Salmonella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Campylobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
MRSA	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	2	3	5	1	2	2	5
<i>Shigella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	0	0	0	0	2	1
Pathogenic <i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clostridium difficile</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
adenovirus	4	5	5	3	5	5	3	1
rotavirus	0	0	0	0	0	0	0	0
sapovirus	0	0	0	0	0	0	1	0
norovirus (G1/G2)*	0	0	1	1	0	0	0	0
HAV (hepatitis A virus)	0	0	0	0	0	0	0	0
Heterotrophic plate count (CFU/ml)	86,093	63,142	16,366	3,378	314,381	716,950	38,912	27,383
Total Coliform (CFU/100ml)	9,700	5,351	941	78	2,390	1,149	631	52
<i>E. coli</i> (CFU/100ml)	557	253	188	1	133	81	130	24

表 10、腸炎弧菌與水質指標檢定分析結果

Water quality indicators	Mann-Whitney <i>U</i> test	VP-Positivity sample (n=191)				VP-negativity sample (n=125)			
		Range	Median	Q1	Q3	Range	Median	Q1	Q3
Heterotrophic plate count (CFU/ml)	<i>p</i> =0.86	0-1,200,000	7,606	1,380	50,733	0-485,000	12,436	2,196	27,069
Total Coliform (CFU/100ml)	<i>p</i> =0.32	0-38,850	0	0	24	0-450,000	0	0	35
<i>Escherichia coli</i> (CFU/100ml)	<i>p</i> =0.48	0-9,932	38	0	512	0-6,000	33	0	984
Water temperature (°C)*	<i>p</i> =0.02	7.24-36.49	28.5	5.6	31.2	8.07-32.37	28.3	19.2	30.6
pH*	<i>p</i> <0.001	6.85-8.98	7.9	7.5	8.2	6.89-9.72	8.1	7.7	8.5
Turbidity*	<i>p</i> =0.02	0-156	7.4	2.9	22.8	0.05-242	13.1	4.0	49.8
Salt (‰)*	<i>p</i> =0.001	0.09-32.39	27.7	20.4	30.2	0.02-32.49	22.2	0.5	30.2
Dissolved oxygen (mg/L)*	<i>p</i> =0.02	3.94-8.70	6.1	5.1	6.6	3.02-7.59	5.6	4.6	6.1

Significant *p*<0.05; VP for *Vibrio parahaemolyticus*

表 11、諾羅病毒與水質指標檢定分析結果

Water quality indicators	Mann-Whitney <i>U</i> test	NoV-Positivity sample (n=23)				NoV-negativity sample (n=264)			
		Range	Median	Q1	Q3	Range	Mean	Q1	Q3
Heterotrophic plate count (CFU/ml)*	<i>p</i> =0.01	300-485,000	33,775	21,750	131,417	0-40,000	6,893	1,660	41,797
Total Coliform (CFU/100ml)*	<i>p</i> =0.01	0-6,877	1,074	109	2,185	0-9,933	8	0	351
<i>Escherichia coli</i> (CFU/100ml)	<i>p</i> =0.21	0-4,900	10	0	20	0-4,224	0	0	19
Water temperature (°C)*	<i>p</i> < 0.01	17.32-25.9	19.1	18.2	19.9	16.78-33.71	28.4	21.5	30.9
pH*	<i>p</i> < 0.01	7.24-8.98	8.5	8.4	8.8	7.04-8.57	8.1	7.7	8.4
Turbidity	<i>p</i> =0.36	1.09-10.25	5.7	3.5	5.9	0-242	7.1	2.8	20.7
Salt (‰)*	<i>p</i> =0.04	0.46-30.98	23.2	0.5	28.6	0.02-32.49	28.1	16.6	30.7
Dissolved oxygen (mg/L)	<i>p</i> =0.32	4.4-7.29	5.9	5.0	6.9	3.02-7.69	5.9	4.4	6.5

Significant *p*<0.05; NoV for norovirus

表 12、腺病毒與水質指標檢定分析結果

Water quality indicators	Mann-Whitney <i>U</i> test	HAdVs-Positivity sample (n=109)				HAdVs-negativity sample (n=178)			
		Range	Median	Q1	Q3	Range	Mean	Q1	Q3
Heterotrophic plate count (CFU/ml)*	<i>p</i> =0.002	0-485,000	13,827	3,093	35,540	0-45,120	4,483	993	30,874
Total Coliform (CFU/100ml)*	<i>p</i> <0.01	0-5,715	293	6	1,125	0-9,933	0	0	37
<i>Escherichia coli</i> (CFU/100ml)*	<i>p</i> <0.01	0-4,900	13	0	174	0-4,224	0	0	0
Water temperature (°C)	<i>p</i> =0.88	16.88-33.71	28.2	19.2	31.1	16.78-33.33	28.5	19.2	31.1
pH*	<i>p</i> =0.001	7.04-8.98	8.0	7.7	8.5	7.14-8.14	8.2	8.0	8.5
Turbidity*	<i>p</i> < 0.01	0.63-242	17.7	6.7	54.4	0-57.8	5.6	2.7	9.7
Salt (‰)*	<i>p</i> < 0.01	0.02-32.04	16.5	0.5	27.6	0.17-32.49	30.2	26.9	31.3
Dissolved oxygen (mg/L)*	<i>p</i> < 0.01	3.02-7.56	5.6	4.4	6.2	3.04-7.69	6.2	5.6	6.9

Significant *p*<0.05; HAdVs for human adenovirus

表 13、強降雨事件腸炎弧菌、腺病毒檢出率及累積雨量、事件期間累積平均雨量、平均水溫及濁度

	6 月 13 日至 24 日進行之梅雨季強降雨事件				7 月 11 日至 7 月 22 日尼伯特颱風事件			
	第 1 天水體	第 3 天水體	第 8 天水體	第 12 天水體	第 1 天水體	第 3 天水體	第 8 天水體	第 12 天水體
	樣本(n=5)	樣本(n=8)	樣本(n=8)	樣本(n=8)	樣本(n=8)	樣本(n=8)	樣本(n=8)	樣本(n=8)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> *	40%	75%	75%	100 %	75%	87.5%	87.5%	100%
<i>adenovirus</i>	80%	62.5%	62.5%	37.5%	62.5%	62.5%	37.5%	12.5%
Heterotrophic plate count (CFU/ml)	86,093	63,142	16,366	3,378	314,381	716,950	38,912	27,383
Total Coliform (CFU/100ml)	9,700	5,351	941	78	2,390	1,149	631	52
<i>E. coli</i> (CFU/100ml)	557	253	188	1	133	81	130	24
累積雨量(mm)	161	165	167	169	293.5	316.5	316.5	324
事件期間平均累積雨量 (mm)	53.67	33	16.7	12.07	97.83	63.3	32.4	23.14
平均水溫(°C)	26.4	28	28.9	29.34	26.1	27.23	28.89	29.23
濁度(NTU)	78.5	25.76	20.48	1.82	55.27	30.73	30.18	11.88

表 14、105 年 1 月至 9 月氣象因子與腸炎弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)發生率之相關性分析結果

Vibrio parahaemolyticus Standardized coefficients

Source	Value	Standard error	Pr > Chi ²	Wald Lower bound (95%)	Wald Upper bound (95%)
5 天平均氣溫 (°C)	-7.005	5.594	0.210	-17.969	3.959
3 天平均氣溫 (°C)	5.293	5.062	0.296	-4.628	15.214
當天氣溫 (°C)	1.952	4.472	0.662	-6.813	10.717
5 天累積雨量 (mm)	-1.148	1.116	0.304	-3.334	1.039
3 天累積雨量 (mm)*	5.384	3.269	0.100	-1.023	11.791
當天雨量 (mm)	-3.184	2.155	0.139	-7.407	1.039

Pr > Chi²* < 0.10

表 15、105 年 1 月至 9 月氣象因子與諾羅病毒(norovirus)發生率之相關性分析結果：(A)氣溫及(B)累積雨量

Source	Value	Standard error	Pr > Chi ²	Wald Lower bound (95%)	Wald Upper bound (95%)
5 天平均氣溫 (°C)	-1.113	5.782	0.847	-12.446	10.219
3 天平均氣溫 (°C)	8.528	6.346	0.179	-3.909	20.965
當天氣溫 (°C)	-8.214	5.303	0.121	-18.609	2.180
5 天累積雨量 (mm)	1.061	0.977	0.277	-0.854	2.975
3 天累積雨量 (mm)	-1.085	0.890	0.223	-2.830	0.660
當天雨量 (mm)	0.179	0.692	0.796	-1.177	1.535

