國立台灣大學公共衛生學院環境衛生研究所

碩士論文

Department or Graduate Institute of Environmental Health

College of Public Health

National Taiwan University

Master Thesis

雨刷水相關清潔用品對嗜肺性退伍軍人菌抑菌效能評估

Antibacterial activities of Windscreen wiper fluid (WWF) against *Legionella pneumophila*

洪于茹

Yu-Ju Horng

指導教授：張靜文 博士

Advisor: Ching-Wen Chang, Ph.D

中華民國 106 年 9 月

September 2017

doi:10.6342/NTU201704234

摘要

過往研究退伍軍人病 (Legionellosis)零星個案報告中，發現職業駕駛人所占比例甚高，並於汽車內雨刷水箱檢測出退伍軍人菌 *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*)。雨刷精具有維護雨刷水箱及保護車窗的作用，國內研究發現駕駛人員不僅習慣添加雨刷精 (Commercial screenwash,CS)，亦會添加家用清潔劑 (Household detergent, HD)。國外研究指出添加雨刷精可降低退伍軍人菌的檢出，且雨刷精與家用清潔劑兩類型雨刷水清潔用品添加至雨刷水箱內之退伍軍人菌檢出情形不一致。本研究為探討雨刷水清潔用品對 *L. pneumophila* 影響，以 12 種市售雨刷精及 10 種家用清潔劑探討不同清潔用品種類、不同清潔用品濃度 (0.1 及 0.01 g/mL)、接觸時間 (2 時及 30 日)及不同水溫 (25 及 37℃)，同時亦探討 pH 及硬度對 *L. pneumophila* 影響。

本研究以添加雨刷水清潔用品之實驗組及未添加雨刷水清潔用品之控制組分別進行三階段之抑菌實驗：(1)25℃短期抑菌實驗；(2)37℃短期抑菌實驗；(3)37℃長期追蹤實驗，並以推盤法及 EMA-qPCR 分析 *L. pneumophila* 培養力及活性濃度，同時於短時間 120 分鐘時及長期追蹤 30 日時測量 pH 及硬度。

統計結果顯示，於市售雨刷精品牌中，以 TM 效果最佳，對 *L. pneumophila* 培養力及活性皆有顯著較佳抑制作用 (P-value<0.0001)。另外對於抑制活性顯著較佳者為 GD(P-value<0.0001)。就家用清潔劑而言，以 MB 對培養力抑制顯著較佳(P-value<0.0001)，WD、DW 及 MA 則對活性抑制較佳，具顯著影響 (P-value<0.0001)。本研究共探討 22 種雨刷水清潔用品，相較於家用清潔劑，添加市售雨刷精抑菌效果較佳。另外顯示雨刷水清潔用品之添加濃度為 0.1 g/mL 時，相對於 0.01 g/mL 較能有效抑制 *L. pneumophila* 培養力。對於探討接觸時間之影響方面，本研究於短期及長期時間觀察結果包含：(1)雨刷水清潔用品能立即性抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性；(2)隨著接觸時間增加，雨刷水清潔用品抑制 *L. pneumophila* 培養力及使活性下降之趨勢緩慢；(3)到接觸結束時間點仍雨刷水清潔用品中有 *L. pneumophila*

doi:10.6342/NTU201704234

培養力及活性濃度。上述結果顯示了不同雨刷水清潔用品的抑菌效果之優劣勢。於探討水溫部分，結果顯示於 37℃下退伍軍人菌可能較能抵抗雨刷水清潔用品抑制影響或延遲抑菌效果。

探討 pH 值之影響方面，結果顯示 pH 高於 8 者對 *L. pneumophila* 培養力較具影響，對其活性影響力較低；對家用清潔劑而言，結果顯示愈鹼性的環境，對 *L. pneumophila* 培養力愈不利，對其活性則無明顯影響。另外，針對雨刷水清潔用品硬度影響之結果則顯示硬度介於 3-12 mg/L 者對 *L. pneumophila* 培養力較具影響，對其活性影響力較低；就家用清潔劑而言，硬度介於 3-12 mg/L 可使 *L. pneumophila* 培養力上升，硬度介於 30-195 mg/L 則使該菌培養力下降，然而硬度高，*L. pneumophila* 活性濃度亦高。

另外針對具活性但不具培養性 (Viable but nonculture, VBNC)之 *L. pneumophila* 進行探討，對 22 種雨刷水清潔用品而言，於接觸 3 日能有效抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性者佔 18.2% (4/22)，含低濃度 VBNC 之 *L. pneumophila* 者佔 13.6% (3/22)，含高濃度 VBNC 之 *L. pneumophila* 者佔 50% (11/22)，於接觸 8 日培養力完全抑制且含 VBNC 之 *L. pneumophila* 者佔 18.2% (4/22)。

本研究證實不同成分雨刷水清潔用品對 *L. pneumophila* 培養力及活性有影響具差異，且不同清潔用品濃度、接觸時間及不同水溫皆有不同抑菌效果之影響，可供未來作為駕駛人員添加雨刷水清潔用品建議方法參考依據，以降低社區零星式退伍軍人菌病之發生。

關鍵字：嗜肺性退伍軍人菌、雨刷水清潔用品、抑菌實驗

doi:10.6342/NTU201704234

Abstract

Literature showed that drivers possess greater risk of acquiring legionellosis, and windscreen wiper systems (WWS) of vehicles are considered as the potential contamination source. Windscreen wiper fluid (WWF) is used to clean the windscreen, research showed that some people use commercial screenwash (CS) and some use household detergent (HD). Previous study had suggest that adding WWF may affect the *Legionella* growth, and adding household detergent may had lower detection rate of *Legionella pneumophila* of WWS. The aim of this study was to determine the antimicrobial activity of WWF against *L. pneumophila*, and to assess the influence on the culturable and viable *L. pneumophila* of several factors, including the type and the concentration of detergent, contact time, water temperature, pH value and hardness.

In this study, three experiments were carried out on the experimental group with the addition of WWF and the control group without WWF. First was short-term antibacterial test at 25 ℃; second was short-term test at 37 ℃; third was long-term test at 37 ℃. Culture method and EMA-qPCR analysis were used for analyzing the concentration of culturable and viable *L. pneumophila*. The pH value and hardness of WWF were measured at 120 minutes for short term and 30 days for long term test.

The results showed that TM had significant effect on the culturable and viable *L. pneumophila* (P-value <0.0001). In addition, GD has better effect inhibition of viable *L. pneumophila* (P-value <0.0001). WD, DW and MA had significant effect inhibition of viable *L. pneumophila* (P-value <0.0001). Moreover, the antibacterial effect of commercial screenwash was better than household detergent. Results of the influence of concentration of detergentshowed that 0.1 g/mL inhibited more *L. pneumophila* than 0.01 g/mL. On the other hand, there were three key point of influence of contact time, including short-term and long-term: (1) immediate inhibition to the culturable and viable

doi:10.6342/NTU201704234

L. pneumophila; (2) inhibition of the culturable and viable *L. pneumophila* decreased slowly as time increased; (3) at the end of the time point, the culturable and viable *L. pneumophila* still can be detected (Culturable >1 or 5 CFU/mL；Viable> 620 cells/mL). Above all, results showed the advantages and disadvantages of different WWF. Influence of the water temperature showed that *L. pneumophila* may be more resistant the antibacterial effect at 37 °C.

For commercial screenwash, results showed that pH value above 8 may have impact on the culturable *L. pneumophila*, but less for the viable *L. pneumophila*. As for household detergents, when the environment was more alkaline, the culture of *L. pneumophila* was more likely to get impaired, but there was no significant effect on the viable *L. pneumophila*. For commercial screenwash, results showed that hardness between 3-12 mg/L may have more impact on the culturable *L. pneumophila*, but less on viable *L. pneumophila*. As for household detergents, the hardness of 3-12 mg/L may increase the culture capacity, and hardness between 30-195 mg/L may decline theculturalbility; besides, the higher the hardness, the higher the concentration of viable *L. pneumophila*.

In addition, there were 18.2% (4/22) of WWF could inhibit the culture and viable *L. pneumophila*, 13.6% (3/22) had lower viable but nonculture (VBNC), 50% (11/22) had high level concentration of VBNC *L. pneumophila*, and 18.2 % (4/22) had completely inhibition and had VBNC *L. pneumophila* at 8 days .

Above all, this study confirmed that different ingredient of WWF have different effects on the culture and viable *L. pneumophila*. Different concentration of detergent, contact time and the water temperature may have different the antibacterial effect, which can provide further recommendation of adding WWF in order to reduce the occurrence of community sporadic disease.

Key words: *Legionella pneumophila*, windscreen wiper fluids, antibacterial activity

doi:10.6342/NTU201704234

目錄

摘要 i

Abstract iii

表目錄 xi

圖目錄 xvi

List of Acronyms xxi

第一章 前言 1

第二章 文獻回顧 1

2.1 嗜肺性退伍軍人菌 (*Legionella pneumophila*)與退伍軍人病 (Legionellosis) 1

2.2 退伍軍人菌於車體檢出情形 4

2.3 雨刷水清潔用品 (Windscreen wiper fluid ,WWF)與水體環境處置措施 9

2.4 抑菌相關影響因子與退伍軍人菌生長因子 14

第三章 研究目的 19

第四張 研究架構 20

第五章 材料與方法 22

5.1 材料及設備 22

5.1.1 培養基及緩衝液 22

5.1.2 儀器設備 25

5.2 嗜肺性退伍軍人菌 (*L. pneumophila*)備置與培養 26

5.2.1 *L. pneumophila* 之濃度檢量線建立 26

5.3 雨刷水清潔用品 (Windscreen Wiper fluids, WWF) 29

5.3.1 品項說明 31

5.3.1.1 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS) 31

5.3.1.2 家用清潔劑 (Household detergent, HD) 33

doi:10.6342/NTU201704234

5.3.2 微生物特性 35
5.3.2.1 異營性細菌及真菌 35
5.3.2.2 活性 *L. pneumophila* 35
5.3.3 兩刷清潔用品之物理化學特性 36
5.3.3.4 物理化學特性分析 36
5.4 退伍軍人菌抑菌實驗 37
5.4.1 短時間抑菌實驗 (2 hr) 38
5.4.1.1 菌液備置 39
5.4.1.2 25℃抑菌實驗 40
5.4.1.3 37℃抑菌實驗 43
5.4.2 長時間抑菌實驗 (30 日) 44
5.4.2.1 菌液備置 44
5.4.2.2 37℃長期追蹤活性 *L. pneumophila* 濃度 45
5.4.2.3 37℃長期追蹤可培養性 *L. pneumophila* 濃度 47
5.5 空白樣本、水浴槽溫度及培養箱溫度 49
5.5.1 空白樣本 49
5.5.2 水浴槽水溫 49
5.5.3 培養箱溫度記錄 51
5.6 活性 *L. pneumophila* 分析 53
5.6.1 Ethidium monoazide (EMA)核酸染劑處置 53
5.6.2 DNA 萃取 53
5.6.3 *L. pneumophila* EMA Real-time PCR 分析 53
5.6.4 DNA 標準品檢量線建立 55
5.7 抑菌實驗樣本中之 pH 與硬度測定 56
5.8 資料處理 58
5.8.1 可培養 *L. pneumophila* 濃度與偵測下限之計算 58

doi:10.6342/NTU201704234

5.8.2 活性 *L. pneumophila* 濃度與偵測下限之計算 59
5.8.3 異營性真細菌濃度與偵測下限之計算 60
5.8.4 易感性因子 *K* 值計算 60
5.9 統計分析方法 61
5.9.1 廣義估計方程式 (Generalized estimating equation)分析 62
5.9.2 迴歸模式 (Regression model)分析 65
第六章 結果 68
6.1 雨刷水清潔用品微生物特性 68
6.1.1 雨刷水清潔用品之物理化學特性 70
6.2 25℃短期退伍軍人菌抑菌實驗 72
6.2.1 25℃短時間下市售雨刷精抑菌結果 72
6.2.1.1 0.1 g/mL 市售雨刷精抑菌效果 72
6.2.1.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 市售雨刷精易感性因子 (60 及 120 分鐘). 76
6.2.1.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘) 與 pH 及硬度值 78
6.2.1.2 0.01 g/mL 市售雨刷精抑菌效果 79
6.2.1.2.1 *L. pneumophila* 對 0.01 g/mL 市售雨刷精易感性因子 (60 及 120 分鐘)83
6.2.1.2.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘) 與 pH 及硬度值 85
6.2.1.3 其他廠商建議稀釋濃度之市售雨刷精抑菌效果 86
6.2.1.4 25℃下市售雨刷精抑菌效能統計檢定 89
6.2.1.5 25℃下市售雨刷精接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值 91
6.2.2 25℃短時間下家用清潔劑抑菌結果 94
6.2.2.1 0.1 g/mL 家用清潔劑抑菌效果 94
6.2.2.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 家用清潔劑易感性因子 (60 及 120 分鐘). 98
6.2.2.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘)與 pH 及硬度值 100
6.2.2.2 0.01 g/mL 家用清潔劑抑菌效果 101
6.2.2.2.1 *L. pneumophila* 對 0.01 g/mL 家用清潔劑易感性因子 (60 及 120 分

doi:10.6342/NTU201704234

鐘) 105
6.2.2.2.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘)與 pH 及硬度值 107
6.2.2.3 25℃下家用清潔劑抑菌效能統計檢定 108
6.2.2.4 25℃下家用清潔劑接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值 110
6.2.3 25℃下 22 種雨刷水清潔用品抑菌結果 113
6.2.3.1 25℃下 22 種雨刷水清潔用品抑菌效能統計檢定 113
6.2.3.1.1 0.1 g/mL22 種雨刷水清潔用品抑菌效果 113
6.2.3.1.2 0.01 g/mL22 種雨刷水清潔用品抑菌效果 114
6.2.3.1.3 0.1 及 0.01 g/mL 21 種雨刷水清潔用品抑菌效果 116
6.3 37℃短期退伍軍人菌抑菌實驗 118
6.3.1 37℃下市售雨刷精抑菌結果 118
6.3.1.1 0.1 g/mL 市售雨刷精抑菌效果 118
6.3.1.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 市售雨刷精易感性因子 (60 及 120 分鐘) 121
6.3.1.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘)與 pH 及硬度值 123
6.3.1.2 25&37℃下市售雨刷精抑菌效能統計檢定 124
6.3.1.3 25 及 37℃下市售雨刷精接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值 126
6.3.2 37℃下家用清潔劑抑菌結果 129
6.3.2.1 0.1 g/mL 家用清潔劑抑菌效果 129
6.3.2.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 家用清潔劑易感性因子 (60 及 120 分鐘) 133
6.3.2.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘)與 pH 及硬度值 135
6.3.2.2 25 及 37℃下家用清潔劑抑菌效能統計檢定 136
6.3.2.3 25 及 37℃下家用清潔劑接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 及硬度檢測 138
6.3.3 37℃下 21 種雨刷水清潔用品抑菌結果 141
6.3.3.1 0.1 g/mL 21 種雨刷水清潔用品抑菌效果 141
6.3.3.2 25 及 37℃下 22 種雨刷水清潔用品抑菌效果 143
6.4 37℃長期退伍軍人菌追蹤實驗 145

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.1 37℃長時間下市售雨刷精抑菌結果 145
6.4.1.1 0.1 g/mL 市售雨刷精抑菌效果 145
6.4.1.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 市售雨刷精易感性因子 (3-30 日) 148
6.4.1.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (30 日) 與 pH 及硬度值 150
6.4.1.2 37℃長時間下市售雨刷精抑菌效能統計檢定 151
6.4.1.3 37℃長時間下市售雨刷精接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值 153
6.4.2 37℃長時間下家用清潔劑抑菌結果 156
6.4.2.1 0.1 g/mL 清家用清潔劑抑菌效果 156
6.4.2.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 家用清潔劑易感性因子 (3-30 日) 159
6.4.2.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (30 日) 與 pH 及硬度值 161
6.4.2.2 37℃長時間下家用清潔劑抑菌效能統計檢定 162
6.4.2.3 37℃長時間下家用清潔劑接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值 164
6.4.3 37℃長時間下 22 種雨刷水清潔用品抑菌效能統計檢定 167
6.5 37℃長時間下追蹤 *L. pneumophila* 可培養性 169
第七章 討論 173
7.1 抑菌影響因子 173
7.1.1 清潔用品濃度 173
7.1.2 接觸時間 174
7.1.3 水溫 176
7.1.4 雨刷水清潔用品種類及成分 177
7.2 pH 及硬度影響 183
7.2.1 pH 影響 183
7.2.2 硬度影響 189
7.3 具活性但不具培養性 (Viable but nonculturable, VBNC)之 *L. pneumophila* 195
第八章 研究限制與未來建議 198
8.1 研究限制 198

doi:10.6342/NTU201704234

8.2 未來建議 199
第九章 結論 200
9.1 清潔用品品牌種類 200
9.2 清潔用品濃度 200
9.3 接觸時間 201
9.4 水溫 202
9.5 pH 與硬度影響 203
9.6 具活性但不可培養性 203
附錄 205
1. *L. pneumophil*a 可培養性濃度檢量線結果 205
2. 兩刷水清潔用品之抑菌實驗下物理化學因子結果 206
2-1 市售兩刷精之抑菌實驗下物理化學因子 206
2-2 家用清潔劑之抑菌實驗下物理化學因子 208
3. 兩刷水清潔用品於抑菌實驗下之物理化學因子散佈圖 210
3-1 25℃下市售兩刷精以添加 0.1 及 0.01 g/mL 接觸 2 時之物理化學因子散佈圖 210
3-2 25℃下家用清潔劑以添加 0.1 及 0.01 g/mL 接觸 2 時之物理化學因子散佈圖 211
3-3 25 及 37℃下市售兩刷精以添加 0.1 g/mL 接觸 2 時之物理化學因子散佈圖 . 212
3-4 25 及 37℃下家用清潔劑以添加 0.1 g/mL 接觸 2 時之物理化學因子散佈圖 . 213
3-5 37℃下市售兩刷精以添加 0.1 g/mL 接觸 30 日之物理化學因子散佈圖 214
3-5 37℃下家用清潔劑以添加 0.1 g/mL 接觸 30 日之物理化學因子散佈圖 215
參考文獻 216

doi:10.6342/NTU201704234

表目錄

表 1 論文內縮寫及對應的全名之清單 xxi

表 2 職業性駕駛人與退伍軍人病 3

表 3 退伍軍人菌於自然或人工水體檢出情形 6

表 4 探討過去所添加消毒/抑菌劑對嗜肺性退伍軍人菌的影響 11

表 5 探討抑菌物質相關影響因子 15

表 6 影響退伍軍人菌生長之物理化學因子 18

表 7 Buffered charcoal yeast extract agar with selective supplements (BCYEα agar)培養基配方 22

表 8 PBS 磷酸鹽緩衝液之配方 24

表 9 抑菌研究之儀器設備 25

表 10 測試之 12 種市售雨刷精 (CS)及 10 種家用清潔劑 (HD) 29

表 11 12 種市售雨刷精 (CS)之產品資訊 32

表 12 10 種家用清潔劑 (HD)之產品資訊 34

表 13 25℃抑菌實驗批次說明 42

表 14 37℃抑菌實驗批次說明 43

表 15 37℃長期追蹤實驗批次說明 47

表 16 37℃培養箱溫度記錄 52

表 17 *L. pneumophila* Real-time PCR 使用之試劑 54

表 18 *L. pneumophila* Real-time PCR 升溫程式 54

表 19 *L.pneumophila* DNA 標準品檢量線 56

表 20 抑菌實驗以可培養性 *L. pneumophila* 之偵測下限回推 58

表 21 廣義估計方程式統計清單 63

表 22 迴歸模式統計清單 67

表 23 雨刷水清潔用品異營性細菌與真菌檢測結果 (n=3) 69

doi:10.6342/NTU201704234

表 24 雨刷水清潔用品之物理化學特色(n=4) 71
表 25 計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值 77
表 26 計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.01 g/mL)60 及 120 分鐘之 *K* 值 84
表 27 五種市售雨刷精於不同稀釋濃度下之 *L. pneumophila* 培養力濃度(CFU/mL) 88
表 28 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加市售雨刷精 (0.1 及 0.01 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=96) 90
表 29 以廣義估計方程式分析 25℃下市售雨刷精種類、接觸時間 (min)及清潔用品濃度 (g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=66) 90
表 30 以 0.1 及 0.01 g/mL 雨刷精在 25℃下接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後之細菌濃度 (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L) 92
表 31 以迴歸模型檢定 pH 及硬度對 25℃下接觸市售雨刷精 (0.1 及 0.01 g/mL)於 120 分鐘時之 *L. pneumophila* 濃度 (Log CFU/mL)影響..... 93
表 32 計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值 99
表 33 計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.01 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值 106
表 34 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加家用清潔劑 (0.1 及 0.01 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=82) 109
表 35 以廣義估計方程式分析 25℃下家用清潔劑種類、接觸時間 (min)及清潔用品濃度 (g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=66) ... 109
表 36 以 0.1 及 0.01 g/mL 清潔劑在 25℃下接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後之細菌濃度 (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L) 111
表 37 以迴歸模型評估 pH 及硬度對 25℃下接觸家用清潔劑 (0.1 及 0.01 g/mL)於

doi:10.6342/NTU201704234

120 分鐘之 *L. pneumophila* 濃度 (Square root CFU/mL)影響 112
表 38 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加 21 種雨刷水清潔用品 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=93).....114
表 39 以廣義估計方程式分析 25℃下 21 種雨刷水清潔用品類型及接觸時間 (min)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=63).....114
表 40 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加 22 種雨刷水清潔用品 (0.01 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=88).....115
表 41 以廣義估計方程式分析 25℃下 22 種雨刷水清潔用品類型及接觸時間 (min)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=66).....115
表 42 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加 21 種雨刷水清潔用品(0.1 及 0.01 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=178).....116
表 43 以廣義估計方程式分析 25℃下 21 種雨刷水清潔用品類型、接觸時間 (min)及清潔用品濃度 (g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=126) 117
表 44 計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值 122
表 45 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下有無添加市售雨刷精 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=96)..... 125
表 46 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下市售雨刷精種類、接觸時間 (min)及水溫 (℃)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=66)..... 125
表 47 以 0.1 雨刷精在 25 及 37℃下接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後之菌濃度 (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L) 127
表 48 以迴歸模型檢定 pH 及硬度對 25 及 37℃下接觸市售雨刷精 (0.1 g/mL)於 120 分鐘時之 *L. pneumophila* 濃度 (Log CFU/mL)影響..... 128
表 49 計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值 134

doi:10.6342/NTU201704234

表 50 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下有無添加家用清潔劑 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=86) 137
表 51 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下家用清潔劑種類、接觸時間 (min)及水溫 (℃)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=60) 137
表 52 以 0.1 g/mL 清潔劑在 25 及 37℃下接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後之菌濃度 (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L) 139
表 53 以迴歸模型檢定 pH 及硬度對 25 及 37℃下接觸家用清潔劑於 (0.1 g/mL)於 120 分鐘時之 *L. pneumophila* 濃度 (Log CFU/mL)影響..... 140
表 54 以廣義估計方程式分析 37℃下有無添加 21 種雨刷水清潔用品 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=93)..... 141
表 55 以廣義估計方程式分析 37℃下 21 種雨刷水清潔用品類型及接觸時間 (min)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=63)..... 142
表 56 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下有無添加 21 種雨刷水清潔用品 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=182)..... 144
表 57 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下 21 種雨刷水清潔用品類型、接觸時間 (min)及水溫 (℃)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=126) 144
表 58 計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL) 3-30 日之 *K* 值 149
表 59 以廣義估計方程式分析 37℃下有無添加市售雨刷精 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL)之影響 (N=60) 152
表 60 以廣義估計方程式分析 37℃下市售雨刷精種類及接觸時間 (day)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL) 之影響 (N=36) 152
表 61 以 0.1 g/mL 雨刷精在 37℃下接觸 *L. pneumophila* 經 30 日後之菌濃度 (Log cells/mL)、pH 及硬度 (mg/L)..... 154
表 62 以迴歸模型檢定 pH 及硬度 37℃下接觸市售雨刷精 (0.1 g/mL)於 30 日之 *L.*

doi:10.6342/NTU201704234

pneumophila 濃度 (Log cells/mL)影響 155
表 63 計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL) 3-30 日之 *K* 值 160
表 64 以廣義估計方程式分析 37℃有無添加家用清潔劑 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL)之影響 (N=54) 163
表 65 以廣義估計方程式分析 37℃下家用清潔劑種類及接觸時間 (day)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL) 之影響 (N=30) 163
表 66 以 0.1 g/mL 清潔劑在 37℃下接觸 *L. pneumophila* 經 30 日後之菌濃度 (Log cells/mL)、pH 及硬度 (mg/L)..... 165
表 67 以迴歸模型評估 pH 及硬度對以 0.1 g/mL 清潔劑於 37℃下接觸 30 日之退伍軍人菌濃度 (Square root cells/mL) 166
表 68 以廣義估計方程式分析 37℃下有無添加 22 種雨刷水清潔用品 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL)之影響 (N=90) 168
表 69 以廣義估計方程式分析 37℃下 22 種雨刷水清潔用品類型及接觸時間 (day)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL) 之影響 (N=66) 168
表 70 雨刷水清潔用品於 37℃長期追蹤 *L. pneumophila* 可培養性結果 170
表 71 雨刷水清潔用品於 37℃長期追蹤已無可培養性 *L. pneumophila* 時其活性濃度 (n=3) 172
表 72 界面活性劑對微生物抑菌作用 181
表 73 彙整過去研究探討 pH 對退伍軍人菌影響 185
表 74 彙整過去研究硬度對退伍軍人菌影響 191
表 75 *L. pneumophila* 可培養性濃度檢量線 205
表 76 市售雨刷精於不同水溫及清潔用品濃度下接觸 *L. pneumophila* 於 2 時及 30 日 pH 及硬度結果 (n=3) 206
表 77 家用清潔劑於不同水溫及清潔用品濃度下接觸 *L. pneumophila* 於 2 時及 30 日 pH 及硬度結果 (n=3) 208

doi:10.6342/NTU201704234

圖目錄

圖 1 雨刷水清潔用品對 *L. pneumophila* 抑菌效能評估研究架構 21

圖 2 *L. pneumophila* 繼代之劃盤區域 26

圖 3 調配 7 支不同 *L. pneumophila* 濃度之稀釋流程 27

圖 4 嗜肺性退伍軍人菌 (*L. pneumophila*)之濃度檢量線建立流程 28

圖 5 異營性細菌及真菌測試流程 35

圖 6 退伍軍人菌抑菌實驗階段性測試 38

圖 7 短時間抑菌實驗流程 39

圖 8 25℃抑菌實驗流程 41

圖 9 長時間抑菌實驗流程 44

圖 10 37℃下長期追蹤活性 *L. pneumophila* 之實驗流程 46

圖 11 37℃下長期追蹤可培養性 *L. pneumophila* 之實驗 48

圖 12 水浴槽水溫之測量 (A)溫度計置入離心管內；(B)溫度計於水浴槽擺放圖 . 50

圖 13 25℃及 37℃水浴槽溫度記錄 50

圖 14 培養箱溫度之測量點位置示意圖 51

圖 15 *L. pneumophila* 以 Real-time 分析所得之 Amplification curve 55

圖 16 抑菌實驗樣本中 pH 與硬度測定流程 57

圖 17 統計分析架構 61

圖 18 迴歸模式分析流程 66

圖 19 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 雨刷精 (TM、GD、AA、CD)不同時間下可培養細菌濃度 73

圖 20 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 雨刷精 (CAP、CP、SN、GY、TY)不同時間下可培養細菌濃度 74

圖 21 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 雨刷精 (BP 及 BS)不同時間下可培養

doi:10.6342/NTU201704234

細菌濃度 75
圖 22 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL SF 雨刷精之(a)可培養細菌濃度及(b) Non-*L. pneumophila* 菌落(SF)不同時間下可培養細菌濃度 75
圖 23 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果 77
圖 24 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果 78
圖 25 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 雨刷精 (TM、CD、CAP、SF)不同時間下可培養細菌濃度 80
圖 26 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 雨刷精 (TY、BP、GY、AA、CP)不同時間下可培養細菌濃度 81
圖 27 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 雨刷精 (SN、BS、GD)不同時間下可培養細菌濃度 82
圖 28 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.01 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果 84
圖 29 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.01 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果 85
圖 30 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.5 g/mL 雨刷精 (GD、TY)不同時間下可培養細菌濃度 87
圖 31 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.02 g/mL 雨刷精 (AA、CAP、SN)不同時間下可培養細菌濃度 87
圖 32 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (MB、DW、MA、MG)不同時間下可培養細菌濃度 95
圖 33 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (WD、BL、AM)不同時間下可培養細菌濃度 96
圖 34 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (WB、SO、LT)不同時間下可

doi:10.6342/NTU201704234

培養細菌濃度 97
圖 35 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果 99
圖 36 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果 100
圖 37 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 清潔劑 (MB、BL)不同時間下可培養細菌濃度 102
圖 38 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 清潔劑 (DW、AM、WB、LT)不同時間下可培養細菌濃度 103
圖 39 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 清潔劑 (MG、MA、WD、SO)不同時間下可培養細菌濃度 104
圖 40 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.01 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果 106
圖 41 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.01 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果 107
圖 42 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 兩刷精 (TM、AA、GD、CD、CAP)不同時間下可培養細菌濃度 119
圖 43 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 兩刷精 (BP、CP、TY、GY、SN、BS)不同時間下可培養細菌濃度 120
圖 44 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售兩刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果 122
圖 45 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售兩刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果 123
圖 46 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (MB、MG、BL、MA)不同時間下可培養細菌濃度 130
圖 47 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (AM、DW、WB、WD)不同時

doi:10.6342/NTU201704234

間下可培養細菌濃度 131
圖 48 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (SO、LT)不同時間下可培養細菌濃度 132
圖 49 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果 134
圖 50 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果 135
圖 51 30 日內 *L. pneumophila* 於 37℃下接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (GD、BS、CP、SN、TM)及無清潔劑之控制組中活性菌濃度 146
圖 52 30 日內 *L. pneumophila* 於 37℃下接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (TY、BP、SF、GY、AA、CAP、CD)之活性菌濃度 147
圖 53 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)K 值 (30 日)結果 149
圖 54 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (30 日)、pH 及硬度值結果 150
圖 55 30 日內 *L. pneumophila* 於 37℃下接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (WD、DW、MA)及無清潔劑之控制組中活性菌濃度 157
圖 56 30 日內 *L. pneumophila* 於 37℃下接觸 0.1 g/mL 清潔劑(MG、MB、BL、AM、LT、SO 及 WB)之活性菌濃度 158
圖 57 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (30 日)結果 160
圖 58 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (30 日)、pH 及硬度值結果 161
圖 59 控制組於 37℃長期追蹤下可培養性濃度變化 (----LOD=2.5 CFU/mL).... 169
圖 60 可培養性 *L. pneumophila* 檢量線 205
圖 61 25℃下 0.1 及 0.01 g/mL 市售雨刷精接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 2 時之

doi:10.6342/NTU201704234

物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖 210
圖 63 25 及 37℃下 0.1 g/mL 市售雨刷精接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 2 時之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖 212
圖 64 25 及 37℃下 0.1 g/mL 家用清潔劑接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 2 時之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖 213
圖 65 37℃下 0.1 g/mL 市售雨刷精接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 30 日之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖 214
圖 66 37℃下 0.1 g/mL 家用清潔劑接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 30 日之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖 215

doi:10.6342/NTU201704234

List of Acronyms

表 1 論文內縮寫及對應的全名之清單

縮寫	英文全名	中文全名
WWF	Windscreen wiper fluid	雨刷水清潔用品
L. pneumophila	*Legionella pneumophila*	嗜肺性退伍軍人菌
CS	Commercial screenwash	市售雨刷精
HD	Household detergent	家用清潔劑
CFU	Colony-forming Unit	菌落數
EMA	Ethidium monoazide	溴化乙錠單疊氮溴
DNA	Deoxyribonucleic acid	脫氧核糖核酸
VBNC	Viable but nonculturable	具活性但不可培養
USA	United States of America	美國
HCl	Hydrochloric acid	鹽酸
NaOH	Sodium hydroxide	氫氧化鈉
NTC	No template control	空白樣本
SD	Standard deviation	標準差
CV	Coefficient of variation	變異係數
ND	Not detected	未檢出
LOD	Limit of Detection	偵測極限
R^2	R square	迴歸係數
GEE	Generalized estimating equation	廣義估計方程式
Q-Q plot	Quantile-Quantile Plot	常態機率圖
VIF	Variance Inflation Factor	膨脹係數
K value	Kinetics value	微生物易感因子

doi:10.6342/NTU201704234

第一章 前言

過往研究退伍軍人病 (Legionellosis)零星個案報告中，發現職業駕駛人所占比例甚高，並於汽車內雨刷水箱檢測出退伍軍人菌 *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*)。於英國健康保護署的試驗報告中發現未添加雨刷精車輛可檢出退伍軍人菌，而添加雨刷精車輛則無。而國內研究利用問卷與實驗分析調查客運、計程車及自用車等雨刷水箱系統中退伍軍人菌分布情形，則發現駕駛人員習慣添加雨刷精 (Commercial screenwash ,CS)或家用清潔劑 (Household detergent ,HD)至雨刷水箱中，且添加此兩類型清潔用品之雨刷水箱內退伍軍人菌的檢出情形不一致。

但除使用不同種類雨刷水清潔用品 (Windscreen wiper fluid ,WWF)可能影響退伍軍人菌檢出情形外，雨刷水清潔用品添加濃度、接觸時間及溫度…等不同環境因子是否對退伍軍人菌生長或活性表現造成影響，係為值得探討之因子。

第二章 文獻回顧

2.1 嗜肺性退伍軍人菌 (*Legionella pneumophila*)與退伍軍人病 (Legionellosis)

嗜肺性退伍軍人菌 (*Legionella pneumophila*) 為革蘭氏陰性桿菌，無莢膜且不產生孢子 (Molofsky & Swanson, 2004)。過往文獻指出約有 80%的退伍軍人病(Legionellosis)是由嗜肺性退伍軍人菌引起 (Fields et al., 2002)，目前嗜肺性退伍軍人菌之 14 種血清型中又以第一型最常引發退伍軍人病。臨床症狀包括退伍軍人症(Legionnaires' disease)以及龐提亞克熱 (Pontiac fever)兩種 (Fields, 1996)，主要以空氣、飛沫或水霧經由呼吸道吸入為主要感染途徑 (Fields et al., 2002; Kurtz et al., 1982; Muder et al., 1986)。

退伍軍人症為一種急性肺炎，患者死亡率可達 15%，於 1976 年美國賓州費城曾經爆發大規模的感染。而根據過往研究指出，有 80%的退伍軍人症病例為零星偶發個案 (sporadic cases)(Den Boer et al., 2006)。於英國健康保護局調查，在英國

doi:10.6342/NTU201704234

的英格蘭 (England)與威爾斯 (Wales)地區，每年有一半以上的退伍軍人症個案屬於零星偶發個案 (Health Protection Agency, 2007)，因此了解造成感染的危險因子，為近年來公共衛生之探討議題。

表 2 中指出，過去研究針對退伍軍人症零星個案研究提及感染之危險因子。在荷蘭發現罹患糖尿病 (OR=5.4，95% CI 1.0-29)、吸菸者 (OR=5.6，95% CI 2.6-12)及職業駕駛 (OR=3.0，95% CI 0.8-11)等等為感染退伍軍人症之風險因素 (Den Boer et al., 2006)，其中職業駕駛也於英國、土耳其及日本等國家是共通的危險因子，顯示職業駕駛為伺機性感染退伍軍人症的高風險族群(Polat et al., 2007; Sakamoto et al., 2009; Wallensten et al., 2010)。而探討駕駛人可能得到退伍軍人病的潛在風險原因，於 2010 年，Wallensten 等人以問卷調查駕駛人員在車內待的時間及可能性暴露來源相關問題，發現職業駕駛人開車經過工業區及雨刷水箱未添加雨刷精，其得到退伍軍人病的比值高，尤其是雨刷水箱未添加雨刷精者，其風險比值達 47.2 (95% CI 3.7-603.6)。

綜合上述，職業駕駛人所駕駛之汽車，檢測汽車內部系統以了解退伍軍人菌之分布情形及建立預防或改善措施值得探討。

doi:10.6342/NTU201704234

表 2 職業性駕駛人與退伍軍人病

國家	研究設計	研究樣本	分析方法	研究結果	文獻來源
荷蘭	前瞻性病例對照研究	1998 年 7 月至 2001 年 7 月 228 名退伍軍人病案例與 293 名對照案例	問卷調查-主要調查在休閒或假期這段期間當中，找出可能產生氣膠的水源。	糖尿病患者- 比值比 OR = 5.4, 95%CI: 1.0–29 抽菸者- 比值比 OR = 5.6, 95%CI: 2.6–12 職業駕駛人- 比值比 OR = 3.0, 95%CI: 0.8–11	Den Boer et al., 2006
英國	-	2001 年至 2006 年 851,000 名職業駕駛人有 145 為退伍軍人病案例。 27,061,000 名非職業駕駛人中有 782 為退伍軍人病案例。	The Office for National Statistics on the UK workforce 以統計分析零星案例職業。	職業駕駛人- 相對危險度 RR = 5.9, 95%CI: 5.0–6.9	Health Protection agency, 2007
土耳其	血清調查	2004 年 2 月至 2004 年 8 月 79 男性 (其中 63 名為公車司機與 16 名為司機助理)	以間接免疫熒光檢測血液樣本。	公共汽車駕駛血清內退伍軍人菌陽性樣本為 19% (12/63)，而駕駛助理血清樣本呈現陰性反應。	Polat et al., 2007
日本	流行病學調查	2006 年 4 月至 2007 年 3 月 527 名退伍軍人病案例	問卷調查及血清樣本以酵素結合免疫吸附分析法檢測嗜肺性退伍軍人菌。	其中 189 名案例為職業駕駛人 (35.9%)，其中運輸工業的人員占 13.8% (95% CI 8.9-18.7)	Sakamoto et al., 2009
英國	病例對照研究	2008 年 7 月 12 至 2009 年 3 月 9 75 名退伍軍人病案例與 67 名對照案例	問卷調查-主要調查司機及乘客在車內待的時間及可能性暴露來源。	開往工業區者 比值比 OR =7.2, 95%CI: 1.5–33.7 雨刷水箱未添加雨刷精者 比值比 OR =47.2, 95%CI 3.7–603.6	Wallensten et al., 2010

doi:10.6342/NTU201704234

2.2 退伍軍人菌於車體檢出情形

延續前一小節所述，彙整近年針對車體環境退伍軍人菌分布情形之研究如表 2。在日本，Sakamoto 等人於 2009 年以抹拭方法搭以培養法與定性 DNA 方法分析汽車空調系統內蒸發器退伍軍人菌檢出情形，發現有 50% (11/22)退伍軍人菌的檢出。在希臘，Alexandropoulou 等人以抹拭法在 22 輛車內空調過濾網取樣檢測，其嗜肺性退伍軍人菌陽性檢出率為 32% (7/22)，兩篇研究皆推測空調系統如空調濾網可作為外界及車體內部之間的橋樑，空調濾網可能攔截空氣中的退伍軍人菌並再次釋出，使駕駛人員或乘客暴露之(Alexandropoulou et al., 2013; Sakamoto et al., 2009)。

英國健康保護署研究調查車體有無添加雨刷精退伍軍人菌檢出情形，16 輛添加雨刷精車輛皆未檢出退伍軍人菌，未添加雨刷精車輛陽性檢出為 20% (1/5)，推測未添加雨刷精之雨刷水箱內，可能因有沉積物且富含其他微生物或作為退伍軍人菌之營養來源而使退伍軍人菌存活其中(Wallensten et al., 2010)。Palmer 等人於 2012 年，調查 24 輛有添加雨刷精車體皆未檢測出退伍軍人菌而未添加雨刷精車體退伍軍人菌陽性檢出率為 16.7% (1/6) (Palmer et al., 2012)。另外，於美國 Schwake 等人於 2012 年間，採集 12 輛巴士的雨刷水箱，共採集 3 次，結果發現，雨刷水箱內退伍軍人菌屬檢出率為 74% (20/27)，菌濃度範圍為 4~8.1×10^4 CFU/mL，其中六輛巴士雨刷水箱以 PCR 分析檢測出嗜肺性退伍軍人菌，由此可知，雨刷水箱為退伍軍人菌孳生源。

於國內研究，2012 年許雅婷研究指出大台北地區小型車雨刷水系統，發現退伍軍人菌檢出率為 74.2 %至 89.5 %，檢出濃度為 79 cell/mL 至 199 cell/mL (許雅婷, 2012)。2015 年徐藝瑋研究則發現退伍軍人菌檢出率為 33.3%至 47.7%，檢出濃度為 5 至 10 cell/mL，並結合 2012 年徐雅婷問卷調查職業駕駛人對雨刷水系統的維護措施，發現有 91 輛車有添加雨刷水清潔用品 (WWF)，其中添加市售雨刷精(CS)占 49.5%，而添加家用清潔劑(HD)占 50.5%。此外，更發現添加家用清潔劑之退伍軍人菌檢出率 41%比添加市售雨刷精檢出率 64%低(OR=0.4, 95% CI 0.7–0.93)

doi:10.6342/NTU201704234

(徐藝瑋, 2015)。

綜前所述，顯示雨刷水系統為退伍軍人菌可能孳生源，故於文獻中曾提到英國健康保護署建議民眾添加雨刷精以減少退伍軍人菌的生長，，而在台灣，則因國情不同，駕駛人有添加不同類型雨刷水清潔用品之習慣，而添加不同類型雨刷水清潔用品是否對退伍軍人菌生長情形造成影響是值得關注的。

doi:10.6342/NTU201704234

表 3 退伍軍人菌於自然或人工水體檢出情形

位置	環境樣本	分析方法	研究結果	國家	文獻來源
路面上的水坑	路邊上積水	2007 年 7 月至 10 月 樣本經酸處理後進行以 WYOα plate 培養 (7 days)，並通過需求測定後，將生成菌落以 PCR 分析方法定性之。	路面上水坑內的積水檢測結果-嗜肺性退伍軍人菌之陽性檢出率為 38.9% (7/18)。	日本	Sakamoto et al., 2009
公共溫泉浴場	溫泉水	樣本經酸處理後進行以 glycine–vancomycin–polymyxin B media 培養 (37℃,5 days)，生成後之菌落數以 fluorescent antibody testing kit 檢測定性之。	溫泉水檢測結果-嗜肺性退伍軍人菌之陽性檢出率為 21% (4/19)。	台灣	Lin et al., 2007
噴泉及泳池	噴泉水及泳池濾網	將樣本帶去 Wisconsin State Laboratory of Hygiene (WSLH) 以培養法分析定性之。	在某旅館 A 的噴泉可測得退伍軍人屬濃度為 90 CFU/mL；泳池濾網可測得退伍軍人屬濃度為 150 CFU/mL。	美國	Fields et al., 2001
工業冷卻水塔	冷卻水	樣本以 Aces buffered charcoal yeast extract (CYE) 介質培養，並利用顯微鏡觀察定性之。	14 個冷卻水塔有 6 個檢測到嗜肺性退伍軍人菌 42.9% (6/14)。	英國	Kurtz et al., 1982

doi:10.6342/NTU201704234

位置	環境樣本	分析方法	研究結果	國家	文獻來源
車輛內部空調系統	空調系統內之蒸發器	以抹拭方法，並以培養法及 LAMP 試劑定性之。	在空調系統內之蒸發器檢設結果-退伍軍人菌屬之陽性檢出率為 50% (11/22)。	日本	Sakamoto et al., 2009
	空調過濾網	樣本經酸處理後以 GVPC 培養基培養 (37℃, 10 days)，並通過需求測定後，將生成菌落以 Real-Time PCR 分析方法定性之。	在空氣濾膜上檢測結果-嗜肺性退伍軍人菌之陽性檢出率為 32% (7/22)。	希臘	Alexandropoulou et al., 2013
車輛雨刷水系統	雨刷水箱	試驗研究 (Health Protection Agency, 2006)檢測 21 輛車。	21 輛車之嗜肺性退伍軍人菌陽性檢出率- 有添加雨刷精車輛 0% (0/16)； 未添加雨刷精車輛 20% (1/5)。	英國	Wallensten et al., 2010
	雨刷水箱	橫斷性研究，檢測 30 輛車。	30 輛車之嗜肺性退伍軍人菌陽性檢出率- 有添加雨刷精車輛 0% (0/24) 未添加雨刷精車輛 16.7% (1/6)。	英國	Palmer et al., 2012
	雨刷水箱	2012 年間檢測 12 輛巴士雨刷水箱，共測三次。於水箱採樣並以培養法及 PCR 分析方法定性之。	12 輛車之嗜肺性退伍軍人菌陽性檢出率- 培養性退伍軍人菌屬檢出率 74% (20/27)，菌濃度範圍為 4~8.1×10^4 CFU/mL。其中六輛巴士雨刷水箱以 PCR 分析檢測出嗜肺性退伍軍人菌	美國	Schwake et al., 2015

doi:10.6342/NTU201704234

位置	環境樣本	分析方法	研究結果	國家	文獻來源
	雨刷水箱	以問卷調查駕駛人保養雨刷水的方法。以 qPCR 及培養法分析 19 輛計程車及 31 輛自用車。	雨刷水系統檢測結果-退伍軍人菌屬陽性檢出率為 74.2%-89.5% (菌濃度為 79-199 cells/mL)	台灣	許雅婷，2012
	雨刷水箱	以問卷調查駕駛人保養雨刷水的方法。以 qPCR 及培養法分析 42 輛卡車及 44 輛客運巴士。	雨刷水系統檢測結果-退伍軍人菌屬陽性檢出率為 33.3%-47.7% (菌濃度為 5-10 cells/mL) 有添加雨刷精者 91 (包含 2010 年許雅婷研究調查之自用車)，添加市售雨刷精 Commercial screenwash 占 49.5%，而添加家用清潔劑 Household detergent 占 50.5%，其中發現退伍軍人菌的檢出於添加 CS (64%)大於 HD (41%) (OR =0.4，95% CI 0.7–0.93)	台灣	徐藝瑋，2015

[a] Unpublished data (Wallensten et al., 2010)

doi:10.6342/NTU201704234

2.3 雨刷水清潔用品 (Windscreen wiper fluid ,WWF)與水體環境處置措施

本研究探討之雨刷水清潔用品 (WWF)，分別指市售雨刷精 (CS)及家用清潔劑 (HD)，在功能上，市售雨刷精主要特性是使汽車玻璃減少黏性，防靜電、防腐蝕、防灰塵與防紫外光…等，另外也對於橡膠、塑料材質雨刷具有保持潤滑，為防止材質硬化龜裂 (Becalski & Bartlett, 2006; Chong & Hamersma, 1995; Jackson & Payne, 1995)。而家用清潔劑之功能亦是減少水中油汙或者是降低表面上的灰塵附著，且功能不僅可清潔玻璃表面，亦可以用於衣服、沙發、地板…等多種材質表面(許正忠 et al., 2011)。

彙整過去對於水體環境使用的消毒、抑菌劑或措施如紫外線照射、銅、銀金屬離子、氧化劑及非氧化劑等添加於水中，以觀察對嗜肺性退伍軍人菌的影響如表 4 示。Muraca 等人觀察常用於供水系統的紫外線，以 30,000 mW-s/cm^2 紫外線照射 5 Log CFU/mL 並照射 20 分鐘，濃度可降低約 3 Log CFU/mL (Muraca et al., 1987)。金屬離子中銅與銀也是常作為消毒醫院冷熱水系統，Shih 與 Lin 發現以 0.1 與 0.01 mg/L 銅離子與銀離子接觸嗜肺性退伍軍人菌 2.5 小時，即可造成 6 Log 的減損(Shih & Lin, 2010)。氧化劑與非氧化劑亦常添加於供水系統及冷卻水塔，如氧化劑中之二氧化氯、氯與臭氧(Delgado-Viscogliosi et al., 2009; Domingue et al., 1988; Walker et al., 1995)，而非氧化劑則如戊二醛與 DBNPA 等，兩者亦有去探討對嗜肺性退伍軍人菌殺菌情形(Delgado-Viscogliosi et al., 2009; Gao et al., 2001; Thomas et al., 1999)。另外，Delgado-Viscogliost 等人以滲透劑，如甲苯與異丙醇，探討不同濃度及不同物質滲透劑對嗜肺性退伍軍人菌的滲透作用，使其抑菌情形為何。其結果發現甲苯濃度越高，越能有效減損嗜肺性退伍軍人菌的培養性及生長性，而 70%異丙醇經接觸 1 小時候，亦減少嗜肺性退伍軍人菌約 3.5 Log 活性濃度及 6 Log 培養性濃度(Delgado-Viscogliosi et al., 2009)。此外，對於溫泉水的環境，亦有研究將植物部分萃取作為精油去添加(Chang et al., 2008; Furuhata et al., 2003)。對於上述所提之水體環境常出現的退伍軍人菌，已有許多研究探討不同殺菌消毒方法。

doi:10.6342/NTU201704234

然而對於車體內部系統的水體環境，如 2.2 節所提雨刷水箱為潛在可能的孳生源，目前於英國健康保護以試驗調查發現添加雨刷精的車輛，得到退伍軍人菌的檢出為零 (Wallensten et al., 2010)，建議民眾要添加雨刷精避免暴露到退伍軍人菌，另外也於 2012 年，Palmer 等人的實驗也建議添加雨刷 (約 10 ppm)，即可減少退伍軍人菌的孳生 (Palmer et al., 2012)，故雨刷精是近年來值得探討對嗜肺性退伍軍人菌的抑菌影響。於 2015 年，Schwake 等人以三種不同品牌 (A、B 與 C 代稱)雨刷精與 5 Log CFU/mL 的 *L. pneumophila* 接觸並追蹤至菌濃度為小於 1 CFU/mL 為止，其結果發現雨刷精品牌 C (成分為 1% 甲醇及其他清潔物質)最佳，可在 0-1 天內達低於 1 CFU/mL；其次為雨刷精品牌 B (含 0.03–0.16% 乙二醇单丁醚, 甲醇與異丙醇，並結合未超過 0.18%清潔物質)，約 8-16 天達低於 1 CFU/mL；最差為雨刷精品牌 A (含 0.25–1.25% 異丙醇、0.025–0.25% 乙二醇及其他清潔物質)，其追蹤時間甚至超過 70 天仍還是有約 5 Log CFU/mL (Schwake et al., 2015)。由此可知，添加了刷精，因所含成分不同，造成嗜肺性退伍軍人菌生存影響程度也不同。而目前現有的背景知識，僅一篇有研究雨刷精對退伍軍人菌的影響，除此之外，於台灣研究調查職業駕駛人所添加雨刷水清潔用品種類多元，亦反映退伍軍人菌的檢出情形不一樣，故值得更深入探討。

doi:10.6342/NTU201704234

表 4 探討過去所添加消毒/抑菌劑對嗜肺性退伍軍人菌的影響

化學消毒方法	消毒/抑菌劑	建議濃度	接觸時間	應用場所	殺菌結果	文獻來源
紫外線照射	-	30,000mW-s/cm^2	20 分鐘	公共飲水系統/醫院冷熱水系統	5 Log CFU/mL 嗜肺性退伍軍人菌經 20 分鐘的紫外線照射，菌濃度降至 1×10^2-2×10^2 CFU/mL	Muraca et al., 1987
金屬離子	銅離子	0.1 mg/L 的銅離子	2.5 小時	醫院冷熱水系統	造成嗜肺性退伍軍人菌濃度減損 6 Log 程度。	Shih & Lin., 2010
	銀離子	0.01 mg/L 的銀離子	2.5 小時	醫院冷熱水系統	造成嗜肺性退伍軍人菌濃度減損 6 Log 程度。	Shih & Lin., 2010
氧化劑	二氧化氯 (Chlorine dioxide)	50-80 mg/L	1 小時	醫院冷熱水系統	添加約 50-80 mg/L ClO_2 至水體環境 1 個小時，使最終環境殘留約 3-5 mg/L，無嗜肺性退伍軍人菌檢出。	Walker er al., 1995
	氯 (Chlorine)	0.1–1.5 mg/L	0, 15, 30, 60 分鐘	供水系統	0.3 mg/L 氯可造成嗜肺性退伍軍人菌失去培養性，大於 0.5 mg/L 氯則造成核酸的破損。	Delgado-Viscogliost et al., 2009
	臭氧 (Ozone)	0.1–0.3 mg/L	5 分鐘	實驗室分析模擬冷卻水塔	造成對嗜肺性退伍軍人菌有 99%殺菌率	Domingue et al., 1998

doi:10.6342/NTU201704234

化學消毒方法	消毒/抑菌劑	建議濃度	接觸時間	應用場所	殺菌結果	文獻來源
非氧化劑	戊二醛 (Glutaraldehyde)	500 mg/L	30 分鐘, 1, 6, 24 and 48 小時	供水系統	30 分鐘造成嗜肺性退伍軍人菌失去培養性，DNA 的破損程度也下降很快。	Delgado-Viscogliost et al., 2009
	2,2-dibromo-3-nitropropionamide (DBNPA)	8 mg/L	3 小時	冷卻水塔	造成嗜肺性退伍軍人菌濃度減損 3 Log 程度。	Thomas et al., 1999
		15 mg/L	3 小時	冷卻水塔	造成嗜肺性退伍軍人菌濃度減損 4 Log 程度。	Gao et al., 2002
滲透劑	甲苯 (Toluene)	0.1%, 1%, and 5%	1 小時	-	隨著濃度增加至 5%，嗜肺性退伍軍人活性下降，且培養性未檢出	Delgado-Viscogliost et al., 2009
	異丙醇 (Isopropanol)	70%	1 小時	-	對嗜肺性退伍軍人菌活性濃度減損 3.5 Log 程度與培養性濃度減損 6.6 Log 程度	Delgado-Viscogliost et al., 2009
精油	枸杞（Citrus paradisi）種子萃取物	98-50,000 mg/L	1, 10, 60 分鐘	溫泉水/公共浴場	最大抑制 (90%)*L. pneumophila* serogroup1、3、5 與 6 之抑菌濃度為(98-390 mg/L)。 以最小殺菌濃度評估枸杞之萃取物，隨著接觸時間增加，殺菌效果越來越強，從一分鐘 5.0×10^4 mg/L，到 60 分鐘時殺菌濃度可達 3.1×10^3 mg/L。	Furuhata et al., 2003

doi:10.6342/NTU201704234

化學消毒方法	消毒/抑菌劑	建議濃度	接觸時間	應用場所	殺菌結果	文獻來源
	土肉桂 (Cinnamomum osmophloeum)	200, 500, 1000 and 2000 mg/ml	10–60 分鐘	溫泉水	當肉桂等精油濃度為 1000 mg/mL 於 10 分鐘及 60 分鐘即可對嗜肺性退伍軍人 100%殺菌。98%肉桂 cinnamaldehyde 純度越高，對嗜肺性退伍軍人菌抑菌效果較佳 (P<0.001)	Chang et al., 2008
雨刷精	**雨刷精品牌 A** (約含 1% 甲醇及其他清潔物質) **雨刷精品牌 B** (含 0.03–0.16% 乙二醇单丁醚, 甲醇與異丙醇，並結合未超過 0.18%清潔物質) **雨刷精品牌 C** (含 0.25–1.25% 異丙醇、0.025–0.25% 乙二醇及其他清潔物質)	添加濃度為廠商建議稀釋倍數的一半	於 37°C追蹤至 73 天或菌濃度小於 1 CFU/mL 於 25°C追蹤至 70 天或菌濃度小於 1 CFU/mL	實驗室分析模擬雨刷水箱	最佳者為雨刷精品牌 C 可在 0-1 天內造成嗜肺性退伍軍人菌小於 1 CFU/mL。其次為雨刷精品牌 B 約 8-16 天才使菌濃度小於 1 CFU/mL。最差為雨刷精品牌 A，時間甚至超過 70 天仍還是有約 5 Log CFU/mL。	Schwake et al., 2015

doi:10.6342/NTU201704234

2.4 抑菌相關影響因子與退伍軍人菌生長因子

為了解抑菌物質對微生物抑菌或殺菌效能，其影響因素為接觸時間、濃度、物理化學因子與溫度等，另外微生物本身結構、外界物質及生理狀態亦為影響抑菌物質是否能有效抑制，彙整抑菌實驗所探討相關影響因子如表 5 所示。以接觸時間來評估抑菌物質的效果，通常又分短期及長期，主要觀察隨著時間增長，抑菌物質與微生物交互影響會有什麼樣的變化，短期時間如過去研究會以短則 1~60 分鐘至 2 天，長期則會追蹤至七十多天等，除了可以觀察微生物隨著時間拉長，菌濃度下降以顯示抑菌物質的時間效應關係，也以接觸時間的長短作為比較不同物質抑菌效能 (Chang et al., 2008; Delgado-Viscogliosi et al., 2009; Schwake et al., 2015; Zhu et al., 2016)。另外 Delgado-Viscogliosi 等人，以戊二醛接觸 *L. pneumophila*，觀察其培養性及活性影響狀況為何，於接觸時間 30 分鐘時可培養性 *L. pneumophila* 會低於偵測下限，雖仍有活性但也有大幅下降的現象，至最後追蹤至 48 時，活性 *L. pneumophila* 有逐漸增生的現象 (Delgado-Viscogliosi et al., 2009)，亦也呈現了微生物生理狀態所受的影響程度不一樣。