Pr > Chi²* < 0.10

表 16、105 年 1 月至 9 月氣象因子與腺病毒(adenovirus)發生率之相關性分析結果：(A)氣溫及(B)累積雨量

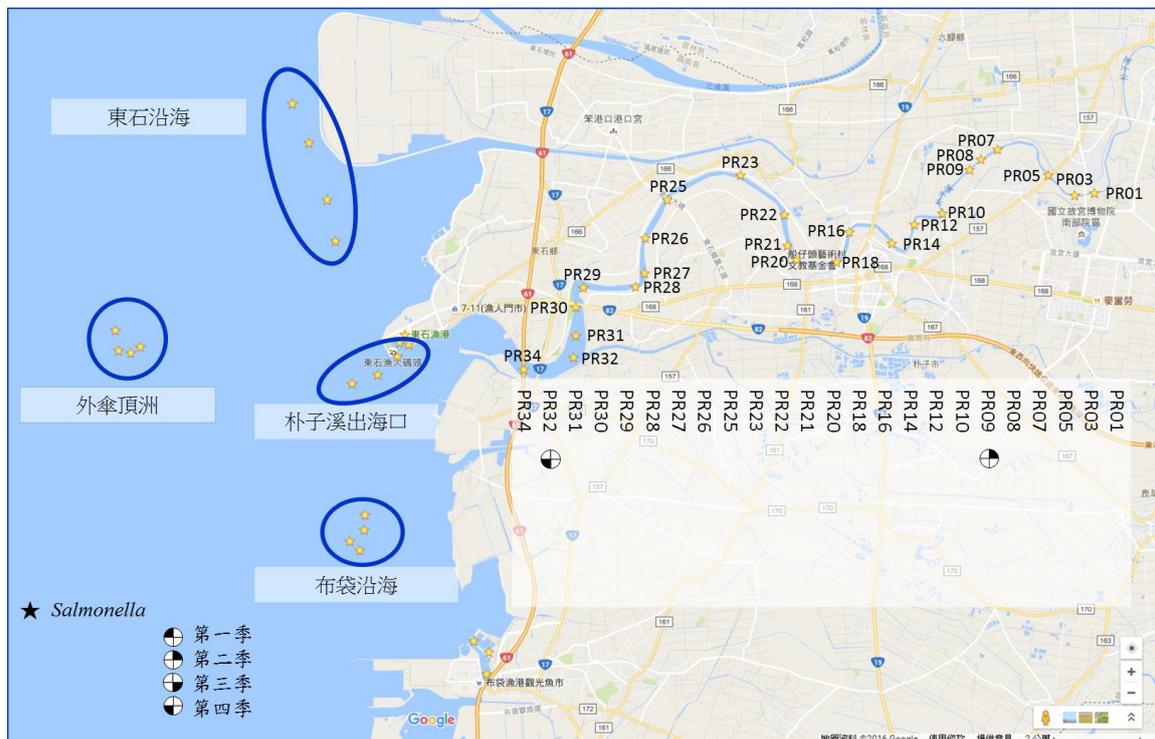
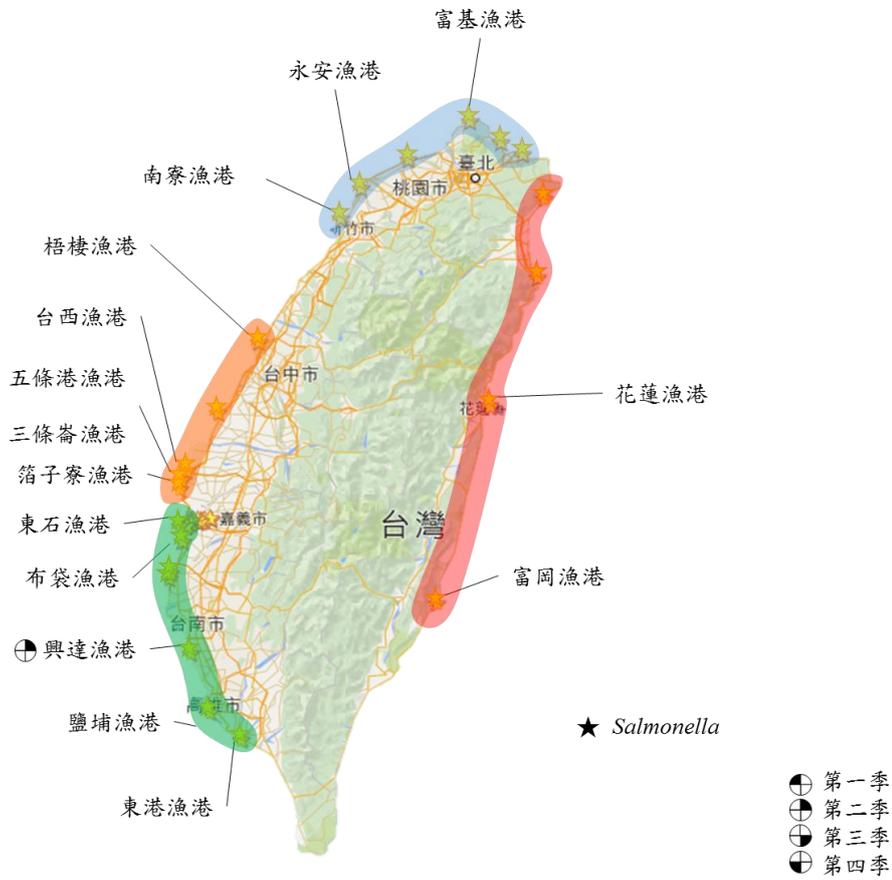
adenovirus Standardized coefficients

Source	Value	Standard error	Pr > Chi2	Wald Lower bound (95%)	Wald Upper bound (95%)
5 天平均氣溫 (°C)	2.103	3.365	0.532	-4.492	8.698
3 天平均氣溫 (°C)	3.736	3.503	0.286	-3.129	10.602
當天氣溫 (°C)*	-5.618	2.980	0.059	-11.459	0.222
5 天累積雨量 (mm)*	1.951	1.031	0.059	-0.071	3.972
3 天累積雨量 (mm)*	-1.557	0.872	0.074	-3.266	0.153
當天雨量 (mm)	-0.001	0.277	0.998	-0.543	0.542