抑菌物質的濃度亦是評估抑菌效能的指標，以評估最佳抑制濃度，亦以濃度的多寡觀察對微生物生理狀態的影響 (Chang et al., 2008; Delgado-Viscogliosi et al., 2009; Zhu et al., 2016)。除此之外，抑菌物質不同成分或比例也會對抑菌效果有所差異 (Belmessieri et al., 2017; Chang et al., 2008; Fatma et al., 2016; Schwake et al., 2015)。除了抑菌物的濃度、成分及接觸時間的長短可以觀察對微生物的抑菌效能好壞，微生物的細胞結構也反映對抑菌物質感受程度不同，如革蘭氏陽性菌及陰性菌結構上的不同，能抵抗物質的抑制效果又是不一樣的現象 (Belmessieri et al., 2017; Fatma et al., 2016)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 5 探討抑菌物質相關影響因子

抑菌物質	菌種	探討相關影響因子	結果	文獻來源
雨刷精	**Gram-negative** 可培養性 *L. pneumophila*	(1)雨刷精品牌 (2)追蹤時間 (追至 73 天或小於 1 CFU/mL) (3)溫度 (25℃ &37℃)	(1)不同雨刷精成分不一，造成對 *L. pneumophila* 生長影響不一。 (2)以物質接觸 *L. pneumophila* 後追蹤其生長狀況，時間越長越顯示雨刷精對微生物無影響。 (3) *L. pneumophila* 於 37℃下比 25℃下較有增生的情形(濃度從 2.5×10^3 CFU/mL 增生至 9.8×10^3 CFU/mL)。	Schwake et al., 2015
土肉桂 (*C. osmophloeum*)	**Gram-negative** 可培養性 *L. pneumophila*	(1)精油種類 (2)接觸時間 (10, 60 分) (3)精油濃度 (4) *L. pneumophila* 濃度 (5)土肉桂純度	(1)肉桂醛和芳樟醇物質展現出有殺菌的效果。 (2)隨著接觸時間拉長，抑菌效果越佳。 (3)對不同菌濃度，其所添加物質濃度也有所調整。 (4)土肉桂純度越高，對 *L. pneumophil* 抑菌效果較佳(殺菌率可達 100%)。	Chang et al., 2008
戊二醛 (Glutaraldehyde) 氯 (Chlorine)	**Gram-negative** 可培養性、總及活性 *L. pneumophila*	(1)物質濃度 (2)接觸時間: 短期 (0, 15, 30, 60 分) 長期 (30 分, 1, 6, 24 and 48 時) (3)退伍軍人菌生理狀態	(1)氯 (Chlorine) 當濃度為 0.3 mg/L 造成培養性下降 當濃度為 0.5 mg/L 造成核酸的破壞 (2)戊二醛 (Glutaraldehyde) (濃度為 500 mg/L) 接觸 30 分鐘後，培養性結果低於偵測下限及活性結果大幅下降 (下降約 3.5 Log GU)，而拉長至第二天，活性結果逐漸增加 (回升約 1 Log GU)。	Delgado-Viscogliost et al., 2009

doi:10.6342/NTU201704234

抑菌物質	菌種	探討相關影響因子	結果	文獻來源
銀奈米氧化鎂 (Ag-MgO nanocomposite)	**Gram-negative** *E. coli*	(1)物質濃度 (2)接觸時間 (10-60 分，每 10 分鐘觀察一次)	1% Ag-MgO 抑菌效果最佳，約 12 分鐘，菌濃度從 7 Log CFU/mL 減至一半，20 分鐘，就可達 ND。	Zu et al., 2016
甲基葡萄糖苷聚氧乙烯醚 (Methyl glycopyranoside ethers)	**Gram-positive** *L. monocytogenes* *S. aureus* *E. faecalis* **Gram-negative** *Escherichia coli* *P. Aeruginosa*	(1)物質成分 (2)張力大小 (3)革蘭氏陰性菌與陽性菌	(1)烷氫鍊長度越長，造成表面張力低，抑菌效果越好。 (2)革蘭氏陽性菌比陰性菌受到的影響較多。	Belmessieri et al., 2017
酯類陽性界面活性劑	**Gram-positive** *S. aureus* *B. subtilis* **Gram-negative** *E. coli* *P. aeruginosa* **Fungal strain** *C. albicans*	(1)物質成分 (2)革蘭氏陰性菌、陽性菌與真菌	(1)氫鍊內碳數越少，抑菌效果越好。 (2)對微生物造成的抑制面積，對真菌抑菌較佳 (20~21 mm)，其次是革蘭氏陽性菌 (11~19 mm)，而革蘭氏陰性菌則是影響小或甚至無影響 (10~11 mm)。	Fatma et al., 2016

doi:10.6342/NTU201704234

對於退伍軍人菌來說，水體環境中的物理化學因子亦是影響退伍軍人菌生長如表 6 所示。過去研究顯示，溫度是一個影響退伍軍人菌生長的條件，顯示溫度對退伍軍人菌生長有正向影響，如 Schwake 等人研究可培養性 *L. pneumophila* 於 37℃與 25℃下長期追蹤生存狀況，發現 37℃下有增生的情形，而 Karki & Le Cann 則在相對低溫的環境下，對於退伍軍人菌屬陽性樣本所測得溫度為 20.15，而因性樣本溫度為 16.74℃，顯示退伍軍人菌檢出與溫度有正相關 (OR= 1.06, 95%CI= 1.03~1.10, p= 0.001)(Karki & Le Cann, 2014; Schwake et al., 2015)，但高過一定溫度如 Lasheras 等人觀察到溫度達 50℃，低於 50℃下退伍軍人菌屬的檢出率為 80.6% (54/75；p= 0.004)。pH 亦顯示對退伍軍人菌生長有影響，過去研究顯示 pH 越高退伍軍人菌的檢出則越高 (Karki & Le Cann, 2014; Leoni et al., 2005; Mouchtouri et al., 2007)，另外也有研究觀察到 pH>8 時，*L. pneumophila* 培養力下降 (Chang et al., 2008; Ohno et al., 2003)。而對於硬度探討對退伍軍人菌生長影響較少，以 Lasheras 等人對水樣測量硬度，結果發現陽性檢出樣本硬度達 2.48 mg/L (95% CI 2.2-2.76)，陰性樣本硬度達 1.72 mg/L (95% CI 1.44-2.02)，顯示硬度相對高者，陽性樣本檢出高 (Lasheras et al., 2006)。

對於雨刷水清潔用品的種類、添加濃度及接觸時間，仍未有一個明確的抑菌機制，此外，雨刷水箱內溫度於 Schwake 等人調查，除了室溫 25℃的環境下，時常於正中午時，雨刷水箱內溫度可高達 37℃，而溫度的高低是否造成退伍軍人菌在接觸抑菌物質同時，有不一樣的抑菌效能結果。且雨刷精造成雨刷水箱內水體的物理化學因子如 pH 及硬度，是否亦影響退伍軍人菌的生長，亦值得探討。

doi:10.6342/NTU201704234

表 6 影響退伍軍人菌生長之物理化學因子

指標	菌種	採樣地點	結果	文獻來源
溫度	可培養性 *L. pneumophila*	雨刷水箱	*L. pneumophila* 於 37℃下比 25℃下較有增生的情形 (濃度從 2.5×10^3 CFU/mL 增生至 9.8×10^3 CFU/mL)。	Schwake et al., 2015
	可培養性 *Legionella spp.*	熱水系統	*Legionella species* 檢出率，在溫度<50℃達 80.6% (54/75；p= 0.004)	Lasheras et al., 2006
	Legionella	冷卻水塔及水管	陽性樣本溫度= 20.15℃ (95% CI 18.79~21.52)；陰性樣本溫度= 16.74℃ (95%CI= 15.68~17.81)。 *Legionella* 的檢出與水溫高低呈正相關 (OR= 1.06, 95%CI= 1.03~1.10, p= 0.001)	Karki and Le., 2014
pH	可培養性 *L. pneumophila*	溫泉水	退伍軍人菌於 4<pH<6 的培養力比 8<pH<10 來的較佳。 pH 在 Univariate analysis 當中具顯著影響退伍軍人菌的生存 (p<0.01)	Chang et al., 2008
	可培養性 *L. pneumophila* *Legionella spp.*	水系統	pH>7.8 之檢出率 16.5% (sample/total=28/170)；pH<7.8 之檢出率 10.1%(84/128)，兩者相差 1.6 倍，具顯著差異(p=0.01)，顯示呈現正向趨勢	Mouchtouri et al. 2007
	可培養性 *L. pneumophila* *Legionella spp.*	熱水系統	陽性樣本 pH=7.2±0.3；陰性樣本 pH=6.9±0.3，兩者達顯著差異 p<0.0001。 對於培養性 *L. pneumophila* 檢出與 pH 呈正相關(p<0.0001；r=0.37)	Leoni et al., 2005
	Legionella	冷卻水塔及水管	陽性樣本 pH= 8.27 (95%CI= 8.17~8.38)；陰性樣本 pH= 7.99 (95%CI= 7.93~8.05)。 *Legionella* 的檢出與 pH 高低呈正相關 (OR= 5.05, 95%CI= 2.55~10.03, p<0.001)	Karki and Le., 2014
	可培養性、總及活性 *L. pneumophila*	溫泉水	5≤pH≤8 退伍軍人菌並無影響，當 pH 高於 8 時，退伍軍人菌培養力下降	Ohno et al., 2003
硬度	可培養性 *Legionella spp.*	熱水系統	陽性檢出樣本平均硬度達 2.48 mg/L (95% CI 2.2-2.76)，陰性樣本平均硬度達 1.72 mg/L (95% CI 1.44-2.02)，顯示硬度相對高者，陽性樣本檢出高。	Lasheras et al., 2006

doi:10.6342/NTU201704234

第三章 研究目的

過往研究顯示退伍軍人病零星式案例中以職業駕駛人為比例相對高的族群，故進一步調查汽車如空調中濾網及雨刷水箱，亦檢測出退伍軍人菌。並已發現雨刷水箱添加雨刷精可抑制退伍軍人菌生長，故近年持續推廣車體添加雨刷精之消毒策略。於 2015 年美國 Schwake 等人研究則以添加不同品牌雨刷精觀察退伍軍人菌生存情況，顯示了不同成分對抑制退伍軍人菌生長情況不一。在國內調查職業駕駛人添加雨刷水清潔用品研究，亦顯示使用不同類型雨刷水清潔用品退伍軍人菌的檢出情形也不同。然探討雨刷水清潔用品的種類、添加濃度、接觸時間及不同溫度等條件對退伍軍人菌之影響研究甚少；兼之雨刷水清潔用品與退伍軍人菌接觸後，pH 及硬度對退伍軍人菌生長影響，亦值得深入探討。故本研究目的如下：

1. 探討雨刷水清潔用品 (WWF)類型 (市售雨刷精及家用清潔劑)對 *L. pneumophilau* 抑菌效能。
2. 探討不同添加濃度、接觸時間及溫度，觀察 WWF 對 *L. pneumophila* 抑菌效能變化。
3. 以長期追蹤觀察 WWF 對活性 *L.pneumophila* 抑菌效能。
4. WWF 接觸 *L. pneumophila*，其樣本 pH 及硬度是否為影響因子。

doi:10.6342/NTU201704234

第四張 研究架構

本研究所探討的雨刷水清潔用品 (WWF)，包含了 12 種市售雨刷精及 10 種家用清潔劑。依序分三個階段進行，第一階段是於溫度 25℃下，將 22 種雨刷水清潔用品以短時間 (0.5、60 及 120 分鐘)評估不同添加濃度 (0.1 及 0.01 g/mL)進行接觸 *L. pneumophila* (ATCC 33152)。此外，有 5 種雨刷精亦額外以廠商所建議稀釋倍數進行抑菌實驗，以評估添加廠商稀釋濃度抑菌效能；第二階段則是於溫度 37℃下，以 0.1 g/mL 進行短期時間抑菌實驗，兩個階段於各個接觸時間點下以培養法分析可培養性 *L. pneumophila* 濃度，並於 120 分鐘時進行物理化學因子 (pH 及硬度)測量，以評估添加濃度、時間、溫度效應及物理化學因子對雨刷水清潔用品及可培養性 *L. pneumophila* 影響，如圖 1 所示。

第三階段亦以溫度 37℃下，以 0.1 g/mL 進行長時間追蹤 (0、3、5、7、18、24 及 30 日)抑菌實驗，於每個追蹤時間點下取樣並添加 EMA 核酸染劑及 DNA 萃取後進行 qPCR 分析，以得到活性 *L. pneumophila* 濃度狀況，同時於 3、8、13、18、24 及 30 日以培養法追蹤可培養性 *L. pneumophila*，並於 30 日測量物理化學因子 (pH 及硬度)，以評估雨刷水清潔用品長期接觸 *L. pneumophila* 生長、活性影響及物理化學因子影響如圖 1 所示。

doi:10.6342/NTU201704234

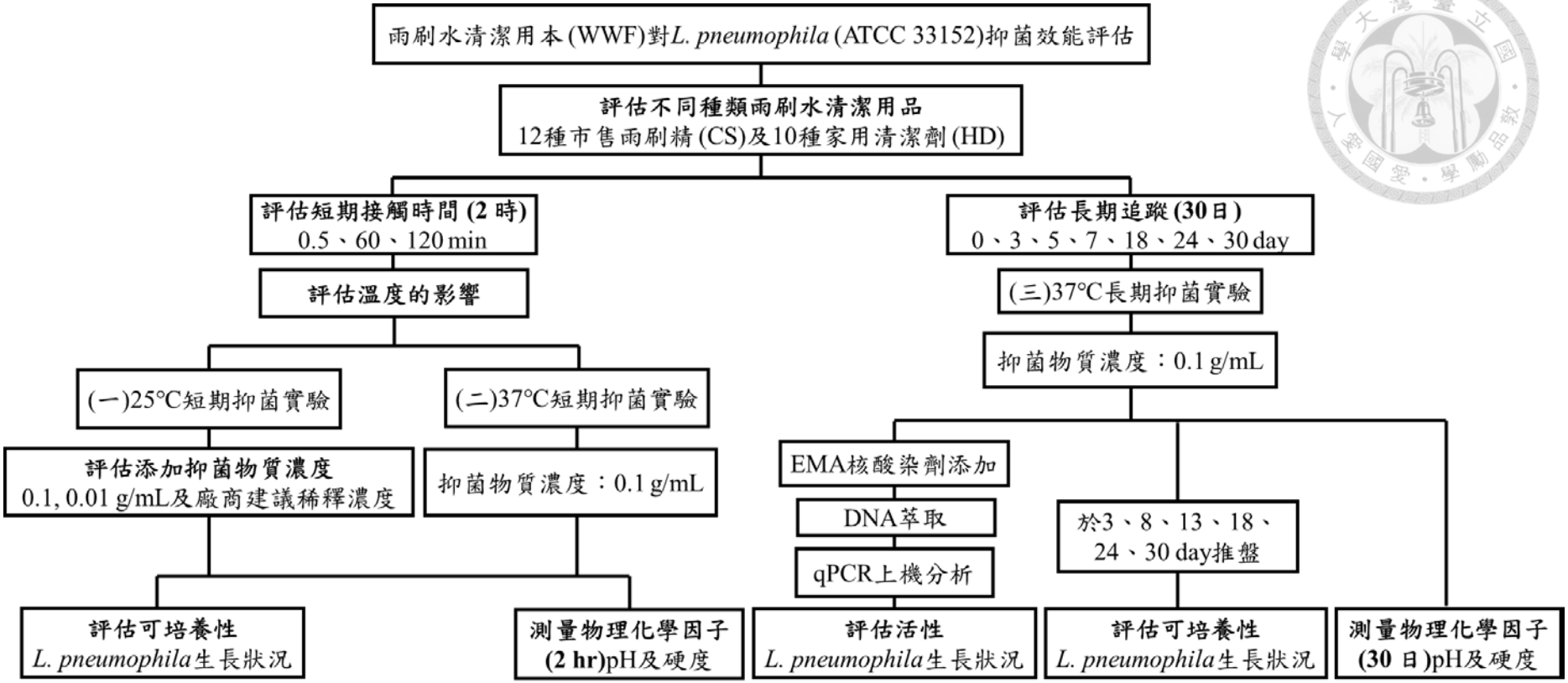


圖 1 雨刷水清潔用品對 *L. pneumophila* 抑菌效能評估研究架構

doi:10.6342/NTU201704234

第五章 材料與方法

5.1 材料及設備

5.1.1 培養基及緩衝液

1. Buffered charcoal yeast extract agar with selective supplements (BCYEα agar) 培養基

表 7 Buffered charcoal yeast extract agar with selective supplements (BCYEα agar)培養基配方

成分	配方	廠牌
ACES	10 g	Sigma-Aldrich, USA
Bacto Agar	17 g	Difco, Detroit MI, USA
Charocoal	2 g	Sigma-Aldrich, USA
Yeast extract	10 g	Difco, Detroit MI, USA
α-ketoglutarate	1 g	Sigma-Aldrich, USA
$Fe_4(P_2O_7)_3 \cdot 9H_2O$	0.25 g	Sigma-Aldrich, USA
L-cystine HCl・H_2O	0.4 g	Sigma-Aldrich, USA

以 980 mL 之去離子水添加除 $Fe_4(P_2O_7)_3 \cdot 9H_2O$ 和 L-cystine HCl・H_2O 外之上述配方，使其均勻溶解後，利用 NaOH 及 HCl 調整該溶液酸鹼值至 pH 值範圍為 6.80~6.85 之間，進一步以 121℃，20 分鐘高壓滅菌。滅菌完成後，將其放置於水浴槽待溫度降至 50℃，再將 L-cystine HCl・H_2O 與 $Fe_4(P_2O_7)_3 \cdot 9H_2O$ 分別以 10 mL 去離子無菌水使其溶解，並依序利用 0.2 μm 無菌濾紙 (Millipore)過濾後加進溶液，均勻混合並分裝至無菌培養皿，作為培養退伍軍人菌之用。

2. Tryptic soy agar (TSA)培養基

以 1 L 之去離子水添加 40 g 之 Tryptic soy agar (Difco, Detroit MI, USA)，以磁石加熱攪拌機 Stirrer/ hot plate PC420D (Corning , USA)使其均勻溶解，進一步以 121℃，20 分鐘高壓滅菌。滅菌完成後，分裝至無菌培養皿中 (20 mL/plate)，作為培養細菌之用。

doi:10.6342/NTU201704234

3. Malt extract agar (MEA)培養基

以 1 L 之去離子水添加 33.6 g 之 Malt extract agar (ST BIO, INC)，以磁石加熱攪拌機 Stirrer/ hot plate PC420D (Corning , USA)使其均勻溶解，進一步以 121℃，20 分鐘高壓滅菌。滅菌完成後，分裝至無菌培養皿中 (20 mL/plate)，作為培養真菌之用。

4. Reasoner's 2A agar (R2A agar)培養基

以 1 L 之去離子水添加 18.2 g 之 R2A agar powder (299436, Difco, Detroit MI, USA) ，以磁石加熱攪拌機 Stirrer/ hot plate PC420D (Corning , USA)使其均勻溶解，進一步以 121℃，20 分鐘高壓滅菌。滅菌完成後，分裝至無菌培養皿中 (20 mL/plate)，作為培養水中微生物使用。

doi:10.6342/NTU201704234

5. Phosphate buffer saline (PBS)磷酸鹽緩衝液

表 8 PBS 磷酸鹽緩衝液之配方

成分	配方	廠牌
NaCl	8.2 g	Sigma-Aldrich, USA
KCl	0.2 g	Sigma-Aldrich, USA
Na_2HPO_4	1.15 g	Sigma-Aldrich, USA
KH_2PO_4	0.2 g	J.T.Baker, USA

以 1 L 之去離子水添加上述配方，使其均勻溶解，以磁石加熱攪拌機 Stirrer/hot plate PC420D (Corning , USA)使其均勻溶解，進一步以 121℃，20 分鐘高壓滅菌。滅菌完成及置於室溫下冷卻後，即可保存於室溫備用，作為後續抑菌實驗之實驗組及對照組之基底質之用。

6. TE 緩衝溶液

以 98.8 mL 之去離子水添加 10 mL 之 1M Tris-HCl (J.T.Baker, USA)及 2 mL 之 0.5M EDTA (J.T.Baker, USA)，使其最終體積為 100 mL，進一步以 121℃，20 分鐘高壓滅菌。滅菌完成及置於室溫下冷卻後，即可保存於室溫備用，作為於 EMA real-time PCR 分析時，以稀釋 *L. pneumophila* DNA 標準品之用。

doi:10.6342/NTU201704234

5.1.2 儀器設備

本研究使用表 9 之儀器設備，作為備置培養基及緩衝液、加熱、均勻、維持溫度及分析具可培養性及活性 *L. pneumophila* 濃度之用。

表 9 抑菌研究之儀器設備

No	設備名稱 (英文名稱/型號)	廠牌及產地	本研究用途
1	磁石加熱攪拌機 (Stirrer-hot plate/ PC420D)	Corning, USA	加熱及均勻
2	紫外分光光度儀 (UV-VIS spectrophotometers/ UV mini-1240)	Shimadzu, Adelaide, South Australia	測量 OD 值
3	震盪器 (Vortex/ Vortex-Genis® 2)	Scientific industries, FL., USA	使均勻化
4	自動滅菌式 CO2 培養箱 (CO2 Air-Jacketed Incubator/ NU-5500)	Nuaire, Kenilworth, NJ., USA	提供恆溫及二氧化碳
5	高通量即時螢光定量 PCR 系統 (LightCycler® 480 System)	Roche, GmbH, Basel, Switzerland	Real-time PCR 分析
6	鹵素燈 (Halogen lamp/ R7s)	OSRAM, Taipei, Taiwan	照光反應
7	可攜式多參數計 (Portable multiparameter meter/ Sension 156)	Hach company, Loveland, Co., USA	測量 pH、總固體溶解質及導電度
8	濁度計 (Turbidimeter/2100P)	Hach company, Loveland, Co., USA	測量濁度
9	硬度計 (Hardness meter/ HI 93735)	Hanna instrument, Inc., Woonsocket, RI, USA	測量硬度
10	往復式振盪恆溫水槽(Reciprocal Shaking bath/ SB301)	Deagle, New Taipei City, Taiwan	提供溫度及保持溶液均勻搖晃
11	低溫高速離心機 (High-speed centrifuge/ 5810R)	Eppendorf, Germany	使溶液中懸浮液與液體分離

doi:10.6342/NTU201704234

5.2 嗜肺性退伍軍人菌 (*L. pneumophila*)備置與培養

本研究研究對象為嗜肺性退伍軍人菌血清型第一型 (*Legionella pneumophila*, sero group I, ATCC 33152)。先將接種環燒紅並待冷卻後，自保存在-80℃冷凍櫃之原菌株管，沾取菌株管中之菌液至 BCYEα 培養基上，並以畫閃電的方式均勻塗抹培養基的三分之一區域，再將接種環燒紅及冷卻後，從先前所劃盤的區域轉至新的區域 (約二分之一區)，以此繼續後續劃盤動作，總共完成四次區域劃盤，如圖 2 所示。劃盤完畢後，置於 37℃下含有 5 % CO_2 的培養箱中進行培養。培養 5 日後，再以前述劃盤方法進行第二代繼代與培養。

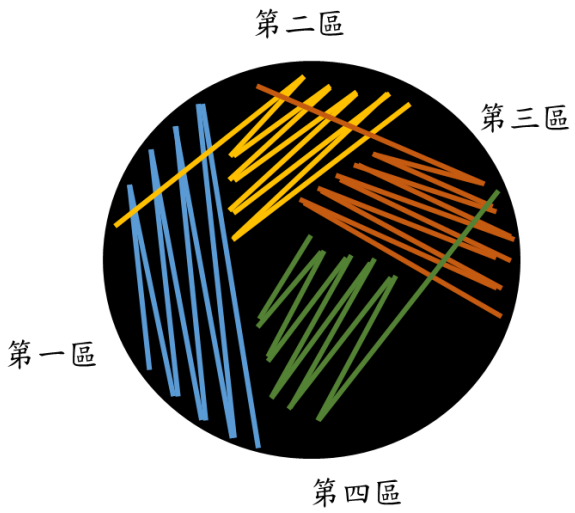


圖 2 *L. pneumophila* 繼代之劃盤區域

5.2.1 *L. pneumophila* 之濃度檢量線建立

本研究利用分光光度計所測得的 OD 值與相對應之每毫升所含之菌落數 (CFU/mL)建立標準檢量線，作為調控起始 *L. pneumophila* 濃度之用，以進行抑菌實驗。其步驟說明如下，並請參見圖 4：

1. 準備 7 支 50 mL 離心管，在第一支離心管中將會盛裝 10~15 mL 無菌去離子水，並將以前述 5.2 節所備置之嗜肺性退伍軍人菌 (*L. pneumophila*)，刮取一至二排菌落至第一支離心管內，震盪均勻混合，完成第一支細菌懸浮液備置。

doi:10.6342/NTU201704234

2. 以第一支離心管所備置之細菌懸浮液，進行稀釋0.75倍稀釋方式置備第二支管，至於其餘各管則以稀釋 2 倍序列稀釋方式完成，詳如圖 3 所示。

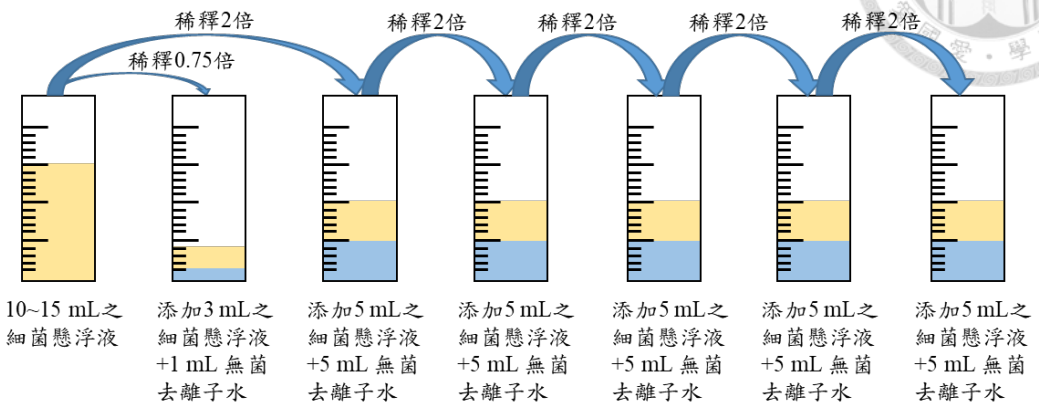


圖 3 調配 7 支不同 *L. pneumophila* 濃度之稀釋流程

3. 在測量各管內盛裝細菌懸浮液之 OD 值前，先以 1 mL 無菌去離子水置於比紫外分光光度機 UV-VIS spectrophotometers UV mini-1240 (Shimadzu, Adelaide, South Australia)，再進一步測量 OD 值。
4. 校正完後，將所有稀釋之細菌懸浮液取 1 mL 至 600 nm 下進行測量 OD 值 (吸光值測定 A_{600})並記錄之。
5. 將所有稀釋之細菌懸浮液再分別進行序列稀釋至兩個適當稀釋倍數，使其培養後之菌落數盡可能介於 30~300 CFU 間。
6. 將步驟 5 序列稀釋的細菌懸浮液進行震盪均勻後，取 0.1 mL 至 BCYEα agar 上，以三角玻璃棒塗抹均勻，置於 37℃下含 5% CO_2 培養 5 日。
7. 培養生成之菌落數 (CFU)回推 *L. pneumophila* 濃度 (CFU/mL)，詳細計算方式請見 5.8.1 節。
8. 將 *L. pneumophila* 濃度 (CFU/mL)與測量之 OD 值建立檢量線，其濃度範圍為 1.65×10^{7}~ 7.90×10^{8} CFU/mL，本實驗共進行 3 重複，其檢量線結果詳見如附件 1。

doi:10.6342/NTU201704234

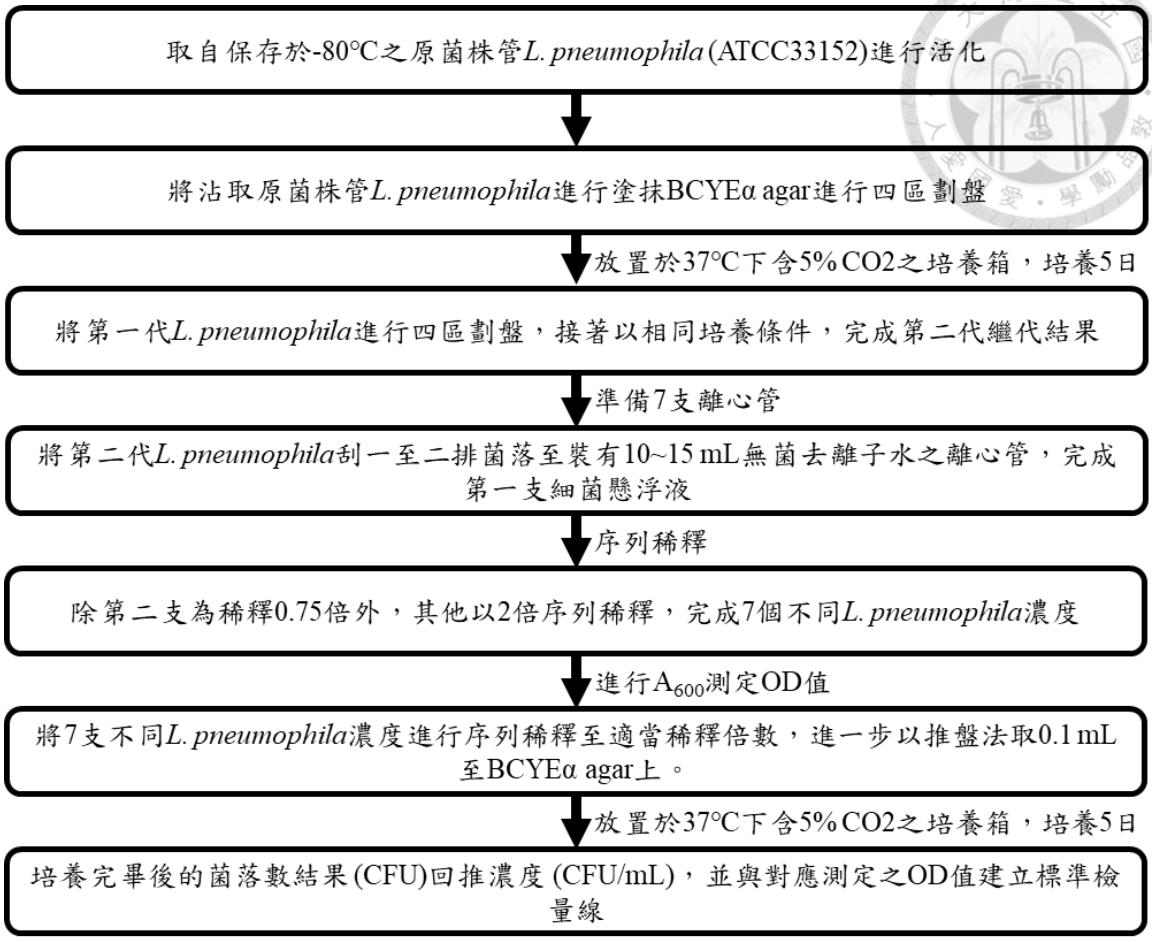


圖 4 嗜肺性退伍軍人菌 (*L. pneumophila*)之濃度檢量線建立流程

doi:10.6342/NTU201704234

5.3 雨刷水清潔用品 (Windscreen Wiper fluids, WWF)

如表 10 所示，本研究共測試 12 種市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS)及 10 種家用清潔劑用品 (Household detergent, HD)。主要參考 2015 年徐藝瑋對車輛空調與雨刷水系統退伍軍人菌污染調查所採用車體資訊與操作維護因子問卷，所收集關於職業駕駛人員有使用的雨刷水清潔用品 (Windscreen Wiper fluids, WWF)，共有 5 項市售雨刷精及 6 項家用清潔劑 (徐藝瑋, 2015)，其中一項家用清潔劑亦為 2009 年楊雁婷之市售清潔劑清潔效能研究之對象 (楊雁婷, 2009)；此外，也納入 7 種國內及 4 種國外產品。總計有 15 項屬於國內產地，7 項為國外產地。

表 10 測試之 12 種市售雨刷精 (CS)及 10 種家用清潔劑 (HD)

類型[a]	編號	清潔用品名稱	車輛空調與雨刷水系統退伍軍人菌污染調查 (徐藝瑋, 2015)	市售清潔劑清潔效能研究 (楊雁婷, 2009)	產地為國內者	產地為國外者
CS	C1	TM	□		□	
	C2	GD	□		□	
	C3	AA				□□□ 馬來西亞□
	C4	CD	□		□	
	C5	CAP			□	
	C6	CP				□□□ 英格蘭□
	C7	SN	□			□□□ 德國□
	C8	GY			□	
	C9	TY	□		□	
	C10	BP			□	
	C11	SF			□	
	C12	BS				□□□ 韓國□
HD	H1	MB				□□□ 越南□
	H2	BL	□	□		□□□ 波蘭□
	H3	DW			□	
	H4	WD			□	
	H5	MG	□	□	□	
	H6	MA			□	

doi:10.6342/NTU201704234

H7	SO	□	□
H8	AM	□	□□□ 中 國 □
H9	LT	□	□
H10	WB	□	□

a: 市售雨刷精 (CS) and 家用清潔劑 (HD).

doi:10.6342/NTU201704234

5.3.1 品項說明

本研究依照 5.3 雨刷水清潔用品中，將以 12 種市售雨刷精 (CS)及 10 種家用清潔劑 (HD)進行探討對 *L. pneumophila* 之抑菌實驗。

5.3.1.1 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS)

參考各產品標示及產品網站所提供資訊，將本研究測試之 12 種市售雨刷精之成分、廠商建議稀釋倍數及使用期限，彙整如表 11 所示。其中，TM、TY 及 CP 標示含有特定化學物質，如：TM 含有聚氧乙烯三癸醚、TY 含有乙醇，而 CP 含有乙二醇丁醚、乙醇及甲醇。其餘 9 種市售雨刷精共同含有的物質為界面活性劑，其中 2 種雨刷精標示為非離子界面活性劑 (CD、CAP)，3 種雨刷精標示為特殊界面活性劑 (SN、GY、BP)。此外，部分雨刷精尚含其他溶劑，如：除油膜溶劑 (CD)、陽離子潤滑劑 (CD)、香料 (GD)、溶劑 (GY、BP)、去污助劑 (CAP、BS)、防腐劑 (BS)及撥水劑 (BS)。12 種雨刷精中，有 6 種產品建議將其稀釋 10 倍 (AA、CD、CAP、CP、SN、BS)，4 種建議 100 倍 (TM、GY、BP、SF)，2 種建議稀釋 2 倍使用 (GD、TY)；其中又有 3 種雨刷精除建議稀釋 10 倍外，也建議可稀釋 50 倍 (AA、CAP、SN)。標示之使用年限則介於 3-5 年。

doi:10.6342/NTU201704234

表 11 12 種市售雨刷精 (CS)之產品資訊

編號	清潔用品	標示成分	廠商建議稀釋倍數	使用年限(年)
C1	TM	聚氧乙烯三癸醚 (Polyoxyethylene tridecyl ether)、水 (Water)	100 倍	3
C2	GD	亮光劑 (Brightener)、界面活性劑 (Surfactant)、香料等 (Flavor)	2 倍	NAa
C3	AA	介面活性劑 (Surfactant)	10 及 50 倍	NA
C4	CD	非離子界面活性劑 (Nonionic surfactant)、除油膜溶劑 (Solvent film)、陽離子潤滑劑 (Cationic lubricant)	10 倍	NA
C5	CAP	非離子介面活性劑 (Nonionic surfactant)、滋潤劑 (Moisturizer)、去污助劑 (Eradicator)	10 及 50 倍	5
C6	CP	乙二醇丁醚 (2-Butoxyethanol)、乙醇 (Ethanol)、甲醇 (Methanol)	10 倍	5
C7	SN	特殊界面活性劑 (Special surfactant)、高級香精 (Flavor)	10 及 50 倍	5
C8	GY	特殊界面活性劑 (Special surfactant)、溶劑 (Solvent)	100 倍	5
C9	TY	乙醇 (Ethanol)	2 倍	3
C10	BP	特殊界面活性離子 (Special surfactant)、溶劑 (Solvent)	100 倍	5
C11	SF	界面活性劑 (Surfactant)、滲透劑 (Penetrant)	100 倍	5
C12	BS	天然植物油 (Natural vegetable oils)、界面活性劑 (Surfactant)、防腐蝕劑 (Anti-corrosion)、去污劑 (Eradicator)、撥水劑 (Water repellent agent)	10 倍	5

a: Not available.

doi:10.6342/NTU201704234

5.3.1.2 家用清潔劑 (Household detergent, HD)

參考各產品標示及產品網站所提供資訊，將本研究測試之 10 種家用清潔劑之成分、廠商建議稀釋倍數及使用期限，彙整如表 12 所示。10 種家用清潔劑均含有界面活性劑，其界面性種類多元，如 DW 及 MG 分別含陰離子界面活性劑及非離子界面活性劑，LT 則標示含有環保型非離子界面活性劑，另也有含較天然性之界面活性劑，如 SO、AM 及 WB 分別含有直鏈式 (軟性)烷基苯磺酸非離子系界面活性劑 (植物性)、天然椰子油衍生物界面活性劑及混合多種植物性界面活性劑 (直鏈烷基苯磺酸、椰子油酸衍生月桂醇乙烯醚硫酸鈉、聚醇月桂醇醚等)；其餘家用清潔劑則只標示界面活性劑或特殊界面活性劑 (MB、BL、WD、MA)。除界面活性劑外，部分家用清潔劑尚含有其他物質，如：醇醚類溶劑 (DW)、抗菌劑 (DW、WB)、香精 (MB、DW)、溶劑 (WD)、天然蘆薈及果酸 (AM)、亮光劑 (MA)及茶樹精油 (LT)。多數家用清潔劑均無建議之稀釋倍數，僅有 SO 及 WB 各自建議稀釋 2000 倍及 400 倍。至於使用年限則介於 1.5-3 年。

doi:10.6342/NTU201704234

表 12 10 種家用清潔劑 (HD)之產品資訊

編號	清潔用品	標示成分	廠商建議稀釋倍數	使用年限(年)
H1	MB	CQ-100 強效去污因子 (CQ-100 potent decontamination)、特殊界面活性劑 (Special surfactant)、香精 (Flavor)、水 (Water)	NAa	3
H2	BL	表面活性劑 (Surfactant)、過氧化氫 (Peroxide)	NA	1.5
H3	DW	陰離子界面活性劑 (Anionic surfactants)、非離子活性劑 (Nonionic active agents)、抗靜電防塵劑 (Antistatic dustproof agent)、醇類溶劑 (Alcohol solvents)、醇醚類溶劑 (Ether solvents)、藍色色料 (Blue colorant)、pH 調整劑 (pH adjusting agent)、抗菌劑 (Antibacterial agent)、香精 (Flavor)、去離子水 (Deionized water)(PH9.5+1.0)	NA	3
H4	WD	界面活性劑 (Surfactant)、溶劑 (Solvent)	NA	3
H5	MG	非離子活性劑 (Nonionic surfactant)、去污溶劑 (Detergency solvent)	NA	3
H6	MA	界面活性劑 (Surfactant)、亮光劑 (Brightener)	NA	3
H7	SO	界面活性劑：直鏈式(軟性)烷基苯磺酸非離子系界面活性劑(植物性) (Surfactant: linear (soft) alkyl benzene sulfonic acid nonionic surfactants (plant))	2000 倍	NA
H8	AM	天然椰子油衍生物界面活性劑 (Natural Surfactants)、甘油脂保濕因子 (Glycerol moisturizing factor)、天然蘆薈及果酸 (Natural aloe and alpha hydroxy acids)	NA	3
H9	LT	環保型非離子界面活性劑 (Nonionic surfactant)、茶樹精油 (Tea tree essential oil)	NA	3
H10	WB	水 (Water)、直鏈烷基苯磺酸 (Linear alkyl benzene sulfonic acid)、椰子油酸衍生月桂醇乙烯醚硫酸鈉 (Coconut oleic acid derived lauryl alcohol ether sodium sulfate)、聚醇月桂醇醚 (Polyol lauryl alcohol ether)、椰子油乙醇胺衍生物 (Coconut oil ethanolamine derivatives)、抗菌劑 (Antibacterial agents)、氫氧化鈉 (Sodium hydroxide)、檸檬酸 (Citric acid)、氯化鈉 (Sodium chloride)(PH7.0+1.0)	400 倍	3

a: Not available.

doi:10.6342/NTU201704234

5.3.2 微生物特性

5.3.2.1 異營性細菌及真菌

本研究針對 12 種市售雨刷精及 10 種家用清潔劑，利用 TSA 與 R2A agar 觀察產品中是否含有異營性細菌，另利用 MEA 觀察真菌共存情形。評估時自每個清潔用品取 0.2 mL 滴至 TSA、R2A agar 及 MEA，以三角玻棒塗抹均勻後，將 TSA、R2A 及 MEA 分別培養 37℃下 24、28℃下 7 日以及 25℃下 5 日，每個雨刷水清潔用品進行三重複實驗。培養後計數其菌落數並回推濃度，濃度部分詳見 5.8.3 節，詳細實驗流程如圖 5 所示。

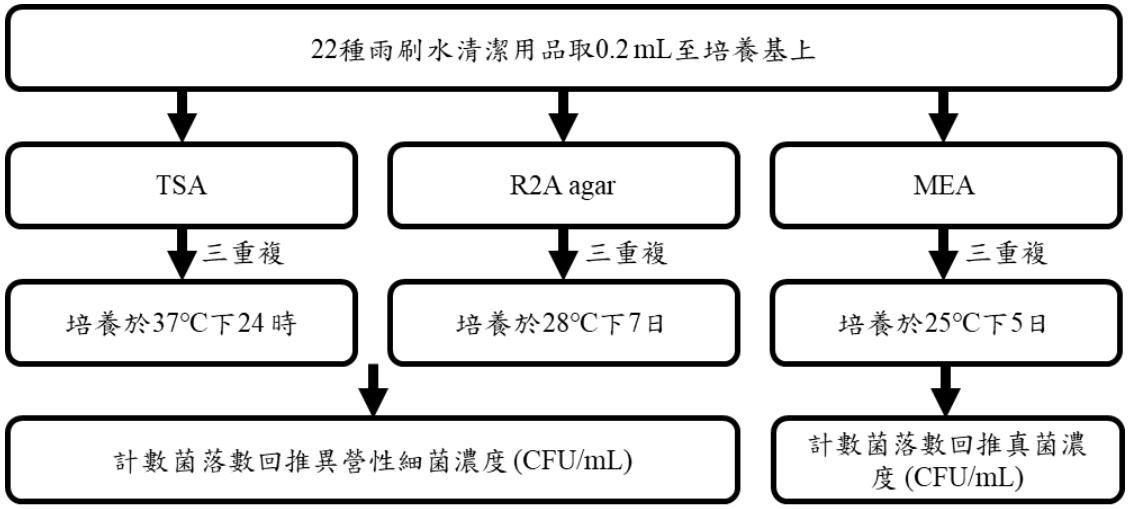


圖 5 異營性細菌及真菌測試流程

5.3.2.2 活性 *L. pneumophila*

自 22 種雨刷水清潔用品中各取 0.5 mL，添加 EMA 核酸染劑並經 DNA 萃取及 real-time PCR，評估是否含有活性 *L. pneumophila*。其方法參照 5.6.1 節 Ethidium monoazide (EMA)核酸染劑處置、5.6.2 節 DNA 萃取及 5.6.3 節 *L. pneumophila* EMA Real-time PCR 分析。

doi:10.6342/NTU201704234

5.3.3 兩刷清潔用品之物理化學特性

自 2015 年 10 月至 2016 年 10 月止，每隔 3~6 月進行 22 種兩刷水清潔用品之 pH 值、總固體溶解質 (Total dissolved solids, TDS)、導電度 (Conductivity)、濁度 (Turbidity)及硬度 (Hardness)檢測，其方法參照 5.3.3.4 節物理化學特性分析，共計測得四次。

5.3.3.4 物理化學特性分析

1. pH 值

使用直讀式儀器之可攜式多參數計 Sension 156 portable multiparameter meter (Hach company, Loveland, Co., USA)測量水中 pH 值。在測量樣本前，先將探針以三種 pH 值校正液 (pH 為 4, 7 與 10)進行校正，儀器將自動建立一條檢量線。再將探針以去離子水清洗並擦拭後，放置樣本液體中，直到數值穩定即可紀錄 pH 值。

2. 總固體溶解質 (Total dissolved solids, TDS)及導電度 (Conductivity)

使用可攜式多參數計 Sension 156 portable multiparameter meter (Hach company, Loveland, Co., USA)測量水中總固體溶解質 (Total dissolved solids,TDS)及導電度 (Conductivity)。在測量樣本前，先將探針置於校正液 (1000 μS/cm)中完成校正，再將探針以去離子水清洗並擦拭後，置於樣本液體中，直到數值穩定即可紀錄總固體溶解質及導電度值。

3. 濁度 (Turbidity)

使用濁度計 2100P Turbidimeter (Hach company, Loveland, Co., USA)測量水中濁度 (Turbidity)。在測量樣本前，先以四種不同濁度的標準品 (<0.1、20、100 及 800 NTU)依序置入儀器內進行校正。校正完成後，將待測樣本震盪 15 秒後取 10 mL 水樣至玻璃瓶，以拭鏡紙擦拭瓶身並置於儀器內測量，直到數值穩定即可紀錄濁度值。

doi:10.6342/NTU201704234

4. 硬度 (Hardness)

使用 Hardness meter HI 93735 (Hanna instrument, Inc., Woonsocket, RI, USA)測量水中硬度 (Hardness)。將待測樣本震盪 15 秒後，取 0.5 mL 至樣本玻璃瓶，加入硬度指示劑 Hardness Reagent A-B (Hanna instrument, Inc., Woonsocket, RI, USA)至 10 mL，隨後滴入 2 滴硬度緩衝液 Hardness Buffer Reagent B (Hanna instrument, Inc., Woonsocket, RI, USA)，均勻混合後，置入儀器內進行校正。15 秒後取出樣本玻璃瓶並加入硬度呈色粉 Hardness Reagent C (Ion Specific Meters Reagents Set, Hanna instrument, Inc., Woonsocket, RI, USA)，利用滴管混合均勻並置入儀器內，2 分鐘後即可測得硬度值。

5.4 退伍軍人菌抑菌實驗

為了解 22 種雨刷水清潔用品對 *L. pneumophila* 的抑菌效果，並探討不同參數(抑菌物質濃度、接觸時間、溫度)下對退伍軍人菌之培養能力及細胞膜完整性的影響，設計實驗如圖 6 所示。共有 25℃短期、37℃短期及 37℃長期三階段抑菌實驗，依序如下：

第一階段：於 25℃下探討不同濃度 (0.1 g/mL、0.01 g/mL 及廠商建議稀釋倍數：0.5 及 0.02 g/mL)雨刷水清潔用品與 *L. pneumophila* 接觸 2 小時內，清潔劑對 *L. pneumophila* 培養能力抑制狀況。

第二階段：於 37℃下，以 0.1 g/mL 雨刷水清潔用品與 *L. pneumophila* 接觸 2 小時，測試清潔劑對 *L. pneumophila* 培養能力抑制狀況。

第三階段：於 37℃下，以 0.1 g/mL 雨刷水清潔用品與 *L. pneumophila* 接觸 30 日，觀察不同日期下活性 *L. pneumophila* 狀況。同時也追蹤 *L. pneumophila* 培養力至無法檢出，結合培養力及活性測試結果，決定 *L. pneumophila* 是否達具活性但不具可培養 (Viable but nonculturable, VBNC)之狀態。

doi:10.6342/NTU201704234

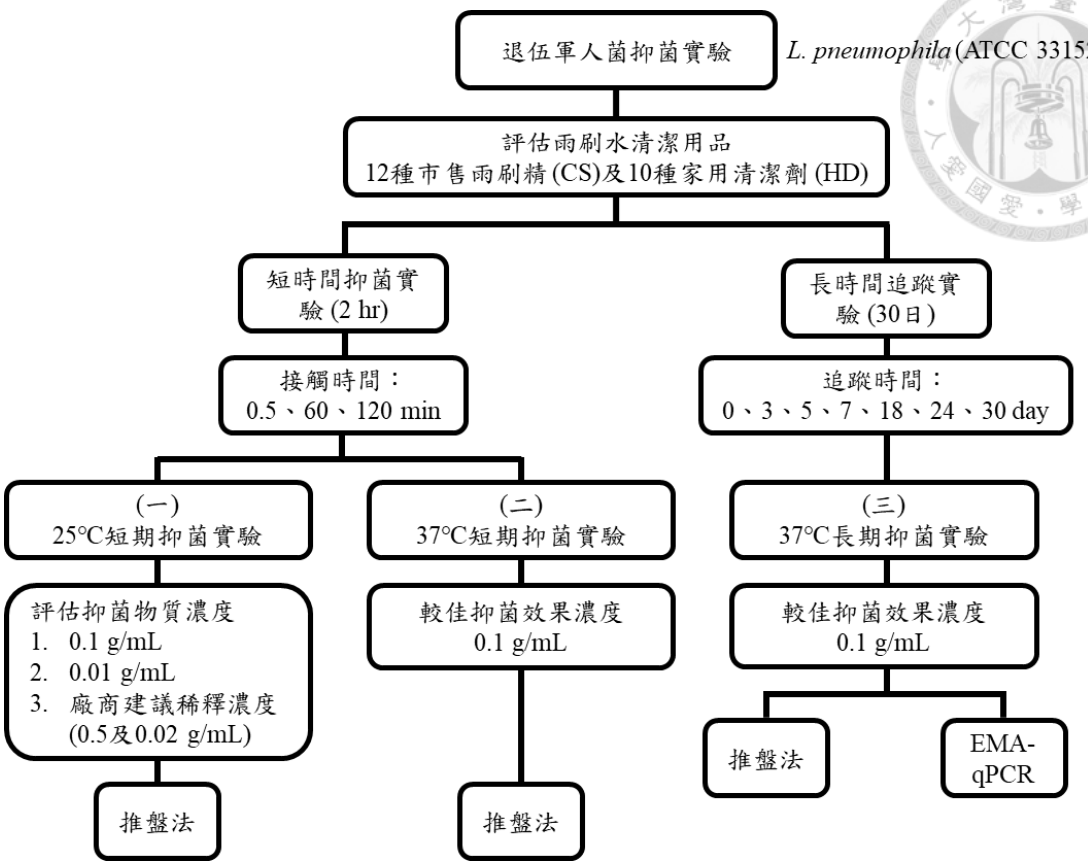


圖 6 退伍軍人菌抑菌實驗階段性測試

5.4.1 短時間抑菌實驗 (2 hr)

如圖 7 所示，短時間抑菌實驗中之實驗組及控制組分別代表添加雨刷水清潔用品及未添加任何清潔用品之 *L. pneumophila* 樣本，上述樣本均於 0.5、60 及 120 分鐘時取樣推盤，以得到該時間點下 *L. pneumophlia* 濃度，藉此觀察 *L. pneumophila* 之培養力之變化。

doi:10.6342/NTU201704234

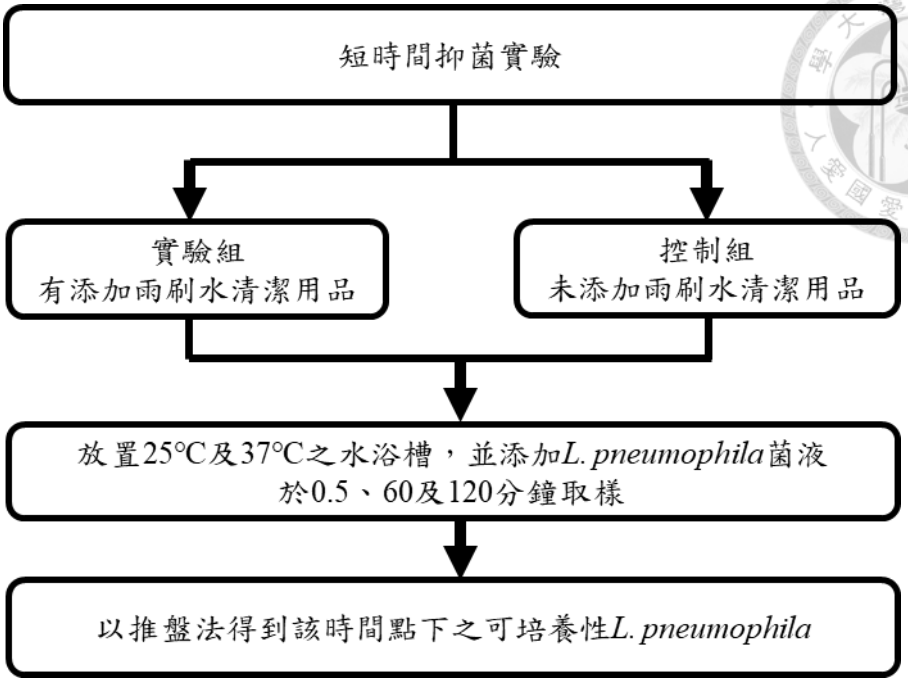


圖 7 短時間抑菌實驗流程

5.4.1.1 菌液備置

在進行抑菌實驗前，使用 5.2.1 節 *L. pneumophila* 建立之濃度檢量線，以無菌去離子水調整菌液濃度至 5×10^6 CFU/mL，以進行後續短時間接觸下之 25℃及 37℃抑菌實驗。

doi:10.6342/NTU201704234

5.4.1.2 25℃抑菌實驗

25℃抑菌實驗之流程如圖 8，實驗步驟如下述：

1. 首先以磷酸緩衝液 (PBS)為基質，在無菌離心管內調配兩刷水清潔用品，使其濃度為 0.1 及 0.01 g/mL，另針對其中 5 種市售兩刷精 (AA、CAP、SN、GD 及 TY)，依產品標示調配廠商建議之其他濃度 (GD 及 TY 為 0.5 g/mL 為，AA、CAP 及 SN 為 0.02 g/mL)。上述各濃度的配置如下：

   A. 濃度為 0.1 g/mL：添加 0.5 mL 清潔用品至 4 mL PBS。

   B. 濃度為 0.01 g/mL：添加 0.05 mL 清潔用品至 4.45 mL PBS。

   C. 濃度為 0.5 g/mL：添加 2.5 mL 清潔用品至 2 mL PBS。

   D. 濃度為 0.02 g/mL：添加 0.1 mL 清潔用品至 4.4 mL PBS。

   配置完成後各館體積均為 4.5 mL，將各管置於 25℃水浴槽中，每個濃度備置 3 管。

2. 另將 4.5 mL PBS 加入離心管內，置備 2 管，亦置於 25℃水浴槽中。

3. 依 5.4.1.1 節配置懸浮菌液 (5×10^6 CFU/mL)，並取 0.5 mL 加入上述各管中，使各管最終體積均為 5 mL，且各管中細菌濃度為 5×10^5 CFU/mL。加入細菌後開始計時，待達 0.5、60 及 120 分鐘時，分別自各管內取樣並進行必要之稀釋。

4. 震盪均勻後取 0.1 mL 至 BCYEα agar 上，以三角玻璃棒塗抹均勻，置於 37℃下含 5% CO_2 培養 5 日。

doi:10.6342/NTU201704234

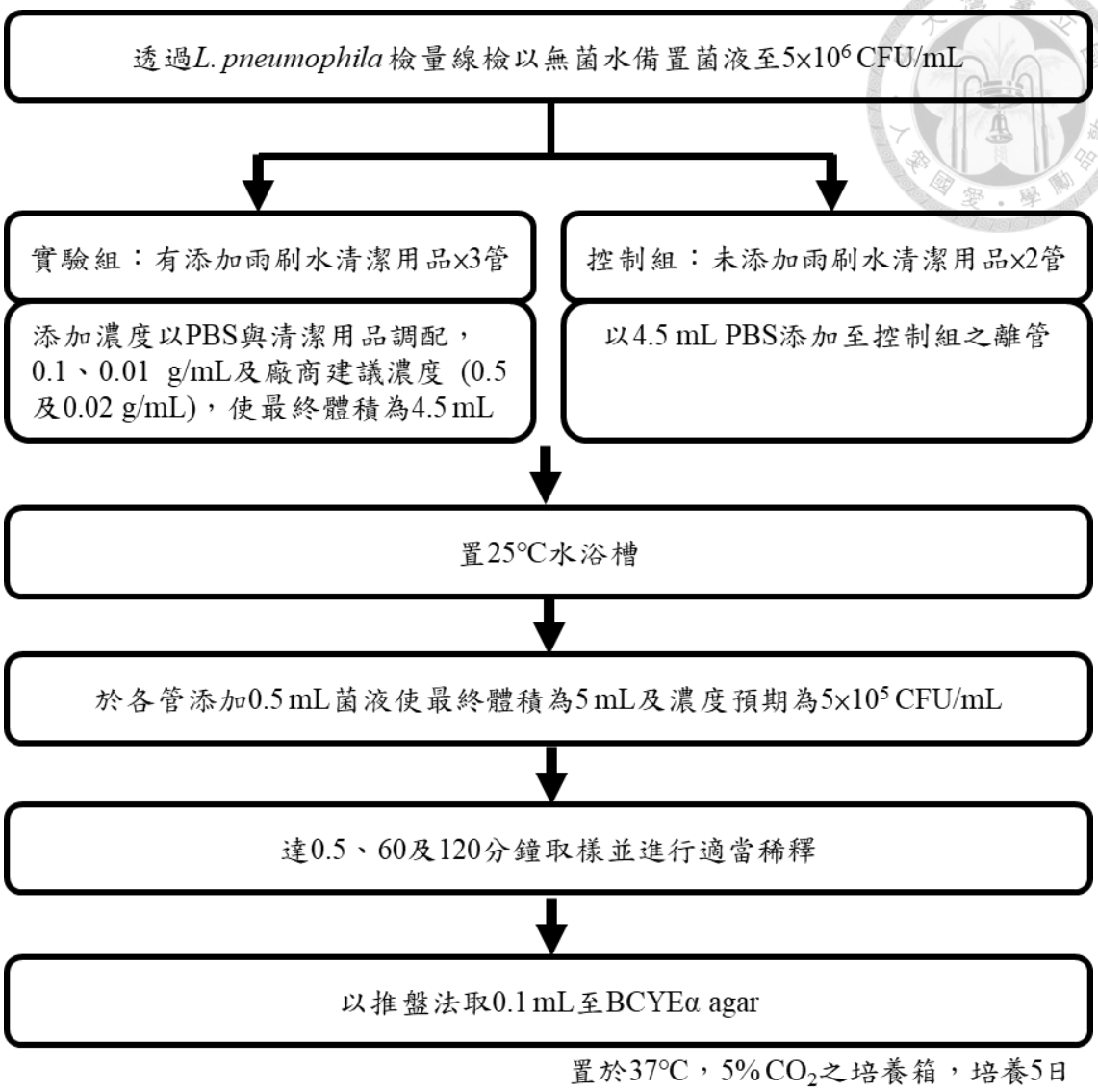


圖 8 25℃抑菌實驗流程

每一批次抑菌實驗中含有 1-2 種雨刷水清潔用品，每種清潔用品置備三管，每一批次亦含有兩管控制組。如表 13 所示，共完成 29 批次之 25℃抑菌實驗，內含不同添加濃度 (0.1, 0.01 g/mL 及廠商建議濃度)與接觸時間 (0.5, 60, 120 min)，實驗組與控制組各有 147 與 58 件樣本。

doi:10.6342/NTU201704234

表 13 25℃抑菌實驗批次說明

批次	類型	清潔用品	清潔用品濃度 (g/mL)	接觸時間 (min)	實驗組樣本數	控制組樣本數
1	CS	AA	0.1	0.5, 60, 120	3	2
2	CS	TM	0.1	0.5, 60, 120	3	2
3	CS	GY	0.1	0.5, 60, 120	3	2
4	CS	SN	0.1	0.5, 60, 120	3	2
5	CS	GD	0.1	0.5, 60, 120	3	2
6	CS	CAP, CP	0.1	0.5, 60, 120	6	2
7	CS	TY, SF	0.1	0.5, 60, 120	6	2
8	CS	CD	0.1	0.5, 60, 120	3	2
9	CS	BS, BP	0.1	0.5, 60, 120	6	2
10	CS	CD, GD	0.01	0.5, 60, 120	6	2
11	CS	SN, CP	0.01	0.5, 60, 120	6	2
12	CS	GY, CAP	0.01	0.5, 60, 120	6	2
13	CS	BS, AA	0.01	0.5, 60, 120	6	2
14	CS	TM, BP	0.01	0.5, 60, 120	6	2
15	CS	TY, SF	0.01	0.5, 60, 120	6	2
16	CS	GD	0.5	0.5, 60, 120	3	2
17	CS	SN, CAP	0.02	0.5, 60, 120	6	2
18	CS	AA, TY	0.02 &0.5[a]	0.5, 60, 120	6	2
19	HD	MB	0.1	0.5, 60, 120	3	2
20	HD	BL, DW	0.1	0.5, 60, 120	6	2
21	HD	WD, MG	0.1	0.5, 60, 120	6	2
22	HD	MA	0.1	0.5, 60, 120	3	2
23	HD	SO, AM	0.1	0.5, 60, 120	6	2
24	HD	WB, LT	0.1	0.5, 60, 120	6	2
25	HD	WD, MG	0.01	0.5, 60, 120	6	2
26	HD	MB, BL	0.01	0.5, 60, 120	6	2
27	HD	WB, LT	0.01	0.5, 60, 120	6	2
28	HD	DW, MA	0.01	0.5, 60, 120	6	2
29	HD	SO, AM	0.01	0.5, 60, 120	6	2
總計					147	58

a: 第 18 批實驗係測試 0.02 g/mL AA 及 0.5 g/mL TY。

doi:10.6342/NTU201704234

5.4.1.3 37℃抑菌實驗

37℃抑菌實驗步驟亦如 25℃抑菌實驗方式，然僅測試 0.1 g/mL 單一清潔用品濃度，如表 14 所示。共完成 13 批次抑菌實驗，實驗組與控制組之總樣本數分別為 66 與 26 件。

表 14 37℃抑菌實驗批次說明

批次	類型	清潔用品	清潔用品濃度 (g/mL)	接觸時間 (min)	實驗組樣本數	控制組樣本數
1	CS	GY, SN	0.1	0.5, 60, 120	6	2
2	CS	TM, AA	0.1	0.5, 60, 120	6	2
3	CS	CD, GD	0.1	0.5, 60, 120	6	2
4	CS	CP, CAP	0.1	0.5, 60, 120	6	2
5	CS	BS, BP	0.1	0.5, 60, 120	6	2
6	CS	TY, SF	0.1	0.5, 60, 120	6	2
7	HD	MB, BL	0.1	0.5, 60, 120	6	2
8	HD	WD	0.1	0.5, 60, 120	3	2
9	HD	MG, MA	0.1	0.5, 60, 120	6	2
10	HD	SO, AM	0.1	0.5, 60, 120	6	2
11	HD	LT	0.1	0.5, 60, 120	3	2
12	HD	DW	0.1	0.5, 60, 120	3	2
13	HD	WB	0.1	0.5, 60, 120	3	2
總計					66	26

doi:10.6342/NTU201704234

5.4.2 長時間抑菌實驗 (30 日)

如圖 9 所示，長時間抑菌實驗步驟亦如短時間 37℃抑菌測試方式，然接觸 *L. pneumophila* 濃度調整為 5×10^4 CFU/mL，使其活性細菌濃度為 5×10^5 cells/mL，並僅測試 0.1 g/mL 清潔用品之抑菌效果，且接觸時間調整為 0、3、5、7、18、24 及 30 日。在各時間點下取樣，添加 EMA 核酸染劑及萃取 DNA 後進行 qPCR，分析活性 *L. pneumophila* 濃度。同時，也以推盤培養法追蹤 *L. pneumophila* 培養力至無法檢出具培養性菌種為止，結合活性資訊以瞭解 VBNC 狀態。

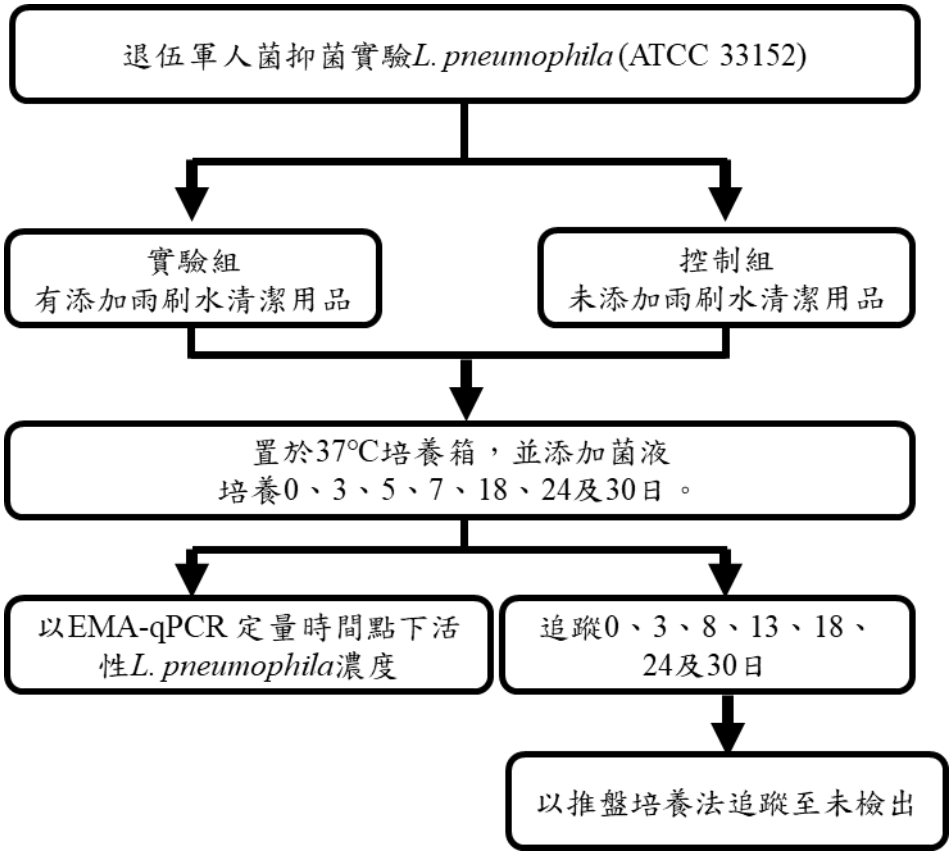


圖 9 長時間抑菌實驗流程

5.4.2.1 菌液備置

在進行抑菌實驗前，使用 5.2.1 節 *L. pneumophila* 之濃度檢量線，以無菌去離子水調整菌液濃度，使至 5×10^5 CFU/mL，以進行 37℃長期抑菌實驗。

doi:10.6342/NTU201704234

5.4.2.2 37℃長期追蹤活性 *L. pneumophila* 濃度

37℃長期追蹤實驗之流程如圖 10，實驗步驟如下述：

1. 首先亦以 PBS 做為基質，在無菌離心管內調配兩刷水清潔用品，使其濃度為 0.1 g/mL，其體積調整為添加 1.2 mL 清潔用品至 9.6 mL PBS。配置完成後各管體積均為 10.8 mL，將各管置於 37℃水浴槽中，每種清潔劑皆備置 3 管。
2. 為準備控制組樣本，另將 10.8 mL PBS 加入離心管內，共計 6 管，同時置於 37℃水浴槽中。
3. 依 5.4.2.1 節配置懸浮菌液 (5×10^5 CFU/mL)，取 1.2 mL 加入上述各管中，使各管最終體積為 12 mL，且各管中細菌濃度預期為 5×10^4 CFU/mL。
4. 自上述各管取 0.5 mL 至無菌微量離心管內，作為樣本第 0 日。再將樣本置於 37℃培養箱，並於培養 3、5、7、18、24 及 30 日時，自各管取 0.5 mL 參照 5.6.1 節方法添加 EMA 核酸染劑，依 5.6.2 節完成 DNA 萃取，並以 5.6.3 節方法進行 real-time PCR 分析，最終依所得 Ct 值計算樣本中活性 *L. pneumophila* 濃度。

doi:10.6342/NTU201704234

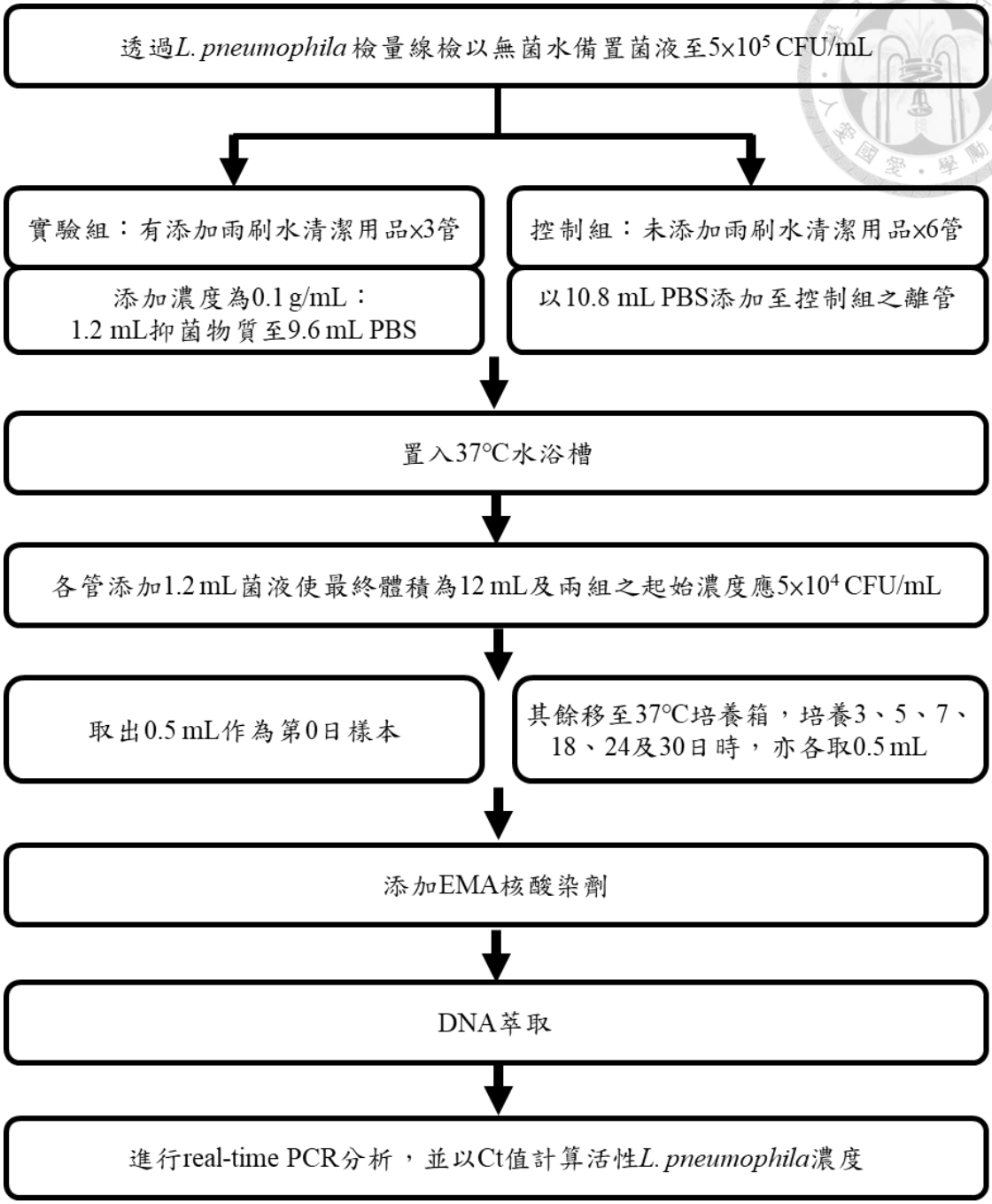


圖 10 37°C下長期追蹤活性 *L. pneumophila* 之實驗流程

doi:10.6342/NTU201704234

長期追蹤之各批次實驗內容如表 15 所示。每一批次抑菌實驗中含 4-6 種雨刷水清潔用品，每種清潔用品置備 3 管，其濃度為 0.1 g/mL；每一批次實驗中亦含有 6 管控制組樣本，共計完成 4 批次追蹤實驗。每管均於初始 (第 0 日)及培養 3、5、7、18、24、30 日取樣分析，實驗組與控制組之總樣本數分別為 66 與 24 件。

表 15 37℃長期追蹤實驗批次說明

批次	類型	清潔用品	清潔用品濃度(g/mL)	追蹤天數 (day)	實驗組樣本數	控制組樣本數
1	CS	BS, BP, TY, SF	0.1	0, 3, 5, 7, 18, 24, 30	18	6
	HD	WD, MG				
2	CS	GY, SN, CP, GD	0.1	0, 3, 5, 7, 18, 24, 30	18	6
	HD	DW, MA				
3	CS	CAP, CD, AA, TM	0.1	0, 3, 5, 7, 18, 24, 30	18	6
	HD	BL, MB				
4	HD	SO, AM, WB, LT	0.1	0, 3, 5, 7, 18, 24, 30	12	6
總計					66	24

5.4.2.3 37℃長期追蹤可培養性 *L. pneumophila* 濃度

本研究以培養法追蹤 22 種雨刷水清潔用品中之可培養性 *L. pneumophila* 之濃度變化，其實驗流程與 5.4.2.2 節相同，僅追蹤時間延長為 3、8、13、18、24 及 30 日。詳細實驗流程如圖 11，實驗步驟如下述：

1. 參考 5.4.2.2 節備置實驗組及控制組樣本，備置完成後置入 37℃水浴槽並添加 1.2 mL 懸浮菌液濃度為 5×10^4 CFU/mL。
2. 將所有樣本置入 37℃培養箱，設定於培養 3、8、13、18、24 及 30 日時觀察菌落生長情形。若樣本於前一追蹤時間點出現菌落，則持續追蹤至無菌落出現或是 30 日為止。
3. 在追蹤時間點，將實驗組樣本震盪均勻後，取 0.2 mL 至 BCYEα agar 上，以三角玻璃棒塗抹均勻。另自控制組中取樣並進行序列稀釋，將稀釋的細菌懸浮

doi:10.6342/NTU201704234

液震盪均勻後，取 0.2 mL 至 BCYEα agar 上，以三角玻璃棒塗抹均勻，連同實驗組置於 37℃下含 5% CO_2 培養 5 日。

4. 觀察上述樣本是否出現菌落，若出現菌落，則繼續依循步驟 3 自實驗組與對照組樣本中取樣並推盤。若無菌落出現，則結束該樣本追蹤並記錄結果。

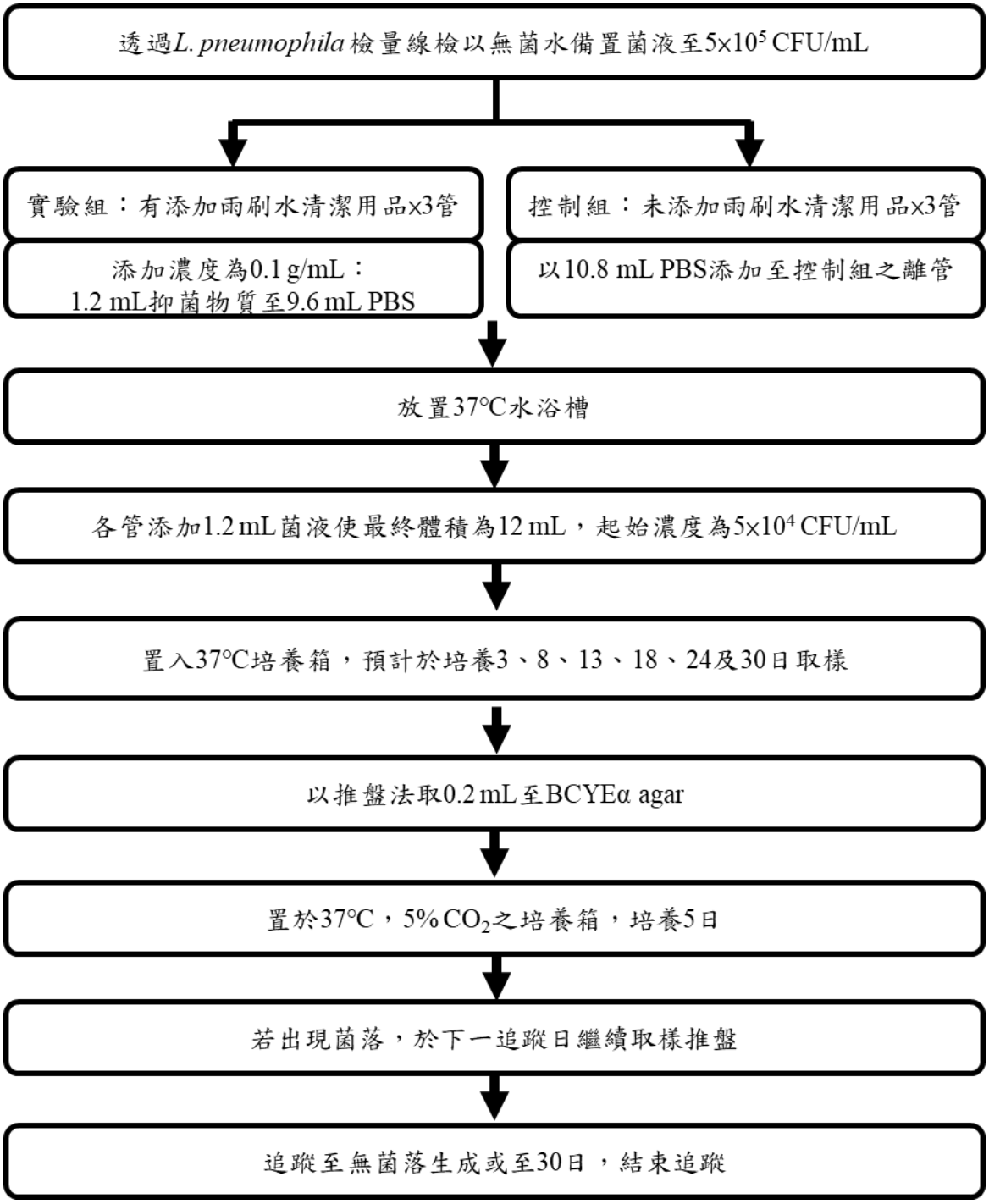


圖 11 37℃下長期追蹤可培養性 *L. pneumophila* 之實驗

doi:10.6342/NTU201704234

5.5 空白樣本、水浴槽溫度及培養箱溫度

5.5.1 空白樣本

每批次抑菌實驗均將搭配一組空白樣本。短時間抑菌實驗時，該空白樣本係取 5 mL 之 PBS 至無菌離心管，並與抑菌實驗之實驗組及控制組樣本放置於水浴槽中至相同時間後，從空白樣本中取 0.1 mL 至 BCYEα agar 上，以三角玻璃棒塗抹均勻，置於 37℃下含 5% CO_2 培養 5 日。

長時間追蹤活性 *L. pneumophila* 抑菌成效實驗時，空白樣本則是取 12 mL 之 PBS 至無菌離心管內，並與實驗組及控制組樣本同置培養箱。待至追蹤時間點時，取 0.5 mL 空白樣本，與實驗組及控制組樣本一併進行添加 EMA 核酸染劑、DNA 萃取及 real-time PCR 分析。

對於以推盤法追蹤 *L. pneumophila* 可培養性變化之長期實驗，亦以 12 mLPBS 作為空白樣本並置培養箱中。於追蹤時間點取 0.2 mL 推盤並於 37℃下含 5% CO_2 培養 5 日。

所有空白樣本經培養或 qPCR 分析後，結果需呈現未檢出 *L. pneumophila*，以確保實驗組或控制組樣本未受汙染。

5.5.2 水浴槽水溫

為確保水浴槽水溫達 25℃或 37℃，進行下述實驗：首先開啟水浴槽並檢視水浴槽上顯示之溫度，待溫度達 25℃或 37℃後，將水銀溫度計置入一管裝有 10~15 mL 去離子水之離心管內 (圖 12(A))並置於水浴槽中 10-15 分鐘 (圖 12(B))，待水銀溫度計顯示與水浴槽溫度顯示一致時開始計時。兩分鐘後記錄數據，再隨機移至水浴槽中下一位置，亦於兩分鐘後記錄離心管內溫度。共計量測 60 位置，總計 120 分鐘，獲得 60 筆溫度數值。

doi:10.6342/NTU201704234

(A) (B)

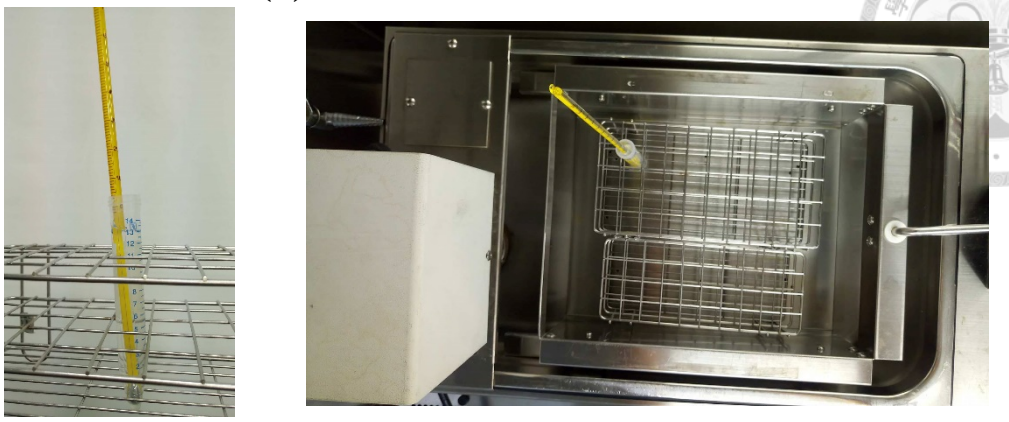


圖 12 水浴槽水溫之測量 (A)溫度計置入離心管內；(B)溫度計於水浴槽擺放圖

如圖 13 所示，25℃下水浴槽之溫度記錄共計 60 筆數據，其平均溫度為 25.2℃，標準差為 0.18℃，CV 為 0.73%；37℃下水浴槽溫度記錄共計 60 筆數據，其平均溫度為 37.0℃，標準差為 0.11℃，CV 為 0.29%。

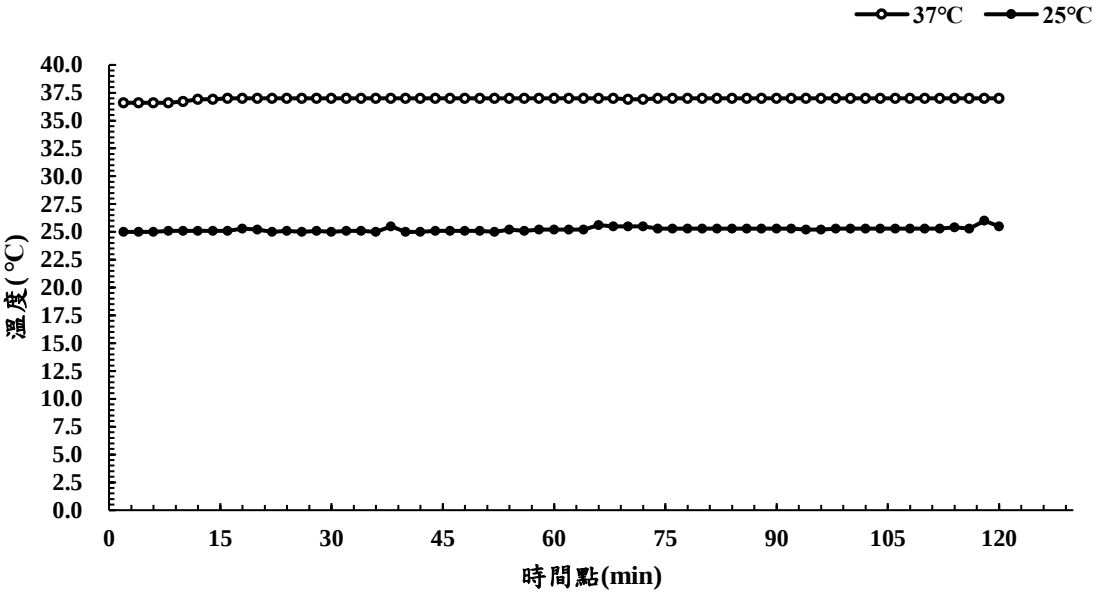


圖 13 25℃及 37℃水浴槽溫度記錄

doi:10.6342/NTU201704234

5.5.3 培養箱溫度記錄

為測定培養箱溫度是否達到 37℃而進行下述實驗：培養箱共有三層，每層以九宮格方式規劃測量點 (標示為 A 至 I 點，並以上中下標示三層位置)，共計 27 個測量點，如圖 14 所示。將溫度計置入含有 10~15 mL 去離子水之離心管內，置入 37℃培養箱中，依序在每個測量點以每 1 小時記錄一次溫度，某點追蹤 10 小時後移至下一個測點持續測量溫度 (每小時一筆數據，共 10 筆)。每點共有 10 筆測值，每層共有 90 筆數值，3 層共計 270 筆數據。

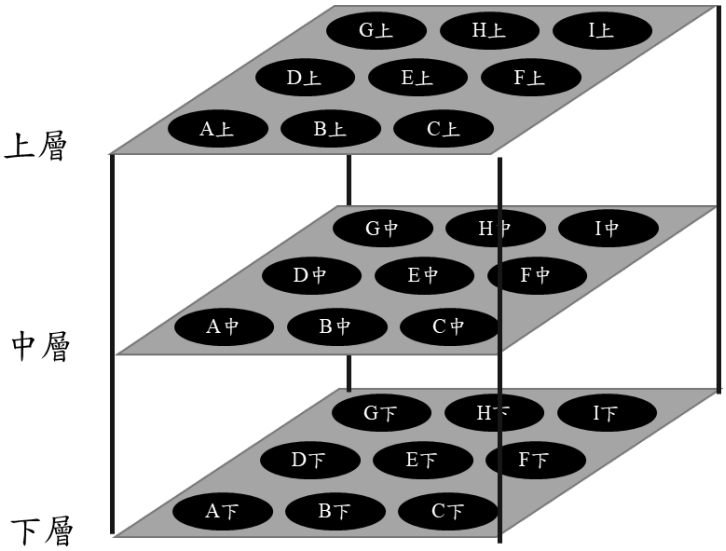


圖 14 培養箱溫度之測量點位置示意圖

培養箱之平均溫度如表 16 所示。三層平均溫度介於 37.0-37.5℃，標準差介於 0.0-0.13℃，CV 介於 0.0-0.2%。將 270 筆數據彙整計算整體培養箱溫度，其平均溫度為 37.2℃，標準差為 0.2℃，CV 為 0.6%。

doi:10.6342/NTU201704234

表 16 37℃培養箱溫度記錄

測量點位置	離心管內溫度, Mean (SD[a]), ℃			
	上層溫度 (n=10)	中層合併 (n=10)	下層合併 (n=10)	整個培養箱 (n=30)
A	37.0 (0.0)	37.04(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
B	37.0 (0.0)	37.02(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
C	37.0 (0.0)	37.02(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
D	37.0 (0.0)	37.02(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
E	37.0 (0.0)	37.02(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
F	37.0 (0.0)	37.02(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
G	37.0 (0.0)	37.02(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
H	37.0 (0.0)	37.02(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
I	37.0 (0.0)	37.02(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
J	37.0 (0.0)	37.02(0.1)	37.5 (0.0)	37.2 (0.2)
Mean (℃)	37.0	37.0	37.5	37.2
SD (℃)	0.0	0.1	0	0.2
CV (%)	0.0	0.2	0	0.6
N	90	90	90	270

[a] Standard deviation

doi:10.6342/NTU201704234

5.6 活性 *L. pneumophila* 分析

5.6.1 Ethidium monoazide (EMA)核酸染劑處置

取 0.5 mL 待測樣本，加入 50 μL 之 25 μg/mL EMA 試劑 (Sigma)，均勻混合至 EMA 最終濃度為 2.3 μg/mL。將樣本進行暗反應 5 分鐘後，置入裝滿冰塊的燒杯中，以 500W、110V 鹵素燈 (R7s, OSRAM, Taipei, Taiwan)在 15 cm 距離處照光 20 分鐘，即可進行 DNA 萃取。

5.6.2 DNA 萃取

將樣本以 20000 g 在 4℃下離心 5 分鐘兩次後，按照 QIA amp DNA mini kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)製造商的標準步驟萃取 DNA，僅將最後 Buffer AE 試劑體積減少至 100 μL。

5.6.3 *L. pneumophila* EMA Real-time PCR 分析

本研究使用 LightCycler® 480 System (Roche Diagnostics GmbH, Basel, Switzerland)進行 PCR 分析，以 min-Lp R (5'-CCAATAGGTCCGCCAA)及 mip-Lp F (5'-ACACTGGTCGTCTGAT)偵測嗜肺性退伍軍人菌 193-bp 之 mip 基因，並以 mip-specific TaqMan MGB probe (5'-FAM-CCATATGCAAGACCTGA -MGBNFQ-3')偵測放大之 DNA 片斷 (Chang and Chou, 2010)。

偵測 *L. pneumophila* 之 PCR 混和試劑總體積為 20μL，詳細內含物如表 17 所示。試劑中含有 12.5 μL LightCycler® 480 Probes Master Mix (Roche Diagnostics)、0.75 μL forward primer 及 0.75 μL reverse primer (Mission Biotech Co., Taipei, Taiwan)，其最終濃度各為 375 nM，以及 0.75 μL 之 TaqMan MGB probe (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA, 最終濃度為 375 nM)，另添加 5 μL DNA 萃取樣本、DNA 標

doi:10.6342/NTU201704234

準品或無菌去離子水；後二者分別用於建置 DNA 標準品檢量線及測試 No template control (NTC)。每次 PCR 分析時均搭配兩組 NTC 樣本，以確認 Real-time PCR 之試劑及操作過程無 DNA 污染情形。

表 17 *L. pneumophila* Real-time PCR 使用之試劑

試劑	起始濃度	體積/樣本 (μL)	最終濃度	廠牌
2× probe master mix	1x	12.5	1x	Roche
Lp_forward primer	10 μM	0.75	375 nM	Mission Biotech
Lp_reverse primer	10 μM	0.75	375 nM	Mission Biotech
Lp probe	10 μM	0.75	375 nM	Roche
Sterile water	1x	0.25	1x	

將備置混合試劑、待測之樣本、DNA 標準品、NTC 樣本及混合試劑加入專用之 96-well 孔盤 (Roche)中，封上膜後並以 1500 g 在 4℃下離心 2 分鐘，於 LightCycler®480 系統進行 qPCR 分析。*L. pneumophila* real-time PCR 分析之升溫程式如表 18 所示，於進行 95℃下 10 分鐘的活化作用後，接著進行 95℃下 10 秒及維持 60℃下維持 1 分鐘之 50 次的放大步驟，最後在 40℃下冷卻 10 秒鐘完成 Real-time PCR 分析。

表 18 *L. pneumophila* Real-time PCR 升溫程式

程式	Cycle	溫度 (℃)	時間
Pre-incubation	1 cycle	95	10 mins
Amplification	50 cycle	95	10 secs
		60	1 min
Cooling	1 cycle	40	10 secs

Real-time PCR 分析後，以 *L. pneumophila* 之 DNA 標準品所得之 Ct 值與對應的 Log DNA copy numbers 建立 *L. pneumophila* 檢量線，其檢量線建立方法請見 5.6.4 節。另將經 real-time PCR 分析後待測樣本之 Ct 值代入檢量線公式，即可獲得 DNA 濃度，並據以進一步計算樣本中之活性 *L. pneumophila* 濃度 (cells/mL)；有關濃度計算方式請見 5.8.2 節。

doi:10.6342/NTU201704234

5.6.4 DNA 標準品檢量線建立

DNA 標準品是由 Mission Biotech 公司合成，其偵測基因表現量 (copies/ng)為 3.1×10^{8} copies/ng 為建立檢量線，首先使用 TE buffer 將 DNA 標準品稀釋，使其濃度介於 3.1×10^{0} 至 3.1×10^{7} copies/μL。Real-time PCR 分析後，以 Ct 值與 DNA 濃度建立檢量線，並計算其迴歸係數 R^2。另將檢量線公式之斜率帶入放大效率公式 (Efficiency = 10 (-1/slope),(Rasmussen, 2001))，以計算放大效率值。本實驗以迴歸係數 R^2>0.99 及放大效率 Amplification Efficiency>1.9 為品管標準，其 real-time 分析所得之 Amplification curve 如圖 15 所示。

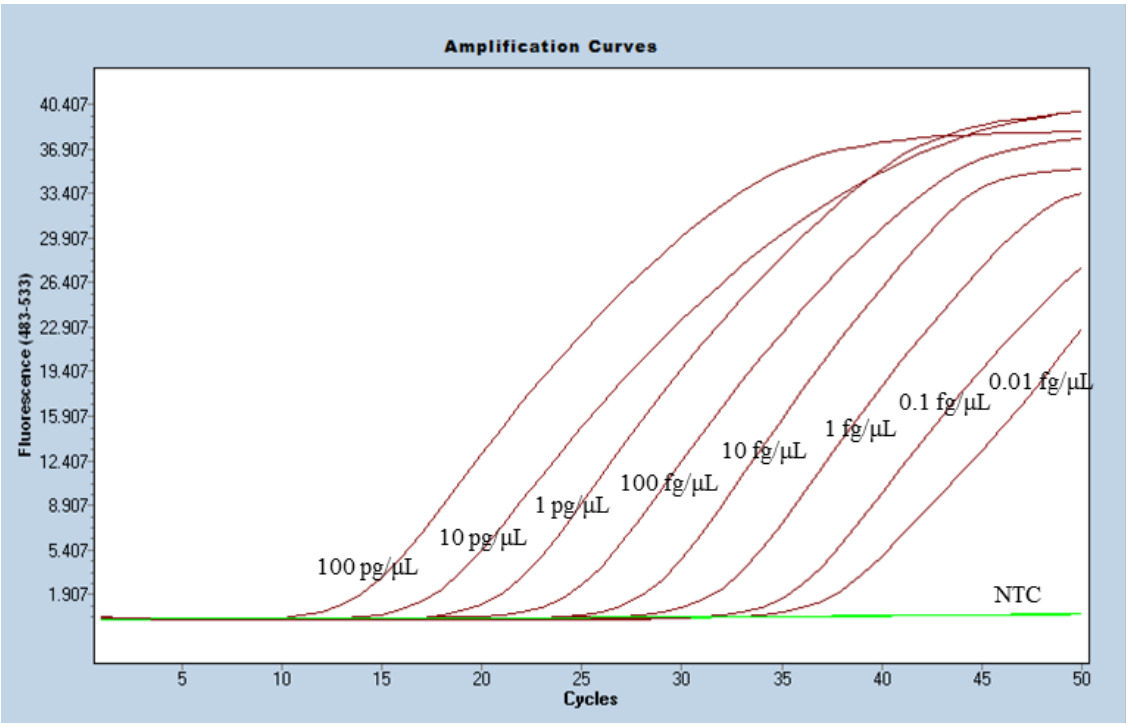


圖 15 *L. pneumophila* 以 Real-time 分析所得之 Amplification curve

本研究彙整 7 次檢量線結果如表 19 所示，56 筆數據 CT 之變異係數介於 0.61-2.21%，Efficiency 介於 1.900-1.949，R^2 介於 0.9991-0.9999；NTC 皆未檢出。再將 56 筆據彙整計算，獲得檢量線公式為 Y (Ct)=-3.4911X(Log cells/μL)+40.272，其 R^2 值為 0.99。將其斜率值 (-3.4911)帶入 Efficiency=$10^{(-1/slope)}$公式中，得到放大效率 (E)為 1.93。

doi:10.6342/NTU201704234

表 19 *L.pneumophila* DNA 標準品檢量線

DNA 標準品	DNA 濃度[a] (copies/μL)	DNA 濃度[b] (log cells/uL)	Ct value (n=7)		
			Mean	SD[c]	CV[d] (%)
100 pg/μL	3.10E+07	7.49	14.04	0.11	0.76
10 pg/μL	3.10E+06	6.49	17.53	0.15	0.86
1 pg/μL	3.10E+05	5.49	21.06	0.14	0.68
100 fg/μL	3.10E+04	4.49	24.66	0.15	0.61
10 fg/μL	3.10E+03	3.49	28.23	0.23	0.81
1 fg/μL	3.10E+02	2.49	31.78	0.38	1.19
0.1 fg/μL	3.10E+01	1.49	35.18	0.78	2.21
0.01 fg/μL	3.10E+00	0.49	38.22	0.79	2.08
NTC[e]			ND		
Efficiency[f]			1.93		
檢量線公式[g]			Y (Ct) = -3.4911X(Log cells/μL)+40.272		
R^2 value			0.99		

[a] 1 fg/μL = 3.1×10^2 copies/μL
[b] 1 copy = 1 cell (Li et al., 2008)
[c] Standard deviation
[d] Coefficient of variation
[e] No template control (LOD = $\frac{3.1\left(\frac{cells}{\mu L}\right)\times100\ \mu L}{0.5\ mL}$ = 620 cells/mL)
[f] 放大效率 Efficiency= $10^{(-1/slope)}$ (Rasmussen et al., 2001)
[g] 以 7 次重複實驗所得 56 筆數據建立之公式

5.7 抑菌實驗樣本中之 pH 與硬度測定

為評估 22 種雨刷水清潔用品與 *L. pneumophila* 接觸 120 分鐘與 30 日後，其反應管中之 pH 與硬度而進行實驗，其實驗流程如圖 16 所示。本實驗參數與 5.4 節抑菌實驗相似，相異處僅在測定時間點以及未進行廠商建議稀釋濃度；25℃抑菌樣本之測定實驗係在接觸 120 分鐘且清潔用品濃度為 0.1 及 0.01 g/mL 下完成；37℃短期與長期抑菌實驗之測定則在 0.1 g/mL 清潔劑濃度下進行，前者測定時間點為 120 分鐘，後者則在接觸 30 日時。有關 pH 值及硬度測定方法請見 5.3.3.4 節，其 22 種雨刷水清潔用品之抑菌實驗樣本 pH 與硬度結果詳見如附件 2。

doi:10.6342/NTU201704234

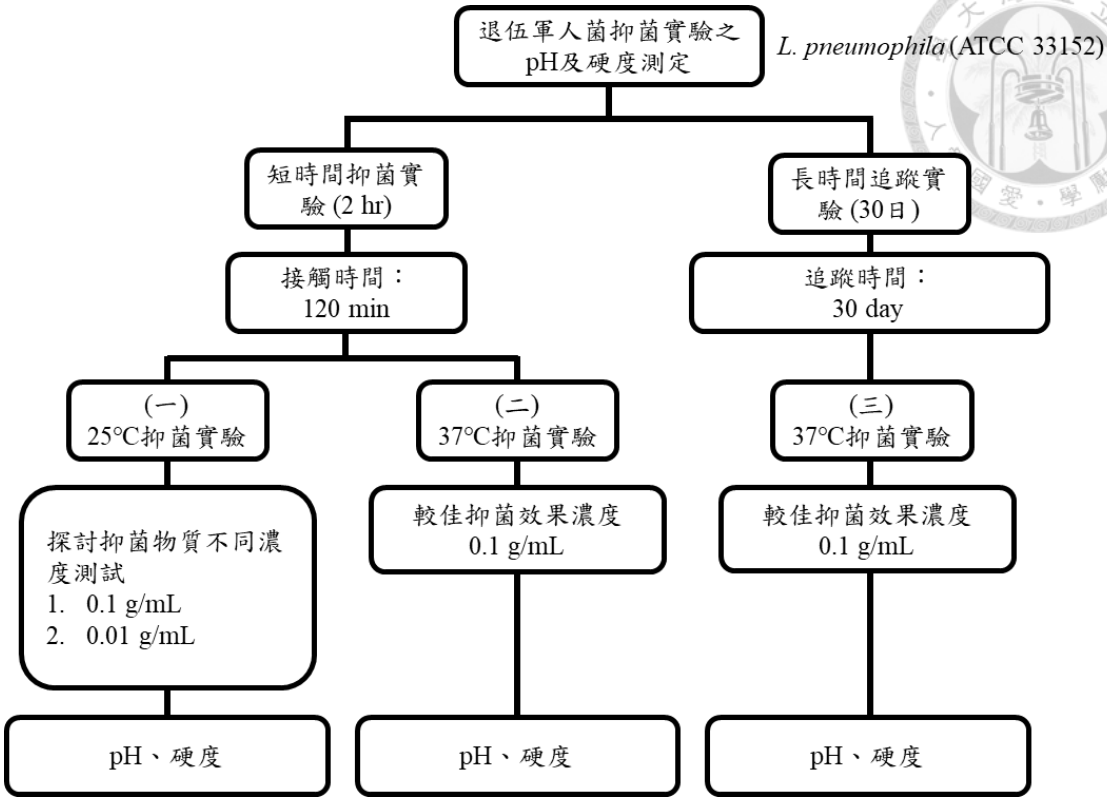


圖 16 抑菌實驗樣本中 pH 與硬度測定流程

doi:10.6342/NTU201704234

5.8 資料處理

以 Microsoft office excel 2013 (Microsoft Corporation, Seattle, WA, USA)進行資料建檔與處理，計算 22 種雨刷水清潔用品之可培養性 *L. pneumophila* 濃度 (CFU/mL)、活性 *L. pneumophila* 濃度 (cells/mL)以及物理化學特性測定結果，並求得平均值 (Mean)、標準差 (Standard deviation, SD)與變異係數 (Coefficient of variation, CV)。

5.8.1 可培養 *L. pneumophila* 濃度與偵測下限之計算

可培養 *L. pneumophila* 濃度 (CFU/mL)之計算公式如下：

$$L.\ pneumophila\ 濃度\ (\mathrm{CFU/mL}) = \frac{菌落數\ (\mathrm{CFU}) \times 稀釋倍數}{總推盤體積\ (\mathrm{mL})}$$

在短期抑菌實驗與長期追蹤實驗中，前者以 0.1 mL 重複推 2 盤，後者則以 0.2 mL 重複推 5 盤，總推盤體積分別為 0.2 mL 與 0.1 mL。以總菌落數為 1 CFU 計算偵測下限，結果如表 20 所示，短期及長期實驗之偵測下限分別為 5 及 1 CFU/mL。

表 20 抑菌實驗以可培養性 *L. pneumophila* 之偵測下限回推

抑菌實驗	溫度(℃)	菌落數(CFU)[a]	總推盤體積(mL)	稀釋倍數	LOD[b](CFU/mL)
短期抑菌實驗	25	1	0.2[c]	1	5[e]
短期抑菌實驗	37	1	0.2[c]	1	5[e]
長期追蹤實驗	37	1	1[d]	1	1[f]

[a] 以 1 CFU 假設其中一盤推盤結果
[b] 偵測下限 (Lower limit of detection, LOD)
[c] 短期抑菌實驗推盤體積為 0.1 mL，推 2 重複，總推盤體積=0.1×2=0.2 mL
[d] 長期追蹤實驗推盤體積為 0.2 mL，推 5 重複，總推盤體積=0.2×5=1 mL
[e] 短期抑菌實驗 LOD = $\frac{1\ \mathrm{CFU}}{0.2\ mL}$ = 5 CFU/mL
[f] 長期追蹤實驗 LOD = $\frac{1\ \mathrm{CFU}}{1\ mL}$ = 1 CFU/mL

doi:10.6342/NTU201704234

5.8.2 活性 *L. pneumophila* 濃度與偵測下限之計算

長期追蹤實驗樣本中之活性 *L. pneumophila* 濃度計算步驟如下：

1. 將樣本之 Ct 值代入 5.6.4 節以 DNA 標準品建立之檢量線公式中，得到樣本之 Log DNA 濃度 (Log copies/μL)。
2. Anti-log DNA 濃度並乘以萃取最終體積 (100 μL)，得到樣本 DNA 之 copies 數。
3. 由於 1 mip copy 等於 1 *L. pneumophila* cell (Li et al., 2008)，樣本之 copy 數等於 cell 數。
4. 校正進行 DNA 萃取的樣本體積 (0.5 mL)後即可得到樣本中活性 *L. pneumophila* 濃度 (cells/mL)。上述相關之公式如下：

   (1) 活性 *L. pneumophila* 濃度 (cells/mL)，以 real-time PCR 得到樣本 Ct

   (2) Ct 帶入 DNA 檢量線公式 Y (Ct) = -aX(Log copies/μL)+b

   →X (Log copies/μL) = $\frac{(b-Y(Ct))}{a}$

   (3) Anti-log →ln[X (Log copies/μL)] = X (copies/μL) = X (cells/μL)

   (4) 乘上萃取體積→X (cells/μL)× 100 (μL) = X×100 (cells)

   (5) 除掉取樣體積→X×100 (cells)÷ 0.5 (mL) = $\frac{\text{X×100 (cells)}}{\text{0.5 (mL)}}$ = X×200 (cells/mL)

在計算活性 *L. pneumophila* 偵測下限，係以所製作之 DNA 標準品檢量線最低濃度 (3.1×10^0 copies/μL)逐步計算之，其計算過程如下：

(1) 換算 cell 數：3.1×10^0 (copies/μL) = 3.1 (cells/μL)

(2) 校正萃取體積：3.1 (cells/μL)×100 (μL) = 310 (cells)

(3) 校正 DNA 萃取之樣本體積：310 (cells)/0.5 (mL) = 620 (cells/mL)

據此，620 cells/mL 為本研究 real-time PCR 之最低偵測下限，亦為長期抑菌實驗 ND (Non-detected)界定。

doi:10.6342/NTU201704234

5.8.3 異營性真細菌濃度與偵測下限之計算

22 種雨刷水清潔用品之異營性細菌及真菌濃度計算，係依據其生成之菌落數，校正總推盤體積而得，其回推公式如下：

異營性細菌及真菌濃度 (CFU/mL) = $\frac{\text{菌落數 (CFU)}}{\text{總推盤體積 (mL)}}$

對於偵測下限之決定，考量其係以 0.2 mL 為推盤體積並重複推 3 盤，故其偵測下限計算如下：

真細菌 LOD (CFU/mL) = $\frac{1\ (\text{CFU})}{0.2\times3\ \ (\text{mL})}=\frac{1\ (\text{CFU})}{0.6\ (\text{mL})}$ = 0.167 CFU/mL