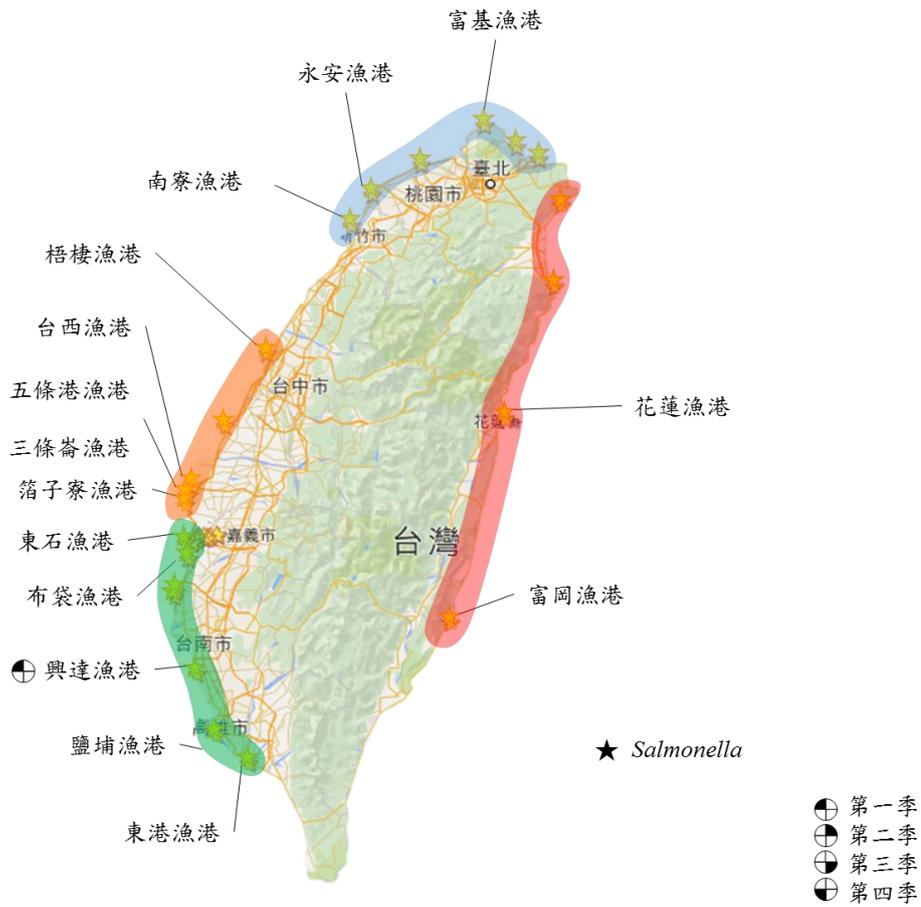
Pr > Chi²* < 0.10

八、附錄

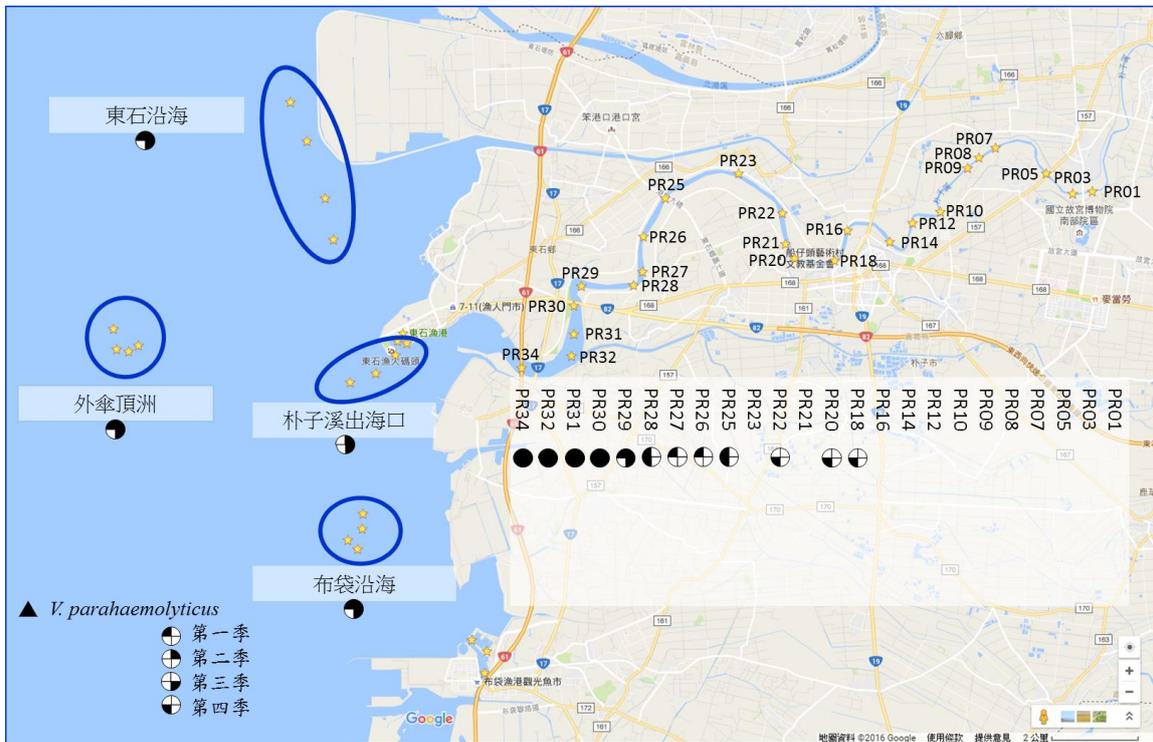
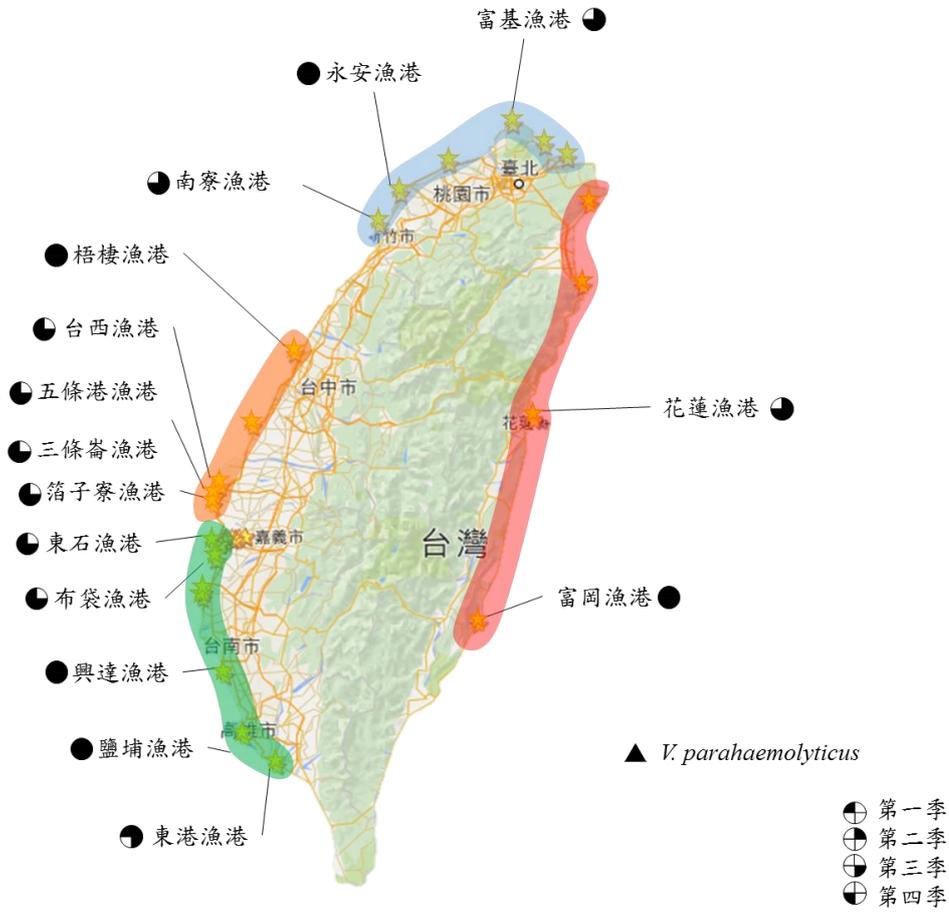
附錄一： *Salmonella*於水體樣本檢出概況