5.8.4 易感性因子 *K* 值計算

本研究以有添加清潔用品之實驗組比照未添加清潔用品控制組比值，並與清潔用品濃度及接觸時間進行計算微生物易感因子，而 *K* 值所探討的接觸時間於短期及長期有所調整，前者僅計算 60 及 120 分鐘，後者則以 3、5、7、18、24 及 30 日計算，最後的結果可觀察 *L. pneumophila* 可培養性及活性對 22 種雨刷水相關清潔用品易感性程度，其回推公式如下：

K 值 (微生物易感因子, mL/g min 或 mL/g day) =

$$\frac{\ln\left(\frac{C_{control}}{C_{case}}\right)}{\text{清潔用品濃度}_{(g/mL)}\times\text{接觸時間}_{(\text{min 或 day})}}$$

$C_{control}$ = 平均未添加雨刷水清潔用品 *L. pneumophila* 可培養性或活性濃度

C_{case} = 平均有含添加雨刷水清潔用品 *L. pneumophila* 可培養性或活性濃度

其 *K* 值愈大，係指 *L. pneumophila* 對該雨刷水清潔用品易感受性較大，亦指其抑菌效能相對較佳。

doi:10.6342/NTU201704234

5.9 統計分析方法

本研究使用 SAS (9.4 版本)軟體，以廣義估計方程式 (Generalized estimating equation, GEE)及迴歸模式 (Regression model)分別分析清潔用品及物化特性對 *L. pneumophila* 培養力及活性之影響。統計分析架構如圖 17 所示，依變項 (Y)為培養力及活性 *L. pneumophila* 濃度。分析時分就短期抑菌及長期追蹤樣本數據，並探討各抑菌實驗中自變項 (X)之統計顯著性。短期抑菌樣本主要探討有無添加清潔用品、清潔用品種類 (類型)、清潔用品濃度、接觸時間及水溫對可培養性 *L. pneumophila* 濃度之影響，長期追蹤實驗則僅探討有無添加清潔用品、清潔用品種類 (類型)及接觸時間對活性 *L. pneumophila* 濃度之影響。此外，對此二者皆探討 pH 與硬度對 *L. pneumophila* 培養力與活性濃度之影響。所有統計檢定均以 P-value<0.05 判定為具統計顯著。

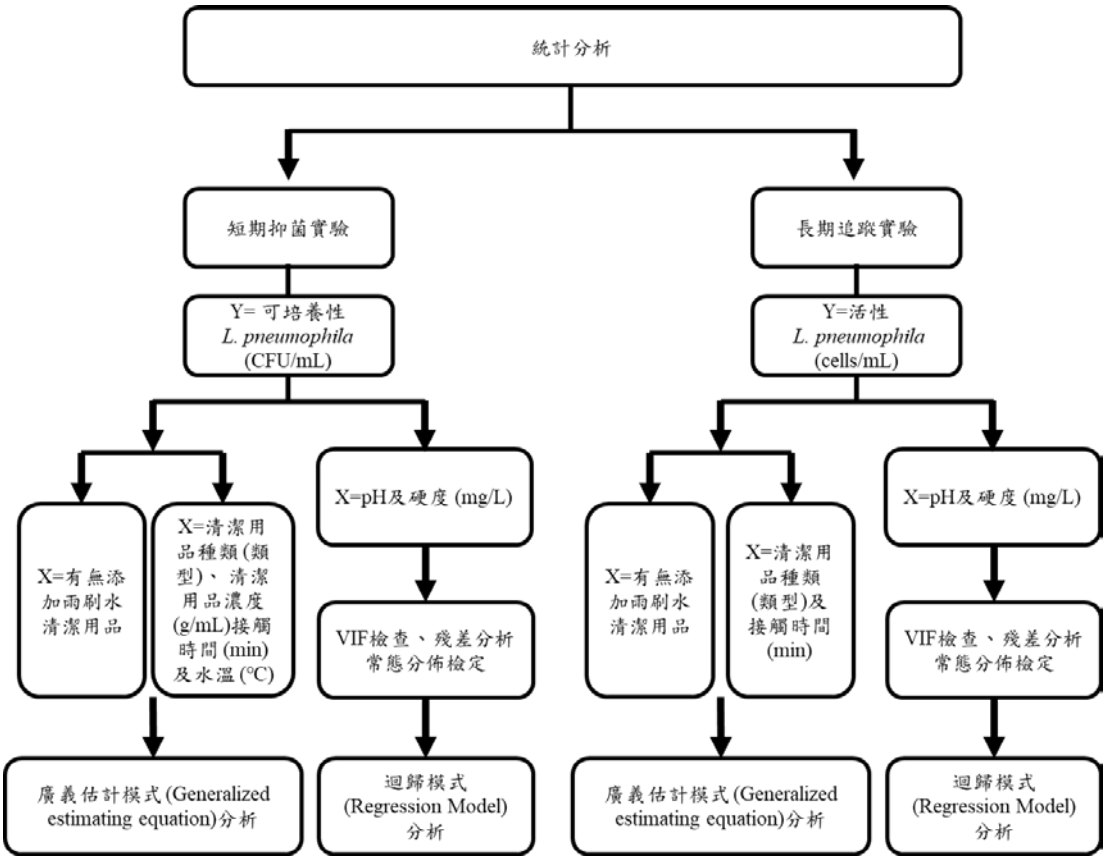


圖 17 統計分析架構

doi:10.6342/NTU201704234

5.9.1 廣義估計方程式 (Generalized estimating equation)分析

無論短期或長期抑菌實驗，均在不同接觸時間下重複測量 *L. pneumophila* 濃度，屬於相依性樣本，需以 GEE 進行統計分析 (Liang & Zeger, 1986)。考量樣本數及統計檢定力，本研究分別彙整 25℃時兩種清潔用品濃度 (0.1 及 0.01 g/mL)的短期抑菌數據，另亦量測 0.1 g/mL 濃度時兩種水溫 (25 及 37℃)的短期抑菌數據；另對於長期追蹤的樣本，將 0、3、5 日數據視為一組，與其他 7、18、24 及 30 日 4 組數據進行統計分析。此外亦探討市售兩刷精 (CS)及家用清潔劑 (HD)二大類型對 *L. pneumophila* 培養力及活性的影響。對於未檢出 *L. pneumophila* 之 ND 樣本，則以 1/2 LOD 值取代之，以利統計分析。彙整本研究 GEE 統計清單如表 21 所示。

doi:10.6342/NTU201704234

表 21 廣義估計方程式統計清單

短/長期	依變項 (Y)	數據特性				自變項 (X)	樣本數			
		清潔類型 [a]	清潔劑商品數	清潔劑濃度(g/mL)	水溫(°C)		實驗組樣本數 [b]	控制組批次數	控制組樣本數 [c]	總樣本數 [d]
短期	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)	CS	11[e]	0.1 + 0.01	25	有無添加雨刷水清潔用品	66	15	30	96
	L. pneumophila (Log CFU/mL)					清潔用品種類、濃度及接觸時間	66	-	-	66
短期	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)	HD	10	0.1 + 0.01	25	有無添加雨刷水清潔用品	60	11	22	82
	L. pneumophila (Log CFU/mL)					清潔用品種類、濃度及接觸時間	60	-	-	60
短期	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)	WWF	21[e]	0.1	25	有無添加雨刷水清潔用品	63	15	30	93
	L. pneumophila (Log CFU/mL)					雨刷水清潔用品類型及接觸時間	63	-	-	63
短期	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)	WWF	22	0.01	25	有無添加雨刷水清潔用品	66	11	22	88
	L. pneumophila (Log CFU/mL)					雨刷水清潔用品類型及接觸時間	66	-	-	66
短期	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)	WWF	21[e]	0.1 & 0.01	25	有無添加雨刷水清潔用品	126	26	52	178
	L. pneumophila (Log CFU/mL)					雨刷水清潔用品類型、濃度及接觸時間	126	-	-	126
短期	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)	CS	11[e]	0.1	25+37	有無添加雨刷水清潔用品	66	15	30	96
	L. pneumophila (Log CFU/mL)					清潔用品種類、接觸時間及水溫	66	-	-	66
短期	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)	HD	10	0.1	25+37	有無添加雨刷水清潔用品	60	13	26	86
	L. pneumophila (Log CFU/mL)					清潔用品種類、接觸時間及水溫	60	-	-	60
短期	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)	WWF	21[e]	0.1	37	有無添加雨刷水清潔用品	63	15	30	93
	L. pneumophila (Log CFU/mL)					雨刷水清潔用品類型及接觸時間	63	-	-	63

doi:10.6342/NTU201704234

短/長期	依變項 (Y)	數據特性				自變項 (X)	樣本數			
		清潔類型 [a]	清潔劑商品數	清潔劑濃度(g/mL)	水溫(℃)		實驗組樣本數 [b]	控制組批次數	控制組樣本數 [c]	總樣本數 [d]
短期	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)	WWF	21[e]	0.1	25+37	有無添加雨刷水清潔用品	126	28	56	182
	L. pneumophila (Log CFU/mL)					雨刷水清潔用品類型、接觸時間及水溫	126	-	-	126
長期	*L. pneumophila* (Log cells/mL)	CS	12	0.1	37	有無添加雨刷水清潔用品	36	12	24	60
	L. pneumophila (Log cells/mL)					清潔用品種類及接觸時間	36	-	-	36
長期	*L. pneumophila* (Log cells/mL)	HD	10	0.1	37	有無添加雨刷水清潔用品	30	12	24	54
	L. pneumophila (Log cells/mL)					清潔用品種類及接觸時間	30	-	-	30
長期	*L. pneumophila* (Log cells/mL)	WWF	22	0.1	37	有無添加雨刷水清潔用品	66	12	24	90
	L. pneumophila (Log cells/mL)					雨刷水清潔用品類型及接觸時間	66	-	-	66

a: 雨刷水清潔用品 (WWF)：CS+HD；市售雨刷精 (CS)；家用清潔劑 (HD)

b: 實驗組樣本數=各清潔商品種類數×清潔劑濃度×水溫×3 重複；各分析樣本數視其數據彙整條件而有不同

c: 控制組樣本數=控制組批次數×2 重複

d: 總樣本數=實驗組樣本數+控制組樣本數

e: 於短期抑菌實驗 12 種雨刷精以 0.1 g/mL 濃度探討抑菌效果中，SF 雨刷精因 non-*L. pneumophila* 菌落至無法定量可培養 *L. pneumophila*，故無法納入統計分析

doi:10.6342/NTU201704234

5.9.2 迴歸模式 (Regression model)分析

在探討 pH 與硬度對可培養及活性 *L. pneumophila* 濃度之影響，因 pH 與硬度屬於單一時間點 (短時間：120 分鐘；長時間：30 日)，故以迴歸模式分析。由於先前研究題示，為 pH 高於 8 或 10 時培養性之 *L. pneumophila* 濃度(Chang et al., 2008; Ohno et al., 2003)，故本研究以 pH 值為 8 及 10 作為 pH 切點並以此進行統計分析；此外，Lasheras 等人發現熱水系統檢出 *L. pneumophila* 樣本，其平均硬度為 2.48 mg/L (95% CI = 2.2-2.76)，陰性樣本之平均硬度則為 1.72 mg/L (95% CI = 1.44-2.02) (Lasheras et al., 2006)。參酌本研究樣本之硬度分佈特性 (詳見結果如附件 3)及 Lasheras 等人研究結果，將樣本研究數據，以 3 及 12 mg/L 作為硬度之切點，以評硬度分組與 *L. pneumophila* 濃度之關係。當 *L. pneumophila* 濃度、pH 或硬度值低於偵測下限值，則以 1/2 LOD 值取代之，以利統計分析。有關迴歸模式數據分析如圖 18 所示，統計分析步驟則如下述：

1. 欲檢視 pH 及硬度是否有共線性問題，以檢查膨脹係數(Variance Inflation Factor, VIF)是否有大於 10，若有則為有共線性現象，則不能將兩者變項放入迴歸模式分析。其檢查結果膨脹係數皆為 1，係指 pH 及硬度無共線性問題。
2. 將樣本以殘差分析進行常態分佈檢定，以常態機率圖 (Quantile-Quantile Plot, Q-Q plot)檢視樣本殘差值分布是否為線性分布，且 P-value>0.05，虛無假設成立，係指符合常態分佈，可進行迴歸模式分析。
3. 若 P-value<0.05 則不符合常態分佈，需將 *L. pneumophila* 濃度數值以取對數、開根號及平方方式處理後，再一次進行殘差分析及常態分佈檢定，最終以轉換數值型態符合常態分佈者進行迴歸模式分析。
4. 若將數值轉換完後，仍未符合常態分佈，則選擇 P-value 數值接近 0.05 者進行迴歸模式分析。

對於短期及長期抑菌實驗 Regression Model 分析，彙整統計清單如表 22 所示。

doi:10.6342/NTU201704234

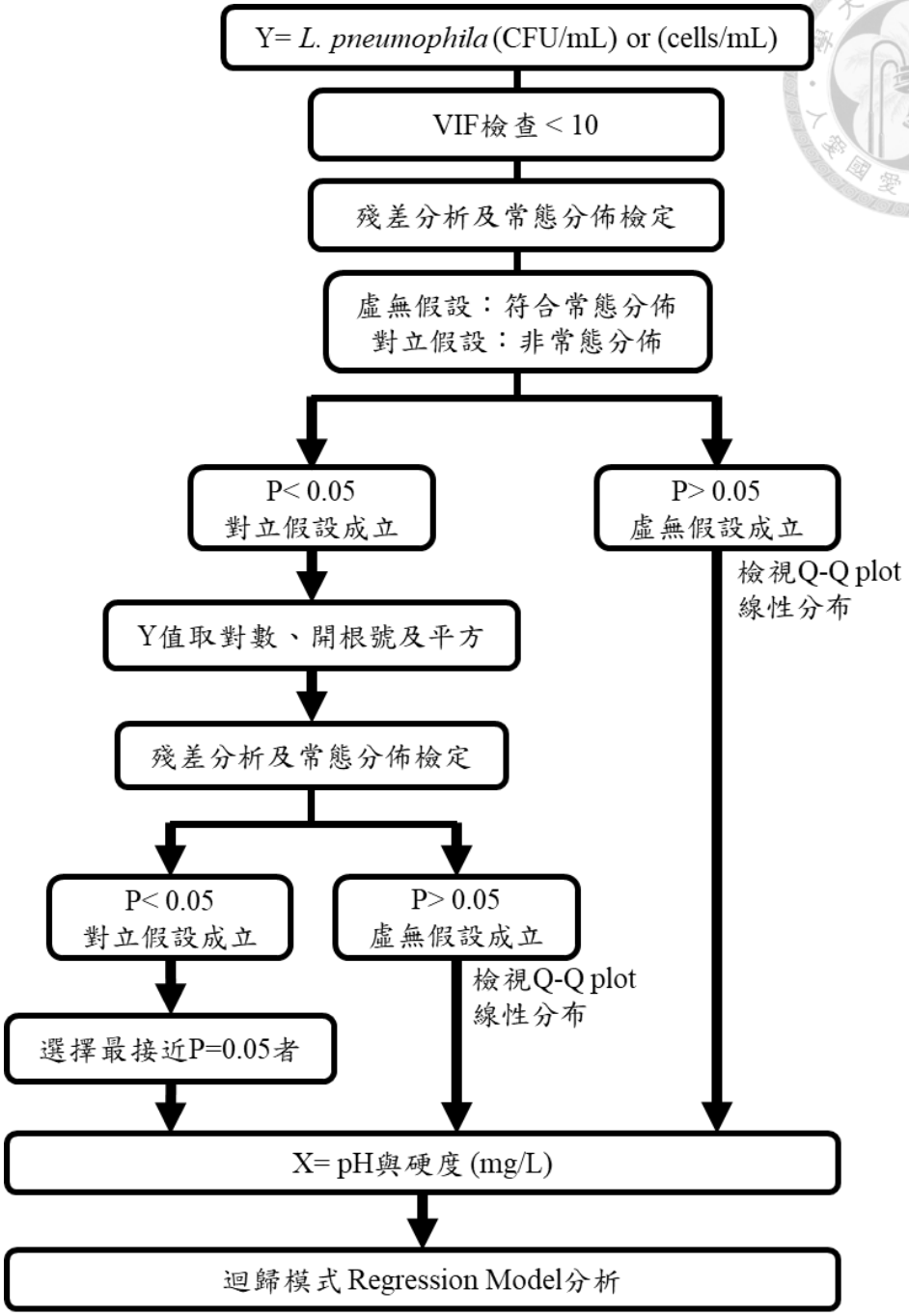


圖 18 迴歸模式分析流程

doi:10.6342/NTU201704234

表 22 迴歸模式統計清單

短 / 長期	依變項 (Y)	轉換 Y 數值 [a]	數據特性				自變項 (X)	樣本數 [c]	VIF[d]
			清潔類型 [b]	清潔劑商品數	清潔劑濃度(g/mL)	水溫 (°C)			
短期	*L. pneumophila* (CFU/mL)	Log	CS	11[e]	0.1 & 0.01	25	pH 及硬度	66	1.01
短期	*L. pneumophila* (CFU/mL)	Square root	HD	10	0.1 & 0.01	25	pH 及硬度	60	1.04
短期	*L. pneumophila* (CFU/mL)	Log	CS	11[e]	0.1	25&37	pH 及硬度	66	1.05
短期	*L. pneumophila* (CFU/mL)	Log	HD	10	0.1	25&37	pH 及硬度	60	1.10
長期	*L. pneumophila* (cells/mL)	Log	CS	12	0.1	37	pH 及硬度	36	1.02
長期	*L. pneumophila* (cells/mL)	Square root	HD	10	0.1	37	pH 及硬度	30	1.11

a: 轉換 Y 數值條件為符合常態分佈或接近常態分布結果

b: 雨刷水清潔用品 (WWF)：CS+HD；市售雨刷精 (CS)；家用清潔劑 (HD)

c: 樣本數=各清潔商品種類數×清潔劑濃度×水溫×3 重複；各分析樣本數視其數據彙整條件而有不同

d: 以膨脹係數(Variance Inflation Factor, VIF)檢查 pH 及硬度是否有共線性 (以>10 為共線性之意)

e: 於短期抑菌實驗 12 種雨刷精以 0.1 g/mL 濃度探討抑菌效果中，SF 雨刷精因 non-*L. pneumophila* 菌落至無法定量可培養 *L. pneumophila*，故無法納入統計分析

doi:10.6342/NTU201704234

第六章 結果

6.1 兩刷水清潔用品微生物特性

22 種受測兩刷水清潔用品之微生物檢測結果顯示無活性 *L. pneumophila* 之存在 (偵測下限為 620 cells/mL)。至於可培養性微生物之生長情形如表 23 所示，在 12 種市售兩刷精中，不論在異營性細菌或真菌，SF 及 TY 清潔用品每盤菌落數皆超過 300 CFU，代表其異營性細菌及真菌濃度皆超過 1.5×10^3 CFU/mL。其次為 SN，結果顯示其含有 165-240 CFU/mL 異營性細菌及 55 CFU/mL 真菌；至於 GD 則含有 13 CFU/mL 異營性細菌。其餘 8 種市售兩刷精則未檢測出細菌及真菌。

在 10 種家用清潔劑中，僅在 SO 發現細菌及真菌之存在，且推盤菌落數皆超過 300 CFU，顯示細菌及真菌濃度皆超過 1.5×10^3 CFU/mL。

doi:10.6342/NTU201704234

表 23 雨刷水清潔用品異營性細菌與真菌檢測結果 (n=3)

類型[a]	編號	清潔用品	異營性細菌 Mean (SD[b]), CFU/mL		真菌 Mean (SD), CFU/mL
			TSA[c]	R2A[d]	MEA[e]
CS	C1	TM	ND[f]	ND	ND
	C2	GD	ND	14 (11)[g]	ND
	C3	AA	ND	ND	ND
	C4	CD	ND	ND	ND
	C5	CAP	ND	ND	ND
	C6	CP	ND	ND	ND
	C7	SN	240 (56)	165 (93)	55 (87)[g]
	C8	GY	ND	ND	ND
	C9	TY	TNTC[h]	TNTC	TNTC
	C10	BP	ND	ND	ND
	C11	SF	TNTC	TNTC	TNTC
	C12	BS	ND	ND	ND
HD	H1	MB	ND	ND	ND
	H2	BL	ND	ND	ND
	H3	DW	ND	ND	ND
	H4	WD	ND	ND	ND
	H5	MG	ND	ND	ND
	H6	MA	ND	ND	ND
	H7	SO	TNTC	TNTC	TNTC
	H8	AM	ND	ND	ND
	H9	LT	ND	ND	ND
	H10	WB	ND	ND	ND

a: 市售雨刷精 (CS) and 家用清潔劑 (HD)

b: 標準差(Standard deviation,SD)

c: Trypticase soy agar (TSA), incubaction at 37℃ for 2 days

d: Reasoner's 2A agar (R2A), incubaction at 28℃ for 7 days

e: Malt Extract Agar (MEA), incubaction at 25℃ for 5 days

f: Not detected (Lower limit of detection= 1CFU/0.6 mL=1.67 CFU/mL)

g: 一筆 ND 數，以 1/2LOD 取代 ND 結果

h: Too numerous too count (Upper limit of detection=$\frac{300\ CFU\times 3\ plates}{0.2\times 3\ mL}$1.5×$10^3$ CFU/mL)

doi:10.6342/NTU201704234

6.1.1 兩刷水清潔用品之物理化學特性

22 種兩刷水清潔用品之物理化學特性如表 24 所示。在 12 種市售兩刷精中，GD, AA 與 CD 之 pH 值介於 9.23-11.36，而 SN, GY 與 BS 之 pH 值為 7.36-7.91，其餘 TM, CAP, CP, BP, TY 與 SF 之 pH 值為 4.27-6.84。10 種家用清潔劑中有 7 種家用清潔劑 (MB, DW, WD, MG, MA, SO, LT)屬於偏鹼性，其 pH 值為 8.94-12.86；其餘 3 種物質 (BL, AM, WB)之 pH 值為 6.63-6.93，屬於弱酸溶液。

在總固體溶解質方面，12 種市售兩刷精中，最高者為 AA (2.69 g/L)及 CD (2.28 g/L)，最低者為 BS (0.004 g/L)。至於 10 種家用清潔劑中，LT 之總固體溶解質達 26.35 g/L，其次為 MB、AM、WB 及 SO，其總固體溶解質為 9.28-12.53 g/L，其餘 5 種家用清潔劑則介於 0.12-2.46 g/L 間。

導電度部分，12 種市售兩刷精中最高者為 AA (5.12 mS/cm)及 CD (4.38 mS/cm)，最低者為 BS (0.01 mS/cm)。10 種家用清潔劑中，導電度以 LT 最高 (42.70 mS/cm)，其次為 MB、AM、WB 及 SO (16.43-21.68 mS/cm)，其餘則介於 0.26-4.70 mS/cm 間。

在濁度部分，12 種市售兩刷精中最高者為 SN (37.40 NTU)，其次為 BS (5.32 NTU)，其餘則介於 0.37-3.75 NTU。10 種家用清潔劑中則以 MB 與 LT 之濁度較高分別為 16.67 及 14.05 NTU，其次為 SO 及 BL (均為 4.5 NTU)，其餘則介於 0.69-2.49 NTU。

硬度測量結果顯示，12 種市售兩刷精中以 CAP 硬度最高 (40.50 mg/L)，其次為 CP (15.75 mg/L)，SN 與 GY 次之 (均為 7.5 mg/L)，而 TM 及 BP 硬度為 1.0 及 0.5 mg/L，其餘物質則未檢出 (偵測下限為 1 mg/L)。10 種家用清潔劑中以 AM 硬度最高 (231.25 mg/L)，其次為 WB 及 LT (均為 66 mg/L)，DW、WD 及 SO 則介於 6.5-12.5 NTU，其餘物質則未檢出。

doi:10.6342/NTU201704234

表 24 雨刷水清潔用品之物理化學特色(n=4)

類型[a]	編號	清潔用品	pH[b]		總固體溶解質(g/L)[c]		導電度(mS/cm)[d]		濁度(NTU)[e]		硬度(mg/L)[f]	
			Mean	SD[g]	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
CS	C1	TM	4.3	0.1	0.04	0.00	0.1	0.01	3.1	0.1	1.0	2.0
	C2	GD	10.8	0.2	0.3	0.02	0.6	0.04	0.7	0.3	ND[h]	-
	C3	AA	11.4	0.2	2.7	0.2	5.1	0.3	2.9	0.2	ND	-
	C4	CD	9.2	0.0	2.3	0.1	4.4	0.2	0.4	0.0	ND	-
	C5	CAP	6.0	0.8	0.5	0.01	1.0	0.03	0.5	0.1	40.5	9.3
	C6	CP	6.0	0.7	0.1	0.01	0.2	0.02	3.8	2.1	15.8	7.8
	C7	SN	7.9	0.2	0.7	0.01	1.4	0.03	37.4	3.4	7.5	7.9
	C8	GY	7.4	0.1	0.4	0.02	0.9	0.04	1.3	0.1	7.5	7.6
	C9	TY	4.6	0.1	0.3	0	0.7	0.04	1.6	0.5	ND	-
	C10	BP	6.6	0.6	0.5	0.02	0.9	0.05	1.3	0.1	0.5	1.0
	C11	SF	6.8	0.1	1.4	0.1	2.8	0.2	1.6	0.7	ND	-
	C12	BS	7.5	0.4	0.004	0.001	0.01	0.001	5.3	3.6	ND	-
HD	H1	MB	12.9	0.3	9.3	0.4	16.4	0.6	16.7	8.8	ND	-
	H2	BL	6.6	0.0	2.5	0.2	4.7	0.3	4.5	0.3	ND	-
	H3	DW	9.1	0.2	0.1	0.01	0.3	0.02	0.9	0.1	12.5	4.7
	H4	WD	10.3	0.5	1.0	0.1	2.0	0.1	0.9	0.2	6.5	7.5
	H5	MG	10.8	0.2	0.7	0.02	1.5	0.04	0.8	0.3	ND	-
	H6	MA	10.6	0.1	0.4	0.02	0.9	0.04	0.7	0.2	ND	-
	H7	SO	8.9	0.6	12.5	0.4	21.7	0.6	4.5	3.7	9.3	6.4
	H8	AM	6.9	0.1	9.7	0.5	17.1	0.9	2.5	0.2	231.3	28.4
	H9	LT	9.4	0.1	26.4	1.7	42.7	2.3	14.1	3.6	66	17.7
	H10	WB	6.9	0.3	12.4	0.3	21.4	0.4	2.2	0.1	65.8	15.9

a: Type of agent： Household detergent (HD) and Commercial screenwash (CS)

b: LOD of pH is -2

c: LOD of total dissolved solids (TDS) is 0.0001 g/L

d: LOD of conductivity is 0.00001 mS/cm

e: LOD of Turbidity is 0.01 NTU.

f: LOD of Hardness is 1 mg/L

g: Standard deviation

h: Not detected

doi:10.6342/NTU201704234

6.2 25℃短期退伍軍人菌抑菌實驗

6.2.1 25℃短時間下市售兩刷精抑菌結果

6.2.1.1 0.1 g/mL 市售兩刷精抑菌效果

圖 19 中黑色柱狀圖為 0.1 g/mL 之 TM、GD、AA 及 CD 清潔用品與 10^5 CFU/mL *L. pneumophila* 接觸 0.5-120 分鐘之 *L. pneumophila* 濃度變化，空白柱狀圖則為不含清潔用品 (控制組)之 *L. pneumophila* 濃度。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 3.1×10^4-1.9×10^5 CFU/mL；於 0.5 分鐘接觸 TM、GD、AA 及 CD 時，*L. pneumophila* 濃度分別為 3.3、1.0×10^2、3.9×10^2 及 2.3×10^4 CFU/mL，接觸 60 及 120 分鐘時則皆無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)。

圖 20 為 0.1 g/mL 之 CAP、CP、SN、GY 及 TY 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 4.8×10^4-2.1×10^5 CFU/mL；於接觸五種清潔用品 0.5 分鐘皆達 10^4 CFU/mL 以上 (2.8×10^4-4.7×10^4 CFU/mL)；接觸 CAP、CP、SN、GY 及 TY 60 分鐘時，*L. pneumophila* 濃度分別降至 2.1×10^2、4.5×10^2、5.0×10^3、2.5×10^3 及 1.3×10^4 CFU/mL；接觸 120 分鐘時，CAP 中未檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，而 CP、SN、GY 及 TY 中仍有 1.2×10^1、4.6×10^2、1.1×10^2 及 3.5×10^4CFU/mL 之 *L. pneumophila*。比較圖 19 與圖 20，顯示 CAP、CP、SN、GY 及 TY 較 TM、AA、GD 及 CD 抑菌相對緩慢。

圖 21 為 0.1 g/mL 之 BP 及 BS 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 4.7×10^4-1.5×10^5 CFU/mL；接觸 BP 及 BS 0.5 分鐘時，*L. pneumophila* 濃度維持在 4.5×10^4 及 5.9×10^4 CFU/mL；60 分鐘時 BP 及 BS 中仍分別含有 7.4×10^3 及 3.5×10^4 CFU/mL 之 *L. pneumophila*；接觸 BP 及 BS 120 分鐘後之 *L. pneumophila* 仍維持在 6.4×10^3 及 8.7×10^4 CFU/mL，顯示 BP 及 BS 抑菌效果差。

圖 22(a)為 0.1 g/mL 之 SF 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內控制組 *L. pneumophila* 濃度維持在 1.5×10^5 CFU/mL，添加 SF 者則長出異營性細菌 (如圖 22 (b))，也因此無法辨識與定量 *L. pneumophila* (Not available, NA)。

doi:10.6342/NTU201704234

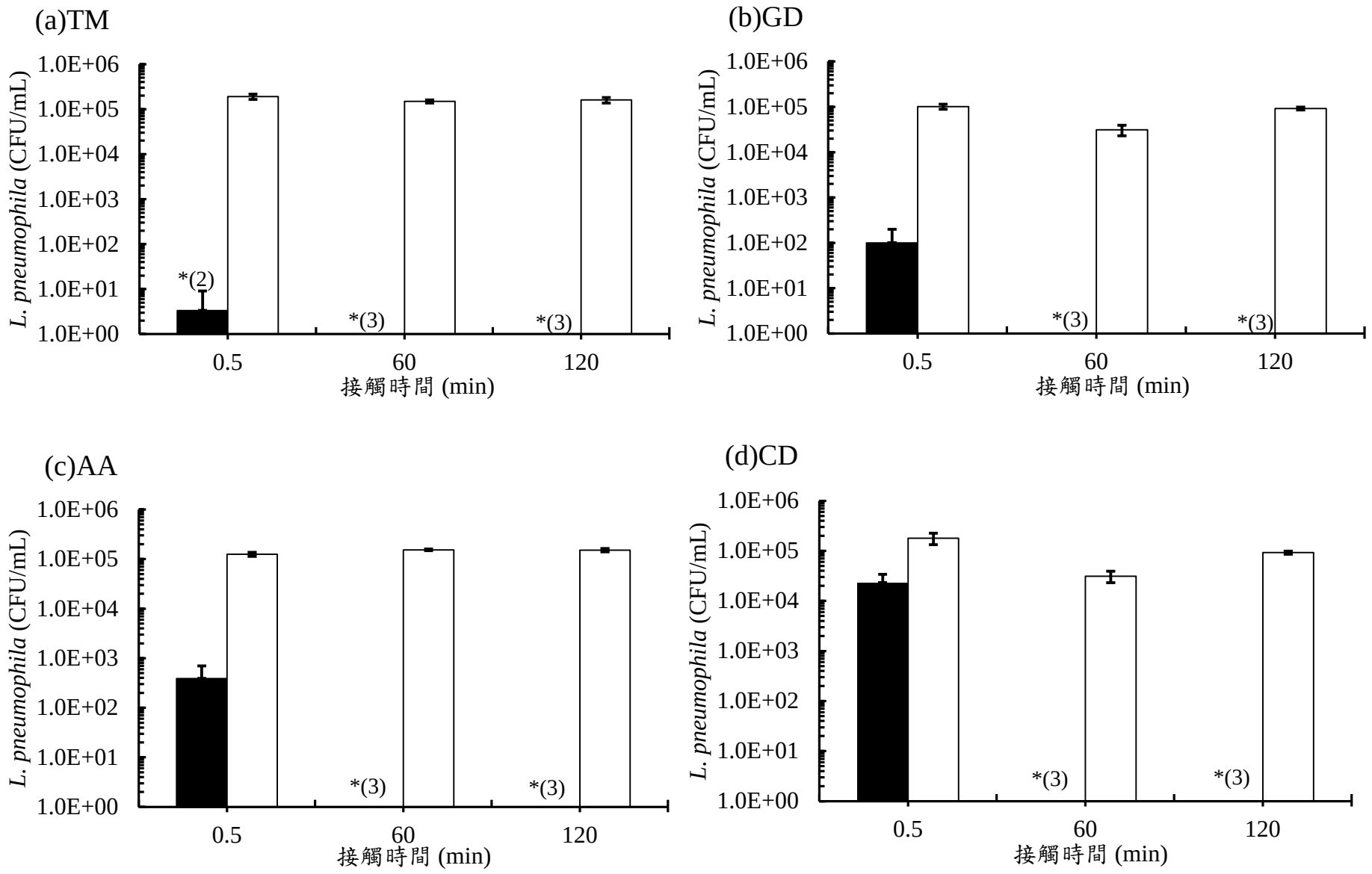


圖 19 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 雨刷精 (TM、GD、AA、CD)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2)；*(n)=Number of not-detected samples (偵測下限=1 CFU/0.2 mL=5 CFU/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

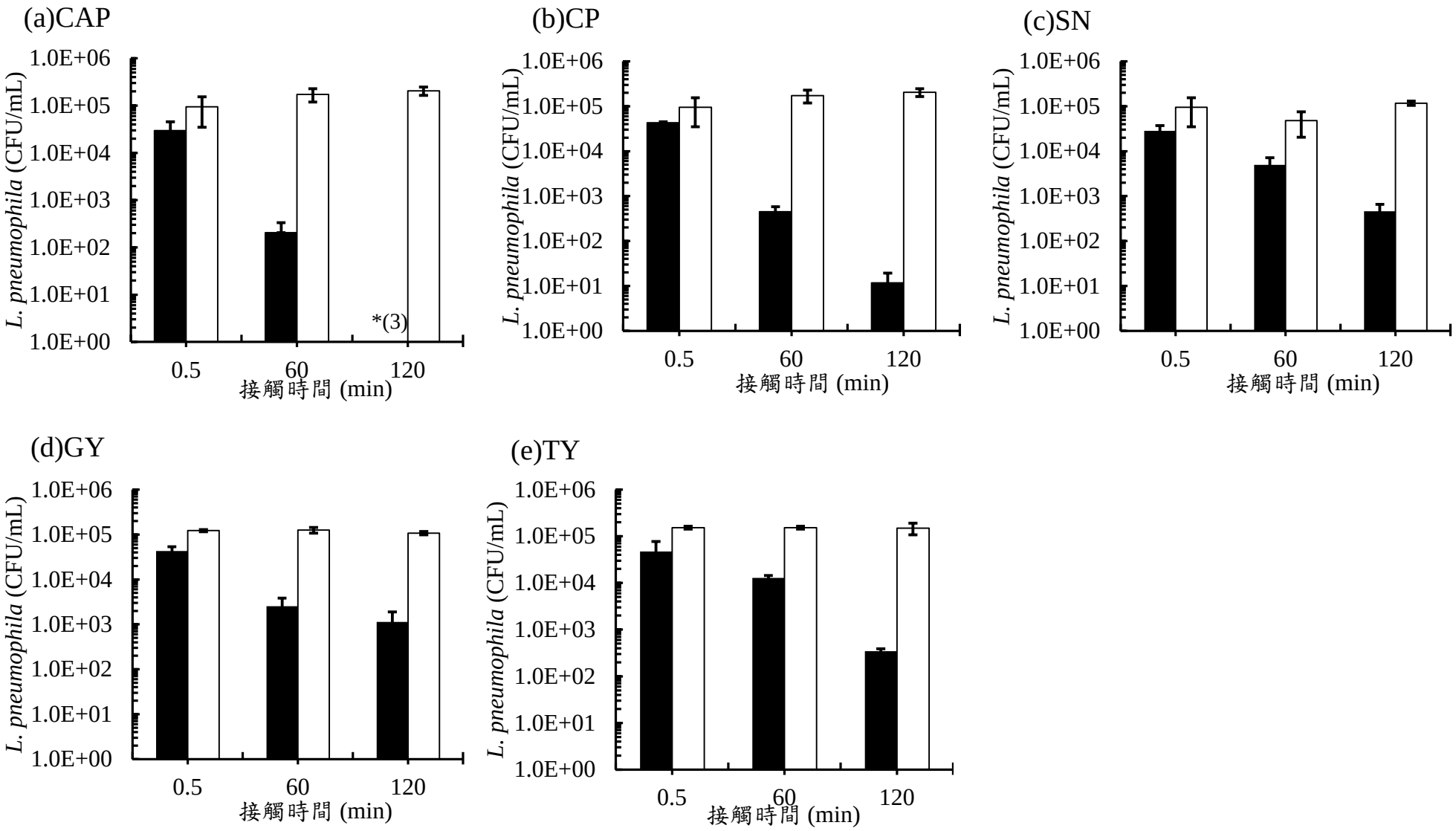


圖 20 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 雨刷精 (CAP、CP、SN、GY、TY)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2)；*(n)=Number of not-detected samples (偵測下限=1 CFU/0.2 mL=5 CFU/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

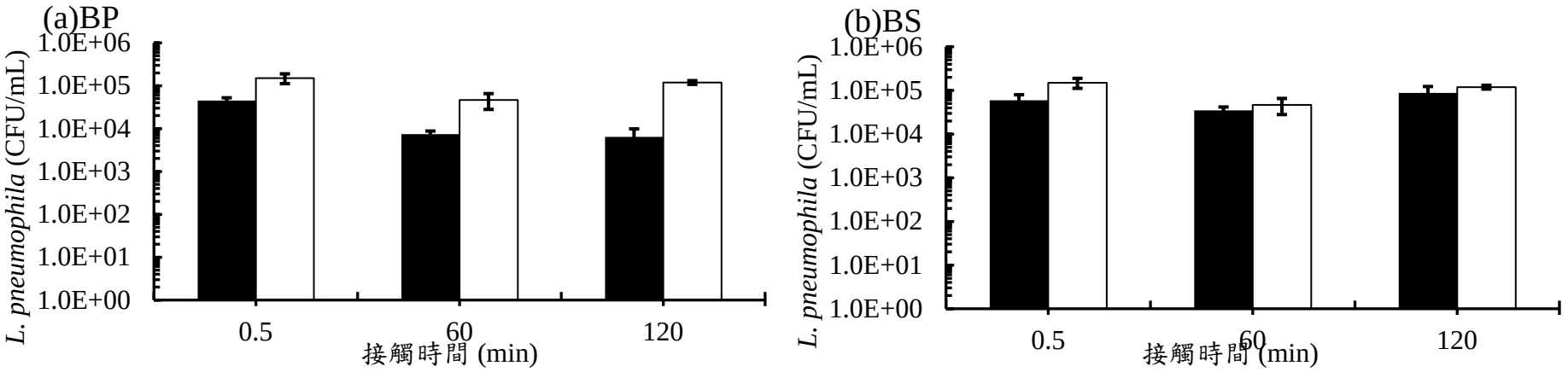


圖 21 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 雨刷精 (BP 及 BS)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2))

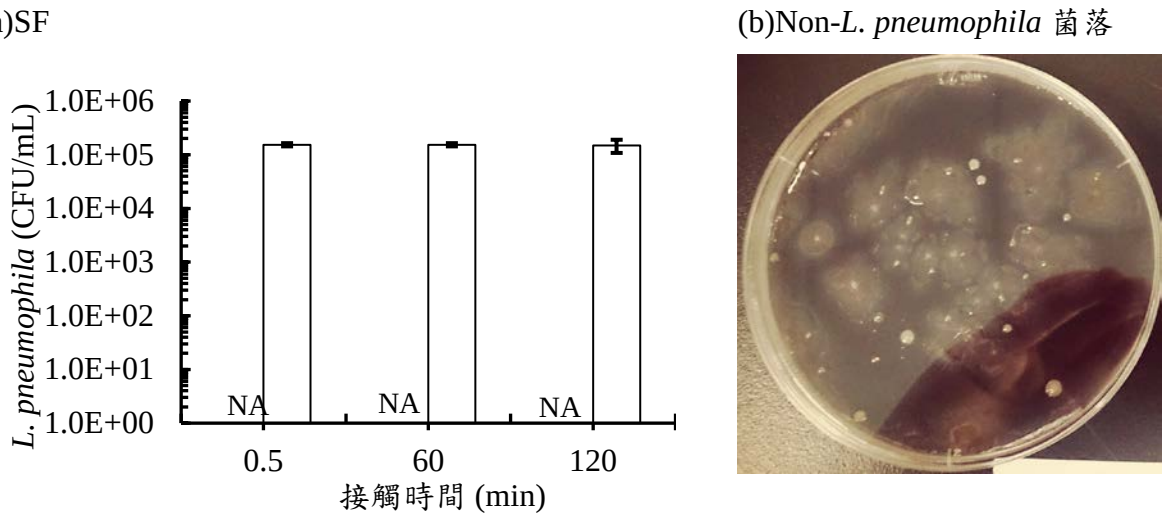


圖 22 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL SF 雨刷精之(a)可培養細菌濃度及(b) Non-*L. pneumophila* 菌落(SF)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2)；NA= Not available)

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.1.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 市售雨刷精易感性因子 (60 及 120 分鐘)

計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 市售雨刷精於 60 及 120 分鐘之易感性因子 (*K* 值)，其平均值、標準差、最小值及最大值如表 25 所示，另以 K 值繪圖觀察 *L. pneumophila* 之培養力對各 12 種市售雨刷精程度如圖 23 所示。結果顯示，*L. pneumophila* 之培養力對 AA 及 TM 的易感性大，*K* 值皆為 1.38 mL/g min (SD = 0.50 mL/g min；0.92-1.84 mL/g min)；其次為 CD 及 GD，*K* 值皆為 1.22 mL/g min (SD = 0.38 mL/g min；0.88-1.57 mL/g min)；*L. pneumophila* 之培養力則對 CAP 及 CP *K* 值分別為 1.04 及 0.91 mL/g min (SD = 0.13 及 0.10 mL/g min；0.94-1.24 及 0.77-1.05 mL/g min)；GY、SN、TY 及 BP *K* 值則介於 0.38-0.53 mL/g min (SD = 0.17、0.07、0.05 及 0.14 mL/g min；0.33-0.81、0.43-0.64、0.39-0.52 及 0.20-0.54 mL/g min)；BS 則對 *L. pneumophila* 之培養力影響較小，*K* 值為 0.14 mL/g min (SD = 0.12 mL/g min；0.00-0.27 mL/g min)；而 SF 結果含非嗜肺性退伍軍人菌落，無法辨識 *L. pneumophila*，故無 *K* 值。

doi:10.6342/NTU201704234

表 25 計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值

清潔用品	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	*K* 值 [a] (mL/g min)			
			Mean	SD	Min	Max
AA	25	0.1	1.38	0.50	0.92	1.84
TM	25	0.1	1.38	0.50	0.92	1.83
CD	25	0.1	1.22	0.38	0.88	1.57
GD	25	0.1	1.22	0.38	0.88	1.57
CAP	25	0.1	1.04	0.13	0.94	1.24
CP	25	0.1	0.91	0.10	0.77	1.05
GY	25	0.1	0.53	0.17	0.33	0.81
SN	25	0.1	0.52	0.07	0.43	0.64
TY	25	0.1	0.46	0.05	0.39	0.52
BP	25	0.1	0.38	0.14	0.20	0.54
BS	25	0.1	0.14	0.12	0.00	0.27
SF[b]	25	0.1	-	-	-	-

a: *K* 值為將未添加清潔用品控制組與添加清潔用品實驗組 *L. pneumophila* 濃度比值取對數後，再除以添加濃度及接觸時間。

b: 添加 0.1 g/mL SF 檢測出非嗜肺性退伍軍人菌菌落，故 *K* 值無結果

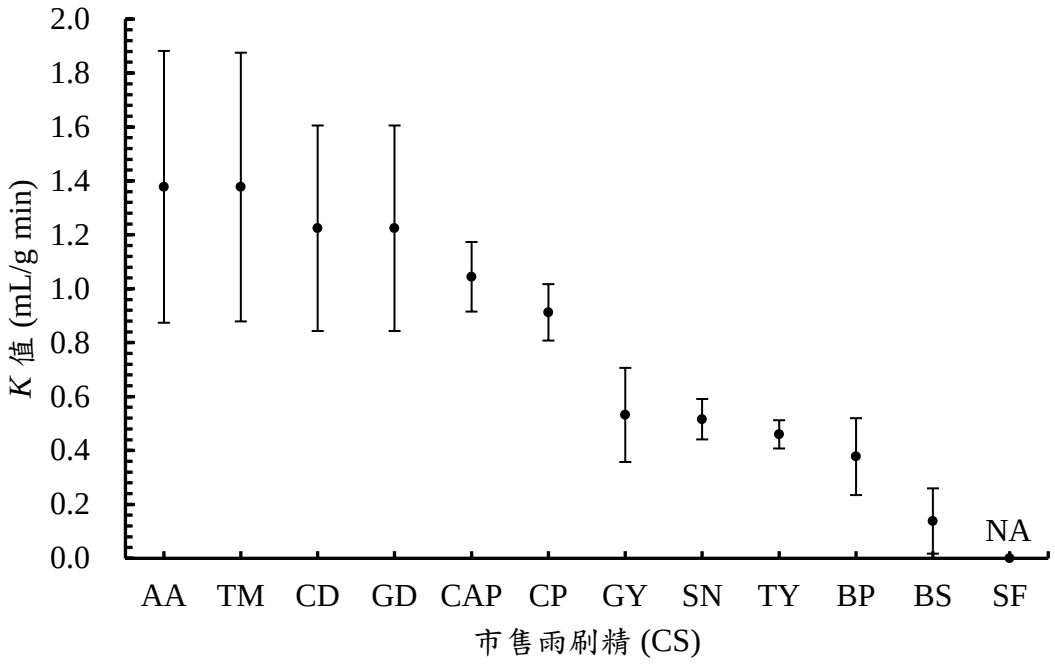


圖 23 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果

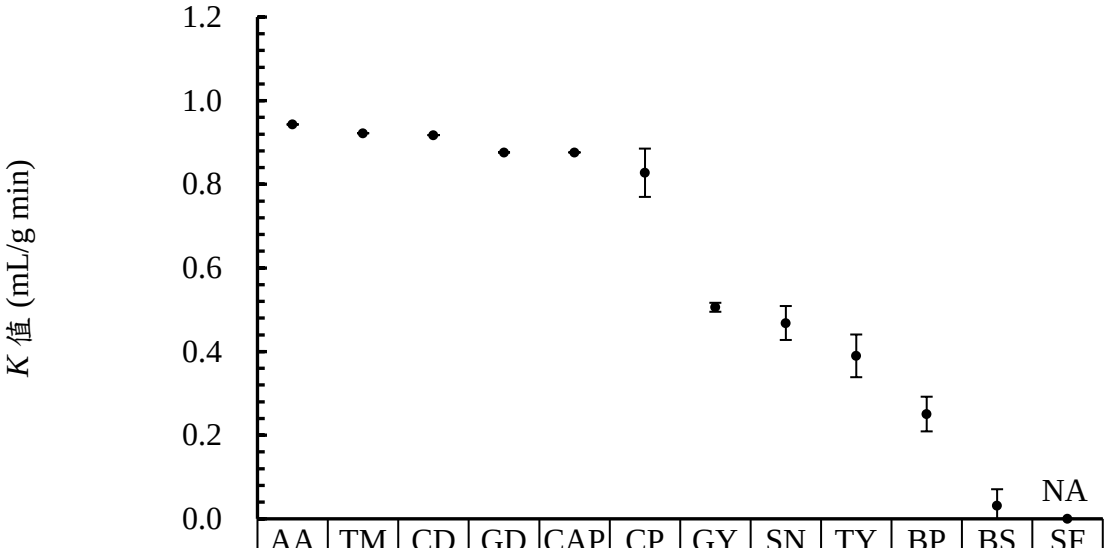
(NA= Not available)

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.1.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘) 與 pH 及硬度值

計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 市售雨刷精於 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其對應 pH 及硬度值如圖 24 所示。*K* 值結果顯示，AA、TM、CD、GD、CAP 及 CP *K* 值介於 0.83-0.94 mL/g min，顯示此 6 種對 *L. pneumophila* 之培養力影響大；其次為 GY、SN、TY 及 BP，其 *K* 值介於 0.25-0.51 mL/g min；最低為 BS，其 *K* 值為 0.03 mL/g min，顯示對 *L. pneumophila* 之培養力較無影響；而 SF 結果含非嗜肺性退伍軍人菌落，無法辨識 *L. pneumophila*，故無 *K* 值。

pH 結果顯示，添加清潔濃度為 0.1 g/mL AA 及 GD 最高，其 pH 皆為 10，其餘清潔用品 pH 則介於 7.44-7.64。另外於硬度結果顯示，以 0.1 g/mL TM 硬度最高 (10 mg/L)，其次為 CAP (2.67 mg/L)，其餘清潔用品硬度則為 0.5 mg/L。



	AA	TM	CD	GD	CAP	CP	GY	SN	TY	BP	BS	SF
K 值 (mL/g min)	0.94	0.92	0.92	0.88	0.88	0.83	0.51	0.47	0.39	0.25	0.03	0.00
pH	10.55	7.55	7.65	10.10	7.55	7.51	7.63	7.64	7.51	7.64	7.57	7.44
硬度 (mg/L)	0.50	10.00	0.50	0.50	2.67	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

市售雨刷精 (CS)

圖 24 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果

(NA= Not available)

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.1.2 0.01 g/mL 市售兩刷精抑菌效果

圖 25 中黑色柱狀圖為 0.01 g/mL 之 TM、CD、CAP 及 SF 清潔用品與 10^5 CFU/mL *L. pneumophila* 接觸 0.5-120 分鐘之濃度變化，空白柱狀圖則為不含清潔(控制組)之 *L. pneumophila* 濃度。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 8.6×10^4-1.6×10^5 CFU/mL；接觸 TM、CD、CAP 及 SF 0.5 分鐘時，*L. pneumophila* 濃度分別為 1.3×10^2、3.4×10^4、1.5×10^5 及 1.2×10^5 CFU/mL，接觸 60 分鐘時，TM 中已無檢出 *L. pneumophila*，CD 中仍有 2.5×10^2 CFU/mL，而 CAP 及 SF 中為 4.8×10^4 CFU/mL。120 分鐘時，CD、CAP 及 SF 中 *L. pneumophila* 分別為 1.1×10^2、1.7×10^2 與 3.0×10^2 CFU/mL。

圖 26 為 0.01 g/mL 之 TY、BP、GY、AA 及 CP 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.1×10^5-1.6×10^5 CFU/mL；於 0.5 分鐘，TY、BP、GY、AA 及 CP 中 *L. pneumophila* 濃度介於 9.8×10^4-1.2×10^5 CFU/mL；60 分鐘時，*L. pneumophila* 略降至濃度介於 1.4×10^4-5.4×10^4 CFU/mL；接觸 120 分鐘後，除 CP 中仍含有 1.9×10^4 CFU/mL *L. pneumophila* 外，其餘四種清潔用品中 *L. pneumophila* 持續降至 10^3 CFU/mL (濃度介於 3.5×10^3-8.6×10^3 CFU/mL)。

圖 27 為 0.01 g/mL 之 SN、BS 及 GD 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.1×10^5-1.5×10^5 CFU/mL；在 120 分鐘內，SN 及 BS 中 *L. pneumophila* 濃度皆維持在 10^4 CFU/mL (濃度介於 6.6×10^4-9.9×10^4 CFU/mL)，而 GD 中 *L. pneumophila* 更高 (1.2×10^5 CFU/mL)。

doi:10.6342/NTU201704234

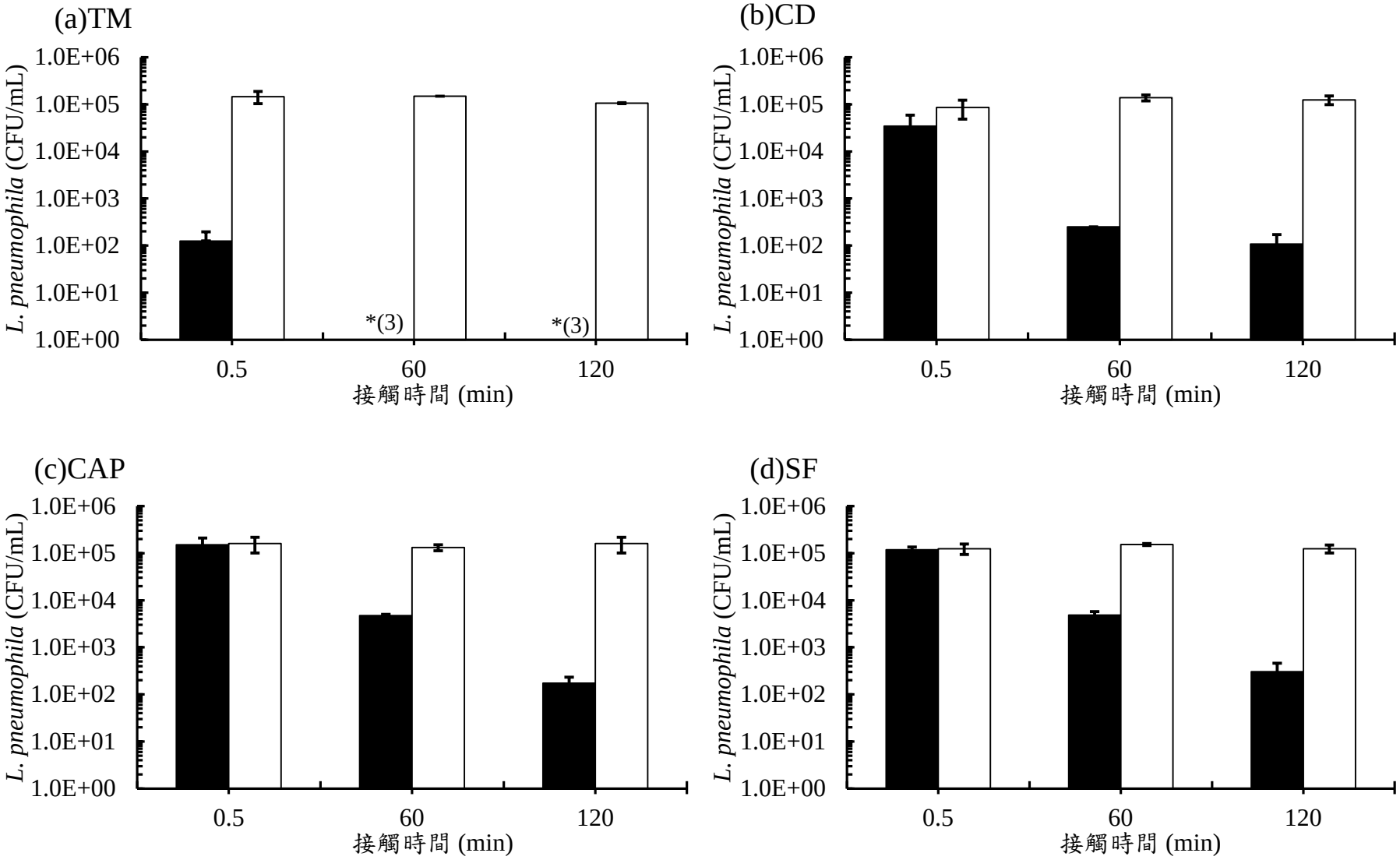


圖 25 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 雨刷精 (TM、CD、CAP、SF)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2)；*(n)=Number of not-detected samples (偵測下限=1 CFU/0.2 mL=5 CFU/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

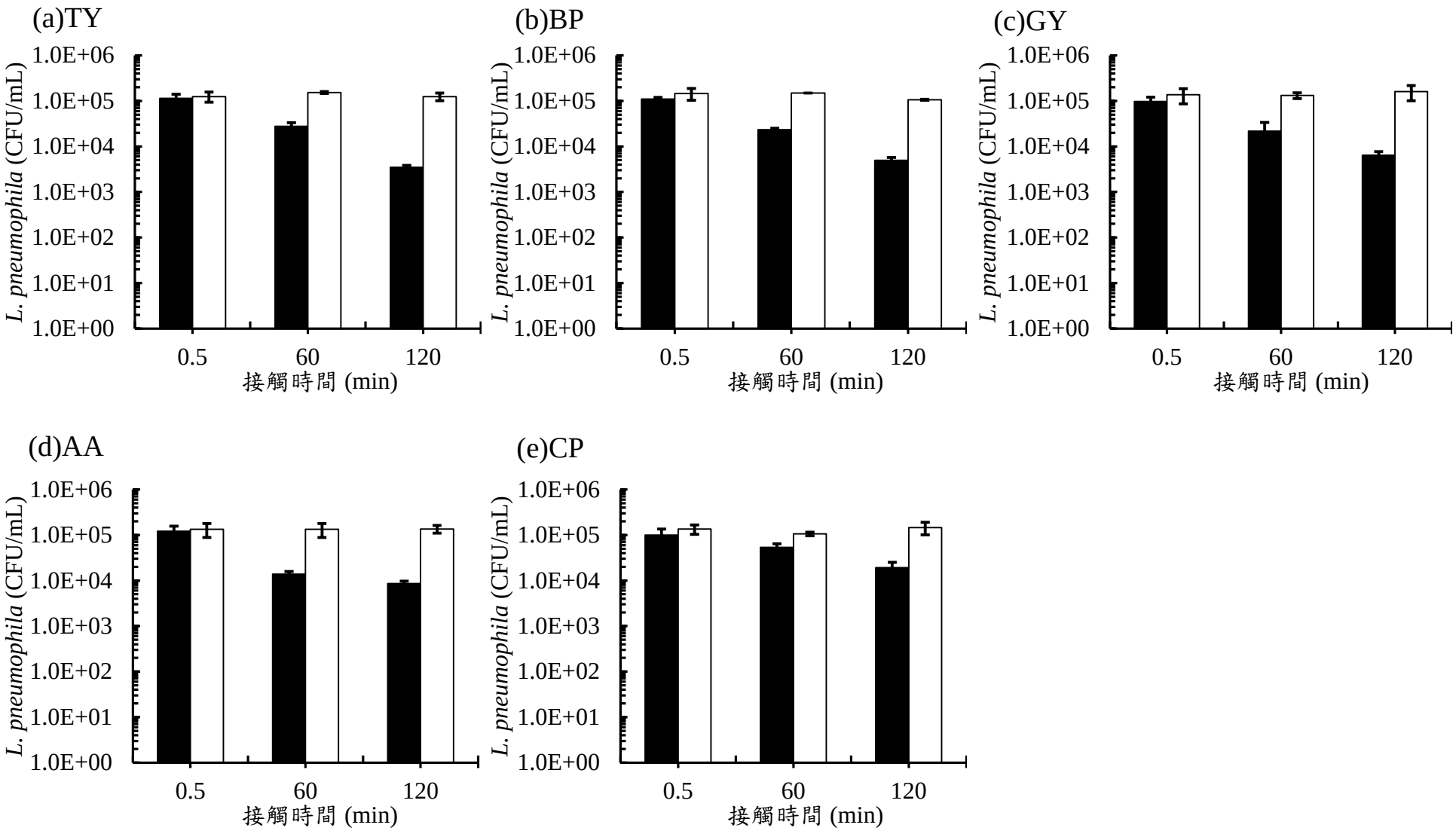


圖 26 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 雨刷精 (TY、BP、GY、AA、CP)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2))

doi:10.6342/NTU201704234

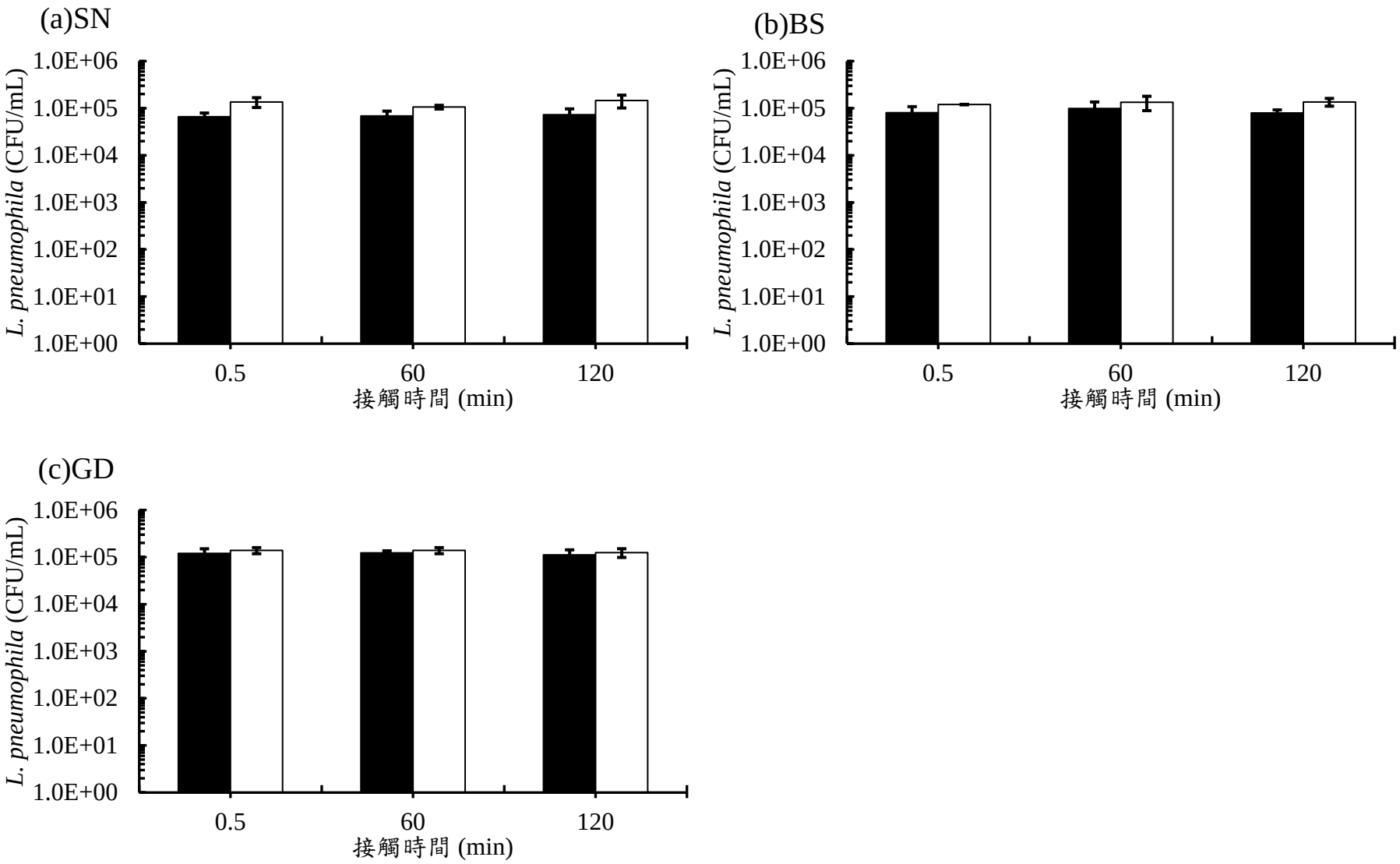


圖 27 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 雨刷精 (SN、BS、GD)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2))

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.1.2.1 *L. pneumophila* 對 0.01 g/mL 市售兩刷精易感性因子 (60 及 120 分鐘)

計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 市售兩刷精於 60 及 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其平均值、標準差、最小值及最大值如表 26 所示，另以 K 值繪圖觀察 *L. pneumophila* 之培養力對各 12 種市售兩刷精程度如圖 28 所示。結果顯示，*L. pneumophila* 之培養力對 TM 的易感性大，*K* 值皆為 13.60 mL/g min (SD = 5.17 mL/g min；8.88-18.32 mL/g min)；其次為 CD，*K* 值為 8.34 mL/g min (SD = 2.42 mL/g min；5.64-10.53 mL/g min)；*L. pneumophila* 之培養力則對 CAP 及 SF *K* 值分別為 5.64 及 5.44 mL/g min (SD = 0.24 及 0.53 mL/g min；5.45-6.11 及 4.69-6.03 mL/g min)；AA、TY、GY 及 BP *K* 值則介於 2.82-3.23 mL/g min (SD = 1.02、0.23、0.60 及 0.31 mL/g min；2.19-4.31、2.51-3.20、2.18-3.66 及 2.47-3.19 mL/g min)；CP、BS、SN 則對 *L. pneumophila* 之培養力影響較小，*K* 值介於 0.68-1.43 mL/g min (SD = 0.41、0.50 及 0.37 mL/g min；0.86-2.04、0.31-1.64 及 0.37-1.31 mL/g min)；GD 則對 *L. pneumophila* 之培養力影響更小，*K* 值為 0.24 mL/g min (SD = 0.18 mL/g min；0.01-0.43 mL/g min)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 26 計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.01 g/mL)60 及 120 分鐘之 *K* 值

清潔用品	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	*K* 值 [a] (mL/g min)			
			Mean	SD	Min	Max
TM	25	0.01	13.60	5.17	8.88	18.32
CD	25	0.01	8.34	2.42	5.64	10.53
CAP	25	0.01	5.64	0.24	5.45	6.11
SF	25	0.01	5.44	0.53	4.69	6.03
AA	25	0.01	3.23	1.02	2.19	4.31
TY	25	0.01	2.93	0.23	2.51	3.20
GY	25	0.01	2.92	0.60	2.18	3.66
BP	25	0.01	2.82	0.31	2.47	3.19
CP	25	0.01	1.43	0.41	0.86	2.04
BS	25	0.01	0.70	0.50	0.31	1.64
SN	25	0.01	0.68	0.37	0.37	1.31
GD	25	0.01	0.24	0.18	0.01	0.43

a: *K* 值為將未添加清潔用品控制組與添加清潔用品實驗組 *L. pneumophila* 濃度比值取對數後，再除以添加濃度及接觸時間。

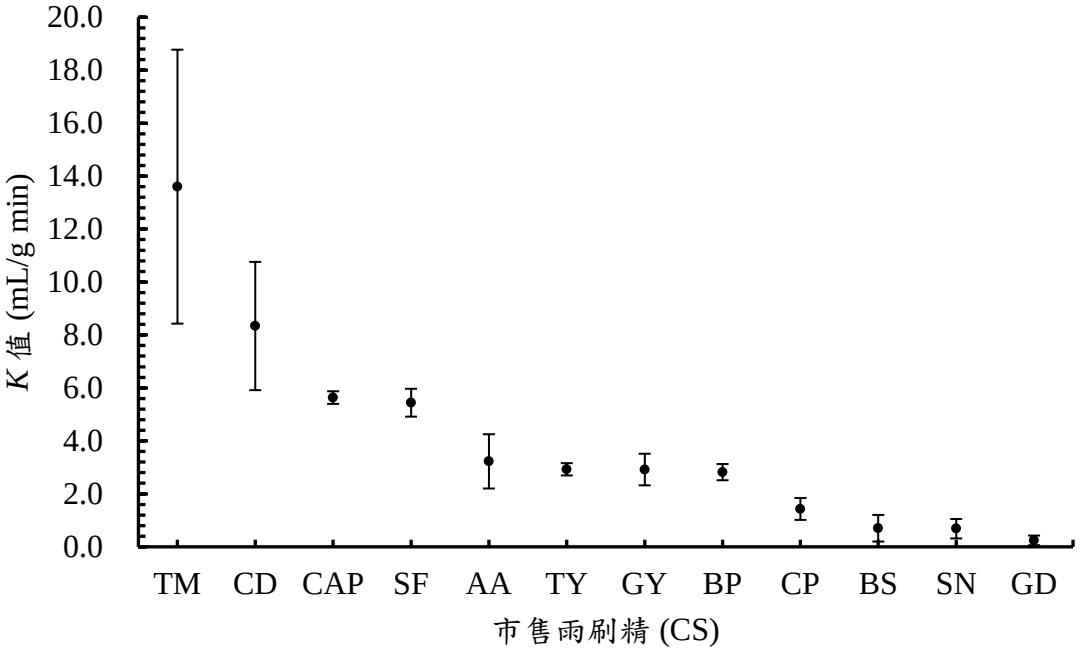


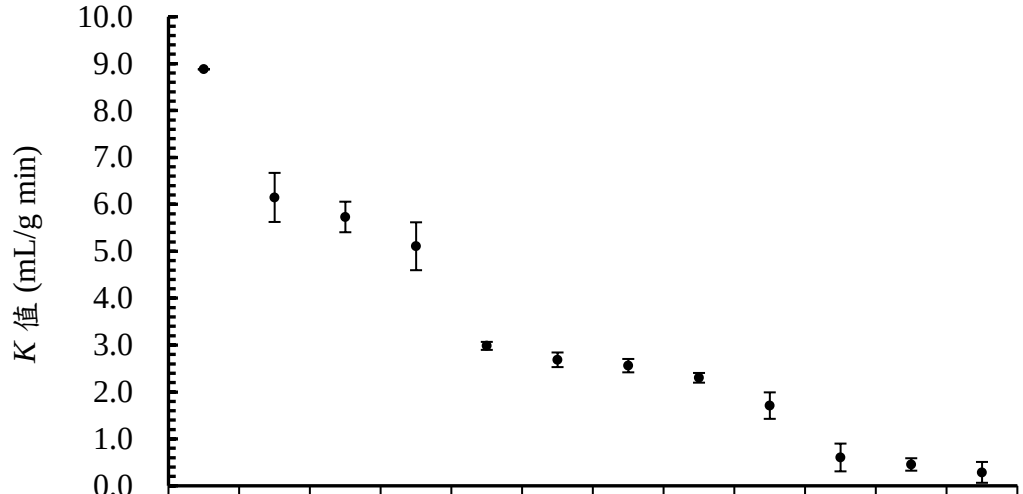
圖 28 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.01 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.1.2.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘) 與 pH 及硬度值

計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 市售雨刷精於 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其對應 pH 及硬度值如圖 29 所示。*K* 值結果顯示，TM *K* 值最高 (8.88 mL/g min)，對 *L. pneumophila* 之培養力影響大；其次為 CD、CAP 及 SF，其 *K* 值介於 5.11-6.15 mL/g min；第三為 AA、TY、GY、BP 及 CP，其 K 值介於 1.71-2.95；最低為 BS、SN 及 GD，其 *K* 為 0.29-0.60 mL/g min，顯示此 3 種清潔用品對 *L. pneumophila* 之培養力較無影響。

pH 結果顯示，當市售雨刷精以清潔濃度為 0.01 g/mL，其 pH 皆為中性 (7.42-7.95)。另外於硬度結果顯示，以 0.01 g/mL TM 硬度最高 (2.33 mg/L)，其餘清潔用品硬度則為 0.5 mg/L。



	TM	CD	CAP	SF	AA	TY	GY	BP	CP	BS	SN	GD
K 值 (mL/g min)	8.88	6.15	5.73	5.11	2.98	2.69	2.56	2.30	1.71	0.60	0.46	0.29
pH	7.43	7.49	7.50	7.47	7.95	7.47	7.42	7.51	7.52	7.50	7.49	7.82
硬度 (mg/L)	2.33	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

市售雨刷精 (CS)

圖 29 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.01 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.1.3 其他廠商建議稀釋濃度之市售兩刷精抑菌效果

圖 30 中黑色柱狀圖為 0.5 g/mL 之 GD 及 TY 清潔用品與 10^5 CFU/mL *L. pneumophila* 接觸 0.5-120 分鐘之濃度變化。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.2×10^5-2.5×10^5 CFU/mL；在 120 分鐘時間內，GD 中皆無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，至於接觸 TY 在 0.5、60 及 120 分鐘時 *L. pneumophila* 濃度有下降趨勢，平均濃度分別為 1.4×10^5、1.4×10^4 與 1.8×10^2 CFU/mL。

圖 31 為 0.02 g/mL 之 AA、CAP 及 SN 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 8.7×10^4-2.5×10^5 CFU/mL；接觸 AA、CAP 及 SN 0.5 分鐘時，*L. pneumophila* 濃度仍維持在 10^4 CFU/mL (3.8×10^4-8.5×10^4 CFU/mL)；接觸 60 分鐘時，AA 及 CAP 中 *L. pneumophila* 濃度下降至 1.8×10^2 及 1.6×10^3 CFU/mL，而 SN 則仍含有 6.9×10^4 CFU/mL *L. pneumophila*；120 分鐘時 AA 中已無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，CAP 及 SN 中 *L. pneumophila* 則分別為 7.4×10^2 CFU/mL 及 4.8×10^4 CFU/mL。

doi:10.6342/NTU201704234

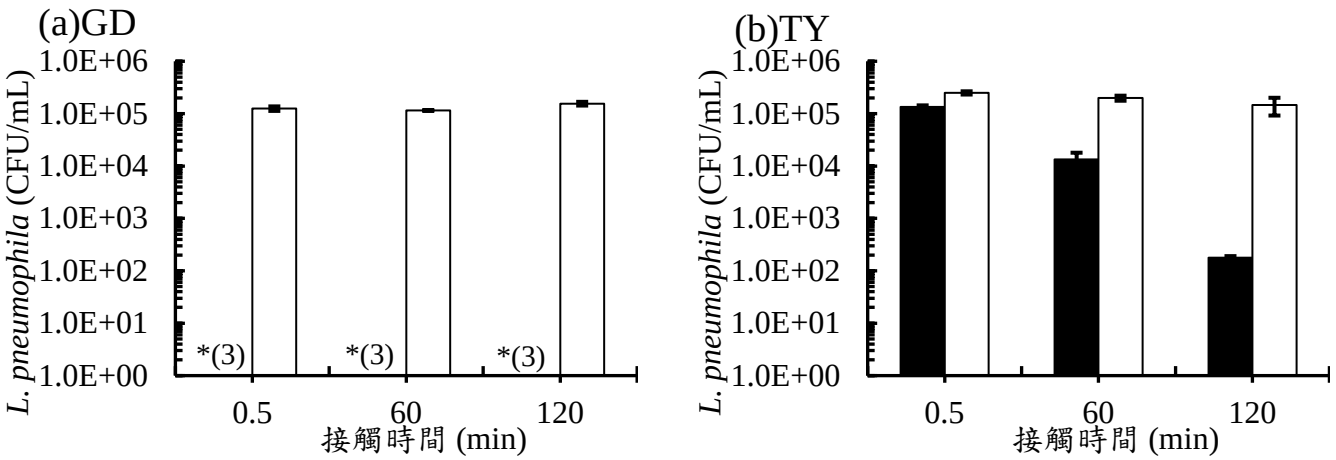


圖 30 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.5 g/mL 雨刷精 (GD、TY)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2)； *(n)=Number of not-detected samples (偵測下限=1 CFU/0.2 mL=5 CFU/mL))

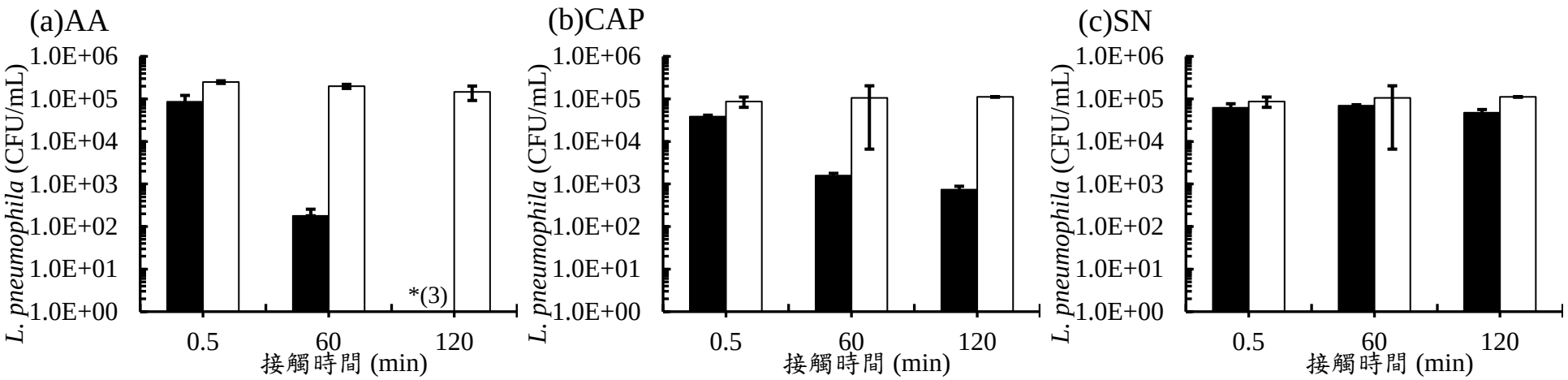


圖 31 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.02 g/mL 雨刷精 (AA、CAP、SN)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2)；*(n)=Number of not detected samples (偵測下限=1 CFU/0.2 mL=5 CFU/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

彙整上述五種清潔用品於不同稀釋濃度下之抑菌結果如表 27 所示。GD 及 TY 分別探討清潔用品濃度 0.5、0.1 及 0.01 g/mL 接觸 *L. pneumophila* 之抑菌效果，清潔用品濃度愈高，GD 中 *L. pneumophila* 濃度從 1.2×10^5 CFU/mL 下降至無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，TY 中 *L. pneumophila* 濃度則仍維持在 10^4 CFU/mL；AA、CAP 及 SN 分別探討清潔用品濃度 0.1、0.02 及 0.01 g/mL 接觸 *L. pneumophila* 之抑菌效果，清潔用品濃度愈高，AA 中 *L. pneumophila* 濃度從 4.8×10^4 CFU/mL 下降至 1.3×10^2 CFU/mL，而 CAP 及 SN 則仍含有 10^4 CFU/mL *L. pneumophila*。由前述可知，僅 GD 產品廠商建議是有助於抑菌。

表 27 五種市售雨刷精於不同稀釋濃度下之 *L. pneumophila* 培養力濃度(CFU/mL)

清潔用品濃度	*L. pneumophila*, Mean (SD)[a], CFU/mL				
(g/mL)	GD	TY	AA	CAP	SN
0.01	1.2×10^5 (2.4×10^4)	4.9×10^4 (5.2×10^4)	4.8×10^4 (5.8×10^4)	5.2×10^4 (8.0×10^4)	6.9×10^4 (1.7×10^4)
0.02	-	-	2.9×10^4 (4.6×10^4)	1.4×10^4 (1.9×10^4)	6.0×10^4 (1.3×10^4)
0.1	3.3×10^1 (7.1×10^1)	2.0×10^4 (2.6×10^4)	1.3×10^2 (2.5×10^2)	1.0×10^4 (1.7×10^4)	1.1×10^4 (1.4×10^4)
0.5	ND	5.0×10^4 (6.5×10^4)	-	-	-

a: 標準差 (Standard deviation, SD)

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.1.4 25℃下市售雨刷精抑菌效能統計檢定

分析 25℃下有無添加市售雨刷精 (CS)、清潔用品種類、接觸時間 (0.5、60、120 min)及 CS 濃度 (0.1 及 0.01 g/mL)對 *L. pneumophila* 可培養性 (Log CFU/mL)之影響，結果如表 28 所示，相較於未添加雨刷精之控制組，有添加 CS 清潔用品使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.65 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-1.65；P-value<0.0001)。至於其他變項之分析則如表 29 所示，當以 BS 作為比較基準比較不同品牌發現，TM 對 *L. pneumophila* 可培養性影響最大，使其下降 4.07 Log CFU/mL (β=-4.07；P-value<0.0001)，其次為 GD、AA、CD 及 CAP，其 *L. pneumophila* 下降 1.81-2.32 Log CFU/mL (β 分別為-1.83、-2.00、-2.32 及-1.81；P-value<0.05 及 0.0001)；SN、GY 及 TY 則使 *L. pneumophila* 下降 0.65-0.84 Log CFU/mL (β 分別為-0.65、-0.79、-0.84；P-value<0.05)；BP 則與 BS 無顯著差異 (β=-0.59；P-value=0.09)。

針對接觸時間方面，以 0.5 分鐘作為比較基準發現，增加接觸時間至 60 及 120 分鐘顯著使 *L. pneumophila* 可培養濃度下降 1.07 及 1.57 Log CFU/mL (β 分別為-1.07 及-1.57；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 之培養力隨著接觸 CS 之時間越長下降越多。

對於 CS 濃度之分析則以 0.01 g/mL 為比較基準，結果顯示增加市售雨刷精濃度至 0.1 g/mL 可使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.37 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-1.37；P-value<0.0001)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 28 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加市售雨刷精 (0.1 及 0.01 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=96)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加 CS	Intercept	5.06	0.02	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-1.65	0.17	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 29 以廣義估計方程式分析 25℃下市售雨刷精種類、接觸時間 (min)及清潔用品濃度 (g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=66)

變項	編號	清潔用品	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept			6.36	0.28	**
清潔用品種類	**C12**	**BS**	**0.00**	**-**	**-**
	C1	TM	-4.07	0.30	**
	C2	GD	-1.83	0.61	*
	C3	AA	-2.00	0.45	**
	C4	CD	-2.32	0.26	**
	C5	CAP	-1.81	0.26	**
	C6	CP	-1.13	0.28	**
	C7	SN	-0.65	0.26	*
	C8	GY	-0.79	0.29	*
	C9	TY	-0.84	0.30	*
	C10	BP	-0.59	0.35	0.09
接觸時間 (min)		**0.5**	**0.00**	**-**	**-**
		60	-1.07	0.12	**
		120	-1.57	0.15	**
清潔用品濃度 (g/mL)		**0.01**	**0.00**	**-**	**-**
		0.1	-1.37	0.15	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.1.5 25℃下市售兩刷精接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值

以 0.1 及 0.01 g/mL 市售兩刷精接觸 *L. pneumophila* 120 分鐘後，測量樣本中 pH 及硬度，並以不同 pH 及硬度切點分組，所含 *L. pneumophila* 濃度(Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L)之平均值、標準差與範圍，整理對於各切點範圍中之清潔用品種類以及其結果如表 30 所示。pH 低於 8 之 CS 共計 60 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 2.88 Log CFU/mL (SD = 1.63 Log CFU/mL；0.40-5.17 Log CFU/mL)，pH 平均值則為 7.57 (SD = 0.13；7.41-7.97)；pH 高於或等於 10 者共計 6 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 0.40 Log CFU/mL (SD = 0 Log CFU/mL；0.40-0.40 Log CFU/mL)，pH 平均值為 10.32 (SD = 0.25；10.09-10.57)。

硬度低於 3 mg/L 者共計 62 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 2.80 Log CFU/mL (SD = 1.67 Log CFU/mL；0.40-5.17 Log CFU/mL)，平均硬度值為 0.53 mg/L (SD = 0.20；0.50-2.00)；硬度介於 3-12 mg/L 者共計 4 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 0.40 Log CFU/mL (SD = 0 Log CFU/mL；0.40-0.40 Log CFU/mL)，平均硬度值為 8.5 mg/L (SD = 3.42 mg/L；4.00-12.00 mg/L)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 30 以 0.1 及 0.01 g/mL 兩刷精在 25℃下接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後之細菌濃度 (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L)

變項	切點	清潔用品(n)[a]	N[b]	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)			pH/ 硬度 (mg/L)		
				Mean	SD[c]	Range	Mean	SD	Range
pH	pH<8	BP(6), BS(6), CAP(6), CD(6), CP(6), GY(6), SN(6), TM(6), TY(6), AA(3)[d], GD(3)[d]	60	2.88	1.63	0.40-5.17	7.57	0.13	7.41-7.97
	8≤pH<10	-	-	-	-	-	-	-	-
	pH≥10	AA(3), GD(3)	6	0.40	0.00	0.40-0.40	10.32	0.25	10.09-10.57
硬度 (mg/L)	<3	AA(6), GD(6), BP(6), BS(6), CAP(6), CD(6), CP(6), GY(6), SN(6), TY(6), TM(2)[e]	62	2.80	1.67	0.40-5.17	0.53	0.20	0.50-2.00
	3~12	TM(4)	4	0.40	0.00	0.40-0.40	8.5	3.42	4.00-12.00
	>12	-	-	-	-	-	-	-	-

a: (n)=該清潔用品之樣本數

b: 總樣本數 (N) = 清潔用品數×3 重複×2 個抑菌物濃度

c: 標準差 (Standard deviation, SD)

d: 僅 0.01 g/mL 結果 pH 低於 8

e: 0.01 g/mL TM 硬度結果有兩重複低於 3 mg/L

doi:10.6342/NTU201704234

進一步以迴歸模型統計法分析接觸 CS 不同 pH 或硬度組別間之 *L. pneumophila* 濃度，結果如表 31 所示。相較於 pH 小於 8 者，當 pH 高於或等於 8 者中 *L. pneumophila* 下降 2.66 Log CFU/mL，且 pH 對 *L. pneumophila* 具顯著影響 (β=-2.66；P-value<0.0001)。另相較於硬度小於 3 mg/L 者，硬度介於 3-12 mg/L 者其 *L. pneumophila* 下降 2.66 Log CFU/mL，亦達統計顯著 (β=-2.66；P-value<0.05)。

表 31 以迴歸模型檢定 pH 及硬度對 25℃下接觸市售雨刷精 (0.1 及 0.01 g/mL)於 120 分鐘時之 *L. pneumophila* 濃度 (Log CFU/mL)影響

變項	切點	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept		3.06	0.19	**
pH	**pH<8**	**0.00**	**-**	**-**
	pH≥8	-2.66	0.60	**
硬度 (mg/L)	**<3**	**0.00**	**-**	**-**
	3-12	-2.66	0.73	*

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.2 25°C短時間下家用清潔劑抑菌結果

6.2.2.1 0.1 g/mL 家用清潔劑抑菌效果

圖 32 中黑色柱狀圖為 0.1 g/mL 之 MB、DW、MA 及 MG 清潔用品與 10^5 CFU/mL *L. pneumophila* 接觸 0.5-120 分鐘之濃度變化，空白柱狀圖則為不含清潔(控制組)之 *L. pneumophila* 濃度。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.1×10^5-2.1×10^5 CFU/mL；於 0.5 分鐘接觸時間，MB 中已無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，而 DW、MA 及 MG 中含濃度分別 1.3×10^4、6.4×10^4 及 9.3×10^4 CFU/mL；DW 及 MA 60 分鐘時，已無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，MG 中則仍含 *L. pneumophila* 濃度為 2.8×10^1 CFU/mL；在 120 分鐘時，MG 亦達無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)。

圖 33 為 0.1 g/mL 之 WD、BL 及 AM 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.3×10^5-2.1×10^5 CFU/mL；於 0.5 分鐘時，WD、BL 及 AM 中所含分別為 1.3×10^5、4.3×10^4 及 4.8×10^4 CFU/mL *L. pneumophila*；WD、BL 及 AM 60 分鐘含 *L. pneumophila* 濃度分別為 5.5×10^1、1.8×10^2 及 3.7×10^3 CFU/mL；於 120 分鐘時，WD、BL 及 AM 中下降至 5、1.3×10^1 及 4.9×10^2 CFU/mL，抑菌效果相對緩慢下降。

圖 34 為 0.1 g/mL 之 WB、SO 及 LT 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.3×10^5-2.5×10^5 CFU/mL；此三種清潔劑在 120 分鐘後仍含 *L. pneumophila* 濃度皆在 10^4 CFU/mL 以上 (4.3×10^4-2.1×10^5 CFU/mL)，較無抑菌效果。

doi:10.6342/NTU201704234

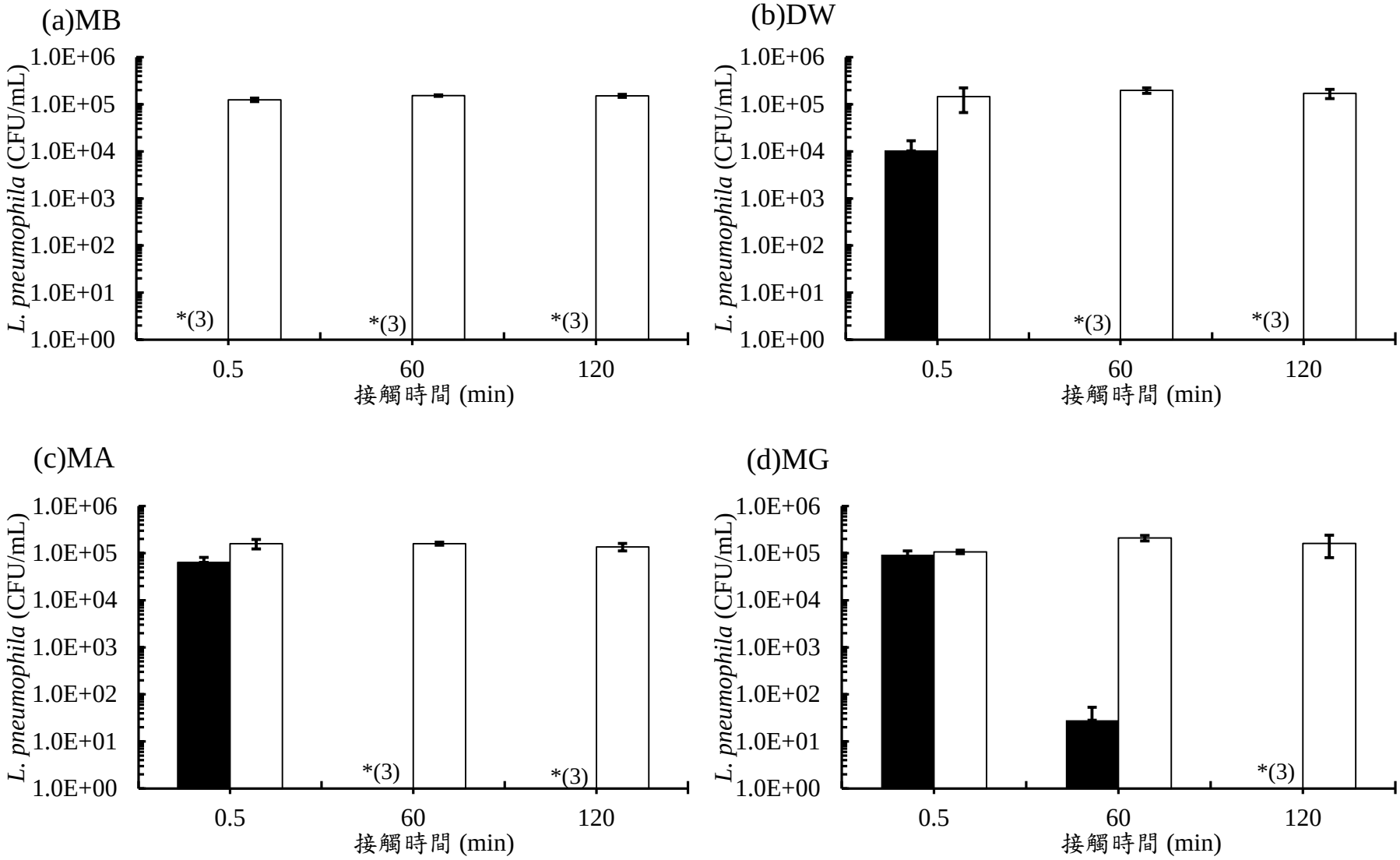


圖 32 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (MB、DW、MA、MG)不同時間下可培養細菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=2)；*(n)=Number of not-detected samples (偵測下限=1 CFU/0.2 mL=5 CFU/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

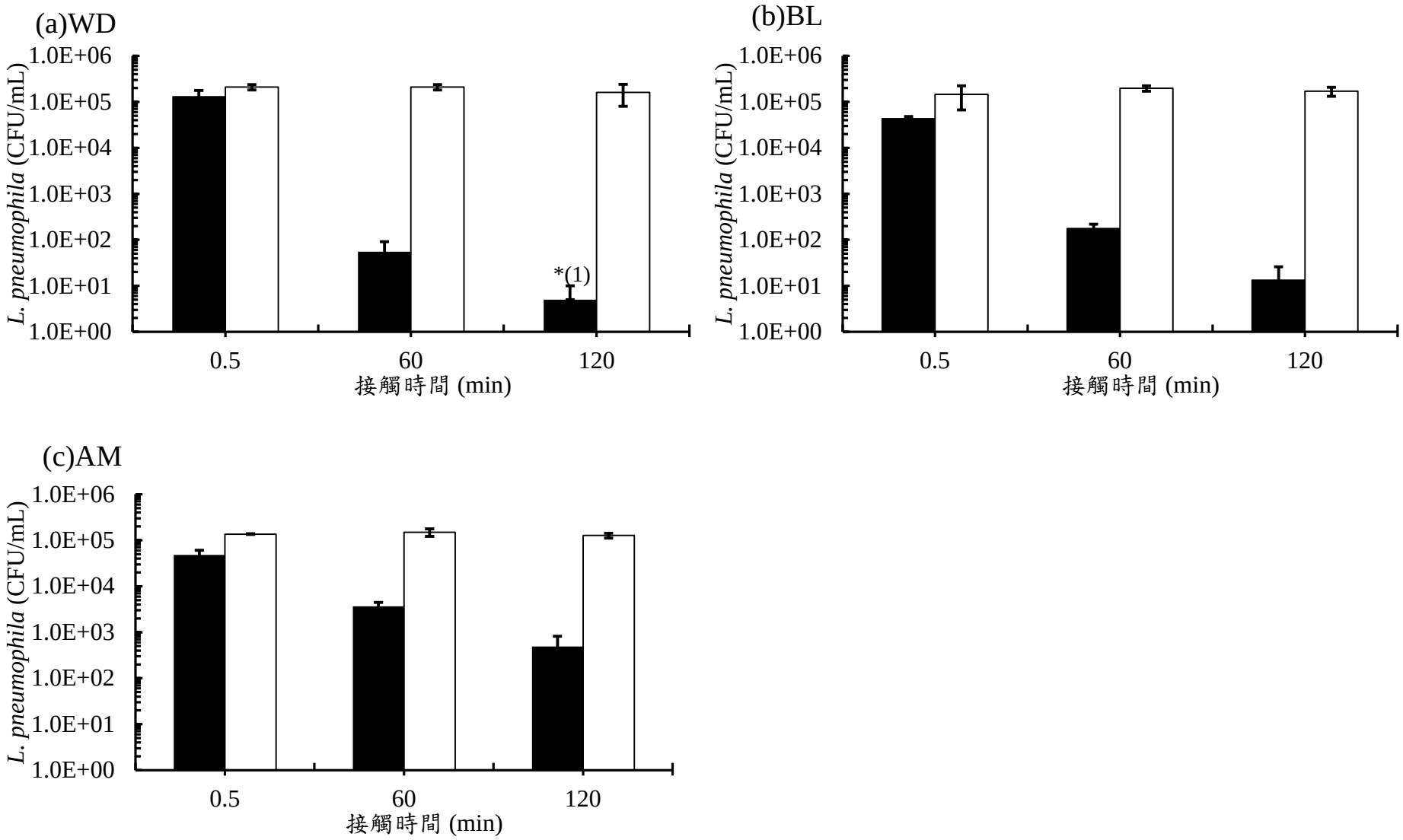


圖 33 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (WD、BL、AM)不同時間下可培養細菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=2)；*(n)=Number of not-detected samples (偵測下限=1 CFU/0.2 mL=5 CFU/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

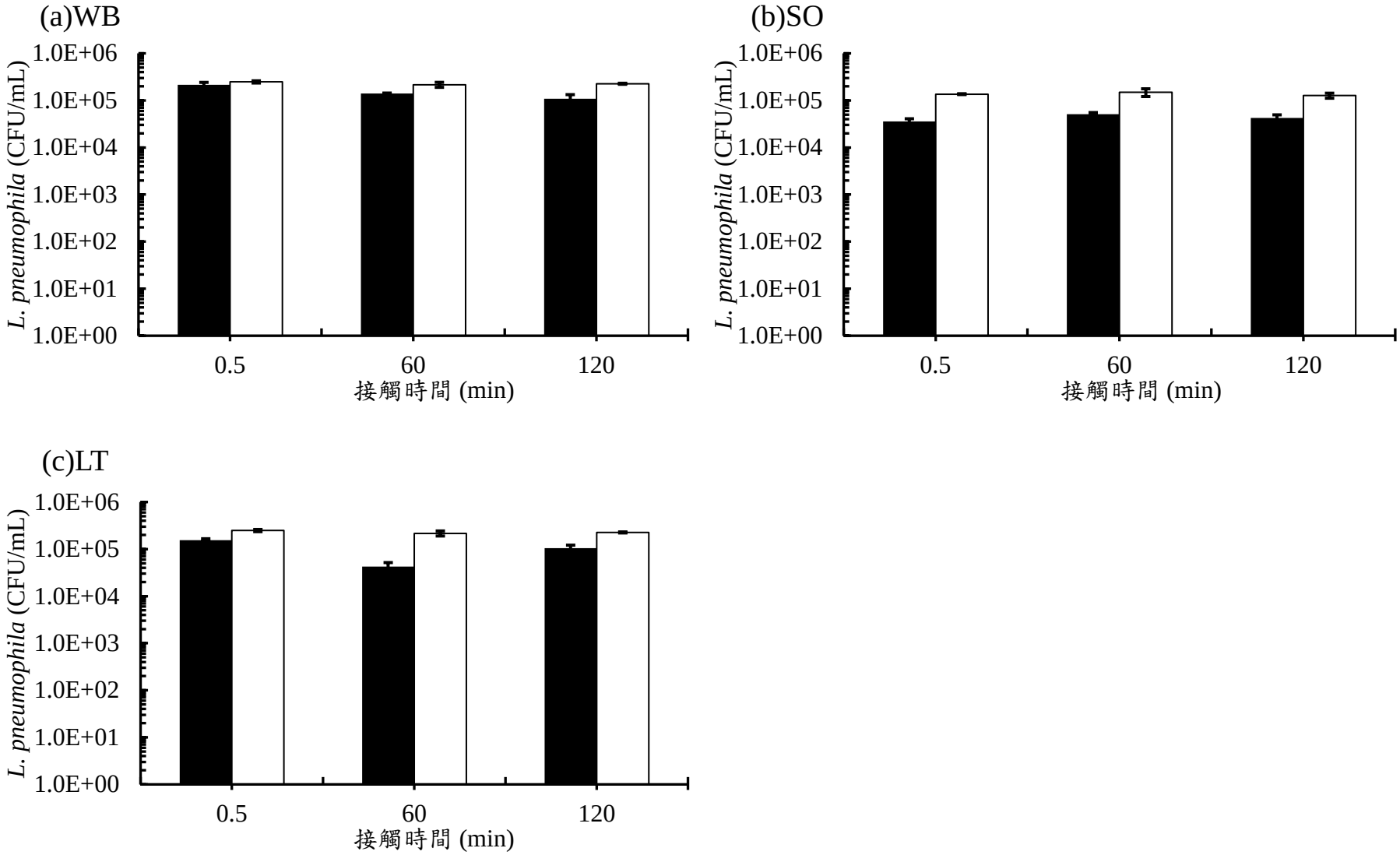


圖 34 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (WB、SO、LT)不同時間下可培養細菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=2))

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.2.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 家用清潔劑易感性因子 (60 及 120 分鐘)

計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 家用清潔劑於 60 及 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其平均值、標準差、最小值及最大值如表 32 所示，另以 *K* 值繪圖觀察 *L. pneumophila* 之培養力對各 10 種家用清潔劑程度如圖 35 所示。結果顯示，*L. pneumophila* 之培養力對 DW、MB 及 MA 的易感性大，*K* 值介於 1.38-1.40 mL/g min (SD = 0.52、0.50 及 0.51 mL/g min；0.93-1.88、0.92-1.84 及 0.91-1.84 mL/g min)；其次為 MG、WD 及 BL，*K* 值介於 0.99-1.24 mL/g min (SD = 0.37、0.30 及 0.21 mL/g min；0.92-1.77、0.81-1.51 及 0.74-1.23 mL/g min)；第三為 AM，其 *K* 值為 0.55 mL/g min (SD = 0.09 mL/g min；0.74-1.23 mL/g min)；LT、SO 及 WB *K* 值則最低，介於 0.07-0.17 mL/g min (SD = 0.12、0.05 及 0.01 mL/g min；0.05-0.32、0.08-0.19 及 0.05-0.09 mL/g min)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 32 計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值

清潔用品	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	*K* 值 [a] (mL/g min)			
			Mean	SD	Min	Max
DW	25	0.1	1.40	0.52	0.93	1.88
MB	25	0.1	1.38	0.50	0.92	1.84
MA	25	0.1	1.38	0.51	0.91	1.84
MG	25	0.1	1.24	0.37	0.92	1.77
WD	25	0.1	1.13	0.30	0.81	1.51
BL	25	0.1	0.99	0.21	0.74	1.23
AM	25	0.1	0.55	0.09	0.42	0.67
LT	25	0.1	0.17	0.12	0.05	0.32
SO	25	0.1	0.14	0.05	0.08	0.19
WB	25	0.1	0.07	0.01	0.05	0.09

a: *K* 值為將未添加清潔用品控制組與添加清潔用品實驗組 *L. pneumophila* 濃度比值取對數後，再除以添加濃度及接觸時間。

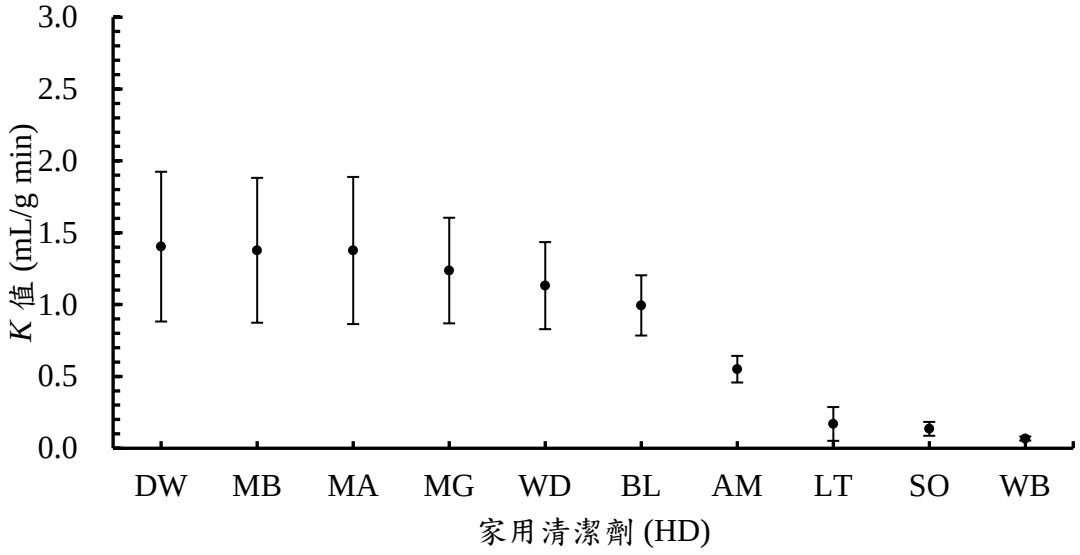


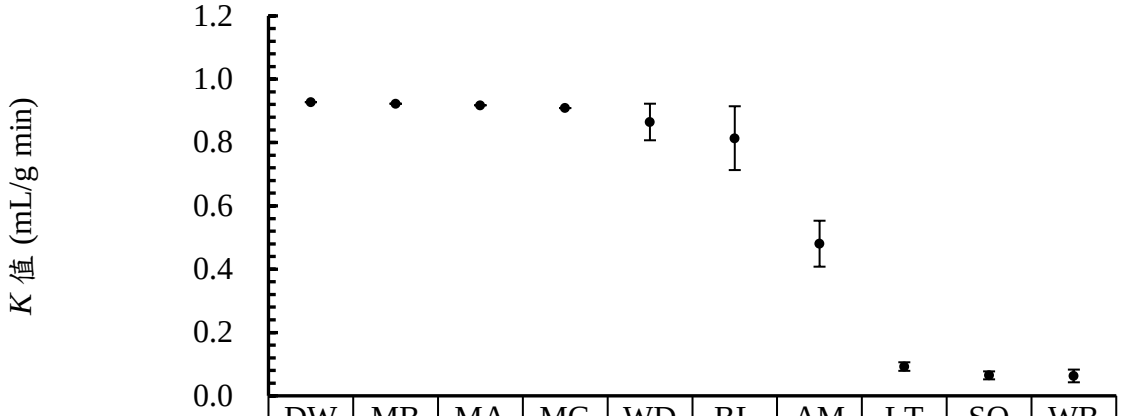
圖 35 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.2.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘)與 pH 及硬度值

計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 家用清潔劑於 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其對應 pH 及硬度值如圖 36 所示。*K* 值結果顯示，DW、MB、MA、MG、WD 及 BL *K* 值較高 (介於 0.81-0.93 mL/g min)，顯示此 6 種清潔用品對 *L. pneumophila* 之培養力影響大；其次為 AM，其 *K* 值為 0.48 mL/g min；最低為 LT、SO 及 WB，其 *K* 值介於 0.06-0.09 mL/g min，顯示此 3 種清潔用品對 *L. pneumophila* 之培養力較無影響。

pH 結果顯示，添加清潔濃度為 0.1 g/mL MB、MA 及 MG 較高，其 pH 介於 10.47-11.86，其次為 DW 及 WD，其 pH 皆為 8 (分別為 8.21 及 8.24)，其餘清潔用品 pH 則介於 7.38-7.82。另外於硬度結果顯示，以 0.1 g/mL AM 硬度最高 (173.33 mg/L)，其次為 WB (9.00 mg/L)，第三為 LT 及 SO (3.33 mg/L)，其餘清潔用品硬度則為 0.5 mg/L。



	DW	MB	MA	MG	WD	BL	AM	LT	SO	WB
K 值 (mL/g min)	0.93	0.92	0.92	0.91	0.86	0.81	0.48	0.09	0.06	0.06
pH	8.21	11.86	10.15	10.47	8.24	7.48	7.38	7.82	7.59	7.42
硬度 (mg/L)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	173.33	3.33	3.33	9.00

家用清潔劑 (HD)

圖 36 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.2.2 0.01 g/mL 家用清潔劑抑菌效果

圖 37 中黑色柱狀圖為 0.01 g/mL 之 MB 及 BL 清潔用品與 10^5 CFU/mL *L. pneumophila* 接觸 0.5-120 分鐘之濃度變化，空白柱狀圖則為不含清潔 (控制組)之 *L. pneumophila* 濃度。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.5×10^5-1.7×10^5 CFU/mL；在 0.5 分鐘接觸時間， MB 及 BL 中含 *L. pneumophila* 濃度分別 3.7×10^4 及 6.4×10^4 CFU/mL；MB 及 BL 60 分鐘時含分別 1.1×10^3 及 1.9×10^3 CFU/mL *L. pneumophila*； MB 及 BL 120 分鐘後含 *L. pneumophila* 濃度 7.1×10^2 及 4.3×10^2 CFU/mL。

圖 38 為 0.01 g/mL 之 DW、AM、WB 及 LT 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.1×10^5-2.0×10^5 CFU/mL；DW、AM、WB 及 LT 0.5 分鐘時含 *L. pneumophila* 濃度皆在 10^5 CFU/mL 以上 (濃度介於 1.2×10^5 CFU/mL-1.5×10^5 CFU/mL)；於 60 分鐘接觸時，DW、AM、WB 及 LT 中 *L. pneumophila* 濃度介於 3.1×10^3-6.7×10^3 CFU/mL；於 120 分鐘時，DW、AM、WB 及 LT 中則含介於 2.4×10^3-4.1×10^3 CFU/mL *L. pneumophila*，抑菌效果緩慢下降。