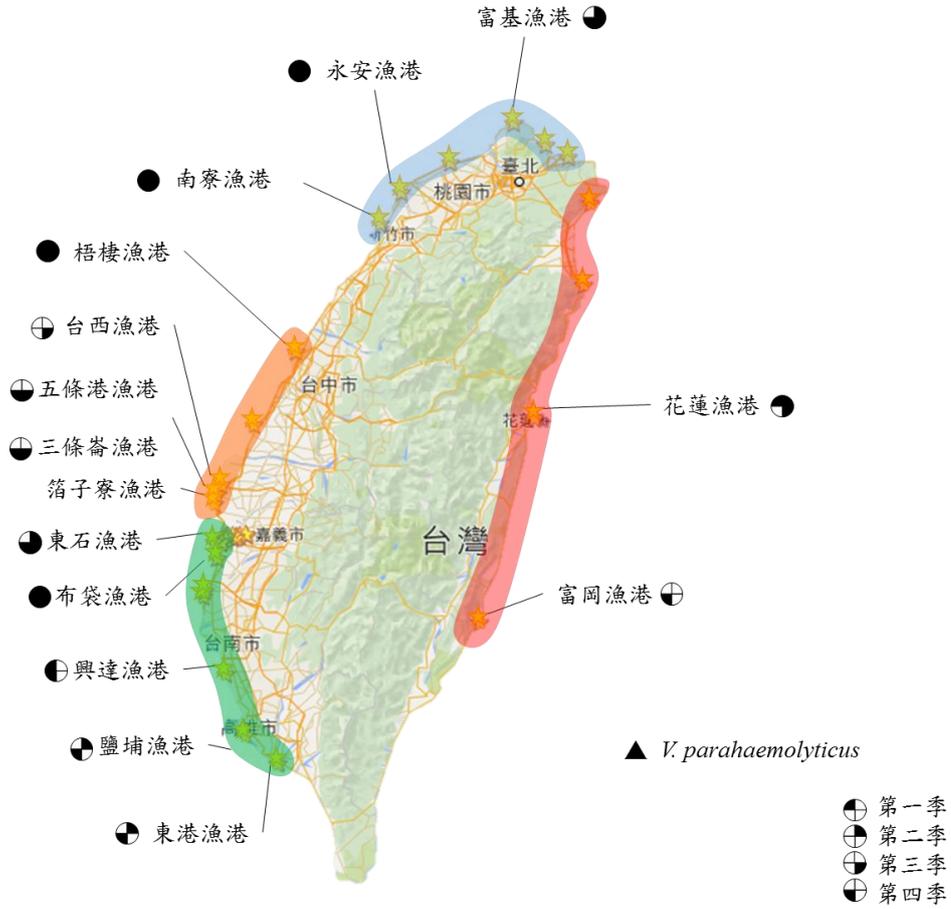
附錄二： *Salmonella* 於貝類樣本檢出概況



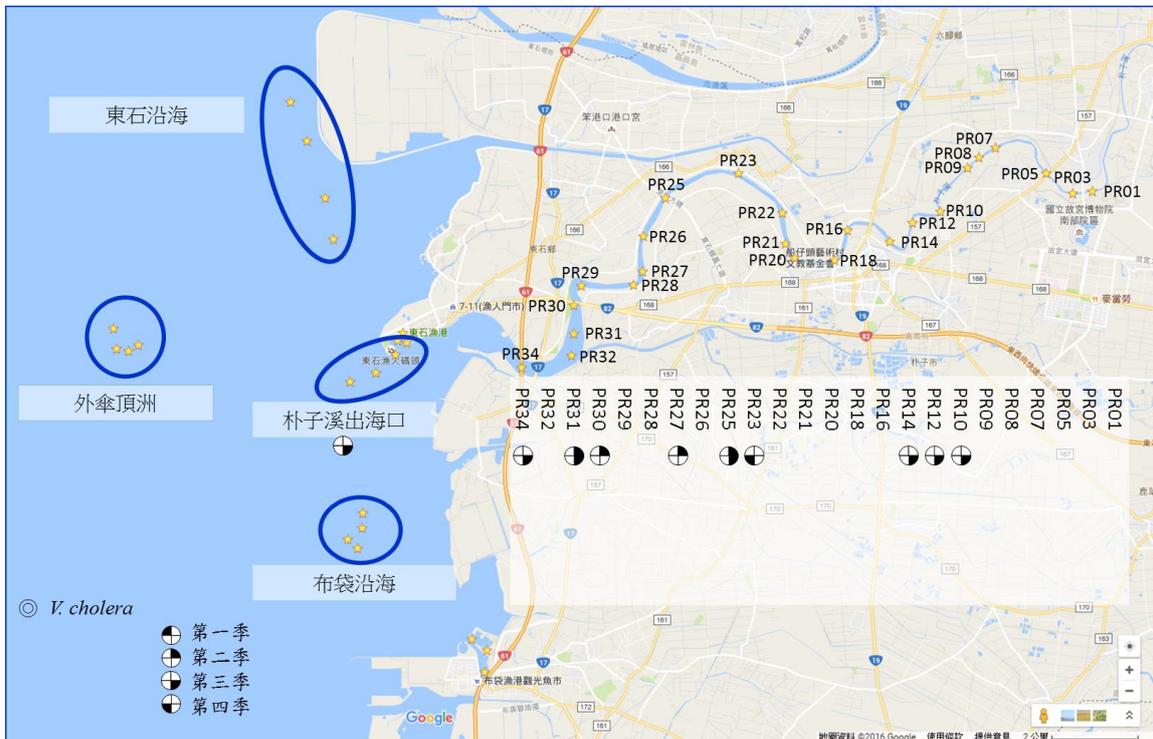
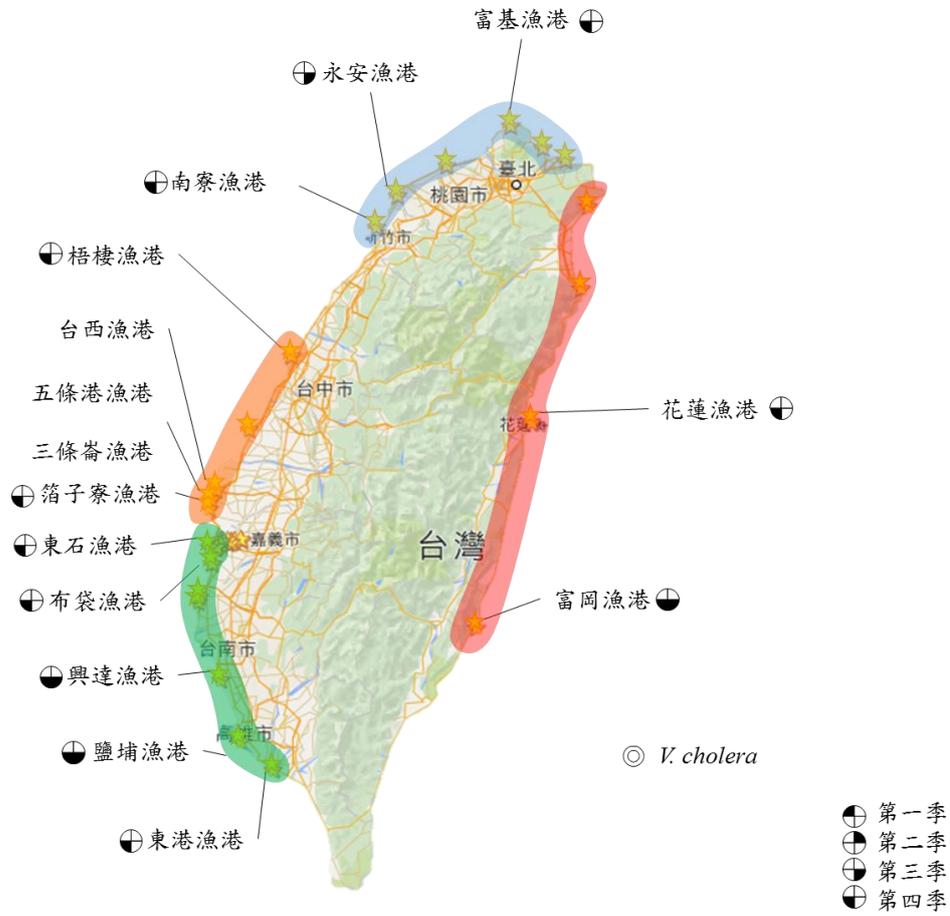
附錄三： *V. parahaemolyticus* 於水體樣本檢出概況