圖 39 為 0.01 g/mL 之 MG、MA、WD 及 AM 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.3×10^5-2.0×10^5 CFU/mL；這四種清潔劑在 120 分鐘內，所含 *L. pneumophila* 濃度皆在 10^5 CFU/mL 以上 (濃度介於 1.0×10^5 CFU/mL-1.8×10^5 CFU/mL)，較無抑菌效果。

doi:10.6342/NTU201704234

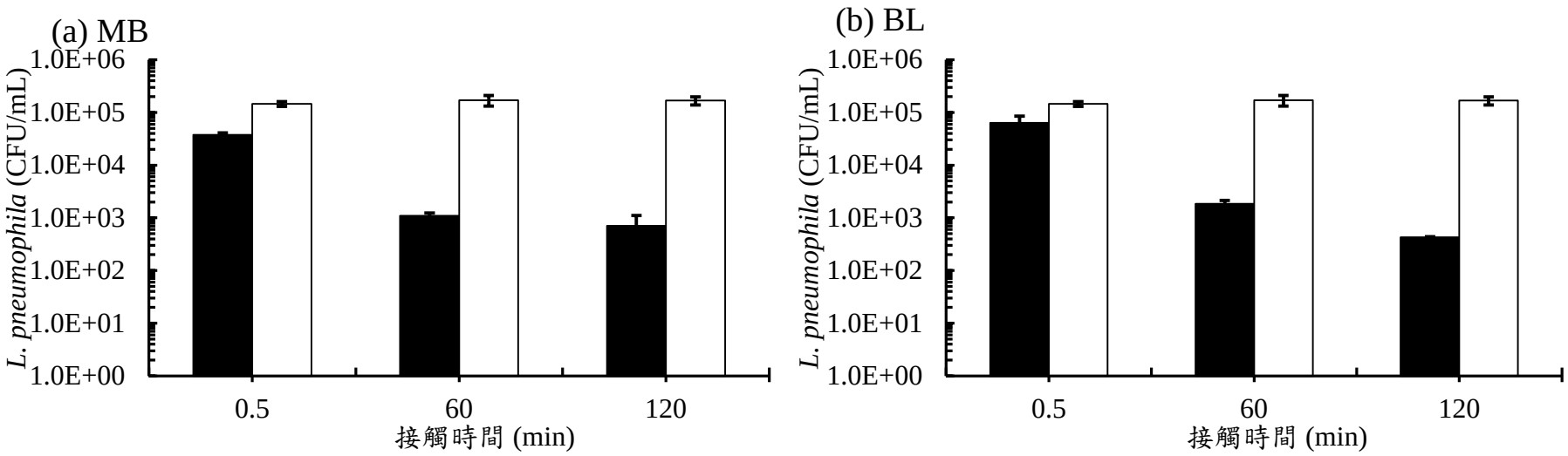


圖 37 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 清潔劑 (MB、BL)不同時間下可培養細菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=2))

doi:10.6342/NTU201704234

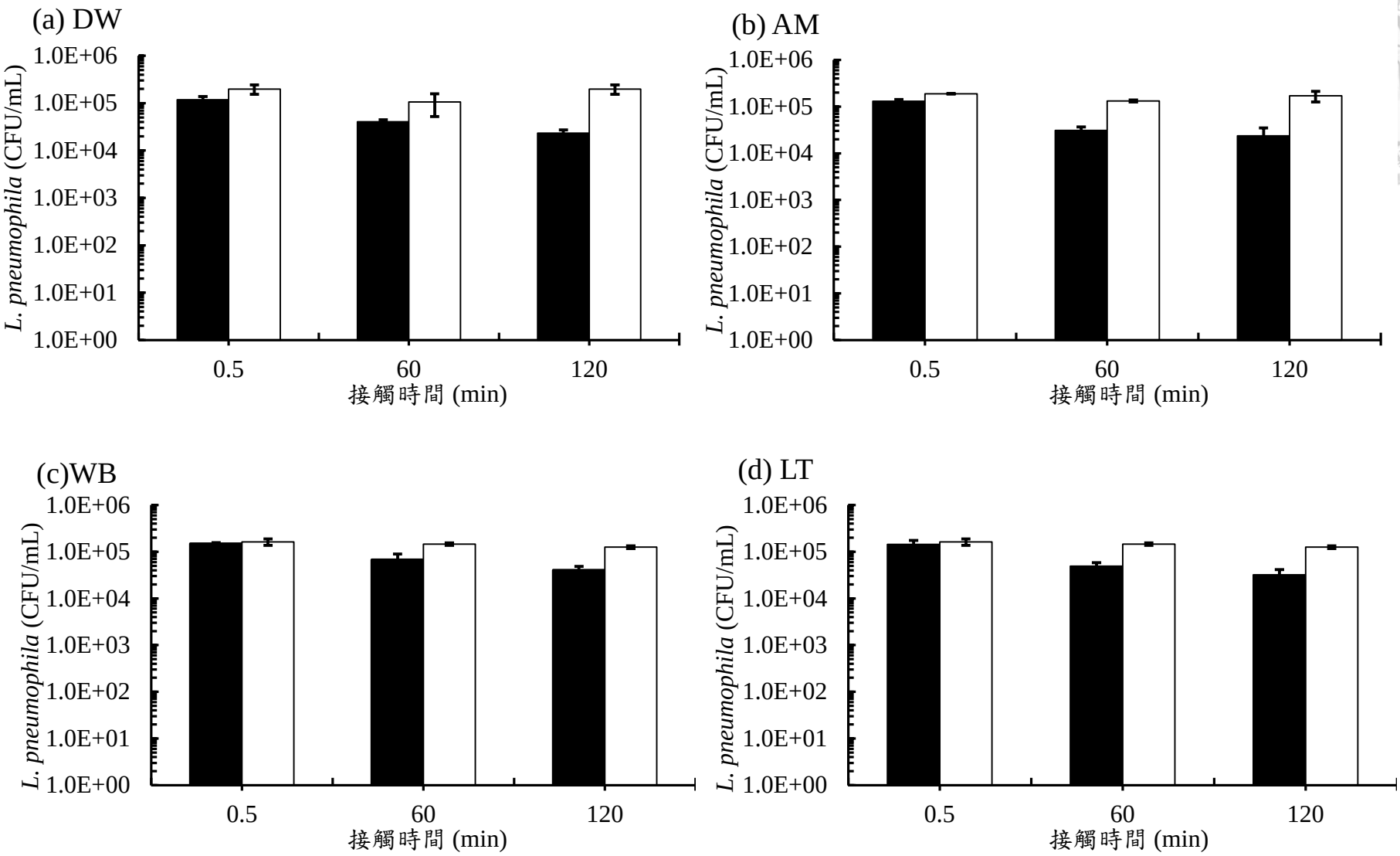


圖 38 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 清潔劑 (DW、AM、WB、LT)不同時間下可培養細菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=2))

doi:10.6342/NTU201704234

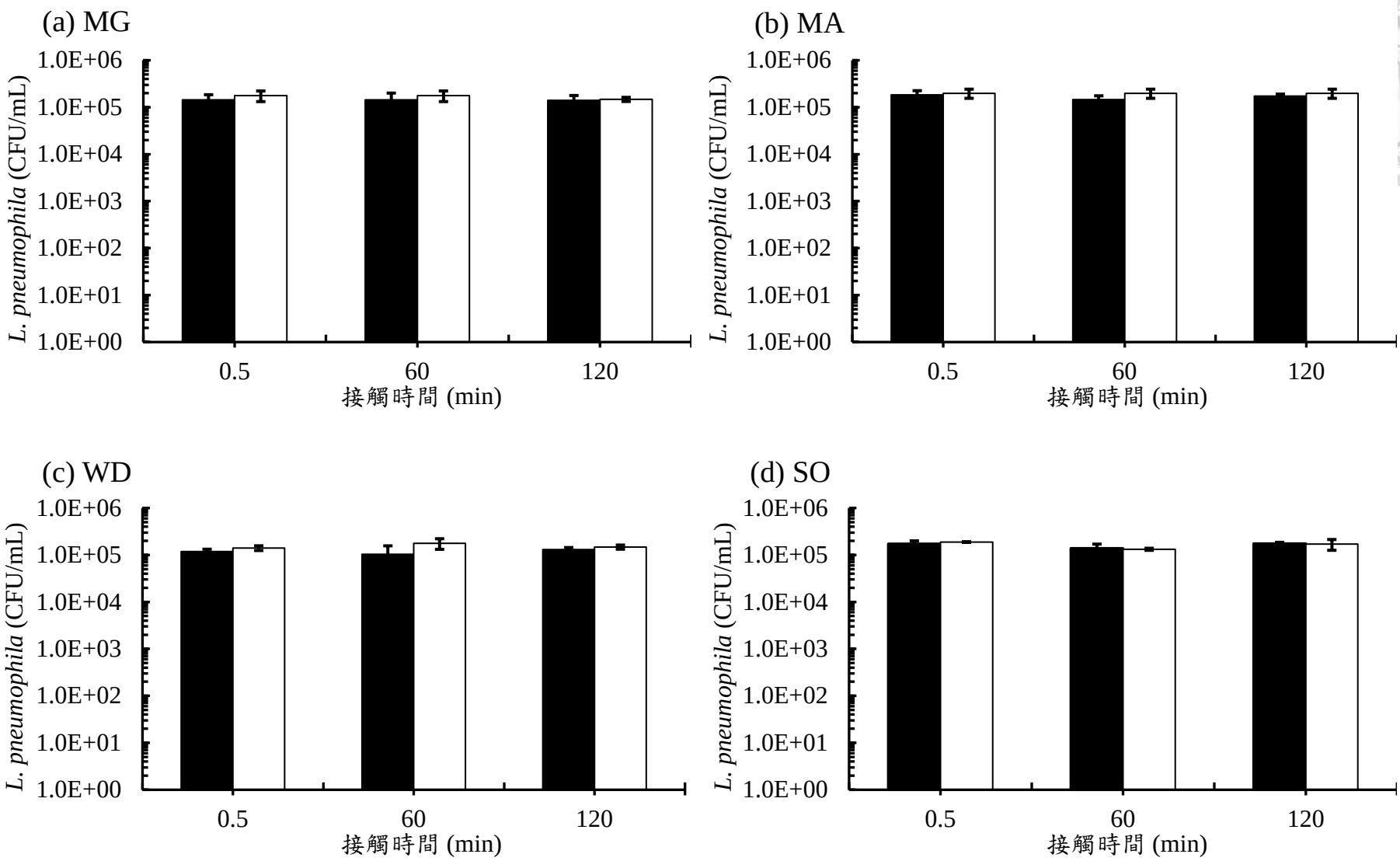


圖 39 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 清潔劑 (MG、MA、WD、SO)不同時間下可培養細菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=2))

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.2.2.1 *L. pneumophila* 對 0.01 g/mL 家用清潔劑易感性因子 (60 及 120 分鐘)

計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 家用清潔劑於 60 及 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其平均值、標準差、最小值及最大值如表 33 所示，另以 *K* 值繪圖觀察 *L. pneumophila* 之培養力對各 10 種家用清潔劑程度如圖 40 所示。結果顯示，*L. pneumophila* 之培養力對 MB 及 BL 的易感性大，*K* 值分別為 6.55 及 6.27 mL/g min (SD = 2.10 及 1.43 mL/g min；4.19-8.63 及 4.95-7.88 mL/g min)；其次為 AM 及 DW，*K* 值分別為 2.49 及 2.40 mL/g min (SD = 0.77 及 0.55 mL/g min；1.42-3.37 及 1.78-3.07 mL/g min)；第三為 LT、WB 及 WD，其 *K* 值介於 0.89-1.49 mL/g min (SD = 0.44、0.45 及 0.87 mL/g min；0.89-2.18、0.78-2.02 及 0.30-2.59 mL/g min)；MG、MA 及 SO *K* 值則最低，介於 0.39-0.52 mL/g min (SD = 0.46、0.36 及 0.40 mL/g min；0.01-1.22、0.16-1.09 及 0.07-1.13 mL/g min)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 33 計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.01 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值

清潔用品	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	*K* 值 [a] (mL/g min)			
			Mean	SD	Min	Max
MB	25	0.01	6.55	2.10	4.19	8.63
BL	25	0.01	6.27	1.43	4.95	7.88
AM	25	0.01	2.49	0.77	1.42	3.37
DW	25	0.01	2.40	0.55	1.78	3.07
LT	25	0.01	1.49	0.44	0.89	2.18
WB	25	0.01	1.15	0.45	0.78	2.02
WD	25	0.01	0.89	0.87	0.30	2.59
MG	25	0.01	0.52	0.46	0.01	1.22
MA	25	0.01	0.50	0.36	0.16	1.09
SO	25	0.01	0.39	0.40	0.07	1.13

a: *K* 值為將未添加清潔用品控制組與添加清潔用品實驗組 *L. pneumophila* 濃度比值取對數後，再除以添加濃度及接觸時間。

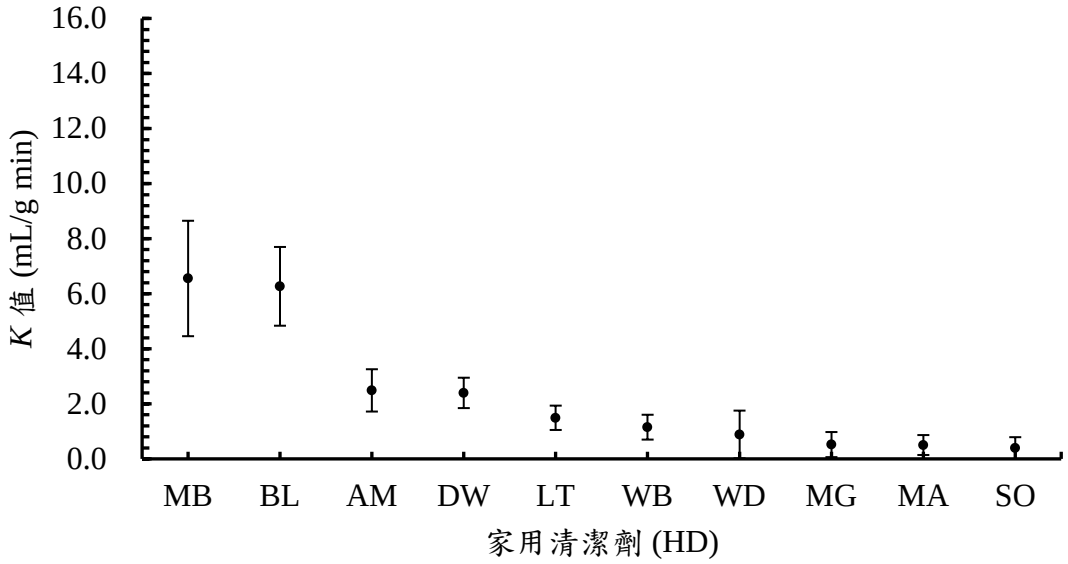


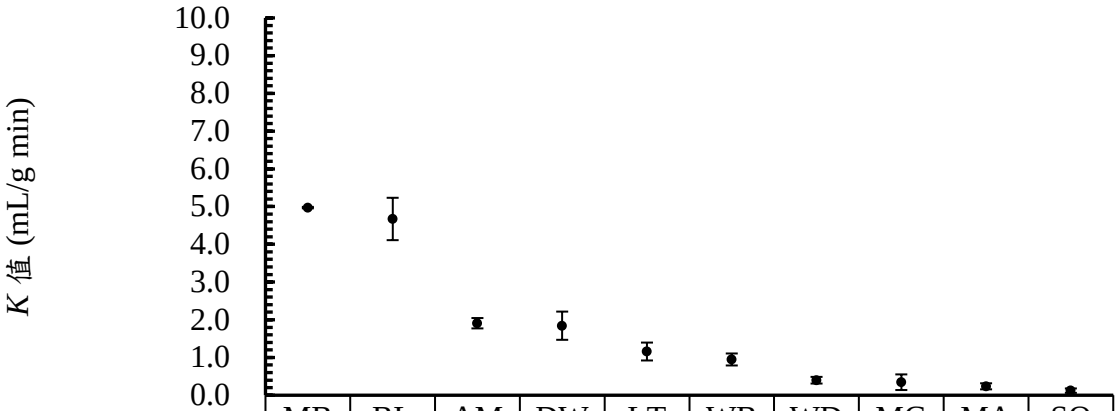
圖 40 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.01 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.2.2.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘)與 pH 及硬度值

計算 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.01 g/mL 家用清潔劑於 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其對應 pH 及硬度值如圖 41 所示。*K* 值結果顯示，MB 及 BL *K* 值最高 (分別為 4.97 及 4.67 mL/g min)，顯示對 *L. pneumophila* 之培養力影響大；其次為 AM 及 DW，其 *K* 值分別為 1.91 及 1.84 mL/g min；第三為 LT 及 WB，其 *K* 值分別為 1. 16 及 0.95 mL/g min；最低為 MG、MA 及 SO，其 *K* 值介於 0.12-0.34 mL/g min，顯示此 3 種清潔用品對 *L. pneumophila* 之培養力較無影響。

pH 結果顯示，添加清潔濃度為 0.01 g/mL MB 及 BL 較高，其 pH 皆為 8.08，其餘清潔用品 pH 則介於 7.38-7.82。另外於硬度結果顯示，以 0.01 g/mL AM 硬度最高 (32.67 mg/L)，其次為 WB 及 SO (3.00 mg/L)，其餘清潔用品硬度則為 0.5 mg/L。



	MB	BL	AM	DW	LT	WB	WD	MG	MA	SO
K 值 (mL/g min)	4.97	4.67	1.91	1.84	1.16	0.95	0.40	0.34	0.24	0.12
pH	8.08	8.08	7.52	7.60	7.52	7.50	7.56	7.56	7.72	7.51
硬度 (mg/L)	0.50	0.50	32.67	0.50	0.50	3.00	0.50	0.50	0.50	3.00

家用清潔劑 (HD)

圖 41 25℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.01 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.2.3 25℃下家用清潔劑抑菌效能統計檢定

分析 25℃下有無添加家用清潔劑 (HD)、清潔用品種類、接觸時間 (0.5、60、120 min)及 HD 濃度 (0.1 及 0.01 g/mL) 對 *L. pneumophila* 可培養性 (Log CFU/mL)之影響，結果如表 34 所示，相較於未無添加雨刷精之控制組，有添加 HD 清潔用品使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.28 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-1.28；P-value<0.0001)。至於其他變項之分析則如表 35 所示，當以 WB 作為比較基準，MB 對 *L. pneumophila* 可培養性影響大，使其降 3.05 Log CFU/mL (β=-3.05；P-value<0.0001)，其次為 BL、DW、WD、MG 及 MA，其 *L. pneumophila* 培養力可降 1.17-1.87 Log CFU/mL (β 分別為-1.87、-1.79、-1.17、-1.26 及-1.35；P-value<0.05 及 0.0001)；AM 則使 *L. pneumophila* 培養力下降 0.87 Log CFU/mL (β 分別為-0.87；P-value<0.05)。SO 及 LT 則皆與 WB 無顯著差異 (β=-0.11 及-0.59；P-value=0.81 及 0.82)。

針對接觸時間方面，以 0.5 分鐘為比較基準發現，增加接觸時間至 60 及 120 分鐘顯著使 *L. pneumophila* 可培養濃度下降 1.22 及 1.48 Log CFU/mL，具顯著影響 (β 分別為-1.22 及-1.48；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 之培養力隨著接觸時間越長下降越多。

針對 CS 濃度則以 0.01 g/mL 為比較基準，結果顯示增加市售雨刷精濃度至 0.1 g/mL 可使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.64 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-1.64；P-value<0.0001)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 34 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加家用清潔劑 (0.1 及 0.01 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=82)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加 HD	Intercept	5.18	0.02	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-1.28	0.18	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 35 以廣義估計方程式分析 25℃下家用清潔劑種類、接觸時間 (min)及清潔用品濃度 (g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=66)

變項	編號	清潔用品	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept			6.69	0.43	**
清潔用品品牌	**H10**	**WB**	**0.00**	**-**	**-**
	H1	MB	-3.05	0.50	**
	H2	BL	-1.87	0.43	**
	H3	DW	-1.79	0.48	*
	H4	WD	-1.17	0.43	*
	H5	MG	-1.26	0.46	*
	H6	MA	-1.35	0.50	*
	H7	SO	-0.11	0.45	0.81
	H8	AM	-0.87	0.42	*
	H9	LT	-0.12	0.55	0.82
接觸時間 (min)		**0.5**	**0.00**	**-**	**-**
		60	-1.22	0.18	**
		120	-1.48	0.22	**
清潔用品濃度 (g/mL)		**0.01**	**0.00**	**-**	**-**
		0.1	-1.64	0.17	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.2.4 25℃下家用清潔劑接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值

以 0.1 及 0.01 g/mL 家用清潔劑接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後，測量樣本中 pH 及硬度，並以不同 pH 及硬度切點分組，所含 *L. pneumophila* 濃度(Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L)之平均值、標準差與範圍，整理對於各切點範圍中之清潔用品種類以及其結果如表 36 所示。在 pH 低於 8 者共計 39 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 4.18 Log CFU/mL (SD = 0.11 Log CFU/mL；0.40-5.28 Log CFU/mL)，pH 平均值則為 7.55 (SD = 0.11；7.37-7.84)；pH 介於 8 與 10 者共計 12 樣本，*L. pneumophila* 濃度為 2.26 Log CFU/mL (SD = 2.00 Log CFU/mL；0.40-5.26 Log CFU/mL)，平均 pH 則為 8.16 (SD = 0.08；8.01-8.28)；pH≥10 者共計 9 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 0.40 Log CFU/mL (SD = 0 Log CFU/mL；0.40-0.40 Log CFU/mL)，平均 pH 為 10.82 (SD = 0.79；10.12-11.87)。

硬度低於 3 mg/L 者共有 44 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 2.82 Log CFU/mL (SD = 2.07 Log CFU/mL；0.40-5.28 Log CFU/mL)，平均硬度值為 0.63 mg/L (SD = 0.39；0.50-2.00)；硬度介於 3-12 mg/L 者共有 10 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 4.85 Log CFU/mL (SD = 0.26 Log CFU/mL；4.53-5.21 Log CFU/mL)，平均硬度值為 5.7 mg/L (SD = 2.75 mg/L；3.00-12.00 mg/L)；硬度>12 mg/L 者共有 6 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 3.47 Log CFU/mL (SD = 0.99 Log CFU/mL；2.18-4.56 Log CFU/mL)，平均硬度值為 103.00 mg/L (SD = 77.34 mg/L；30.00-185.00 mg/L)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 36 以 0.1 及 0.01 g/mL 清潔劑在 25℃下接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後之細菌濃度 (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L)

變項	切點	清潔用品(n)[a]	N[b]	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)			pH/ 硬度 (mg/L)		
				Mean	SD[c]	Range	Mean	SD	Range
pH	pH<8	AM(6), BL(6), DW(3)[d], LT(6), MA(3)[d], SO(6), WB(6), WD(3)[d]	39	4.18	0.11	0.40-5.28	7.55	0.11	7.37-7.84
	8≤pH<10	WD(3), MB(3)[d], MG(3)[d], DW(3)	12	2.26	2.00	0.40-5.26	8.16	0.08	8.01-8.28
	pH≥10	MA(3), MB(3), MG(3)	9	0.40	0.00	0.40-0.40	10.82	0.79	10.12-11.87
硬度 (mg/L)	<3	BL(6), DW(6), LT(4)[e], MA(6), WD(6), MB(6), MG(6), SO(3)[d], WB(1)[f]	44	2.82	2.07	0.40-5.28	0.63	0.39	0.50-2.00
	3-12	WB(5), SO(3), LT(2)	10	4.85	0.26	4.53-5.21	5.70	2.75	3.00-12.00
	>12	AM(6)	6	3.47	0.99	2.18-4.56	103.00	77.34	30.00-185.00

a: (n)=該清潔用品之樣本數

b: 總樣本數 (N) = 清潔用品數×3 重複×2 個抑菌物濃度

c: 標準差 (Standard deviation, SD)

d: 僅 0.01 g/mL 為符合對應切點

e: 0.1 g/mL LT 硬度結果有 2 重複落於 3-12 mg/L

f: 0.01 g/mL WB 硬度結果有 1 重複低於 3 mg/L

doi:10.6342/NTU201704234

進一步以迴歸模型統計法分析接觸 HD 不同 pH 或硬度組別間之 *L. pneumophila* 濃度，經常態分佈檢定，經開根號樣本符合常態分佈，故以迴歸模式分析所得 β 估計值結果將去開根號並轉 Log，以得到與其他模式有相同的數值程度去觀察，結果如表 37 所示。相較於 pH 低於 8 者，當 pH 介於 8-10 者，將使 *L. pneumophila* 下降 4.15 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-4.15；P-value<0.05)，而當 pH 高於或等於 10，對 *L. pneumophila* 下降 4.68 Log CFU/mL，更具顯著影響 (β=-4.68；P-value<0.0001)。另相較於硬度小於 3 mg/L 者，當硬度介於 3-12 mg/L 其 *L. pneumophila* 培養能力無顯著影響 (β=3.53；P-value=0.22)，而當硬度高於 12 mg/L，對 *L. pneumophila* 下降 4.25 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-4.25；P-value<0.05)。

表 37 以迴歸模型評估 pH 及硬度對 25℃下接觸家用清潔劑 (0.1 及 0.01 g/mL)於 120 分鐘之 *L. pneumophila* 濃度 (Square root CFU/mL) 影響

變項	切點	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept		4.68	26.16	**
pH	**pH<8**	**0.00**	**-**	**-**
	8≤pH<10	-4.15	44.67	*
	pH≥10	-4.68	49.32	**
硬度 (mg/L)	**<3**	**0.00**	**-**	**-**
	3-12	3.53	47.51	0.22
	>12	-4.25	57.50	*

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.3 25℃下 22 種雨刷水清潔用品抑菌結果

分析 25℃短時間下有無添加雨刷水清潔用品 (WWF)、清潔用品種類、接觸時間 (0.5、60 及 120 min)及添加濃度 (0.1 及 0.01 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之貢獻影響。

6.2.3.1 25℃下 22 種雨刷水清潔用品抑菌效能統計檢定

6.2.3.1.1 0.1 g/mL22 種雨刷水清潔用品抑菌效果

結果如表 38 所示，相較於未添加雨刷水清潔用品之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 培養力下降 2.21 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-2.21；P-value<0.0001)。至於其他變項之分析如表 39 所示，針對雨刷水清潔用品，相較於 HD，CS 對 *L. pneumophila* 培養力統計無顯著影響 (β=-0.39；P-value=0.26)。對接觸時間，以 0.5 分鐘為比較基準，增加接觸時間至 60 及 120 分鐘使 *L. pneumophila* 可培養濃度分別下降 1.64 及 2.12 Log CFU/mL (β 分別為-1.86 及-2.29；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 之培養力隨著接觸時間越長下降越多。

doi:10.6342/NTU201704234

表 38 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加 21 種雨刷水清潔用品 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=93)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加 WWF	Intercept	5.09	0.03	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-2.21	0.18	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 39 以廣義估計方程式分析 25℃下 21 種雨刷水清潔用品類型及接觸時間 (min) 對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=63)

變項	清潔用品 [a]	β-Estimate	標準誤差	P-value[b]
Intercept		4.25	0.25	**
清潔用品類型	**HD**	**0.00**	**-**	**-**
	CS	-0.39	0.35	0.26
接觸時間 (min)	**0.5**	**0.00**	**-**	**-**
	60	-1.64	0.18	**
	120	-2.12	0.21	**

a: 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS);家用清潔劑 (Household detergent, HD)
b: *p<0.05; **p<0.0001

6.2.3.1.2 0.01 g/mL22 種雨刷水清潔用品抑菌效果

結果如表 40 所示，相較於未添加雨刷水相關清潔用品之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 培養力下降 0.78 Log CFU/mL，具顯著差異 (β=-0.78；P-value<0.0001)。表 41 所示，針對雨刷水清潔用品，相較於 HD，CS 造成對 *L. pneumophila* 培養力下降 0.65，具顯著影響 (β=-0.65；P-value<0.05)。對接觸時間，以 0.5 分鐘為比較基準發現，增加接觸時間至 60 及 120 分鐘顯著差異使 *L. pneumophila* 培養力分別下降 0.68 及 1.01 Log CFU/mL (β 分別為-0.68 及-1.01；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 之培養力隨著接觸時間越長下降越多。

doi:10.6342/NTU201704234

表 40 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加 22 種雨刷水清潔用品 (0.01 g/mL)

對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=88)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加 WWF	Intercept	5.13	0.01	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-0.78	0.11	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 41 以廣義估計方程式分析 25℃下 22 種雨刷水清潔用品類型及接觸時間 (min)

對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=66)

變項	清潔用品	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept		5.23	0.09	**
清潔用品類型	**HD**	**0.00**	**-**	**-**
	CS	-0.65	0.20	*
接觸時間 (min)	**0.5**	**0.00**	**-**	**-**
	60	-0.68	0.08	**
	120	-1.01	0.12	**

a: 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS);家用清潔劑 (Household detergent, HD)

b: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.2.3.1.3 0.1 及 0.01 g/mL 21 種雨刷水清潔用品抑菌效果

結果如表 42 所示，相較於未添加雨刷水清潔用品之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.47 Log cells/mL，具顯著差異 (β=-1.47；P-value<0.0001)。表 43 所示，針對雨刷水清潔用品，相較於 HD，CS 顯著使 *L. pneumophila* 培養力下降 0.51 (β=-0.51；P-value<0.05)。對接觸時間，以 0.5 分鐘為比較基準，增加接觸時間至 60 及 120 分鐘顯著使 *L. pneumophila* 可培養濃度分別下降 1.14 及 1.53 Log CFU/mL (β 分別為-1.14 及-1.53；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 之培養力隨著接觸時間越長下降越多。對於添加濃度，以 0.01 g/mL 為比較基準，添加濃度為 0.1 g/mL 顯著使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.45 Log CFU/mL (β 分別為-1.45；P-value<0.0001)，顯示添加濃度愈高愈對 *L. pneumophila* 之培養力影響。

表 42 以廣義估計方程式分析 25℃下有無添加 21 種雨刷水清潔用品(0.1 及 0.01 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=178)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加 WWF	Intercept	5.11	0.02	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-1.47	0.13	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

表 43 以廣義估計方程式分析 25℃下 21 種雨刷水清潔用品類型、接觸時間 (min) 及清潔用品濃度 (g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=126)

變項	清潔用品 [a]	β-Estimate	標準誤差	P-value[b]
Intercept		5.44	0.12	**
清潔用品類型	**HD**	**0.00**	**-**	**-**
	CS	-0.51	0.20	*
接觸時間 (min)	**0.5**	**0.00**	**-**	**-**
	60	-1.14	0.11	**
	120	-1.53	0.13	**
清潔用品濃度 (g/mL)	**0.01**	**0.00**	**-**	**-**
	0.1	-1.45	0.20	**

a: 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS);家用清潔劑 (Household detergent, HD)
b: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.3 37°C短期退伍軍人菌抑菌實驗

6.3.1 37°C下市售兩刷精抑菌結果

6.3.1.1 0.1 g/mL 市售兩刷精抑菌效果

圖 42 中黑色柱狀圖為 0.1 g/mL 之 TM、AA、GD、CD 及 CAP 清潔用品與 10^5 CFU/mL *L. pneumophila* 接觸 0.5-120 分鐘之濃度變化，空白柱狀圖則為不含清潔(控制組)之 *L. pneumophila* 濃度。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 9.2×10^4-2.5×10^5 CFU/mL； 於 0.5 分鐘時，TM 及 AA 中已無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，GD 中則含 3.7×10^1 CFU/mL，而 CD 及 CAP 分別含 5.5×10^4 及 1.0×10^4 CFU/mL *L. pneumophila*；於 60 分鐘時，GD 為無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，CD 及 CAP 則含 *L. pneumophila* 濃度分別為 5 及 6.7 CFU/mL，於 120 分鐘時，CD 及 CAP 為無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)。

圖 43 為 0.1 g/mL 之 BP、CP、TY、GY、SN 及 BS 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.2×10^5-2.7×10^5 CFU/mL；此六種清潔劑除 BS 外於 120 分鐘內所含 *L. pneumophila* 濃度維持在 10^4 CFU/mL 以上 (濃度介於 1.3×10^4-8.7×10^4 CFU/mL)，而 BS 0.5 及 60 分鐘時中含 *L. pneumophila* 濃度分別為 2.3×10^5 及 1.4×10^5 CFU/mL，於 120 分鐘則濃度小幅度下降為 7.0×10^4 CFU/mL。

doi:10.6342/NTU201704234

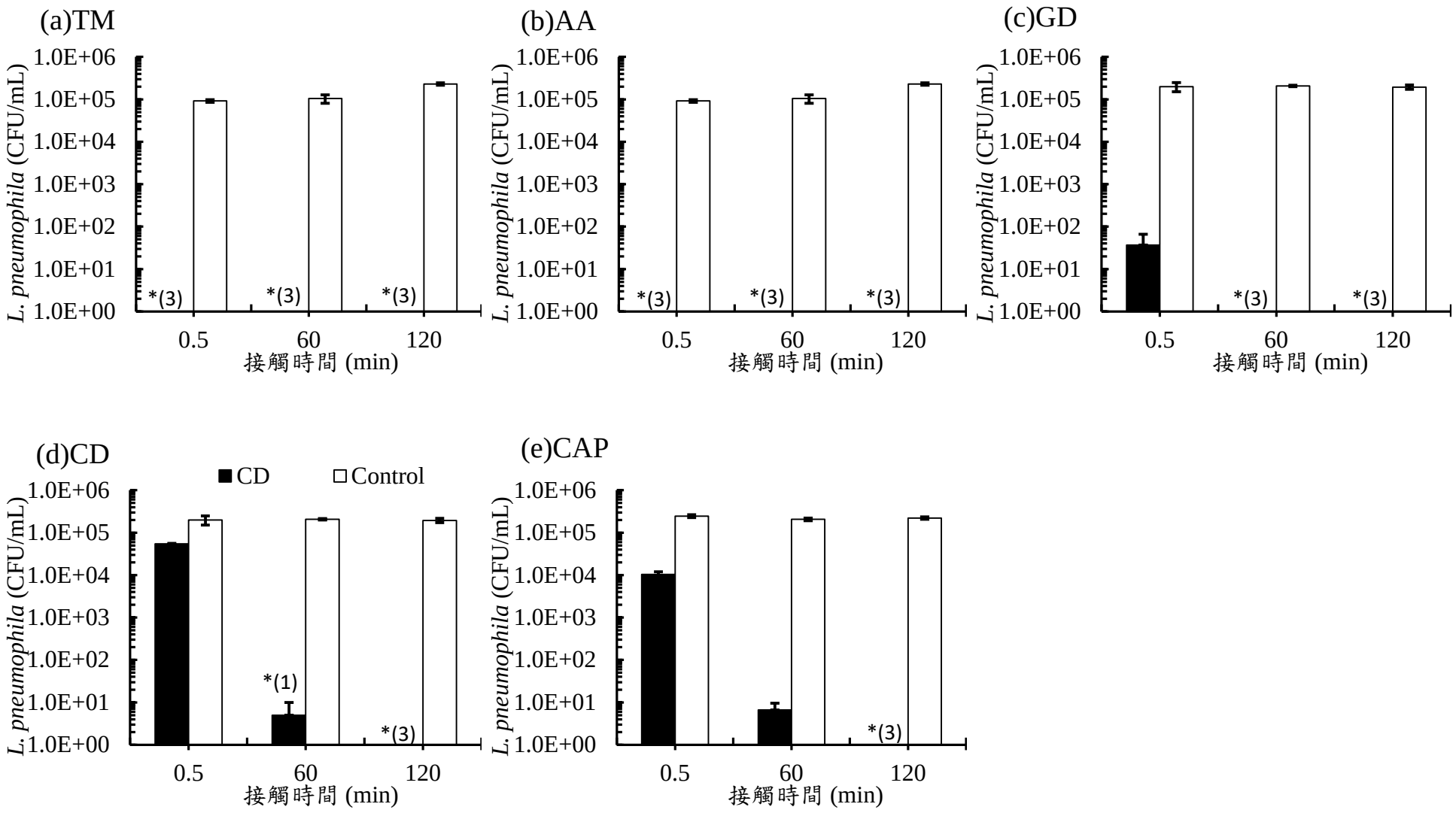


圖 42 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 雨刷精 (TM、AA、GD、CD、CAP)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2)；*(n)=Number of not-detected samples (偵測下限=1 CFU/0.2 mL=5 CFU/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

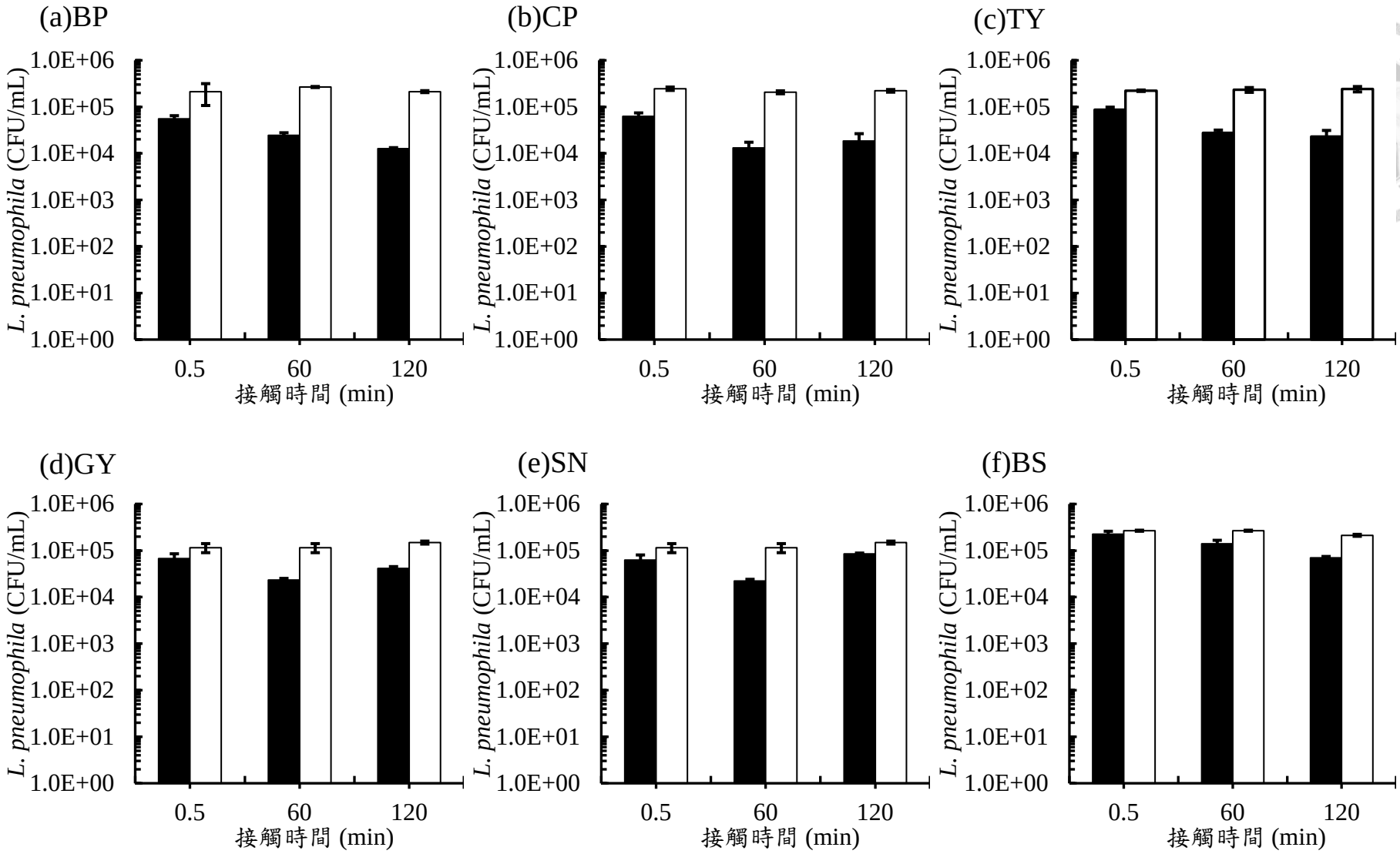


圖 43 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 雨刷精 (BP、CP、TY、GY、SN、BS)不同時間下可培養細菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；□不含雨刷精組 (n=2))

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.1.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 市售兩刷精易感性因子 (60 及 120 分鐘)

計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 市售兩刷精於 60 及 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其平均值、標準差、最小值及最大值如表 44 所示，另以 K 值繪圖觀察 *L. pneumophila* 之培養力對各 12 種市售兩刷精程度如圖 44 所示。結果顯示，*L. pneumophila* 之培養力對 GD、CD、AA、TM 及 CAP 的易感性大，*K* 值皆為 1.3 mL/g min 以上 (SD = 0.52、0.49、0.45、0.45 及 0.43 mL/g min；五種清潔用品最小值至最大值範圍介於 0.94-1.89 mL/g min)；而較低為 CP、BP、TY、GY、SN 及 BS，*K* 值介於 0.11-0.34 mL/g min (SD = 0.14、0.09、0.09、0.09、0.13 及 0.03 mL/g min；六種清潔用品最小值至最大值範圍介於 0.04-0.50 mL/g min)，顯示對 *L. pneumophila* 之培養力影響小；而 SF 結果含非嗜肺性退伍軍人菌落，無法辨識 *L. pneumophila*，故無 *K* 值。

doi:10.6342/NTU201704234

表 44 計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值

清潔用品	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	*K* 值 [a] (mL/g min)			
			Mean	SD	Min	Max
GD	37	0.1	1.41	0.52	0.94	1.89
CD	37	0.1	1.37	0.49	0.94	1.89
AA	37	0.1	1.36	0.45	0.95	1.77
TM	37	0.1	1.36	0.45	0.95	1.77
CAP	37	0.1	1.34	0.43	0.95	1.77
CP	37	0.1	0.34	0.14	0.18	0.50
BP	37	0.1	0.32	0.09	0.23	0.42
TY	37	0.1	0.28	0.09	0.19	0.37
GY	37	0.1	0.19	0.09	0.10	0.28
SN	37	0.1	0.16	0.13	0.04	0.32
BS	37	0.1	0.11	0.03	0.09	0.15
SF[b]	37	0.1	-	-	-	-

a: *K* 值為將未添加清潔用品控制組與添加清潔用品實驗組 *L. pneumophila* 濃度比值取對數後，再除以添加濃度及接觸時間。

b: 添加 0.1 g/mL SF 檢測出非嗜肺性退伍軍人菌菌落，故 *K* 值無結果

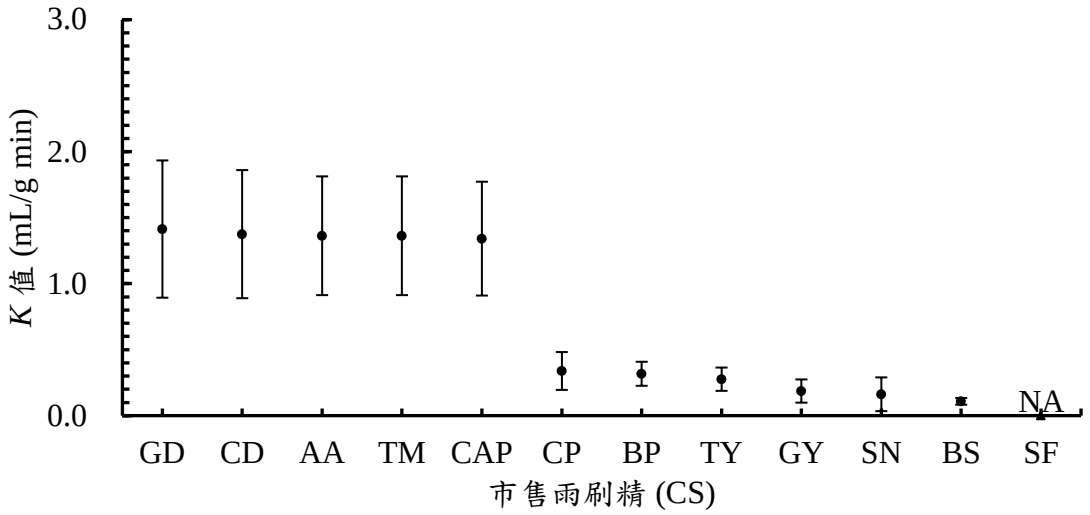


圖 44 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果

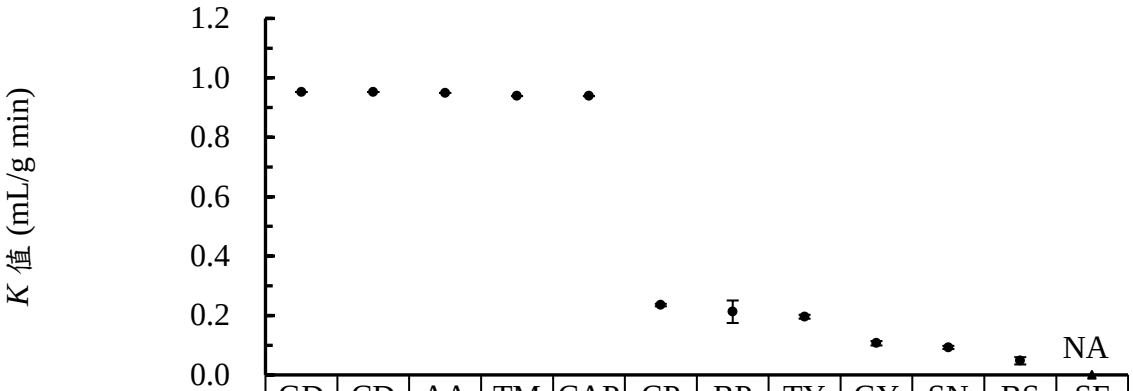
(NA= Not available)

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.1.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘)與 pH 及硬度值

計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 市售雨刷精於 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其對應 pH 及硬度值如圖 45 所示。*K* 值結果顯示，GD、CD、AA、TM 及 CAP *K* 值最大 (介於 0.94-0.95) mL/g min，顯示此 5 種對 *L. pneumophila* 之培養力影響大；其次為 CP、BP 及 TY，其 *K* 值介於 0.20-0.24 mL/g min；最低為 GY、SN 及 BS，其 *K* 值介於 0.05-0.11 mL/g min，顯示對 *L. pneumophila* 之培養力較無影響；而 SF 結果含非嗜肺性退伍軍人菌落，無法辨識 *L. pneumophila*，故無 *K* 值。

pH 結果顯示，添加清潔濃度為 0.1 g/mL AA 及 GD 最高，其 pH 分別為 10.11 及 9.90，其餘品牌則介於 7.44-7.57。另外於硬度結果顯示，以 0.1 g/mL TM 硬度最高 (9.00 mg/L)，其次為 CAP、SN 及 SF (介於 1.33-3.00 mg/L)，其餘清潔用品硬度則為 0.5 mg/L。



	GD	CD	AA	TM	CAP	CP	BP	TY	GY	SN	BS	SF
K 值 (mL/g min)	0.95	0.95	0.95	0.94	0.94	0.24	0.21	0.20	0.11	0.09	0.05	0.00
pH	9.90	7.63	10.11	7.47	7.57	7.54	7.56	7.44	7.51	7.48	7.55	7.46
硬度 (mg/L)	0.50	0.50	0.50	9.00	3.00	0.50	0.50	0.50	0.50	2.67	0.50	1.33

市售雨刷精 (CS)

圖 45 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果

(NA= Not available)

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.1.2 25&37℃下市售雨刷精抑菌效能統計檢定

分析 25 及 37℃短時間下市售雨刷精 (CS)的有無添加清潔用品、清潔用品種類、接觸時間 (0.5、60、120 min)及水溫 (25 及 37℃)對 *L. pneumophila* 可培養性(Log CFU/mL)之貢獻影響。結果如 45 表所示，相較於未添加雨刷精之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 2.21 Log CFU/mL，具顯著影響(β=-2.22；P-value<0.0001)。表 46 所示，針對市售雨刷精清潔用品種類中，以 BS 為比較基準，TM、GD、AA 對 *L. pneumophila* 可培養性濃度影響大，可分別使其降 4.49、4.10 及 4.17 Log CFU/mL (β=-4.07、-4.10 及-4.17；P-value 皆<0.0001)；其次為 CD、CAP 及 CP 對 *L. pneumophila* 可培養性濃度可降 1.35-3.06 Log CFU/mL (β 分別為-1.35、-2.86、-3.09 及-1.81；P-value 皆<0.0001)；SN、GY、TY 及 BP 則對 *L. pneumophila* 培養力下降 0.66-0.79 Log CFU/mL (β 分別為-0.66、-0.76、-0.79 及-0.79；P-value 皆<0.0001)。

接觸時間方面，以 0.5 分鐘為比較基準發現，增加接觸時間至 60 及 120 分鐘顯著使 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 (β 分別為-1.20 及-1.49；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 之培養力隨著接觸時間越長下降越多。

水溫方面，以 25℃為比較基準，結果顯示添加市售雨刷精於 37℃可使 *L. pneumophila* 培養力上升 0.35 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=0.35；P-value<0.0001)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 45 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下有無添加市售雨刷精 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=96)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加 CS	Intercept	5.13	0.03	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-2.21	0.20	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 46 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下市售雨刷精種類、接觸時間 (min)及水溫 (℃)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=66)

變項	編號	清潔用品	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept			5.64	0.13	**
清潔用品品牌	**C12**	**BS**	**0.00**	**-**	**-**
	C1	TM	-4.49	0.09	**
	C2	GD	-4.10	0.11	**
	C3	AA	-4.17	0.22	**
	C4	CD	-3.09	0.05	**
	C5	CAP	-2.86	0.20	**
	C6	CP	-1.35	0.26	**
	C7	SN	-0.79	0.16	**
	C8	GY	-0.79	0.13	**
	C9	TY	-0.76	0.11	**
	C10	BP	-0.66	0.03	**
接觸時間 (min)		**0.5**	**0.00**	**-**	**-**
		60	-1.20	0.15	**
		120	-1.49	0.18	**
溫度 (℃)		**25**	**0.00**	**-**	**-**
		37	0.35	0.09	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.1.3 25 及 37℃下市售兩刷精接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值

於 25 及 37℃下以 0.1 g/mL 市售兩刷精接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後，測量樣本中 pH 及硬度，並以不同 pH 及硬度切點分組後，所含 *L. pneumophila* (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L) 之平均值、標準差與範圍，整理對於各切點範圍中之清潔用品種類以及其結果如表 47 所示。在 pH 低於 8 者共計 54 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 2.63 Log CFU/mL (SD = 1.86 Log CFU/mL；0.40-5.07 Log CFU/mL)，平均 pH 則為 7.56 (SD = 0.07；7.43-7.69)；於 pH 介於 8-10 者共計 3 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 0.40 Log CFU/mL (SD = 0 Log CFU/mL；0.40-0.40 Log CFU/mL)，平均 pH 為 9.90 (SD = 0.05；9.84-9.93)；於 pH 高於或等於 10 者共計 9 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 0.40 Log CFU/mL (SD = 0 Log CFU/mL；0.40-0.40 Log CFU/mL)，平均 pH 為 10.17 (SD = 0.25；10.09-10.57)。

對於硬度，硬度低於 3 mg/L 者共計 54 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 2.38 Log CFU/mL (SD = 1.85 Log CFU/mL；0.40-5.07 Log CFU/mL)，平均硬度為 0.56 mg/L (SD = 0.29；0.50-2.00)；硬度介於 3-12 mg/L 者共計 12 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 1.50 Log CFU/mL (SD = 1.99 Log CFU/mL；0.40-4.97 Log CFU/mL)，平均硬度為 6.33 mg/L (SD = 3.52 mg/L；3.00-12.00 mg/L)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 47 以 0.1 雨刷精在 25 及 37℃下接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後之菌濃度 (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L)

變項	切點	清潔用品(n)[a]	N[b]	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)			pH/ 硬度 (mg/L)		
				Mean	SD[c]	Range	Mean	SD	Range
pH	pH<8	BP(6), BS(6), CAP(6), CD(6), CP(6), GY(6), SN(6), TM(6), TY(6)	54	2.63	1.86	0.40-5.07	7.56	0.07	7.43-7.69
	8≤pH<10	GD(3)[d]	3	0.40	0.00	0.40-0.40	9.90	0.05	9.84-9.93
	pH≥10	AA(6), GD(3)	9	0.40	0.00	0.40-0.40	10.17	0.25	10.09-10.57
硬度 (mg/L)	<3	AA(6), GD(6), BP(6), BS(6), CAP(3)[d], CD(6), CP(6), GY(5)[e], SN(4)[f], TY(6)	54	2.38	1.85	0.40-5.07	0.56	0.29	0.50-2.00
	3-12	TM(6), SN(2), CAP(3), GY(1)	12	1.50	1.99	0.40-4.97	6.33	3.52	3.00-12.00
	>12	-	-	-	-	-	-	-	-

a: (n)=清潔用品樣本數

b: 清潔用品數×3 重複×2 個溫度=樣本數

c: 標準差 (Standard deviation, SD)

d: 僅 25℃符合對應切點

e: 37℃下 GY 硬度結果有 1 重複落在 3~12 mg/L

f: 37℃下 SN 硬度結果有 2 重複落在 3~12 mg/L

doi:10.6342/NTU201704234

進一步以迴歸模型統計分析 25 及 37℃下接觸 CS 不同 pH 及硬度組別對 *L. pneumophila* 濃度影響如表 48 所示。針對 pH，相較於 pH 低於 8 者，因 GD 清潔用品 pH 雖介於 8-10，且接近於 10，故以 pH 以 8 分組作為探討 pH 貢獻影響，當 pH 高於或等於 8 者對 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 2.55 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-2.55；P-value<0.0001)。另相較於硬度小於 3 mg/L 者，當硬度介於 3-12 mg/L，對 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 1.45 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-1.45；P-value<0.05)。

表 48 以迴歸模型檢定 pH 及硬度對 25 及 37℃下接觸市售雨刷精 (0.1 g/mL)於 120 分鐘時之 *L. pneumophila* 濃度 (Log CFU/mL)影響

變項	切點	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept		2.95	0.24	**
pH	**pH<8**	**0.00**	**-**	**-**
	pH≥8	-2.55	0.52	**
硬度 (mg/L)	**<3**	**0.00**	**-**	**-**
	3-12	-1.45	0.52	*

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.2 37°C下家用清潔劑抑菌結果

6.3.2.1 0.1 g/mL 家用清潔劑抑菌效果

圖 46 中黑色柱狀圖為 MB、MG、BL 及 MA 清潔用品與 10^5 CFU/mL *L. pneumophila* 接觸 0.5-120 分鐘之濃度變化，空白柱狀圖則為不含清潔 (控制組)之 *L. pneumophila* 濃度。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.4×10^5-2.0×10^5 CFU/mL；於 0.5 分鐘接觸時間， MB 中已無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，而 MG、BL 及 MA 中所含濃度分別 8.8×10^3、1.3×10^4 及 6.3×10^3 CFU/mL；於 60 分鐘時，MG 已無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)，BL 及 MA 則含 *L. pneumophila* 濃度分別為 1.7 及 5 CFU/mL；在 120 分鐘時，BL 及 MA 亦無檢出 *L. pneumophila* (<5 CFU/mL)。

圖 47 為 AM、DW、WB 及 WD 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 2.0×10^5-3.2×10^5 CFU/mL；於 0.5 分鐘接觸時間，AM、DW、WB 及 WD 中所含 *L. pneumophila* 濃度皆在 10^4 CFU/mL 以上 (濃度介於 4.2×10^4 CFU/mL-2.1×10^5 CFU/mL)；於 60 分鐘接觸時間，AM 及 DW 中所含分別為 3.9×10^2 及 1.0×10^2 CFU/mL *L. pneumophila*，WB 及 WD 中則含相對高 *L. pneumophila* 濃度分別為 3.2×10^4 及 2.4×10^3 CFU/mL；於 120 分鐘時，AM 含濃度 5 CFU/mL *L. pneumophila*，DW 及 WD 則仍維持濃度為 1.3×10^2 及 2.1×10^3 CFU/mL ，而 WB 所含濃度下降至 1.8×10^2 CFU/mL，抑菌效果緩慢下降。