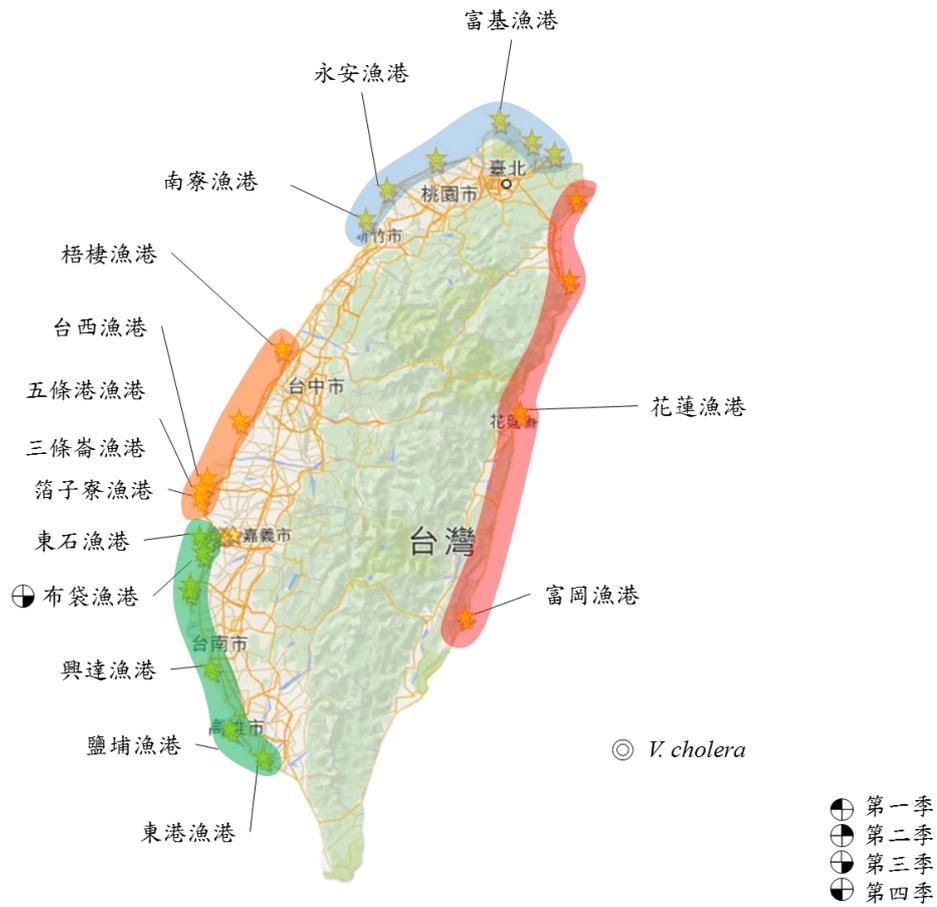
附錄四： *V. parahaemolyticus* 於貝類樣本檢出概況



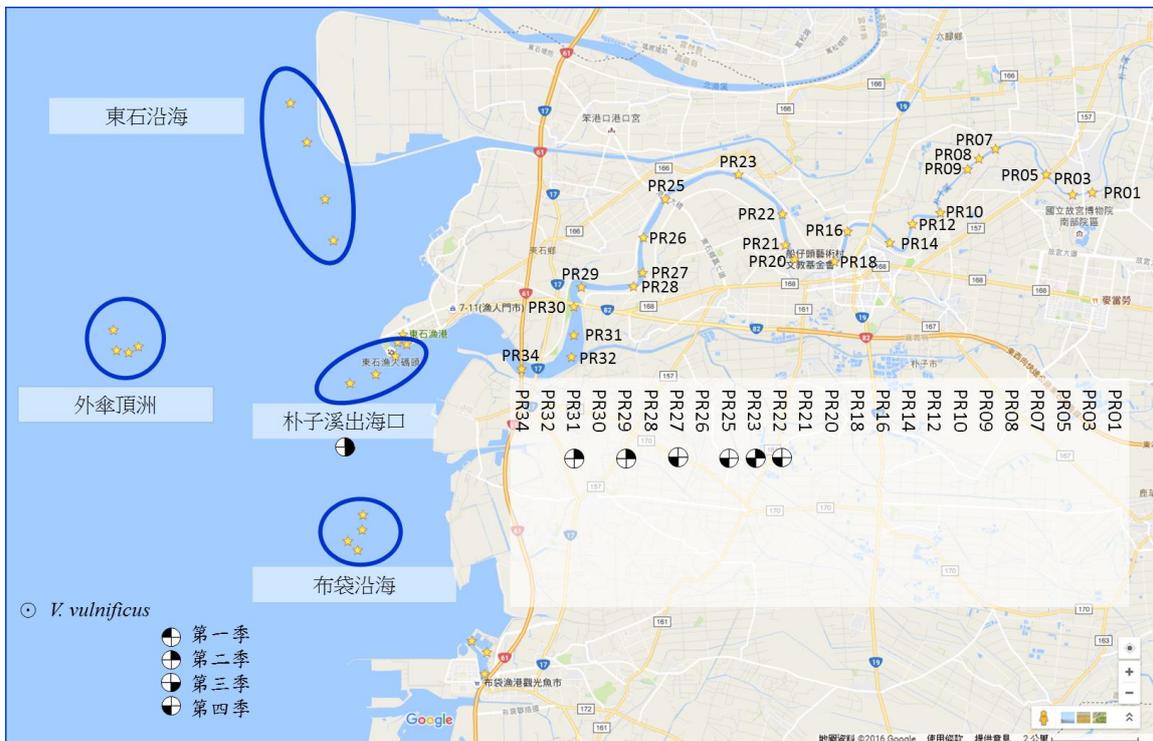
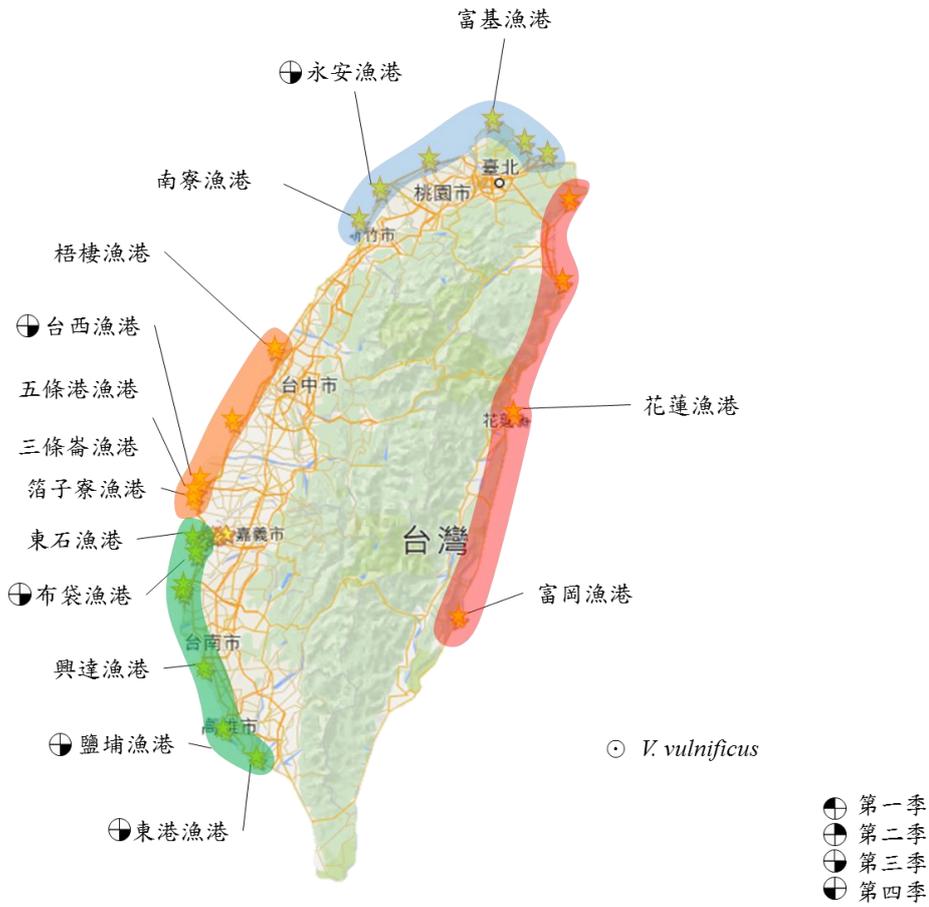
附錄五： *V. cholera*於水體樣本檢出概況



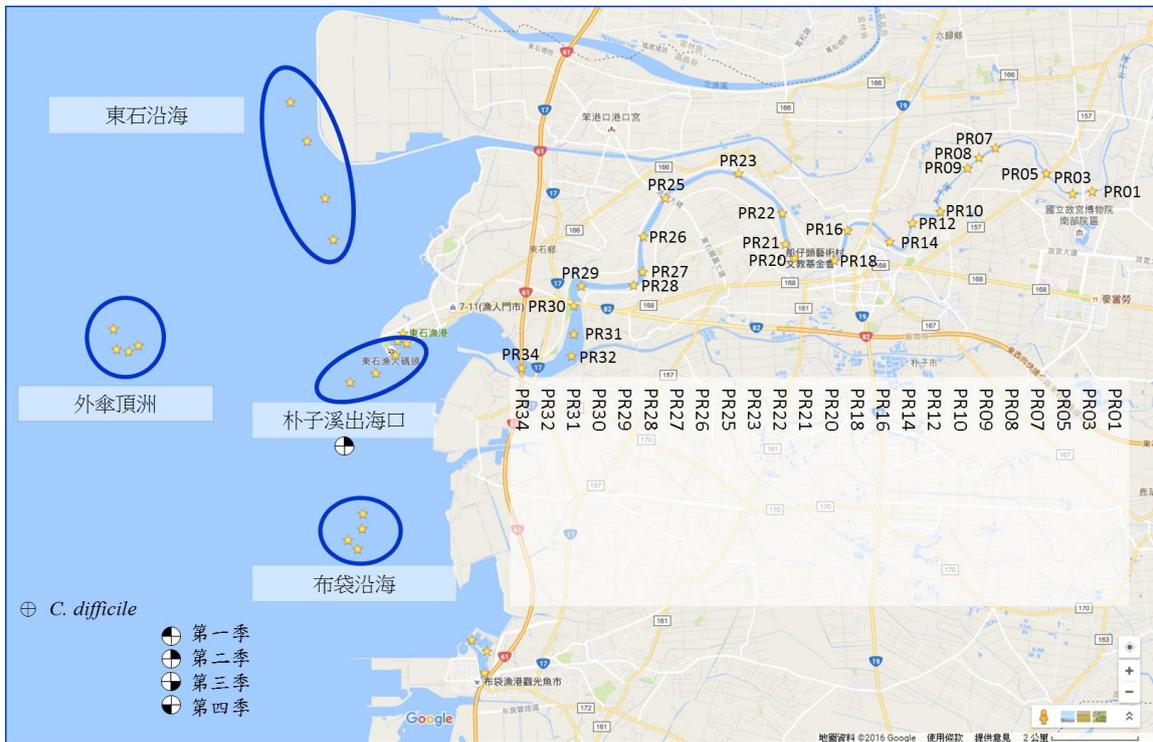
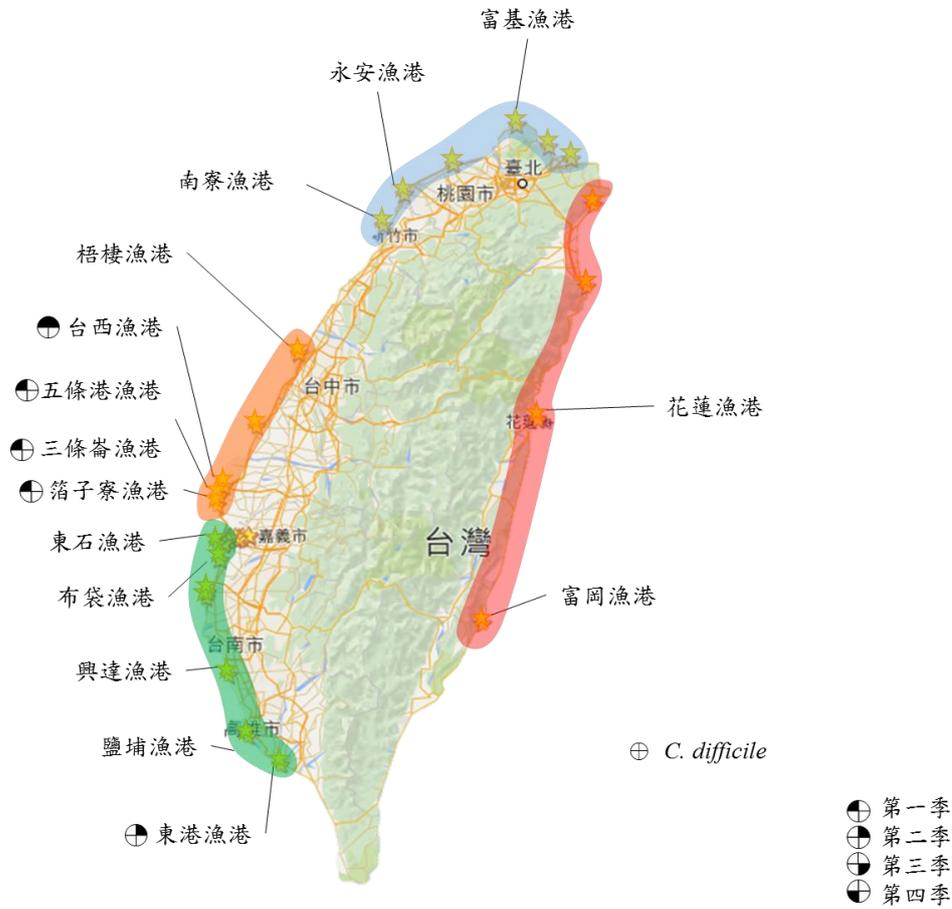
附錄六： *V. cholera* 於貝類樣本檢出概況