圖 48 為 SO 及 LT 清潔用品之抑菌效果。在 120 分鐘內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 2.9×10^5-3.2×10^5 CFU/mL；這兩種清潔劑在 120 分鐘內，所含 *L. pneumophila* 濃度皆在 10^5 CFU/mL 以上 (濃度介於 1.4×10^5 CFU/mL-2.3×10^5 CFU/mL)，僅 SO 在 120 分鐘時，所含 *L. pneumophila* 濃度小幅度下降為 8.3×10^4 CFU/mL ，較無抑菌效果。

doi:10.6342/NTU201704234

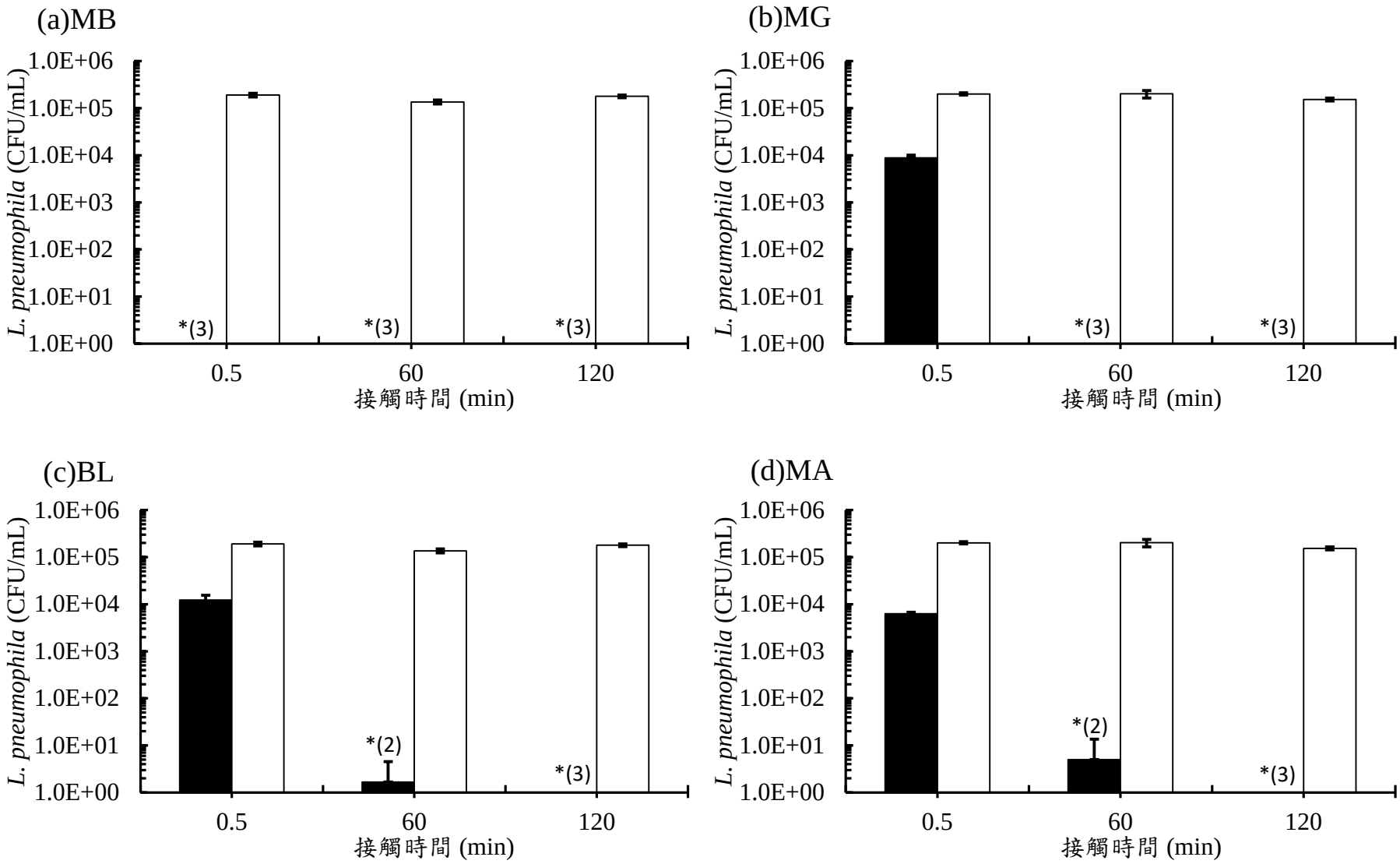


圖 46 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (MB、MG、BL、MA)不同時間下可培養細菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=2)；*(n)=Number of not-detected samples (偵測下限=1 CFU/0.2 mL=5 CFU/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

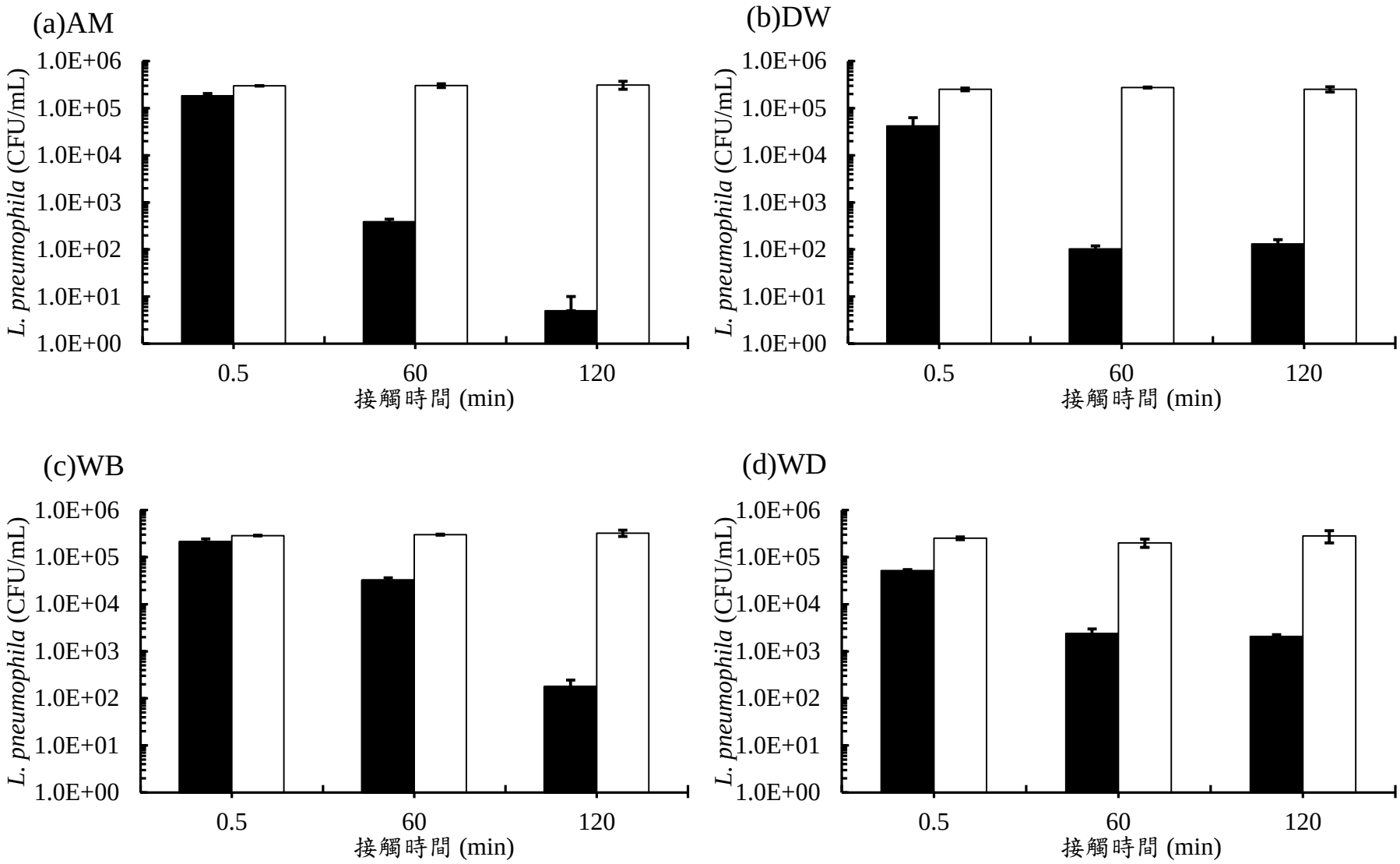


圖 47 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (AM、DW、WB、WD)不同時間下可培養細菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=2))

doi:10.6342/NTU201704234

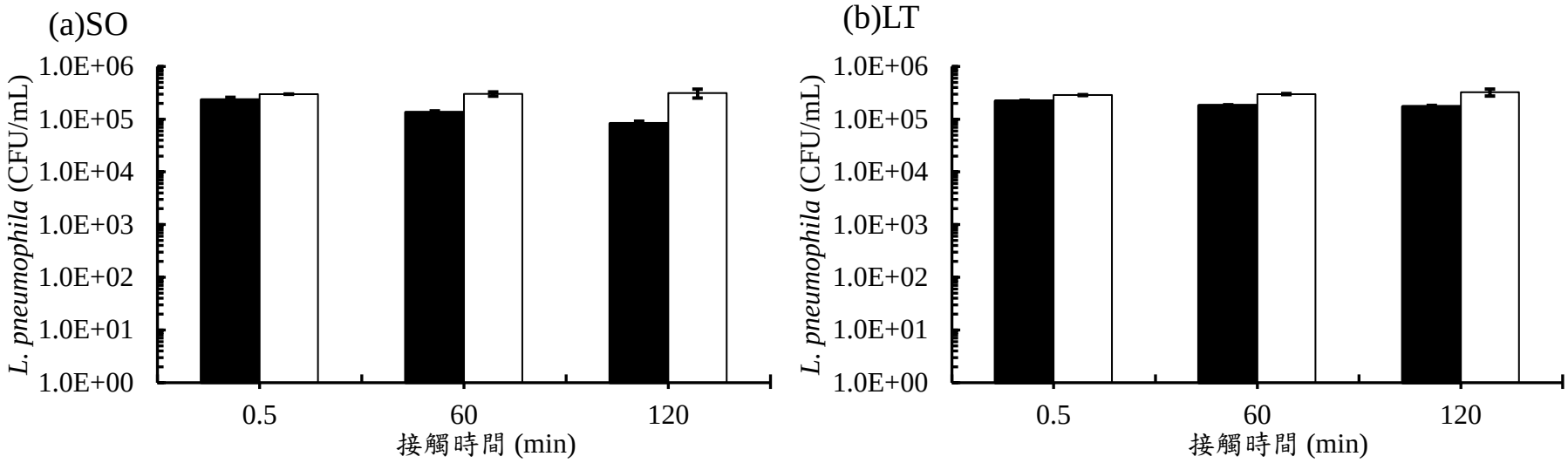


圖 48 37°C下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (SO、LT)不同時間下可培養細菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=2))

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.2.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 家用清潔劑易感性因子 (60 及 120 分鐘)

計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 家用清潔劑於接觸時間 60 及 120 分鐘之易感性因子 (*K* 值)，其平均值、標準差、最小值及最大值如表 49 所示，另以 *K* 值繪圖觀察 *L. pneumophila* 之培養力對各 10 種家用清潔劑程度如圖 49 所示。結果顯示，*L. pneumophila* 之培養力對 MG、MB、BL 及 MA 的易感性大，其 *K* 值介於 1.35-1.40 mL/g min (SD = 0.53、0.49、0.47 及 0.49 mL/g min；四種清潔用品最小值至最大值為 0.92-1.88 mL/g min)；其次為 AM 及 DW，*K* 值分別為 1.02 及 0.97 mL/g min (SD = 0.11 及 0.38 mL/g min；0.86-1.14 及 0.61-1.35 mL/g min)；WD 及 WB *K* 值則分別為 0.58 及 0.46 mL/g min (SD = 0.18 及 0.10 mL/g min；0.40-0.79 及 0.35-0.57 mL/g min)；SO 及 LT 則更低，*K* 值分別為 0.12 及 0.07 mL/g min (SD = 0.02 mL/g min；0.11-0.14 及 0.05-0.09 mL/g min)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 49 計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL) 60 及 120 分鐘之 *K* 值

清潔用品	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	*K* 值 [a] (mL/g min)			
			Mean	SD	Min	Max
MG	37	0.1	1.40	0.53	0.92	1.88
MB	37	0.1	1.37	0.49	0.93	1.82
BL	37	0.1	1.36	0.47	0.93	1.82
MA	37	0.1	1.35	0.49	0.92	1.88
AM	37	0.1	1.02	0.11	0.86	1.14
DW	37	0.1	0.97	0.38	0.61	1.35
WD	37	0.1	0.58	0.18	0.40	0.79
WB	37	0.1	0.46	0.10	0.35	0.57
SO	37	0.1	0.12	0.02	0.11	0.14
LT	37	0.1	0.07	0.02	0.05	0.09

a: K 值為將未添加清潔用品控制組與添加清接用品實驗組 *L. pneumophila* 濃度比值取對數後，再除以添加濃度及接觸時間。

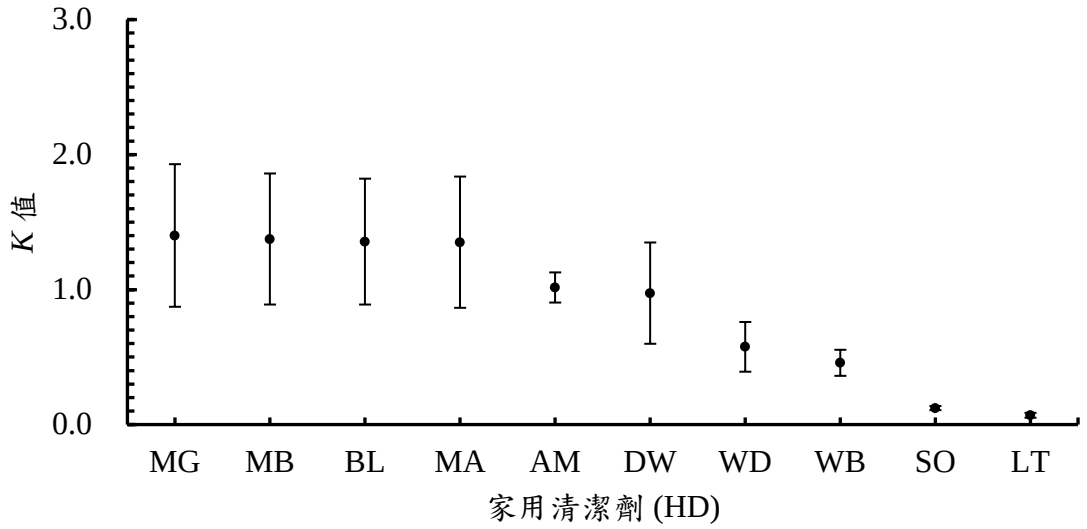


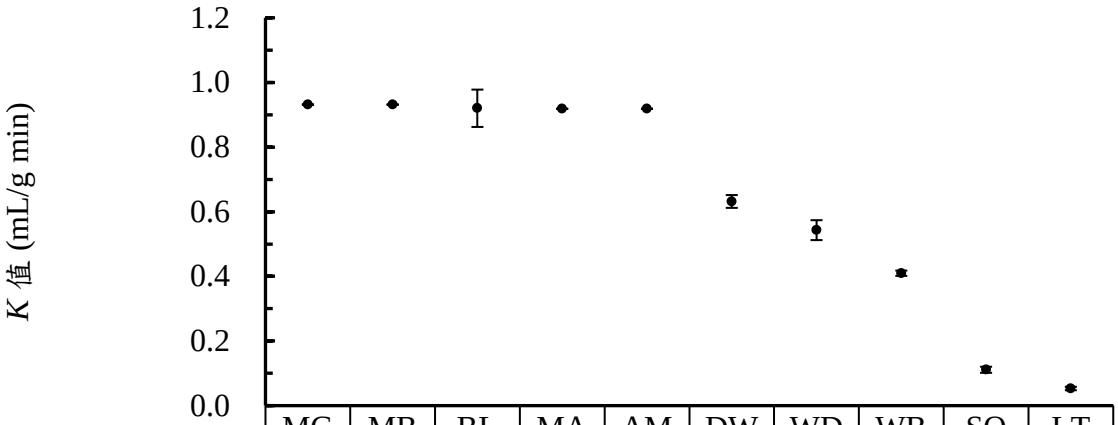
圖 49 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (60 及 120 分鐘)結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.2.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (120 分鐘)與 pH 及硬度值

計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 家用清潔劑於 120 分鐘時之易感性因子 (*K* 值)，其對應 pH 及硬度值如圖 50 所示。*K* 值結果顯示，MG、MB、BL、MA 及 AM *K* 值較高 (介於 0.92-0.93 mL/g min)，顯示此 5 種清潔用品對 *L. pneumophila* 之培養力影響大；其次為 DW、WD 及 WB，其 *K* 值介於 0.41-0.63 mL/g min；最低為 SO 及 LT，其 *K* 值分別為 0.11 及 0.05 mL/g min，顯示此 2 種清潔用品對 *L. pneumophila* 之培養力較無影響。

pH 結果顯示，添加清潔濃度為 0.1 g/mL MB、MG 及 MA 較高，其 pH 介於 10.05-11.49，其次為 DW 及 WD，其 pH 皆為 8 (分別為 8.19 及 8.12)，其餘清潔用品 pH 則介於 7.36-7.91。另外於硬度結果顯示，以 0.1 g/mL AM 硬度最高 (186.67 mg/L)，其次為 LT、SO 及 WB (分別為 7.00、6.33 及 5.33 mg/L)，其餘清潔用品除 DW 外硬度則為 0.5 mg/L，而 DW 甚至更低 (0.33 mg/L)。



	MG	MB	BL	MA	AM	DW	WD	WB	SO	LT
K 值 (mL/g min)	0.93	0.93	0.92	0.92	0.92	0.63	0.54	0.41	0.11	0.05
pH	10.34	11.49	7.43	10.05	7.41	8.19	8.12	7.36	7.75	7.91
硬度 (mg/L)	0.50	0.50	0.50	0.50	186.67	0.33	0.50	5.33	6.33	7.00

家用清潔劑 (HD)

圖 50 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (120 分鐘)、pH 及硬度值結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.2.2 25 及 37℃下家用清潔劑抑菌效能統計檢定

分析 25 及 37℃短時間下家用清潔劑 (HD)的有無添加清潔用品、清潔用品種類、接觸時間 (0.5、60、120 min)及水溫 (25 及 37℃)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之貢獻影響。結果如表 50 所示，相較於未添加清潔劑之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 2.24 Log CFU/mL，具顯著貢獻影響 (β=-2.24；P-value<0.0001)。表 51 所示，針對家用清潔劑清潔用品種類中，以 WB 作為比較基準，MB 為家用清潔劑中對 *L. pneumophila* 培養力影響大，可使其降 4.19 Log CFU/mL (β=-4.19；P-value<0.0001)，其次 BL、DW、WD、MG、MA 及 AM 對 *L. pneumophila* 可培養性濃度可降 1.35-2.82 Log CFU/mL (β 分別為-2.43、-2.33、-1.43、-2.67、-2.82 及-1.35；P-value 皆<0.0001)。另外，LT 則比 WB 對 *L. pneumophila* 可培養性濃度上升 0.53 Log CFU/mL (β 分別為 0.53；P-value<0.05)。最低者為 SO，與 WB 無顯著影響，造成對 *L. pneumophila* 可培養性濃度上升 0.30 Log CFU/mL (β=0.30；P-value=0.25)。

針對接觸時間，以 0.5 分鐘為比較基準，增加接觸時間至 60 及 120 分鐘有顯著使 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 (β 分別為-1.86 及-2.29；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 之培養力隨著接觸時間越長下降越多。

針對水溫，以 25℃為比較基準，其結果顯示添加 0.1 g/mL 家用清潔劑於 37℃使 *L. pneumophila* 培養力下降 0.03 Log CFU/mL，無顯著影響 (β=-0.03；P-value=0.80)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 50 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下有無添加家用清潔劑 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=86)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加	Intercept	5.29	0.03	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-2.24	0.19	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 51 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下家用清潔劑種類、接觸時間 (min)及水溫 (℃)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=60)

變項	編號	清潔用品	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept			5.97	0.26	**
清潔用品品牌	**H10**	**WB**	**0.00**	**-**	**-**
	H1	MB	-4.19	0.23	**
	H2	BL	-2.43	0.30	**
	H3	DW	-2.33	0.36	**
	H4	WD	-1.43	0.36	**
	H5	MG	-2.67	0.27	**
	H6	MA	-2.82	0.24	**
	H7	SO	0.30	0.26	0.25
	H8	AM	-1.35	0.28	**
	H9	LT	0.53	0.24	*
接觸時間 (min)		**0.5**	**0.00**	**-**	**-**
		60	-1.86	0.20	**
		120	-2.29	0.23	**
溫度 (℃)		**25**	**0.00**	**-**	**-**
		37	-0.03	0.11	0.80

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.2.3 25 及 37℃下家用清潔劑接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 及硬度檢測

於 25 及 37℃下以 0.1 g/mL 家用清潔劑接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後，測量樣本中 pH 及硬度，並以不同 pH 及硬度切點分組後，所含 *L. pneumophila* (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L) 之平均值、標準差與範圍，整理對於各切點範圍中之清潔用品種類以及其結果如表 52 所示。在 pH 低於 8 者共計 30 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 3.17 Log CFU/mL (SD = 1.94 Log CFU/mL；0.40-5.26 Log CFU/mL)，平均 pH 則為 7.56 (SD = 0.19；7.23-7.92)；pH 介於 8-10 者共計 13 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 1.54 Log CFU/mL (SD = 1.22 Log CFU/mL；0.40-3.34 Log CFU/mL)，平均 pH 則為 8.32 (SD = 0.49；8.07-9.95)；pH 高於或等於 10 者共計 17 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 0.40 Log CFU/mL (SD = 0 Log CFU/mL；0.40-0.40 Log CFU/mL)，平均 pH 為 10.77 (SD = 0.71；10.04-11.87)。

對於硬度，硬度低於 3 mg/L 者共計 39 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 1.17 Log CFU/mL (SD = 1.40 Log CFU/mL；0.40-5.09 Log CFU/mL)，平均硬度為 0.60 mg/L (SD = 0.35；0.50-2.00)；硬度介於 3-12 mg/L 者共計 15 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 4.43 Log CFU/mL (SD = 1.16 Log CFU/mL； 2.08-5.26 Log CFU/mL)，平均硬度為 6.53 mg/L (SD = 2.61 mg/L；3.00-12.00 mg/L)；硬度高於 12 mg/L 共計 6 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 1.65 Log CFU/mL (SD = 1.09 Log CFU/mL；0.40-2.90 Log CFU/mL)，平均硬度為 180.00 mg/L (SD = 11.83 mg/L；165.00-195.00 mg/L)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 52 以 0.1 g/mL 清潔劑在 25 及 37℃下接觸 *L. pneumophila* 經 120 分鐘後之菌濃度 (Log CFU/mL)、pH 及硬度 (mg/L)

變項	切點	清潔用品(n)[a]	N[b]	*L. pneumophila* (Log CFU/mL)			pH/ 硬度 (mg/L)		
				Mean	SD[c]	Range	Mean	SD	Range
pH	pH<8	AM(6), BL(6), LT(6), SO(6), WB(6)	30	3.17	1.94	0.40-5.26	7.56	0.19	7.23-7.92
	8≤pH<10	WD(6), DW(6), MA(1)[d]	13	1.54	1.22	0.40-3.34	8.32	0.49	8.07-9.95
	pH≥10	MA(5), MG(6), MB(6)	17	0.40	0.00	0.40-0.40	10.77	0.71	10.04-11.87
硬度 (mg/L)	<3	BL(6), WD(6), DW(6), MA(6), MG(6), MB(6), SO(2)[e], LT(1)[f]	39	1.17	1.40	0.40-5.09	0.60	0.35	0.50-2.00
	3-12	SO(4), WB(6), LT(5)	15	4.43	1.16	2.08-5.26	6.53	2.61	3.00-12.00
	>12	AM(6)	6	1.65	1.09	0.40-2.90	180.00	11.83	165.00-195.00

a: (n)=清潔用品樣本數

b: 清潔用品數×3 重複×2 個溫度=樣本數

c: 標準差 (Standard deviation, SD)

d: 37℃下 MA pH 結果有一重複落在 8-10

e: SO 硬度結果 25 及 37℃下各一重複低於 3 mg/L

f: 25℃下 LT 硬度結果有一重複低於 3 mg/L

doi:10.6342/NTU201704234

進一步以迴歸模型統計分析 25 及 37℃下接觸 HD 不同 pH 及硬度組別對 *L. pneumophila* 濃度影響如表 53 所示。針對 pH，相較於 pH 小於 8 者，當 pH 介於 8-10 者對 *L. pneumophila* 培養能力無顯著影響 (β=-0.57；P-value=0.26)，而當 pH 高於或等於 10，對 *L. pneumophila* 培養能力下降 1.70 Log CFU/mL，更具顯著影響 (β=-1.70；P-value<0.05)。另相較於硬度小於 3 mg/L 者，當硬度介於 3-12 mg/L 者對 *L. pneumophila* 培養能力上升 2.33 Log CFU/mL (β=2.33；P-value<0.0001)，而當硬度高於 12 者對 *L. pneumophila* 培養能力無顯著影響 (β=-0.45；P-value=0.46)。

表 53 以迴歸模型檢定 pH 及硬度對 25 及 37℃下接觸家用清潔劑於 (0.1 g/mL)於 120 分鐘時之 *L. pneumophila* 濃度 (Log CFU/mL)影響

變項	切點	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept		2.10	0.38	**
pH	**pH<8**	**0.00**	**-**	**-**
	8≤pH<10	-0.57	0.50	0.26
	pH≥10	-1.70	0.47	*
硬度 (mg/L)	**<3**	**0.00**	**-**	**-**
	3-12	2.33	0.48	**
	>12	-0.45	0.61	0.46

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.3 37℃下 21 種雨刷水清潔用品抑菌結果

分析 37℃短期下雨刷水清潔用品 (WWF)有無添加清潔劑、清潔用品種類、接觸時間 (0.5、60 及 120 min)及水溫 (25 及 37℃)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之貢獻影響。

6.3.3.1 0.1 g/mL 21 種雨刷水清潔用品抑菌效果

結果如表 54 所示，相較於未添加雨刷水相關清潔用品之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 2.25 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-2.25；P-value<0.0001)。表 55 所示，針對雨刷水清潔用品，以 HD 為比較基準，與 CS 無顯著影響 (β=0.03；P-value=0.95)。接觸時間方面，以 0.5 分鐘為比較基準，增加接觸時間至 60 及 120 分鐘顯著使 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 1.38 及 1.62 Log CFU/mL (β 分別為-1.38 及-1.62；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 之培養力隨著接觸時間越長下降越多。

表 54 以廣義估計方程式分析 37℃下有無添加 21 種雨刷水清潔用品 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=93)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加	Intercept	5.33	0.02	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-2.25	0.21	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

表 55 以廣義估計方程式分析 37℃下 21 種雨刷水清潔用品類型及接觸時間 (min) 對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=63)

變項	清潔用品 [a]	β-Estimate	標準誤差	P-value[b]
Intercept		3.95	0.26	**
清潔用品類型	**HD**	**0.00**	**-**	**-**
	CS	0.03	0.41	0.95
接觸時間 (min)	**0.5**	**0.00**	**-**	**-**
	60	-1.38	0.18	**
	120	-1.62	0.21	**

a: 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS);家用清潔劑 (Household detergent, HD)
b: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.3.3.2 25 及 37℃下 22 種兩刷水清潔用品抑菌效果

結果如表 56 所示，相較於未添加兩刷水清潔用品之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 2.22 Log CFU/mL，具顯著影響 (β=-2.22；P-value<0.0001)。表 57 所示，針對兩刷水清潔用品，相較於 HD，與 CS 無顯著影響 (β=-0.18；P-value=0.50)。對接觸時間，以 0.5 分鐘為比較基準， 增加接觸時間至 60 及 120 分鐘顯著使 *L. pneumophila* 可培養性濃度分別下降 1.51 及 1.87 Log CFU/mL (β 分別為-1.51 及-1.87；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 之培養力隨著接觸時間越長下降越多。對於水溫，相較於 25℃水溫，與 37℃下無顯著影響 (β=0.17；P-value=0.53)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 56 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下有無添加 21 種雨刷水清潔用品 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL)之影響 (N=182)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加	Intercept	5.20	0.02	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-2.22	0.14	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 57 以廣義估計方程式分析 25 及 37℃下 21 種雨刷水清潔用品類型、接觸時間 (min)及水溫 (℃)對 *L. pneumophila* 培養力 (Log CFU/mL) 之影響 (N=126)

變項	清潔用品 [a]	β-Estimate	標準誤差	P-value[b]
Intercept		4.01	0.23	**
清潔用品類型	**HD**	**0.00**	**-**	**-**
	CS	-0.18	0.27	0.50
接觸時間 (min)	**0.5**	**0.00**	**-**	**-**
	60	-1.51	0.13	**
	120	-1.87	0.15	**
溫度 (℃)	**25**	**0.00**	**-**	**-**
	37	0.17	0.27	0.53

a: 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS);家用清潔劑 (Household detergent, HD)
b: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.4 37℃長期退伍軍人菌追蹤實驗

6.4.1 37℃長時間下市售兩刷精抑菌結果

6.4.1.1 0.1 g/mL 市售兩刷精抑菌效果

圖 51 中黑色柱狀圖為 GD、BS、CP、SN 及 TM 清潔用品與 10^5 cells/mL 活性 *L. pneumophila* 接觸 0-30 日之濃度變化，空白柱狀圖則為不含清潔劑 (控制組)之 *L. pneumophila* 濃度。在前七天日內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.5×10^5-2.9×10^5 cells/mL，於 18 日後，濃度略為下降，介於 3.1×10^4-4.8×10^4 cells/mL。當 *L. pneumophila* 接觸 GD 於 30 日內皆無檢出活性 *L. pneumophila* (<620 cells/mL)；其次接觸 BS、CP、SN 及 TM 時，於 30 中，活性細菌濃度呈現上下增減現象，均有出現未檢出情形 (<620 cells/mL)。

圖 52 為 TY、BP、SF、GY、AA、CAP 及 CD 8 種清潔用品之抑菌效果。除 TY 外，於 30 日內 *L. pneumophila* 濃度變動不大，皆在 10^4 cells/mL 以上 (7.5×10^4-9.1×10^4 cells/mL)：至於接觸 TY 者，前 7 日活性 *L. pneumophila* 濃度介於 3.7×10^4 與 1.2×10^5 cells/mL 間，18 日後濃度下降，至 30 日止其濃度為 7.6×10^3-7.0×10^4 cells/mL。

doi:10.6342/NTU201704234

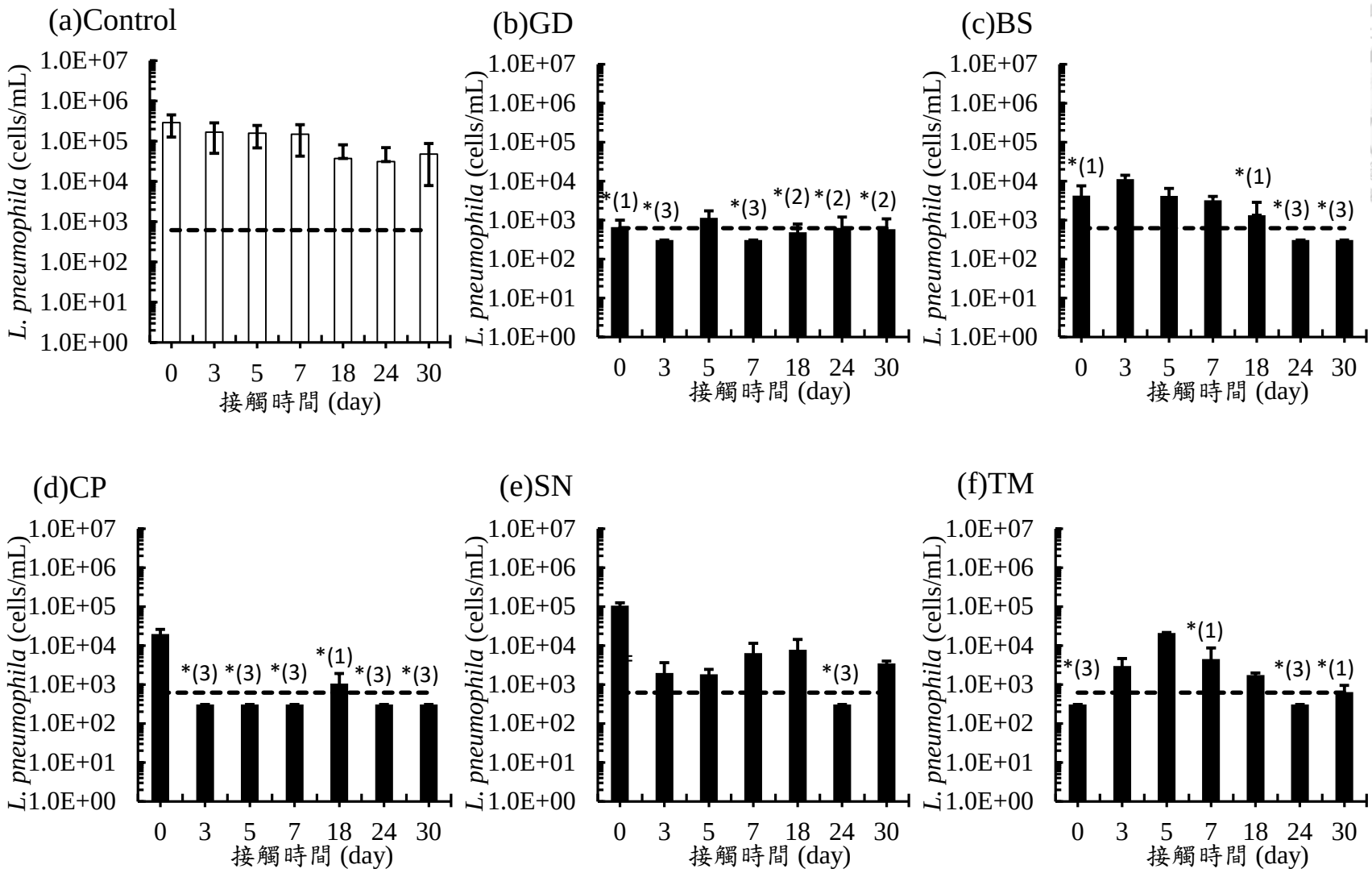


圖 51 30 日內 *L. pneumophila* 於 37℃下接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (GD、BS、CP、SN、TM)及無清潔劑之控制組中活性菌濃度

(■兩刷精組 (n=3)；□不含兩刷精組 (n=24)；▬▬：LOD (偵測下限=620 cells/mL)；*(n)=Number of not-detected samples)

doi:10.6342/NTU201704234

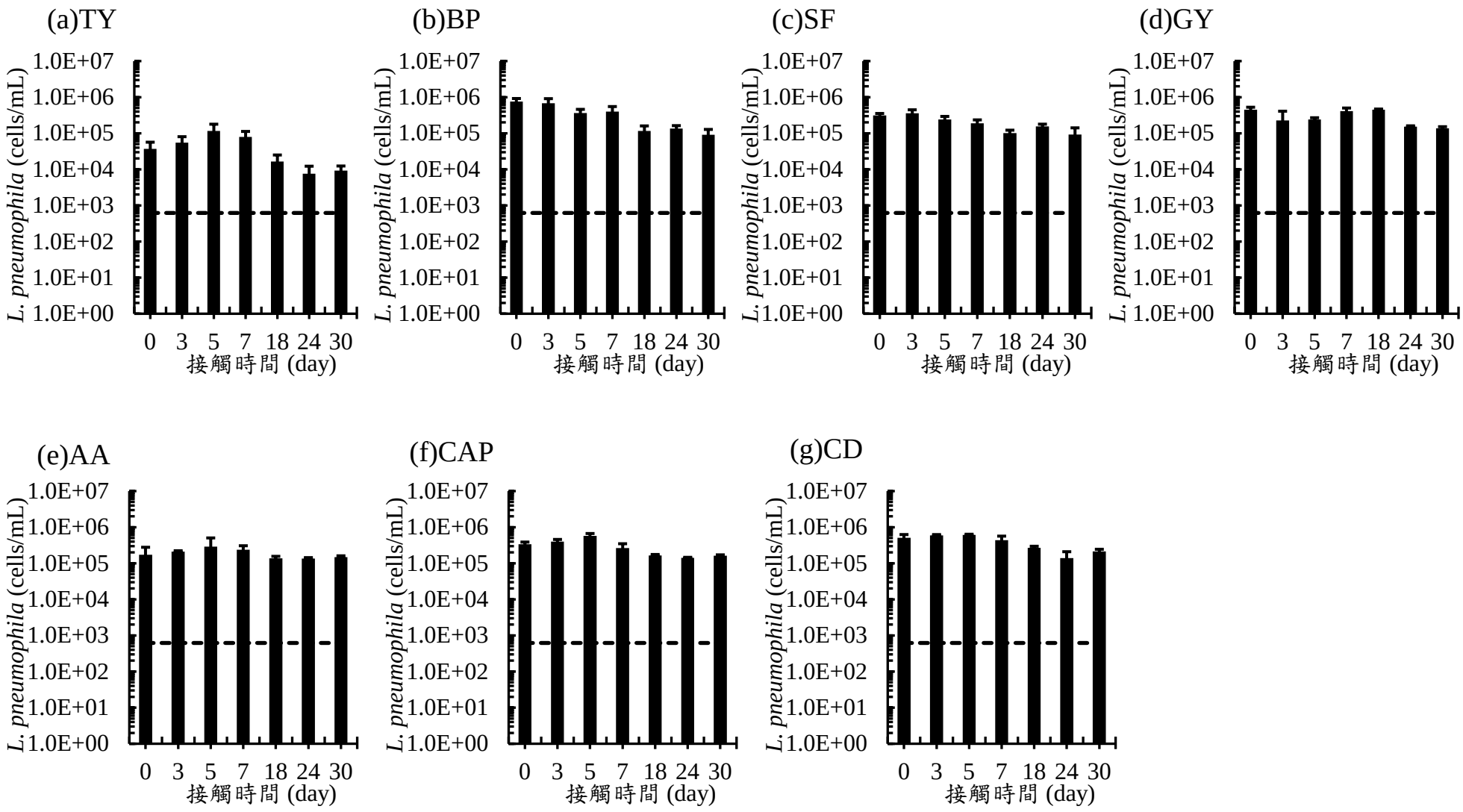


圖 52 30 日內 *L. pneumophila* 於 37℃下接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (TY、BP、SF、GY、AA、CAP、CD)之活性菌濃度

(■雨刷精組 (n=3)；▬▬：LOD (偵測下限=620 cells/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.1.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 市售雨刷精易感性因子 (3-30 日)

計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 市售雨刷精於 3-30 日之易感性因子 (*K* 值)，其平均值、標準差、最小值及最大值如表 58 所示，另以 K 值繪圖觀察 *L. pneumophila* 之活性對各 12 種市售雨刷精程度如圖 53 所示。結果顯示，*L. pneumophila* 之活性對 CP 及 GD 的易感性大，*K* 值分別為 8.01 及 5.65 mL/g day (SD = 7.30 及 7.10 mL/g day；1.63-21.01 及 1.25-21.01 mL/g day)；其次為 SN、TM 及 BS，*K* 值介於 4.63-5.65 mL/g day (SD = 5.87、4.61 及 3.06 mL/g day；0.50-21.01、1.31-16.25 及 1.39-10.16 mL/g day)；第三為 TY，其 *K* 值為 1.28 mL/g day (SD = 1.48 mL/g day；0.08-5.44 mL/g day)；而 AA、GY、SF、CAP、BP 及 CD，顯示對 *L. pneumophila* 活性較未影響，其 K 值介於 (-0.57) - (-1.76) mL/g day (SD = 0.93、1.21、0.85、1.04、1.56 及 1.36 mL/g day；此六種清潔用品最小至最大值介於(-5.38)-3.26 mL/g day)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 58 計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL) 3-30 日之 *K* 值

清潔用品	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	*K* 值 [a] (mL/g day)			
			Mean	SD	Min	Max
CP	37	0.1	8.01	7.30	1.63	21.01
GD	37	0.1	7.60	7.10	1.25	21.01
SN	37	0.1	5.65	5.87	0.50	21.01
TM	37	0.1	4.83	4.61	1.31	16.25
BS	37	0.1	4.63	3.06	1.39	10.16
TY	37	0.1	1.28	1.48	0.08	5.44
AA	37	0.1	-0.57	0.93	-2.09	2.66
GY	37	0.1	-0.79	1.21	-3.05	3.26
SF	37	0.1	-0.82	0.85	-3.32	0.08
CAP	37	0.1	-1.33	1.04	-3.37	-0.18
BP	37	0.1	-1.46	1.56	-5.38	0.00
CD	37	0.1	-1.76	1.36	-4.37	-0.44

a: K 值為將未添加清潔用品控制組與添加清潔用品實驗組 *L. pneumophila* 濃度比值取對數後，再除以添加濃度及接觸時間。

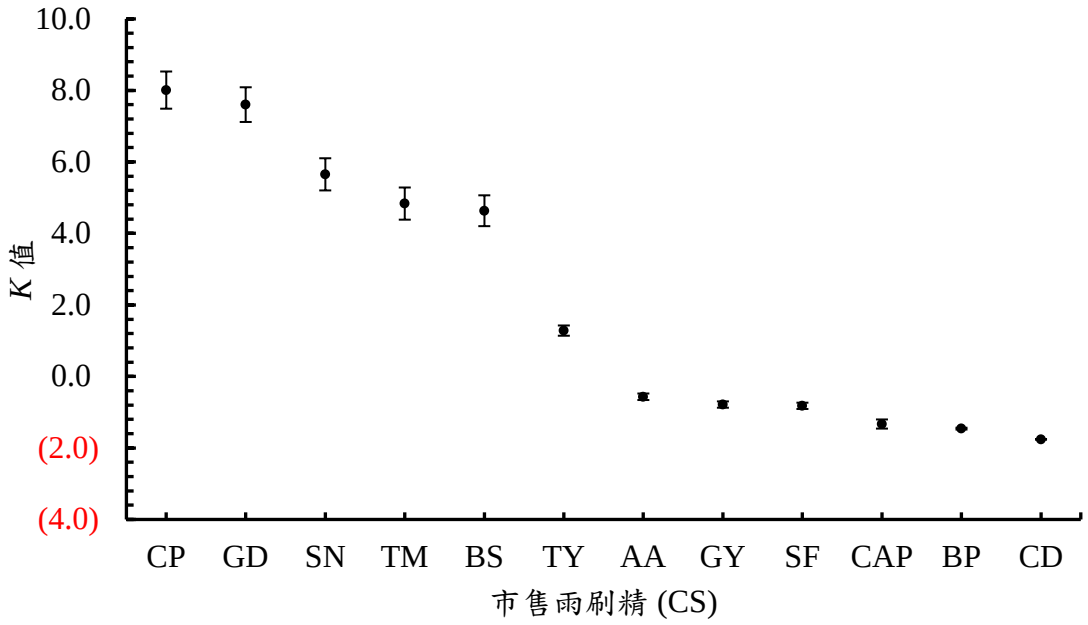


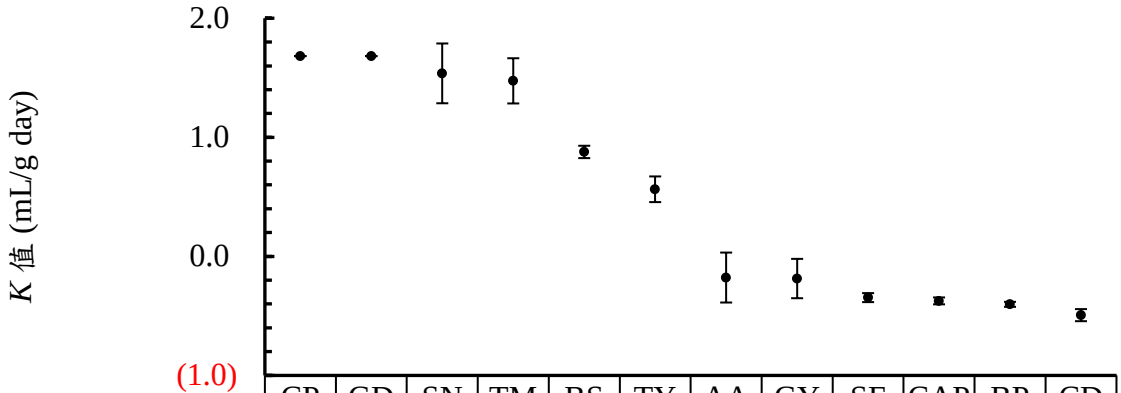
圖 53 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)K 值 (30 日)結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.1.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (30 日) 與 pH 及硬度值

計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 市售雨刷精於 30 日時之易感性因子 (*K* 值)，其對應 pH 及硬度值如圖 54 所示。*K* 值結果顯示，CP、GD、SN 及 TM *K* 值最大 (介於 1.47-1.68 mL/g day)，顯示此 4 種對 *L. pneumophila* 之活性影響較大；其次為 BS 及 TY，其 *K* 值分別為 0.88 及 0.56 mL/g day；AA、GY、SF、CAP、BP 及 CD，其 *K* 值呈現負值，介於(-0.18)-(-0.49) mL/g day，顯示對 *L. pneumophila* 之活性較無影響。

pH 結果顯示，添加清潔濃度為 0.1 g/mL AA 最高，其 pH 為 9.61，其次為 GD (pH = 8.48)，其餘清潔用品除 TY 外 pH 則介於 7.30-7.55，TY 則 pH 最低，接近弱酸 (6.16)。另外於硬度結果顯示，以 0.1 g/mL TM 硬度最高 (8.67 mg/L)，其次為 CAP、CP 及 GY (介於 2.33-6.00 mg/L)，其餘清潔用品除 TY 外硬度則為 0.5 mg/L，而 TY 硬度為 0.33 mg/L。



	CP	GD	SN	TM	BS	TY	AA	GY	SF	CAP	BP	CD
K 值 (mL/g day)	1.68	1.68	1.54	1.47	0.88	0.56	-0.18	-0.19	-0.35	-0.37	-0.40	-0.49
pH	7.30	8.48	7.30	7.36	7.46	6.16	9.61	7.45	7.44	7.37	7.48	7.55
硬度 (mg/L)	2.33	0.50	0.50	8.67	0.50	0.33	0.50	2.33	0.50	6.00	0.50	0.50

市售雨刷精 (CS)

圖 54 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 12 種市售雨刷精 (0.1 g/mL)*K* 值 (30 日)、pH 及硬度值結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.1.2 37℃長時間下市售雨刷精抑菌效能統計檢定

分析 37℃長時間下市售雨刷精 (CS)的有無添加清潔用品、清潔用品種類、接觸時間 (0-5、7、18、24、30 日)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL)影響。結果如表 59 所示，相較於未添加雨刷精之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 活性濃度下降 0.50 Log cells/mL，具顯著影響 (β=-0.50；P-value<0.05)。表 60 所示，針對市售雨刷精清潔用品種類中，以 BS 為比較基準，GD 及 AA 對 *L. pneumophila* 活性影響大，可分別使其降 0.52 及 0.40 Log cells/mL (β=-0.52 及-0.40；P-value 皆<0.0001)；其次為 TM，與 BS 無顯著差異 (β=-0.05；P-value=0.51)，但可造成對 *L. pneumophila* 活性濃度下降 0.05 Log cells/mL；SN 及 TY 則對 *L. pneumophila* 活性濃度上升 0.35-1.23 Log cells/mL (β 分別為 0.35 及 1.23；P-value 皆<0.0001)；AA、CD、CAP、GY、BP 及 SF 則對 *L. pneumophila* 活性濃度上升介於 2.02-2.34 Log cells/mL (β 分別為 2.02、2.34、2.21、2.21、2.21 及 2.06；P-value 皆<0.0001)。

針對接觸時間，以 0-5 日為比較基準，顯示接觸時間至 7 日時 *L. pneumophila* 活性下降 0.12 Log cells/mL，具顯著影響 (β=-0.12；P-value<0.05)；至 18 與 30 日時，其活性下降分別為 0.30、0.60 及 0.51 Log cells/mL，具顯著影響 (β 分別為-0.30、-0.60 及-0.51；P-value<0.0001)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 59 以廣義估計方程式分析 37℃下有無添加市售雨刷精 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL)之影響 (N=60)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加	Intercept	4.84	0.07	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-0.50	0.19	*

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 60 以廣義估計方程式分析 37℃下市售雨刷精種類及接觸時間 (day)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL) 之影響 (N=36)

變項	編號	清潔用品	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept			3.42	0.04	**
清潔用品品牌	**C12**	**BS**	**0.00**	**-**	**-**
	C1	TM	-0.04	0.06	0.51
	C2	GD	-0.52	0.04	**
	C3	AA	2.02	0.05	**
	C4	CD	2.34	0.03	**
	C5	CAP	2.21	0.03	**
	C6	CP	-0.40	0.04	**
	C7	SN	0.35	0.07	**
	C8	GY	2.21	0.05	**
	C9	TY	1.23	0.06	**
	C10	BP	2.21	0.04	**
	C11	SF	2.06	0.03	**
接觸時間 (day)		**0-5**	**0.00**	**-**	**-**
		7	-0.12	0.05	*
		18	-0.30	0.06	**
		24	-0.61	0.07	**
		30	-0.51	0.06	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.1.3 37℃長時間下市售兩刷精接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值

於 37℃下以 0.1 g/mL 市售兩刷精接觸 *L. pneumophila* 經 30 日後，測量樣本中 pH 及硬度各切點下分組，所含 *L. pneumophila* (Log cells/mL)、pH 及硬度 (mg/L) 之平均值、標準差與範圍，整理對於各切點範圍中之清潔用品種類以及其結果如表 61 所示。在 pH 低於 8 者共計 30 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 4.07 Log cells/mL (SD = 1.14 Log cells/mL；2.49-5.38 Log cells/mL)，平均 pH 則為 7.29 (SD = 0.40；5.98-7.56)；當 pH 介於 8-10 者共計 6 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 3.92 Log cells/mL (SD = 1.38 Log cells/mL；2.49-5.21 Log cells/mL)，平均 pH 為 9.05 (SD = 0.68；8.45-9.87)。

對於硬度，硬度低於 3 mg/L 者共計 30 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 4.15 Log cells/mL (SD = 1.13 Log cells/mL；2.49-5.38 Log cells/mL)，平均硬度為 0.63 mg/L (SD = 0.39；0.50-2.00)；硬度介於 3-12 mg/L 者共計 6 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 3.53 Log cells/mL (SD = 1.31 Log cells/mL；2.49-5.21 Log cells/mL)，平均硬度為 7.67 mg/L (SD = 2.25 mg/L；4.00-11.00 mg/L)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 61 以 0.1 g/mL 兩刷精在 37℃下接觸 *L. pneumophila* 經 30 日後之菌濃度 (Log cells/mL)、pH 及硬度 (mg/L)

變項	切點	清潔用品(n)[a]	N[b]	*L. pneumophila* (Log cells/mL)			pH/ 硬度 (mg/L)		
				Mean	SD[c]	Range	Mean	SD	Range
pH	pH<8	BP(3), BS(3), CAP(3), CD(3), CP(3), GY(3), SN(3), TM(3), TY(3), SF(3)	30	4.07	1.14	2.49-5.38	7.29	0.40	5.98-7.56
	8≤pH<10	AA(3), GD(3)	6	3.92	1.38	2.49-5.21	9.05	0.68	8.45-9.87
	pH≥10	-	-	-	-	-	-	-	-
硬度 (mg/L)	<3	BP(3), BS(3), CAP(1)[d], CD(3), CP(2)[e], GY(3), SN(3), TY(3), SF(3), AA(3), GD(3)	30	4.15	1.13	2.49-5.38	0.63	0.39	0.50-2.00
	3-12	CAP(2), CP(1), TM(3)	6	3.53	1.31	2.49-5.21	7.67	2.25	4.00-11.00
	>12	-	-	-	-	-	-	-	-

a: (n)=清潔用品樣本數

b: 清潔用品數×3 重複=樣本數

c: 標準差 (Standard deviation, SD)

d: CAP 硬度結果有一重複低於 3 mg/L

e: CP 硬度結果有兩重複低於 3 mg/L

doi:10.6342/NTU201704234

進一步以迴歸模型分析 37℃下接觸 CS 不同 pH 及硬度組別對 *L. pneumophila* 活性濃度影響如表 62 所示。針對 pH，相較於 pH 低於 8 者，當 pH 介於 8-10 者對 *L. pneumophila* 活性無顯著影響 (β=-0.29；P-value=0.58)。另相較於硬度低於 3 mg/L 者，當硬度介於 3-12 mg/L 者可使 *L. pneumophila* 活性濃度下降 0.68 Log cells/mL，無顯著影響 (β=-0.68；P-value=0.18)。

表 62 以迴歸模型檢定 pH 及硬度 37℃下接觸市售雨刷精 (0.1 g/mL)於 30 日之 *L. pneumophila* 濃度 (Log cells/mL)影響

變項	切點	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept		4.21	0.23	<.0001
pH	**pH<8**	0.00	-	-
	8≤pH<10	-0.29	0.51	0.58
硬度 (mg/L)	**<3**	0.00	-	-
	3-12	-0.68	0.51	0.18

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.2 37°C長時間下家用清潔劑抑菌結果

6.4.2.1 0.1 g/mL 清家用清潔劑抑菌效果

圖 55 中黑色柱狀圖為 WD、DW 及 MA 清潔用品與 10^5 cells/mL *L. pneumophila* 接觸 0-30 日之濃度變化，空白柱狀圖則為不含清潔 (控制組)之 *L. pneumophila* 濃度。在前七天日內，控制組 *L. pneumophila* 濃度介於 1.5×10^5-2.9×10^5 cells/mL，於 18 日後，濃度介於 3.1×10^4-4.8×10^4 cells/mL；接觸這三種清潔用品，在 30 日時接近無檢出活性 *L. pneumophila* (<620 cells/mL)，部分至 7 日可含高達 7.6×10^3 cells/mL *L. pneumophila*。