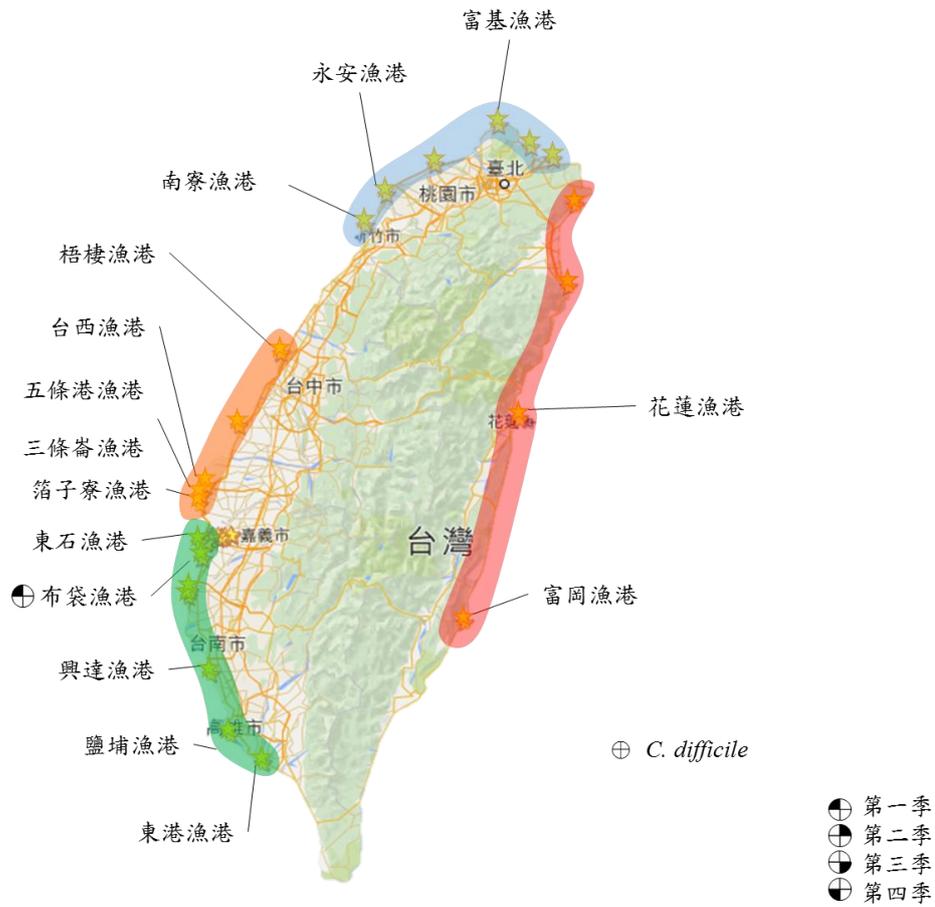
附錄七： *V. vulnificus* 於水體樣本檢出概況



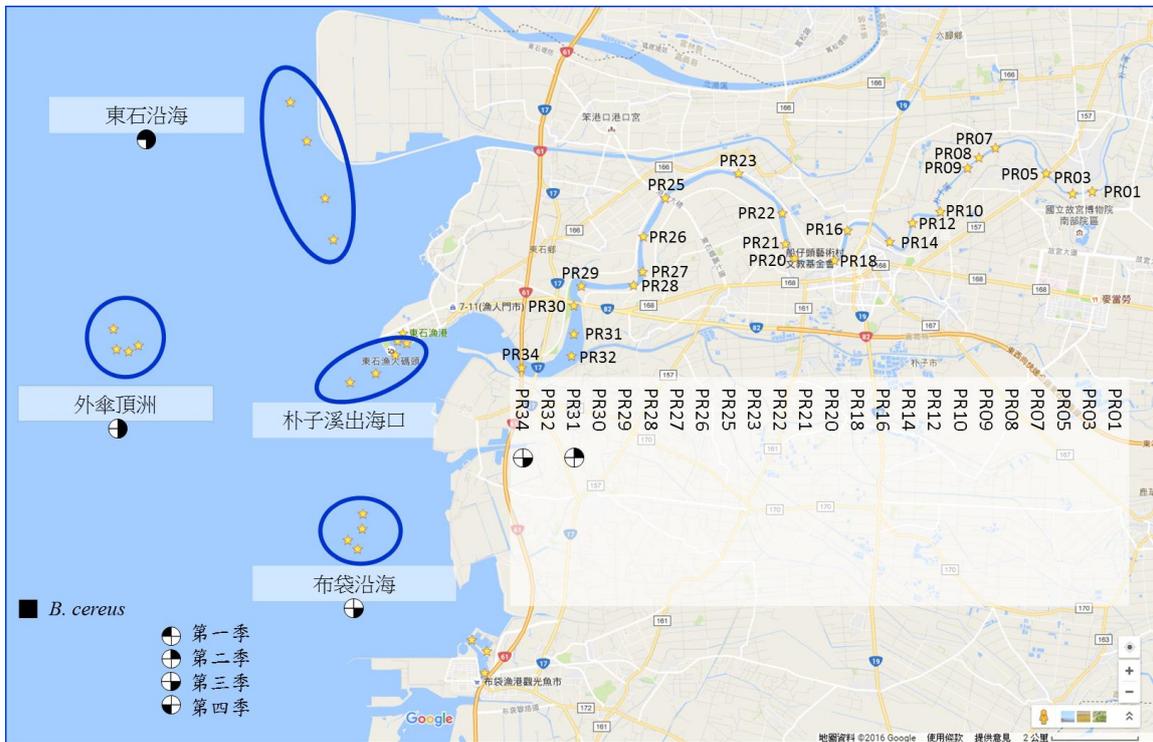
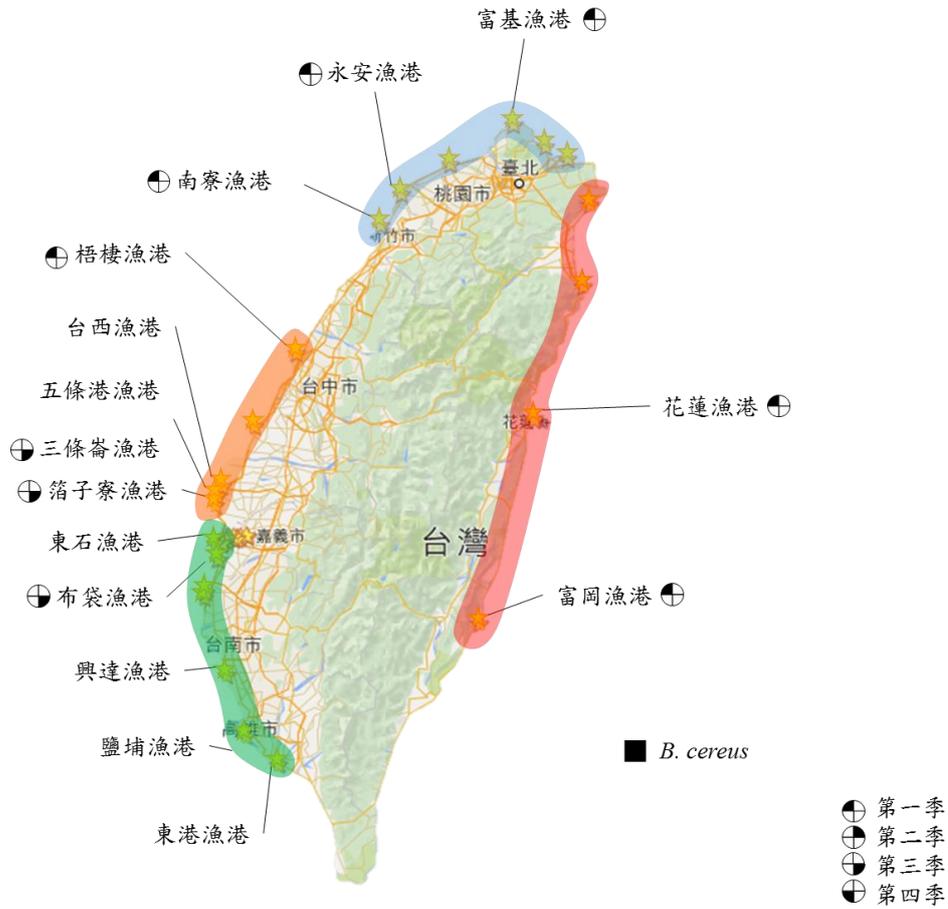
附錄八：C. difficile於水體樣本檢出概況



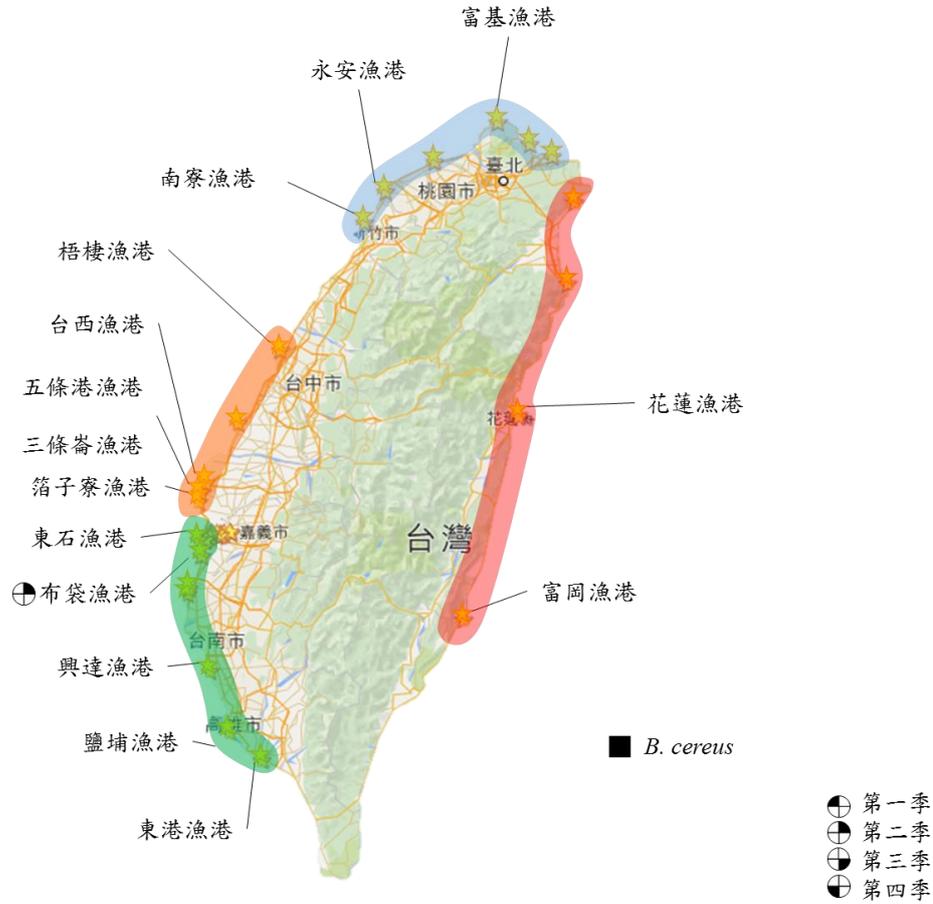
附錄九：C. difficile 於貝類樣本檢出概況



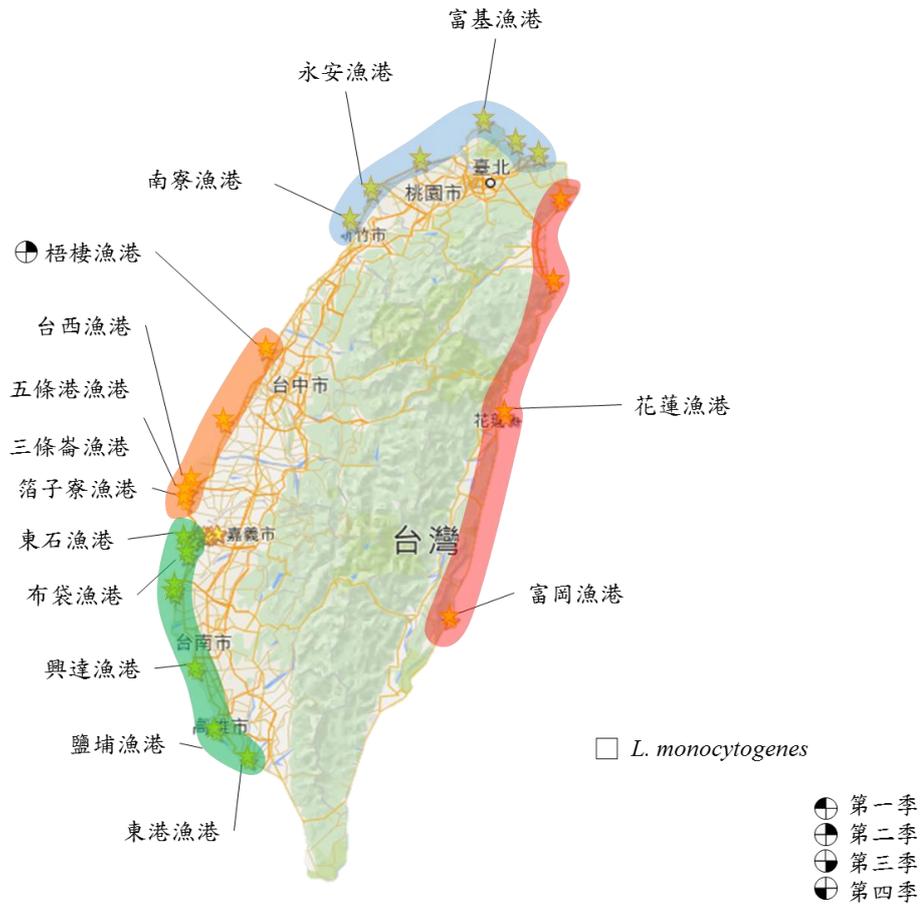
附錄十：B. cereus於水體樣本檢出概況



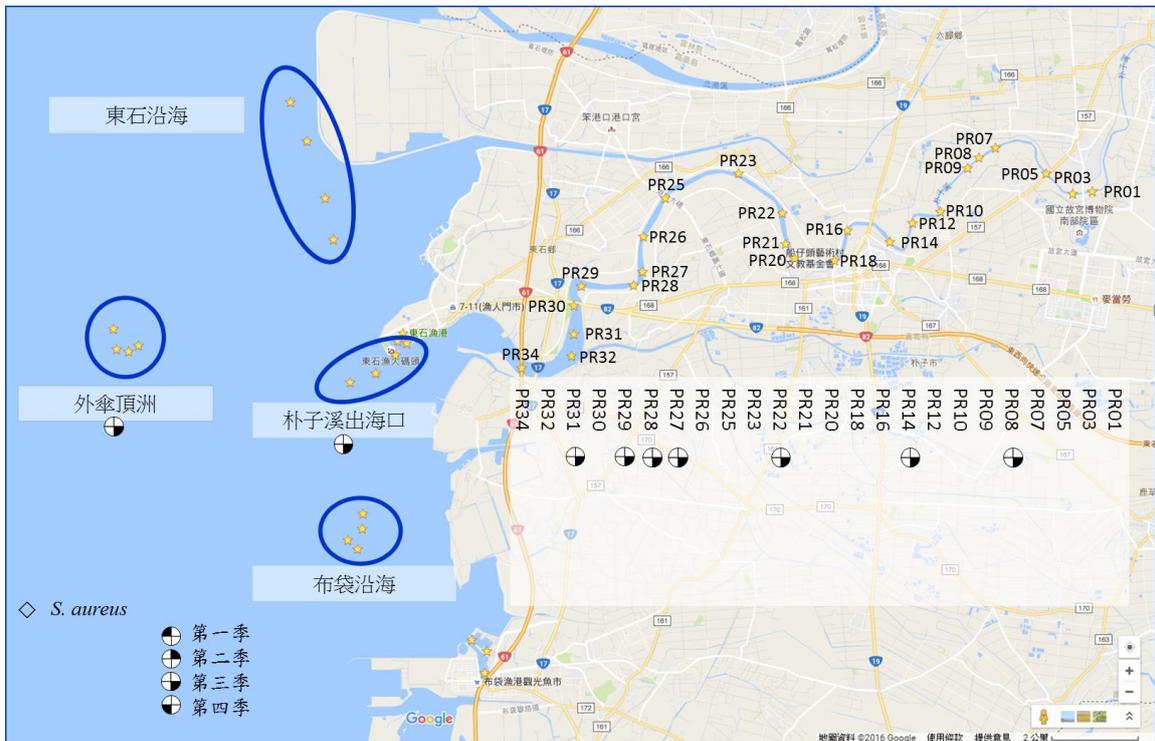
附錄十一：B. cereus 於貝類樣本檢出概況



附錄十二： *L. monocytogenes* 於貝類樣本檢出概況



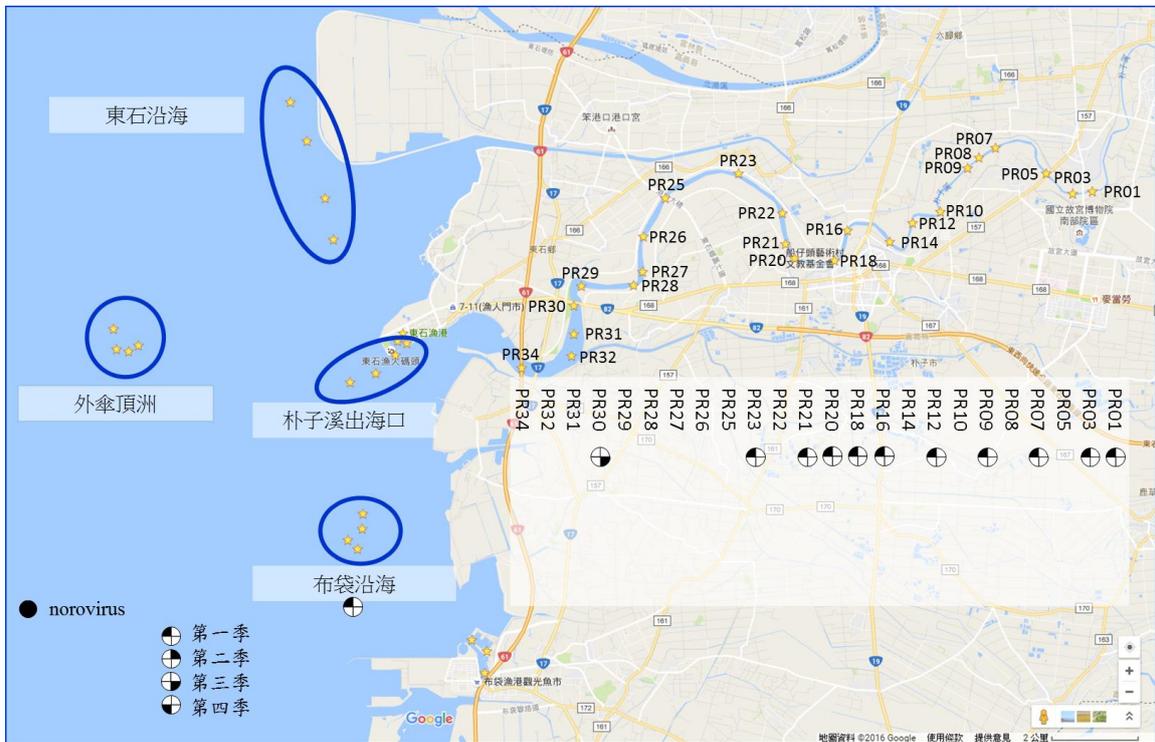
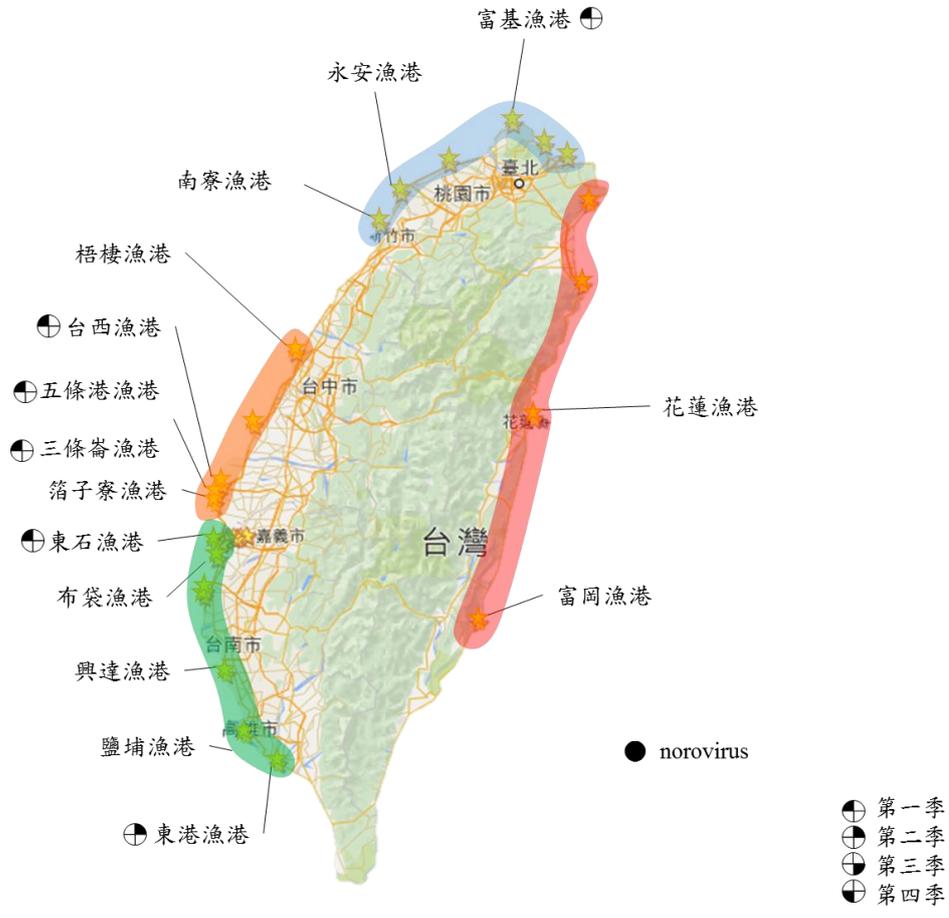
附錄十三：S. aureus於水體樣本檢出概況



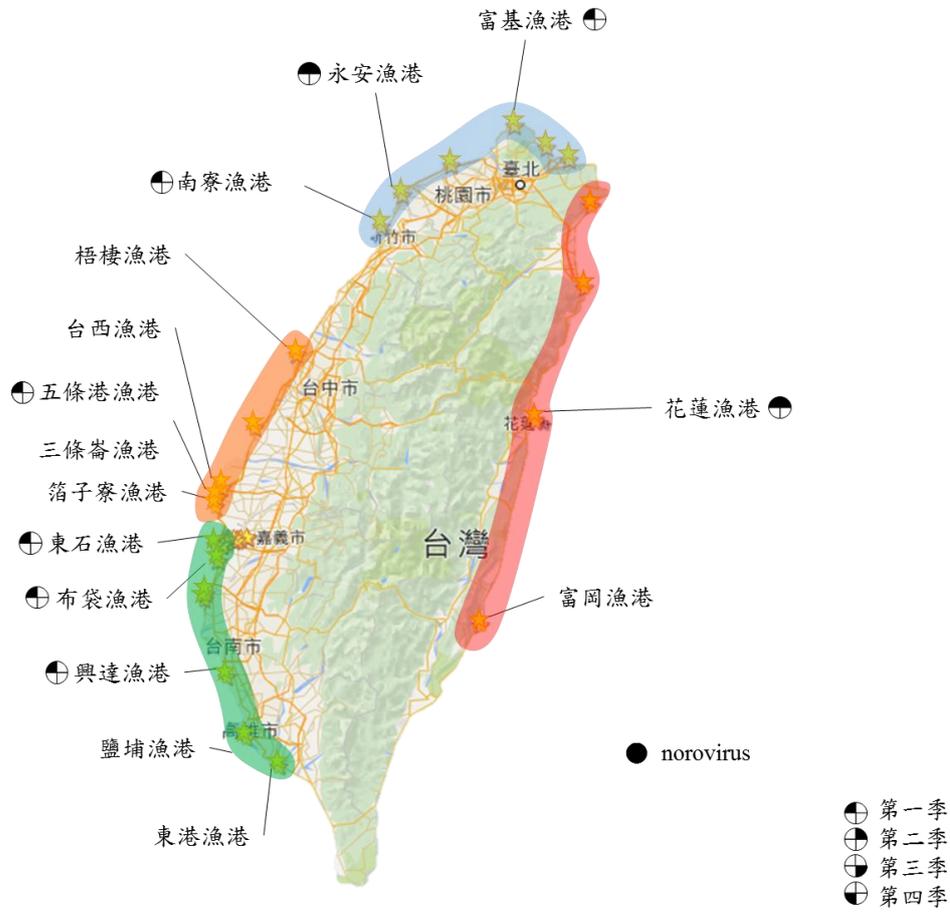
附錄十四：S. aureus 於貝類樣本檢出概況



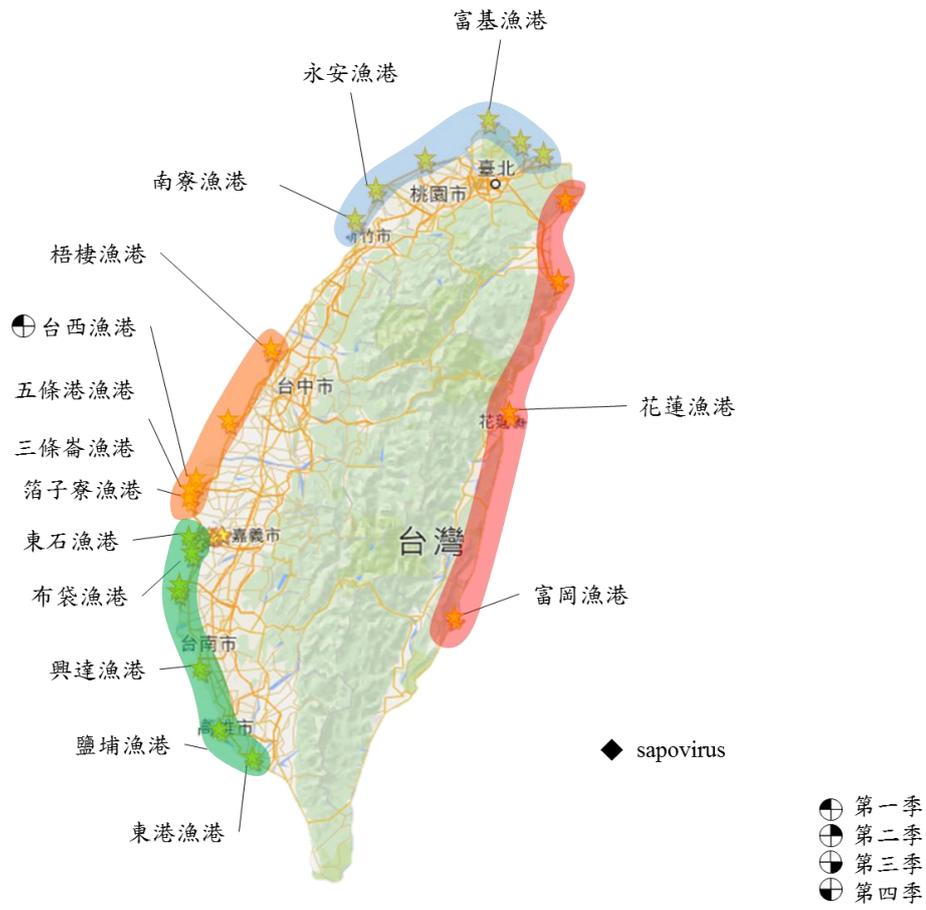
附錄十五：norovirus於水體樣本檢出概況



附錄十六：norovirus 於貝類樣本檢出概況



附錄十七：sapovirus 於水體樣本檢出概況



附錄十八：sapovirus 於貝類樣本檢出概況