圖 56 為 MG、BL、MB、AM、LT、SO 及 WB 7 種清潔用品之抑菌效果。接觸 MG，可發現增加接觸時間至 30 日時，MG 所含活性細菌濃度從 2.0×10^5 降至 5.1×10^3 cells/mL；接觸 MB 及 BL 則於 30 日內，活性 *L. pneumophila* 濃度介於 2.3×10^4-5.8×10^5 cells/mL；AM、LT、SO 及 WB 則在 30 日內，含活性 *L. pneumophila* 濃度皆在 10^5 cells/mL 以上 (5.1×10^5-2.4×10^6 cells/mL)。

doi:10.6342/NTU201704234

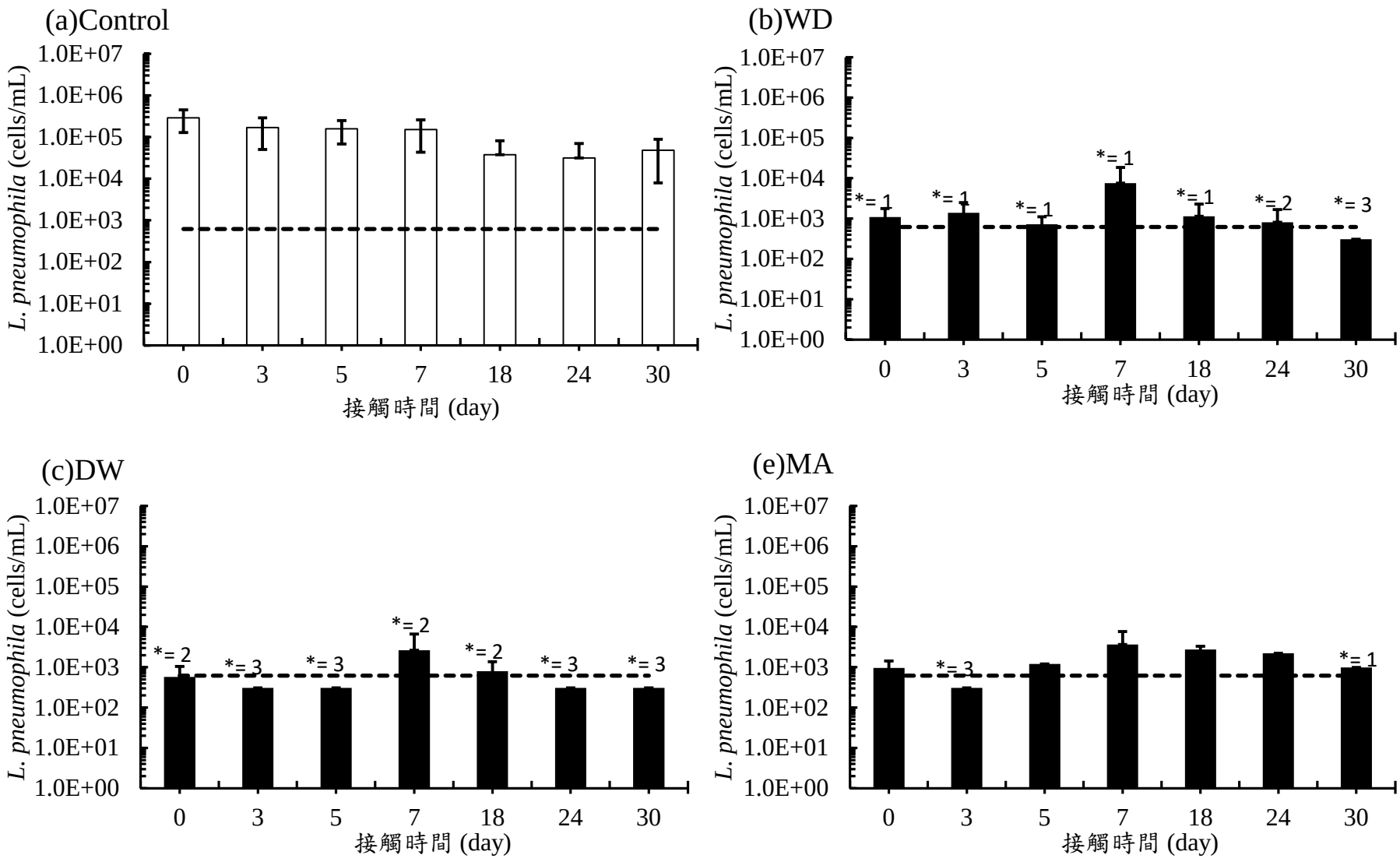


圖 55 30 日內 *L. pneumophila* 於 37℃下接觸 0.1 g/mL 清潔劑 (WD、DW、MA) 及無清潔劑之控制組中活性菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)；□不含清潔劑組 (n=24)；▬▬：LOD (偵測下限=620 cells/mL)；*(n)=Number of not-detected samples)

doi:10.6342/NTU201704234

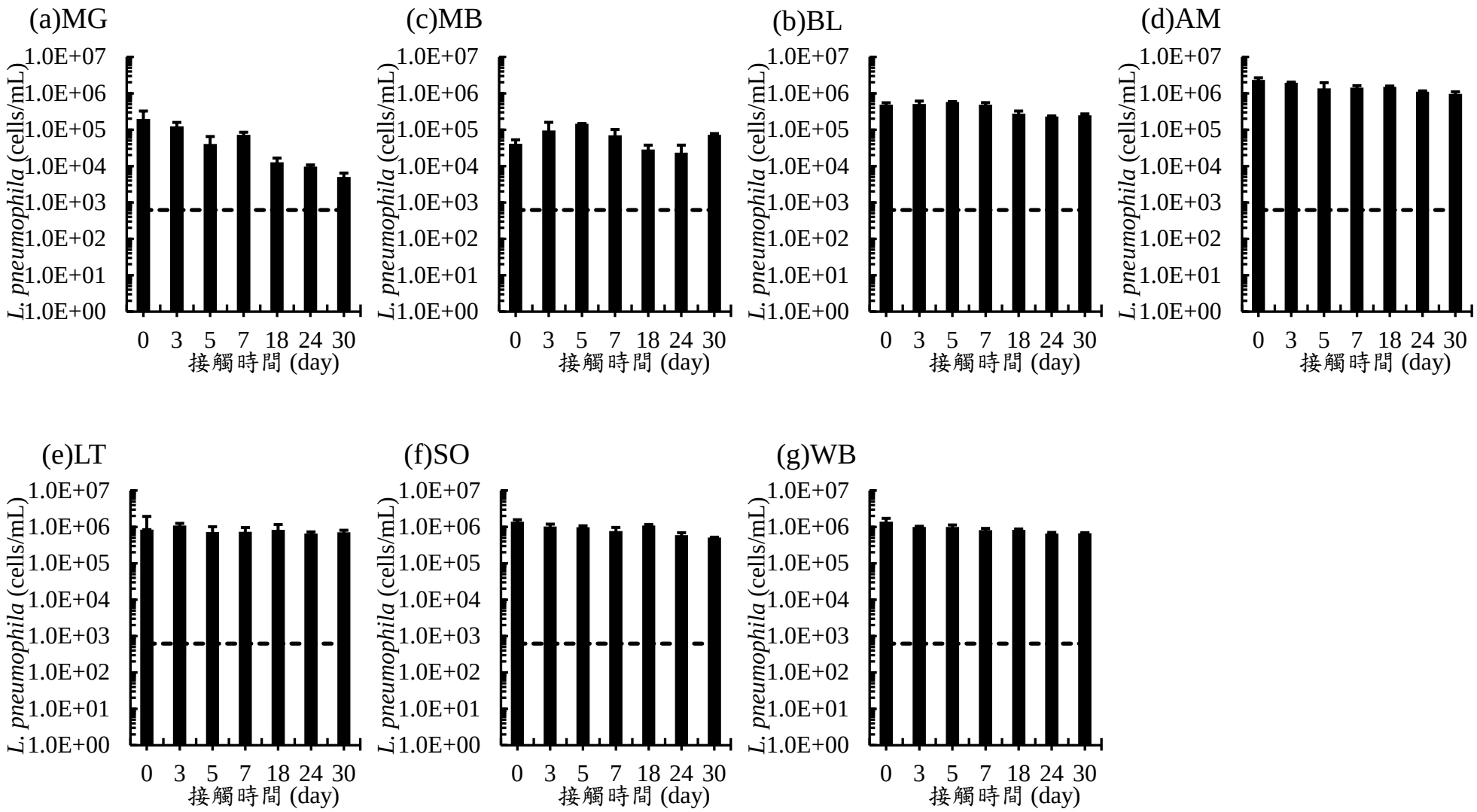


圖 56 30 日內 *L. pneumophila* 於 37℃下接觸 0.1 g/mL 清潔劑(MG、MB、BL、AM、LT、SO 及 WB)之活性菌濃度

(■清潔劑組 (n=3)； ▬▬ ：LOD (偵測下限=620 cells/mL))

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.2.1.1 *L. pneumophila* 對 0.1 g/mL 家用清潔劑易感性因子 (3-30 日)

計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 家用清潔劑於 3-30 日之易感性因子 (*K* 值)，其平均值、標準差、最小值及最大值如表 63 所示，另以 *K* 值繪圖觀察 *L. pneumophila* 之活性對各 10 種家用清潔劑程度如圖 57 所示。結果顯示，*L. pneumophila* 之活性對 DW、MA 及 WD 的易感性大，*K* 值介於 6.58-7.78 mL/g day (SD = 7.33、7.31 及 6.14 mL/g day；三種清潔用品最小值至最大值為 0.90-21.01 mL/g day)；其次為 MG 及 MB，*K* 值分別為 1.20 及 0.70 mL/g day (SD = 1.11 及 1.44 mL/g day；0.15-4.89 及(-0.61)-6.02 mL/g day)；BL、LT、SO、WB 及 AM 則對 *L. pneumophila* 活性較無影響，其 *K* 值則介於 (-1.72)-(-3.33) mL/g day (SD = 1.12、1.86、1.82、1.77 及 2.48 mL/g day；此五種清潔用品最小值至最大值為(-0.53)-(-8.29) mL/g day)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 63 計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL) 3-30 日之 *K* 值

清潔用品	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	*K* 值 [a] (mL/g day)			
			Mean	SD	Min	Max
DW	37	0.1	7.78	7.33	1.68	21.01
MA	37	0.1	6.69	7.31	0.90	21.01
WD	37	0.1	6.58	6.14	1.19	21.01
MG	37	0.1	1.20	1.11	0.15	4.89
MB	37	0.1	0.70	1.44	-0.16	6.02
BL	37	0.1	-1.72	1.12	-4.14	-0.53
LT	37	0.1	-2.53	1.86	-6.57	-0.84
SO	37	0.1	-2.63	1.82	-6.40	-0.78
WB	37	0.1	-2.64	1.77	-6.06	-0.86
AM	37	0.1	-3.33	2.48	-8.29	-0.95

a: K 值為將未添加清潔用品控制組與添加清潔用品實驗組 *L. pneumophila* 濃度比值取對數後，再除以添加濃度及接觸時間。

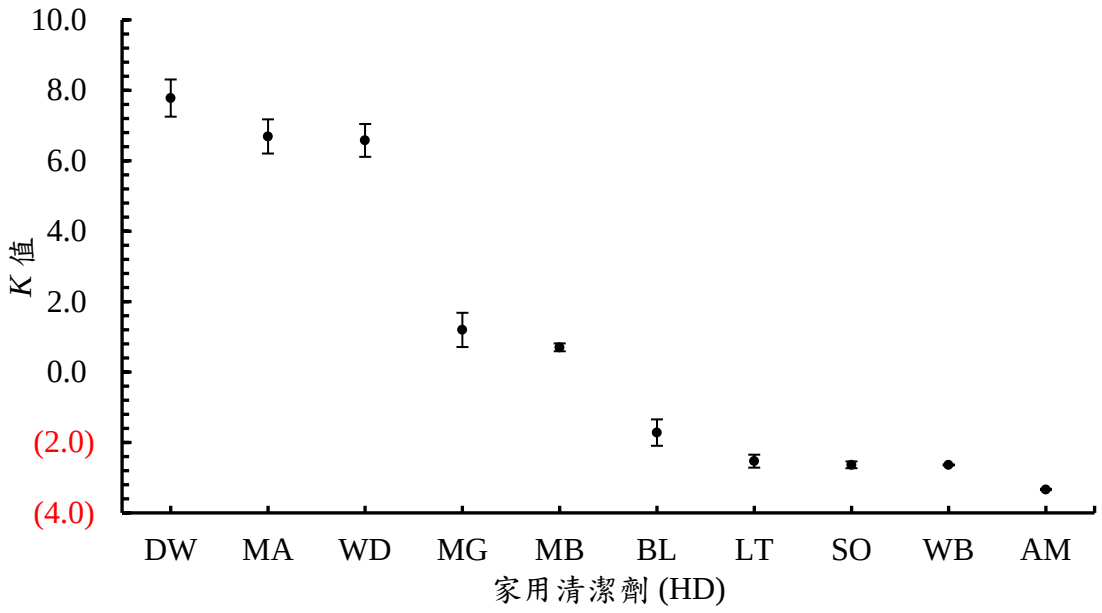


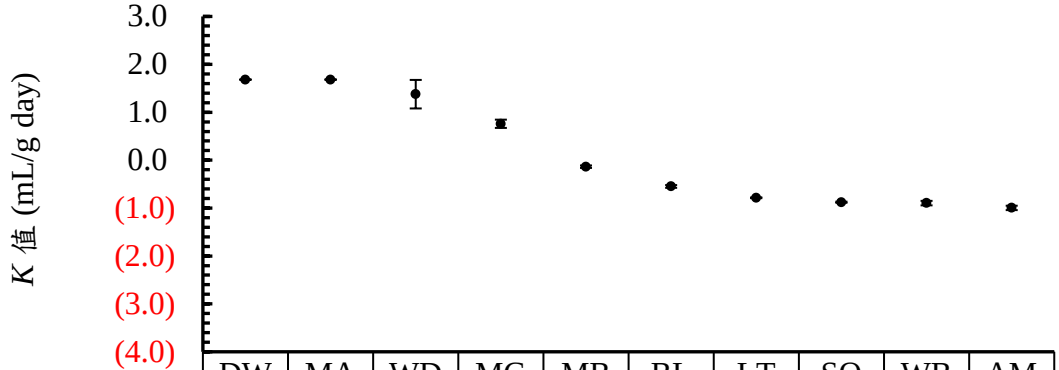
圖 57 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (30 日)結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.2.1.2 *L. pneumophila* 易感性因子 (30 日) 與 pH 及硬度值

計算 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 0.1 g/mL 家用清潔劑於 30 日時之易感性因子 (*K* 值)，其對應 pH 及硬度值如圖 58 所示。*K* 值結果顯示，DW、MA 及 WD *K* 值較高 (介於 1.38-1.68 mL/g day)，顯示此 3 種清潔用品對 *L. pneumophila* 之活性影響大；其次為 MG，其 *K* 值為 0.76 mL/g day；MB、BL、LT、SO、WB 及 AM *K* 值則皆為負值，其 *K* 值介於(-0.14)-(-1.00) mL/g day，顯示此 6 種清潔用品對 *L. pneumophila* 之活性較無影響。

pH 結果顯示，添加清潔濃度為 0.1 g/mL MG 及 MB 較高，其 pH 皆在 10 (分別為 10.83 及 10.10)，其次為 MA，其 pH 為 9.80，第三為 SO (8.07)，其餘清潔用品 pH 則介於 7.26-7.97。另外於硬度結果顯示，以 0.1 g/mL AM 硬度最高 (160.00 mg/L)，其次為 LT 及 WB (分別為 9.00 及 7.00 mg/L)，第三為 DW 及 SO (分別為 1.33 及 1.00 mg/L)，其餘清潔用品除 DW 外硬度則為 0.5 mg/L。



	DW	MA	WD	MG	MB	BL	LT	SO	WB	AM
K 值 (mL/g day)	1.68	1.68	1.38	0.76	-0.14	-0.55	-0.78	-0.88	-0.90	-1.00
pH	7.97	9.80	7.82	10.10	10.83	7.26	7.86	8.07	7.38	7.36
硬度 (mg/L)	1.33	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	9.00	1.00	7.00	160.00

家用清潔劑 (HD)

圖 58 37℃下 *L. pneumophila* 接觸 10 種家用清潔劑 (0.1 g/mL)*K* 值 (30 日)、pH 及硬度值結果

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.2.2 37℃長時間下家用清潔劑抑菌效能統計檢定

分析 37℃長時間下家用清潔劑 (HD)的有無添加清潔用品、清潔用品種類、接觸時間 (0-5、7、18、24、30 日)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL)影響。結果如表 64 所示，相較於未添加清潔劑之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 活性濃度下降 0.17 Log cells/mL，與無添加清潔劑無顯著差異 (β=-0.17；P-value=0.50)。表 65 所示，針對家用清潔劑清潔用品種類中，以 WB 為比較基準，MA、WD 及 DW 對 *L. pneumophila* 活性影響大，可分別使其降 2.86、3.06 及 3.32 Log cells/mL (β=-2.86、-3.06 及-3.32；P-value<0.0001)；其次 MB 及 MG 對 *L. pneumophila* 活性濃度下降 1.22 及 1.46 Log cells/mL (β 分別為-1.22 及-1.46；P-value 皆<0.0001)；BL 則對 *L. pneumophila* 活性濃度下降 0.37 Log cells/mL (β 分別為-0.37；P-value<0.0001)；SO 及 LT 則與 WB 無顯著差異，對 *L. pneumophila* 活性濃度下降 0.01 及 0.16 Log cells/mL (β=-0.01 及-0.16；P-value=0.19 及 0.09)；最差為 AM，相較於 WB，接觸 AM 對活性 *L. pneumophila* 可使上升 0.21 Log cells/mL (β 分別為 0.21；P-value<0.0001)。

針對接觸時間，以 0-5 日作為比較基準，顯示增加接觸時間至 24 及 30 日時 *L. pneumophila* 活性具有顯著差異，其活性 *L. pneumophila* 濃度分別下降 0.23 及 0.27 Log cells/mL (β 分別為-0.23 及-0.27；P-value<0.05)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 64 以廣義估計方程式分析 37℃有無添加家用清潔劑 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL)之影響 (N=54)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加	Intercept	4.85	0.07	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-0.17	0.26	0.50

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 65 以廣義估計方程式分析 37℃下家用清潔劑種類及接觸時間 (day)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL) 之影響 (N=30)

變項	編號	清潔用品	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept			6.01	0.04	**
清潔用品品牌	H10	**WB**	**0.00**	-	-
	H1	MB	-1.22	0.05	**
	H2	BL	-0.37	0.01	**
	H3	DW	-3.32	0.08	**
	H4	WD	-3.06	0.11	**
	H5	MG	-1.46	0.06	**
	H6	MA	-2.86	0.02	**
	H7	SO	-0.01	0.01	0.19
	H8	AM	0.21	0.02	**
	H9	LT	-0.16	0.10	0.09
接觸時間 (day)		**0-5**	**0.00**	**-**	**-**
		7	0.12	0.08	0.14
		18	-0.08	0.08	0.31
		24	-0.23	0.08	*
		30	-0.27	0.07	*

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.2.3 37℃長時間下家用清潔劑接觸 *L. pneumophila* 時之 pH 與硬度值

37℃下以 0.1 g/mL 家用清潔劑接觸 *L. pneumophila* 經 30 日後，測量樣本中 pH 及硬度各切點下分組，所含 *L. pneumophila* (Log cells/mL)、pH 及硬度 (mg/L) 之平均值、標準差與範圍，整理對於各切點範圍中之清潔用品種類以及其結果如表 66 所示。在 pH 低於 8 者共計 17 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 4.80 Log cells/mL (SD = 1.55 Log cells/mL；2.49-6.04 Log cells/mL)，平均 pH 則為 7.58 (SD = 0.28；7.24-7.99)；當 pH 介於 8-10 者共計 7 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 4.04 Log cells/mL (SD = 1.58 Log cells/mL；2.49-5.72 Log cells/mL)，平均 pH 則為 8.81 (SD = 0.93；8.02-9.83)；當 pH 高於或等於 10 者共計 6 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 4.28 Log cells/mL (SD = 0.64 Log cells/mL；3.61-4.90 Log cells/mL)，平均 pH 為 10.47 (SD = 0.53；10.07-11.20)。

對於硬度，硬度低於 3 mg/L 者共計 21 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 3.93 Log cells/mL (SD = 1.32 Log cells/mL；2.49-5.72 Log cells/mL)，平均硬度為 0.71 mg/L (SD = 0.46；0.50-2.00)；當硬度介於 3-12 mg/L 者共計 6 樣本，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 5.84 Log cells/mL (SD = 0.04 Log cells/mL；5.78-5.89 Log cells/mL)，平均硬度為 8.00 mg/L (SD = 2.45 mg/L；5.00-12.00 mg/L)；當硬度高於 12 mg/L，其平均 *L. pneumophila* 濃度為 5.98 Log cells/mL (SD = 0.06 Log cells/mL；5.92-6.04 Log cells/mL)，平均硬度為 160.00 mg/L (SD = 22.91 mg/L；140.00-185.00 mg/L)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 66 以 0.1 g/mL 清潔劑在 37℃下接觸 *L. pneumophila* 經 30 日後之菌濃度 (Log cells/mL)、pH 及硬度 (mg/L)

變項	切點	清潔用品(n)[a]	N[b]	*L. pneumophila* (Log cells/mL)			pH/ 硬度 (mg/L)		
				Mean	SD[c]	Range	Mean	SD	Range
pH	pH<8	BL(3), AM(3), WB(3), WD(3), LT(3), DW(2)[d]	17	4.80	1.55	2.49-6.04	7.58	0.28	7.24-7.99
	8≤pH<10	DW(1), SO(3), MA(3)	7	4.04	1.58	2.49-5.72	8.81	0.93	8.02-9.83
	pH≥10	MG(3), MB(3)	6	4.28	0.64	3.61-4.90	10.47	0.53	10.07-11.20
硬度 (mg/L)	<3	BL(3), WD(3), SO(3), MA(3), MG(3), MB(3), DW(3)	21	3.93	1.32	2.49-5.72	0.71	0.46	0.50-2.00
	3-12	WB(3), LT(3)	6	5.84	0.04	5.78-5.89	8.00	2.45	5.00-12.00
	>12	AM(3)	3	5.98	0.06	5.92-6.04	160.00	22.91	140.00-185.00

a: (n)=清潔用品樣本數

b: 清潔用品數×3 重複=樣本數

c: 標準差 (Standard deviation, SD)

d: DW pH 結果有兩重複低於 8

doi:10.6342/NTU201704234

進一步以迴歸模型統計法分析接觸 HD 不同 pH 或硬度組別間之 *L. pneumophila* 濃度，經常態分佈檢定，經開根號樣本符合常態分佈，故以迴歸模式分析所得 β 估計值結果將去開根號並轉 Log，以得到與其他模式有相同的數值程度去觀察，結果如表 67 所示。相較於 pH 小於 8，當 pH 介於 8-10 間及高於或等於 10 對 *L. pneumophila* 活性濃度分別上升 4.17 及下降 2.91 Log cells/mL，卻顯示與 pH 小於 8 無顯著差異 (β=4.17 及-2.91；P-value=0.26 及 0.80)。另相較於於硬度小於 3 mg/L，當硬度介於 3-12 mg/L 及高於 12 mg/L 則對 *L. pneumophila* 活性分別上升 5.60 及 5.79 Log cells/mL (β=5.60 及 5.79；P-value<0.0001)。

表 67 以迴歸模型評估 pH 及硬度對以 0.1 g/mL 清潔劑於 37℃下接觸 30 日之退伍軍人菌濃度 (Square root cells/mL)

變項	切點	β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
Intercept		4.60	74.15	*
pH	**pH<8**	**0.00**	**-**	**-**
	8≤pH<10	4.17	108.55	0.26
	pH≥10	-2.91	113.27	0.80
硬度 (mg/L)	**<3**	**0.00**	**-**	**-**
	3~12	5.60	113.27	**
	>12	5.79	141.99	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.4.3 37°C長時間下 22 種兩刷水清潔用品抑菌效能統計檢定

分析 37℃長時間下兩刷水清潔用品 (WWF)有無添加清潔用品、清潔用品種類及接觸時間 (0-5、7、18、24 及 30 日)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL)影響。結果如表 68 所示，相較於未添加兩刷水清潔用品之控制組，有添加清潔用品使 *L. pneumophila* 活性濃度下降 0.36 Log cells/mL，具顯著差異 (β=-0.361；P-value<0.0001)。表 69 所示，針對兩刷水清潔用品，相較於 HD，與 CS 無顯著差異 (β=-0.33；P-value=0.29)。對接觸時間，以 0-5 分鐘作為比較基準，顯示接觸時間增加間至 7 日無顯著差異 (β=-0.01；P-value=0.84)，至 18 日時具顯著差異，造成對 *L. pneumophila* 活性濃度下降 0.20 Log cells/mL (β 分別為-0.20；P-value<0.05)，而接觸時間至 24 及 30 日時，更具顯著使 *L. pneumophila* 活性濃度分別下降 0.44 及 0.41 Log cells/mL (β 分別為-0.44 及-0.41；P-value<0.0001)，係指 *L. pneumophila* 活性隨著接觸時間越長下降越多。

doi:10.6342/NTU201704234

表 68 以廣義估計方程式分析 37℃下有無添加 22 種雨刷水清潔用品 (0.1 g/mL)對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL)之影響 (N=90)

變項		β-Estimate	標準誤差	P-value[a]
有無添加	Intercept	4.86	0.07	**
	無	**0.00**	**-**	**-**
	有	-0.36	0.17	**

a: *p<0.05; **p<0.0001

表 69 以廣義估計方程式分析 37℃下 22 種雨刷水清潔用品類型及接觸時間 (day) 對 *L. pneumophila* 活性 (Log cells/mL) 之影響 (N=66)

變項	清潔用品 [a]	β-Estimate	標準誤差	P-value[b]
Intercept		4.87	0.25	**
清潔用品類型	**HD**	**0.00**	**-**	**-**
	CS	-0.33	0.31	0.29
接觸時間 (day)	**0-5**	**0.00**	**-**	**-**
	7	-0.01	0.06	0.84
	18	-0.20	0.06	*
	24	-0.44	0.06	**
	30	-0.41	0.05	**

a: 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS);家用清潔劑 (Household detergent, HD)
b: *p<0.05; **p<0.0001

doi:10.6342/NTU201704234

6.5 37℃長時間下追蹤 *L. pneumophila* 可培養性

圖 59 為 37℃下長期追蹤未添加雨刷水清潔用品之控制組中可培養性 *L. pneumophila*。其可培養性 *L. pneumophila* 濃度結果顯示，其濃度自起始之 1.7×10^4 CFU/mL，逐日下降於培養 3 與 8 日時分別為 6.6×10^3 及 2.2×10^2 CFU/mL，並於培養 18 日時低於偵測下限 (LOD=2.5 CFU/mL)。

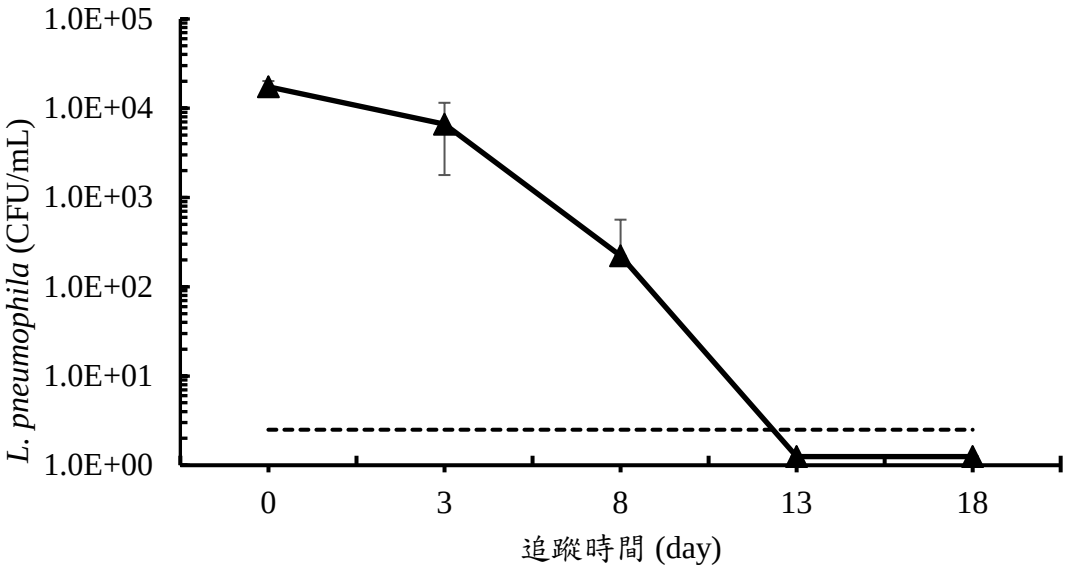


圖 59 控制組於 37℃長期追蹤下可培養性濃度變化 (----LOD=2.5 CFU/mL)

doi:10.6342/NTU201704234

表 70 為長期追蹤時各兩刷水清潔用品中 *L. pneumophila* 之可培養性結果。22 種受測品牌中僅 3 種市售兩刷精 (GY、TY 及 BS)及 1 種家用清潔劑 (DW)於培養 3 日時仍具培養性，其濃度分別為 4、0.67、5.42 及 38 CFU/mL，其他 18 種品牌皆無檢出 (<1 CFU/mL)。當培養 8 日後，清潔用品皆無可培養性 *L. pneumophila* (<1 CFU/mL)。

表 70 兩刷水清潔用品於 37℃長期追蹤 *L. pneumophila* 可培養性結果

清潔用品類型[a]	編號	清潔用品	*L. pneumophila*, Mean (SD)[b], CFU/mL (n=3)	
			Day 3	Day 8
CS	C1	TM	ND[c]	-
	C2	GD	ND	-
	C3	AA	ND	-
	C4	CD	ND	-
	C5	CAP	ND	-
	C6	CP	ND	-
	C7	SN	ND	-
	C8	GY	4.00 (6.06)[d]	ND
	C9	TY	0.67 (0.29)[d]	ND
	C10	BS	5.42 (2.13)	ND
	C11	SF	ND	-
	C12	BP	ND	-
HD	H1	MB	ND	-
	H2	BL	ND	-
	H3	DW	38 (6.24)	ND
	H4	WD	ND	-
	H5	MG	ND	-
	H6	MA	ND	-
	H7	SO	ND	-
	H8	AM	ND	-
	H9	LT	ND	-
	H10	WB	ND	-

a: 市售兩刷精 (Commercial screenwash, CS);家用清潔劑 (Household detergent, HD)

b: 標準差 (Standard deviation, SD)

c: Not detected (LOD=1CFU/1 mL=1 CFU/mL)

d: 兩筆 ND 數，以 1/2LOD 取代 ND 結果

doi:10.6342/NTU201704234

為了解已無可培養 *L. pneumophila* 樣本中其 *L. pneumophila* 是否仍有活性，亦即為 VBNC (Viable but nonculturable)，將達 non-culturable 時該樣本中之活性 *L. pneumophila* 濃度彙整如表 71 所示。其中以 GD、CD、CP 及 MA 於培養 3 日時，可培養性及活性結果皆無檢出 (<1 CFU/mL 及 620 cells/mL)，顯示此四種雨刷水清潔用品對 *L. pneumophila* 抑菌較佳；其次為 TM、SN 及 WD，於培養 3 日時，可培養性 *L. pneumophila* 為無檢出，而活性 *L. pneumophila* 濃度介於 1.4×10^3-3.0×10^3 cells/mL，顯示此三種雨刷水清潔用品接觸 *L. pneumophila*，雖有抑制作用，然含相對低 VBNC 濃度；另 11 種雨刷水清潔用品 (AA、CAP、SF、BP、MB、BL、MG、SO、AM、LT 及 WB)則於培養 3 日時，可培養性 *L. pneumophila* 為無檢出，然相對含較高活性 *L. pneumophila* 濃度為 10^4 cells/mL (濃度介於 9.6×10^4-1.9×10^6 cells/mL)，亦說明 11 種雨刷水清潔用品於培養 3 日時含相對高 VBNC 濃度；GY、TY、BS 及 DW 於培養 3 日時，其可培養性濃度為 0.67-38 CFU/mL，持續追蹤至 8 日時則皆無檢出，而於 7-18 日仍有檢測活性 *L. pneumophila* 濃度為 8.0×10^2-4.5×10^5 cells/mL，顯示此四種雨刷水清潔用品對 *L. pneumophila* 抑菌效果較延緩，且於 8 日時仍有 VBNC 結果。

doi:10.6342/NTU201704234

表 71 雨刷水清潔用品於 37℃長期追蹤已無可培養性 *L. pneumophila* 時其活性濃度 (n=3)

清潔用品類型[a]	編號	清潔用品	*L. pneumophila*, Mean (SD)[b], cells/mL		
			Day 3	Day 7	Day 18
CS	C1	TM	3.0×10^{3} (1.6×10^{3})		
	C2	GD	ND[c]		
	C3	AA	2.1×10^{5} (1.1×10^{4})		
	C4	CD	ND		
	C5	CAP	4.0×10^{5} (6.1×10^{4})		
	C6	CP	ND		
	C7	SN	2.0×10^{3} (1.6×10^{3})[d]		
	C8	GY		4.1×10^{5} (8.7×10^{4})	4.5×10^{5} (1.8×10^{4})
	C9	TY		7.9×10^{4} (3.4×10^{4})	1.7×10^{4} (8.6×10^{3})
	C10	BS		3.2×10^{3} (8.1×10^{2})	1.3×10^{3} (1.5×10^{3})[d]
	C11	SF	3.6×10^{5} (8.8×10^{4})		
	C12	BP	6.8×10^{5} (2.4×10^{5})		
HD	H1	MB	9.6×10^{4} (6.4×10^{4})		
	H2	BL	5.1×10^{5} (1.1×10^{5})		
	H3	DW		2.6×10^{3} (4.0×10^{3})[e]	8.0×10^{2} (5.9×10^{2})[e]
	H4	WD	1.4×10^{3} (1.1×10^{3})[d]		
	H5	MG	1.2×10^{5} (3.6×10^{4})		
	H6	MA	ND		
	H7	SO	1.0×10^{6} (1.6×10^{5})		
	H8	AM	1.9×10^{6} (8.2×10^{4})		
	H9	LT	1.1×10^{6} (1.5×10^{5})		
	H10	WB	1.0×10^{6} (4.2×10^{4})		

a: 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS);家用清潔劑 (Household detergent, HD)

b: 標準差 (Standard deviation, SD)

c: Not detected (LOD=620 cells/mL)

d: 一筆 ND 數，以 1/2LOD 取代 ND 結果

e: 兩筆 ND 數，以 1/2LOD 取代 ND 結果

doi:10.6342/NTU201704234

第七章 討論

7.1 抑菌影響因子

本研究目的欲探討雨刷水清潔用品種類、添加濃度、接觸時間及溫度對 *L. pneumophila* 培養力及活性影響，同時亦探討 pH 及硬度與 *L. pneumophila* 生長影響性，其各影響因子如下述討論。

7.1.1 清潔用品濃度

本研究於 25℃短期抑菌實驗中，分別探討添加 0.1 及 0.01 g/mL 雨刷水相關清潔用品對 *L. pneumophila* 培養力抑菌情形。仔細觀察各市售雨刷精品牌發現，相較於 0.01 g/mL，添加 0.1 g/mL TM、CP、GD、SN、AA、CAP 及 CD 於 120 分鐘差距可達 2-5 Log CFU/mL (圖 19、20、25、26 及 27) ，添加 0.1 g/mL 者，具有較佳抑菌效果；具有相似結果但差距在 1 Log CFU/mL 者則有 BP、TY 及 GY (圖 20、21 及 26)；至於 0.1 g/mL 與 0.01 g/mL 抑菌效果無差異者為 BS (圖 21 及 27)。

對家用清潔劑而言，於 120 分鐘內 0.1 g/mL 與 0.01 g/mL 抑菌差距可達 2-5 Log CFU/mL 者有 MG、WD、DW、MA、MB 及 AM (圖 32、33、37、38 及 39)，添加 0.1 g/mL 者較 0.01 g/mL 有較佳抑菌效果；BL 則有約 1 Log CFU/mL 之差距 (圖 33 及 37)；二添加濃度無差異者則為 LT、SO 及 WB (圖 34、38 及 39)。

以廣義估計方程式分析市售雨刷精及家用清潔劑數據，二者皆顯示相較於 0.01 g/mL 者，添加 0.1 g/mL 均具統計顯著差異，分別使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.37 及 1.64 Log CFU/mL (P-value<0.0001，表 29 及表 35)；另彙整 CS 與 HD 共 21 種雨刷水清潔用品之兩種濃度數據，亦顯示顯著差異 (P-value<0.0001，表 43)，且相較於 0.01 g/mL，添加 0.1 g/mL 使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.45 Log CFU/mL。

由上述可知，清潔劑濃度可顯著影響 *L. pneumophila* 培養力，當濃度越高，對 *L. pneumophila* 抑制影響越大。與過去以植物萃取精油及氯測試 *L. pneumophila* 時，

doi:10.6342/NTU201704234

其所觀察之濃度效應對微生物之生長趨勢亦與本研究一致 (Chang et al., 2008; Delgado-Viscogliosi et al., 2009)。

7.1.2 接觸時間

本研究分別以短期及長期觀察清潔用品接觸 *L. pneumophila* 培養力及活性濃度變化，以廣義估計方程式分析顯示，於短期及長期接觸下，於短期接觸 120 分鐘內，市售雨刷精及家用清潔劑皆隨著時間增加，出現 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降之現象 (P-value<0.0001，表 29、35、39 及 43)。過往在探討植物精油對 *L. pneumophila* 可培養濃度上，亦發現接觸時間自 10 分鐘增加至 60 分鐘時，其抑菌效果亦顯著上升，達統計意義 (Chang et al., 2008)。至於對於活性 *L. pneumophila* 而言，本研究發現，添加市售雨刷精將使 *L. pneumophila* 於七日時開始出現活性濃度顯著下降 (P-value<0.05，表 60)，於 18 日後更具顯著差異 (P-value<0.0001，表 60)；添加家用清潔劑者則於 24 及 30 日活性濃度顯著下降 (P-value<0.05，表 65)，顯示市售雨刷精較家用清潔劑更早出現對 *L. pneumophila* 活性之影響。另外，統計分析 21 種雨刷水清潔用品於 120 分鐘內之 *L. pneumophila* 可培養濃度，亦顯示接觸時間越長對 *L. pneumophila* 之培養力有顯著影響(P-value<0.0001，表 43、55 及 57)，而分析 22 種雨刷水清潔用品探討長期追蹤，顯示於 18 日後開始有顯著下降 (P-value<0.05，表 69)，24 及 30 日更具顯著差異 (P-value<0.0001，表 69)，比較可培養性及活性濃度顯著下降之時間，顯示清潔用品影響 *L. pneumophila* 培養力之時間早於活性之影響。

進一步觀察不同品牌出現 *L. pneumophila* 濃度下降之時間點，發現品牌間有顯著之差異，以市售雨刷精而言，短期觀察 *L. pneumophila* 培養力，TM 不論在不同水溫 25℃或 37℃ (圖 19 及 42)，或是接觸不同濃度 (0.1 及 0.01 g/mL) (圖 19 及 25)，其抑菌效果較佳，於接觸 0.5 分鐘即無檢出 (<5 CFU/mL)。最差者為 BS，皆

doi:10.6342/NTU201704234

顯示不論在 25 或 37℃下 (圖 27 及 44)，或以不同添加濃度下接觸 *L. pneumophila*，抑菌效果最差，於 120 分鐘內皆在 10^4 CFU/mL，顯示對 *L. pneumophila* 無抑菌影響。對家用清潔劑 MB 於 25℃及 37℃下 (圖 32 及 46)，僅於以 0.1 g/mL 接觸 *L. pneumophila*，其抑菌效果最佳，於 120 分鐘內皆無檢出。最差者如 SO 及 LT，不論在 25 或 37℃下 (圖 34 及 48)，或以不同添加濃度下接觸 *L. pneumophila*，於 120 分鐘內皆在 10^4 CFU/mL，顯示對 *L. pneumophila* 無抑菌影響。

以長期觀察 *L. pneumophila* 活性，市售雨刷精 GD 抑菌效果最佳，於 30 日 *L. pneumophila* 活性濃度低，皆接近無檢出 (<620 cells/mL)，其次 BS、CP、SN 及 TM 所接觸 *L. pneumophila* 活性於偵測下限 (<620 cells/mL)附近上下飄動的情形，最差者如 BP、SF、GY、AA、CAP 及 CD，於 30 日 *L. pneumophila* 活性濃度皆在 10^4 cells/mL 以上。對家用清潔劑，則是以 WD、DW 及 MA 最佳，最差者如 MB、BL、AM、LT、SO 及 WB 於 30 日 *L. pneumophila* 活性濃度皆在 10^4 cells/mL 以上。

由上述結果發現，抑菌效果佳者，相對造成無檢出 (<5 CFU/mL 或 620 cells/mL)的時間較快，反之則可能於觀察時間內並無任何 *L. pneumophila* 濃度變化或是其濃度相對緩慢下降。

Schwake 等人探討三種不同品牌雨刷精接觸 *L. pneumophila* 後亦指出三種不同濃度變化現象：(1)於第 0-1 日 *L. pneumophila* 達無檢出；(2)使 *L. pneumophila* 緩慢下降；(3)對 *L. pneumophila* 無影響。反映了不同雨刷精對 *L. pneumophila* 的抑菌效果，以時間長短可以比較各效果差異 (Schwake et al., 2015)。Delgado-Viscogliost 等人曾探討氯及戊二醛對 *L. pneumophila* 培養力及活性影響，發現培養力下降出現的時間較活性影響早，顯示 *L. pneumophila* 受到氯或戊二醛的抑菌影響，可能短時間降低 *L. pneumophila* 培養性但其仍有活性存在。

由上述可知，本研究 22 種雨刷水清潔用品於時間效應上反映了抑菌效果的特異性，且亦呈現對 *L. pneumophila* 培養力及活性有不一樣的抑菌效果。

doi:10.6342/NTU201704234

7.1.3 水溫

本研究於添加 0.1 g/mL 清潔劑時，觀察 25 及 37℃不同水溫下 120 分鐘內 *L. pneumophila* 可培養力之變化。對市售雨刷精而言，水溫上升培養力也上升 2-3 Log CFU/mL 者有 TY、CP 及 SN (圖 20 及 43)，上升約 1 Log CFU/mL 者有 GD、GY 及 CD (圖 19、20、42 及 43)；反之，水溫上升而培養力下降約 2 Log CFU/mL 者有 AA 及 CAP (圖 19、20 及 42)；不受水溫影響者為 BP、BS 及 TM (圖 19、21、42 及 43)，其中 TM，除 25℃下 0.5 分鐘時仍有微量 *L. pneumophila* (3.3 CFU/mL) (圖 19(a))，其餘結果皆無檢出 (<5 CFU/mL)，由於 TM 抑菌效能普遍甚佳，無法觀察水溫對其影響。

至於各家用清潔方面，水溫上升培養力也上升 2-3 Log CFU/mL 者有 WD 與 DW (圖 32、33 及 47)；上升約 1 Log CFU/mL 者有 MA (圖 32(b)及 46(d))；反之，水溫上升培養力下降 2-3 Log CFU/mL 者有 BL、AM 及 WB (圖 33、34、46 及 47)；小幅度下降 1 Log CFU/mL 者為 MG (圖 32(d)及 46(b))；不受水溫影響者則為 MB、LT 及 SO (圖 32、34、46、47 及 48)，其中 MB 於二種水溫下皆無檢出 (<5 CFU/mL)，無法觀察水溫效應。

由上述可知，就品牌種類而言，不含 SF 之其他 11 種市售雨刷精中，水溫上升樣本中 *L. pneumophila* 培養力也上升者佔 54.5% (6/11)，培養力下降者佔 18.2% (2/11)，不變或無法評估者佔 27.3% (3/11)；10 種家用清潔劑品牌中，水溫上升其培養力也上升者佔 30% (3/10)，下降者佔 40% (4/10)，不變或無法評估者佔 30% (3/10)；就 21 種雨刷水清潔用品而言，水溫上升而培養力也上升者佔 42.8% (9/21)，下降者佔 28.6% (6/21)，不變或無法評估者佔 28.6% (6/21)。

進一步以廣義估計方程式分析，顯示市售雨刷精 25℃與 37℃有顯著差異 (P-value<0.0001，表 46)，且相較於 25℃時，37℃水溫時 *L. pneumophila* 培養力上升 0.35 Log CFU/mL；至於家用清潔劑方面，25 及 37℃則無統計顯著差異 (P-value=0.80，表 51)。彙整分析 21 種雨刷水清潔用品亦顯示二種水溫無統計顯著差

doi:10.6342/NTU201704234

異 (P-value=0.20，表 57)。

上述結果顯示，本研究所探討之雨刷水清潔用品於 37℃下接觸 *L. pneumophila*，其培養能力相對高於 25℃下肢結果。Schwake 等人長期追蹤三種雨刷精於 25 及 37℃下接觸 *L. pneumophila* 時之微生物生長情形，培養法分析結果顯示 37℃下 *L. pneumophila* 較 25℃下之生存日數較長；另將 *L. pneumophila* 置於自來水中在無雨刷精存在下觀察 *L. pneumophila* 於二種水溫下之生長狀況，亦發現 37℃下 *L. pneumophila* 生長情形較 25℃下有上升情形 (Schwake et al., 2015)。*L. pneumophila* 生長溫度範圍為 20-48℃ (Schulze-Röbbecke et al., 1987)，而 25℃已接近其生長下限值 (Schulze-Röbbecke et al., 1987)。因此，本研究探討溫度效應的影響，顯示於 37℃下 *L. pneumophila* 可能較能抵抗清潔劑抑制影響或延遲抑菌效果。

7.1.4 雨刷水清潔用品種類及成分

造成對 *L. pneumophila* 培養力及活性濃度有不一樣濃度變化，其主要原因來自於不同成分的雨刷水清潔用品。本研究以廣義估計模式分析市售雨刷精、家用清潔劑種類對 *L. pneumophila* 培養力及活性影響。結果顯示市售雨刷精中 TM 為最佳，對兩者皆有較佳抑制作用，具顯著影響 (P-value<0.0001)。另外 GD 亦對活性抑制較佳，具顯著影響 (P-value<0.0001)；家用清潔劑則以 MB 對培養力抑制較佳，具顯著影響 (P-value<0.0001)，WD、DW 及 MA 則對活性抑制較佳，具顯著影響 (P-value<0.0001)。

另外本研究亦以易感性因子 (*K* 值)觀察 *L. pneumophila* 培養力及活性於不同添加清潔濃度及水溫下，微生物受雨刷水清潔用品易感程度。結果顯示於 25℃下添加 0.1 g/mL 清潔濃度，市售雨刷精中 AA 及 TM 影響 *L. pneumophila* 培養力程度大 (*K* 值 = 1.38 mL/g min)，最差則為 BS (*K* 值 = 0.14 mL/g min)；對家用清潔劑而言，DW、MB 及 MA 影響 *L. pneumophila* 培養力程度最大 (*K* 值介於 1.38-1.40

doi:10.6342/NTU201704234

mL/g min)，最差則為 LT、SO 及 WB (*K* 值 = 0.07-0.17 mL/g min)。若改為添加 0.01 g/mL 清潔濃度，市售雨刷精中影響 *L. pneumophila* 培養力最大亦為 TM (*K* 值 =13.60 mL/g min)，最差則為 GD (*K* 值 = 0.24 mL/g min)；家用清潔劑則以 MB 及 BL 影響 *L. pneumophila* 培養力程度最大 (*K* 值 = 6.55 及 6.27 mL/g min)，最差為 SO (*K* 值 = 0.39 mL/g min)；而當水溫改為 37℃下，市售雨刷精中以 GD、CD、AA、TM 及 CAP 對 *L. pneumophila* 培養力影響大 (*K* 值皆為 1.3 mL/g min 以上)，其他市售雨刷精品牌則影響小 (*K* 值介於 0.11-0.34 mL/g min)；家用清潔劑則以 MG、MB、BL 及 MA 影響 *L. pneumophila* 培養力最大 (*K* 值介於 1.35-1.40 mL/g min)，最差為 SO 及 LT (*K* 值分別為 0.12 及 0.07 mL/g min)。

對 *L. pneumophila* 活性影響而言，於 37℃長期下以 0.1 g/mL 清潔濃度，市售雨刷精中以 CP 及 GD 影響 *L. pneumophila* 活性最大 (*K* 值分別為 8.01 及 5.65 mL/g day)，最差者為 AA、GY、SF、CAP、BP 及 CD (K 值介於 (-0.57) - (-1.76) mL/g day)，顯示對 *L. pneumophila* 活性較無影響；對家用清潔劑而言，DW、MA 及 WD 影響 *L. pneumophila* 活性最大 (*K* 值介於 6.58-7.78 mL/g day)，BL、LT、SO、WB 及 AM 則對 *L. pneumophila* 活性較無影響 (*K* 值則介於 (-1.72)-(-3.33) mL/g day)。有上述可知，*L. pneumophila* 於不同水溫下所接觸不同種類清潔用品及清潔濃度，除了顯示不同清潔用品對 *L. pneumophila* 影響有不同趨勢外，亦顯示對 *L. pneumophila* 培養力及活性影響並非一致。

雨刷水清潔用品所含主要清潔成分為界面活性劑 (表 11 及 12)，係由一個親水端 (Hydrophilic group)、連結基及疏水端 (Lipophilic group)組成，其界面活性劑具有吸附性、表面面膜形成、表面張力降低性與形成微胞 (micelle)等功能 (王鳳英, 1993)。此外，介面活性劑經溶於水後，以疏水端部分解離成陰離子、陽離子、兩性離子或不解離，而分為不同離子性質的界面活性劑。主要清潔原理是以疏水端會結合溶液中油性物質，形成微胞類的聚集體，而不同離子性質會對不同溶液中之物質結合，故也形成有不同種類清潔劑及功能 (Salager, 2002; 王鳳英, 1993)，如陽離

doi:10.6342/NTU201704234

子界面活性劑通常會作為殺菌劑裡主要的成分 (Shukla & Tyagi, 2006)。

本研究兩刷水清潔用品多半為非離子及陰離子界面活性劑，其餘僅寫出界面活性劑或特殊界面活性劑，推測所含界面活性劑種類對微生物可能影響彙整過去文獻探討如表 72 所示。過去研究探討陽離子界面活性劑如季銨鹽、氧化胺、溴化十六烷基三甲銨及酯類陽離子界面活性劑等，皆共同推測其陽離子界面活性劑會與細胞膜表面上負電結合，而影響細胞膜運輸或者是阻斷物質交換，使得細胞無法正常生長 (Fatma et al., 2016; Ishikawa et al., 2002; Majtan & Majtanova, 2000)；兩性離子如十二烷基二甲基胺乙內酯，因疏水端各含陰離子及陽離子，亦以陽離子與細胞膜上負電結合，主要與細胞膜上磷脂質 (膜蛋白)交互作用並阻斷細胞膜結構上通道 (Ishikawa et al., 2002)；對於陰離子界面活性劑如脂肪酸甘油脂或十二烷基硫酸鈉於過去研究有顯示兩種抑菌作用：(1) 誘導細胞自溶，係指該界面活性劑影響細胞膜上酵素 (如合成作用)，使得抑制後造成細胞結構破壞；(2)攻擊細胞膜上膜蛋白，造成無法負荷滲透壓力，使得細胞生長受抑制 (Kramer et al., 1980; Tsuchido et al., 1987)；非離子介面活性劑如甲基葡萄糖苷聚氧乙烯醚，對微生物的抑制作用則推測為，界面活性劑因疏水作用，藉由形成微胞使細胞膜上的脂質溶解 (Belmessieri et al., 2017)。由前述可知，界面活性劑對微生物的抑制作用及抑制的目標物皆不同，但皆對微生物結構上的破壞，使得無法正常生長。

此外，接觸革蘭氏陽性菌或陰性菌反映出對外界物質的交互作用。如 Fatma 等人以酯類陽離子界面活性劑分別接觸革蘭氏陽性及陰性菌，結果顯示，陰性菌比陽性菌更能抵抗界面活性劑的破壞，係陰性菌比陽性菌多一層富含脂多醣及蛋白質外膜，使外界物質無法直接接觸細胞內，而陽性菌細胞膜則可直接接觸界面活性劑疏水作用，使細胞上脂質溶解 (Fatma et al., 2016)；另外，Belmessieri 等人的研究以甲基葡萄糖苷聚氧乙烯醚探討革蘭氏陽性菌或陰性菌，同樣顯示因革蘭氏陰性菌外膜，使界面活性劑不易進入細胞膜內，使細胞受傷 (Belmessieri et al., 2017)。

除界面活性劑外，本研究兩刷水清潔用品中如 TM 含有聚氧乙烯三癸醚、TY

doi:10.6342/NTU201704234

含有乙醇，而 CP 含有乙二醇丁醚、乙醇及甲醇。目前僅於 2015 年 Schwake 等人探討雨刷精對 *L. pneumophila* 影響，顯示所探討雨刷精共同有的成分為甲醇，並觀察分別接觸 10%及 20%甲醇之抑菌情形，結果發現 *L. pneumophila* 培養力可忍受 10%甲醇一段期間 (於 25℃約 7 天)，但接觸於 20%甲醇，則於第 0 日為無檢出 (<1 CFU/mL)，亦顯示不同成分比例反映出微生物耐受程度 (Schwake et al., 2015)。

doi:10.6342/NTU201704234

表 72 界面活性劑對微生物抑菌作用

化學成分	離子介面活性劑	菌種	抑菌作用	文獻來源
季銨鹽 (Quaternary ammonium salts)	陽離子界面活性劑	**Gram-negative** *Pseudomonas aeruginosa*	因疏水端帶正電，與細胞膜表面上負電結合，進而抑制呼吸作用	Majtan et al., 1995
氧化胺 (Amine oxides)	陽離子界面活性劑	**Gram-negative** *Enterobacter cloacae*	因疏水端帶正電，與細胞膜表面上負電結合，進而細胞膜合成作用，破壞細胞膜完整性。	Majtan et al., 1999
溴化十六烷基三甲銨 (Cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)	陽離子界面活性劑	**Gram-negative** *Escherichia coli*	與細胞膜上磷脂質 (膜蛋白)交互作用，並阻斷細胞膜結構，使細胞無法生長	Ishikawa et al., 2002
酯類陽離子界面活性劑 (Ester-bonded cationic gemini surfactants)	陽離子界面活性劑	**Gram-positive** *Staphylococcus aureus* *Bacillus subtilis* **Gram-negative** *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa*	(1)陽離子界面活性劑會與微生物上的負電結合，造成無法細胞膜上的通透性受阻擾，使得細胞死亡。 (2)革蘭氏陰性菌比陽性菌多一層外膜 (脂多醣及蛋白質)，使物質不易直接接觸至細胞內膜，而革蘭氏陽性菌細胞膜因疏水作用產生微胞，使得脂質溶解	Fatma et al., 2016
十二烷基二甲基胺乙內酯 (N-dodecylN,N-dimethylglycine, DDMG)	兩性離子界面活性劑	**Gram-negative** *Escherichia coli*	與細胞膜上磷脂質 (膜蛋白)交互作用並阻斷細胞膜結構上通道，使細胞無法生長	Ishikawa et al., 2002

doi:10.6342/NTU201704234

化學成分	離子介面活性劑	菌種	抑菌作用	文獻來源
脂肪酸甘油脂 (Glycerol of fatty acid)	陰離子界面活性劑	**Gram-positive** *Bacillus subtilis*	誘導細胞自溶： 物質影響細胞膜上酵素功能 (如合成作用)，因抑制了功能造成細胞結構的破壞。	Tsuchido et al., 1987
十二烷基硫酸钠 (Sodium dodecyl sulfate)	陰離子界面活性劑	**Gram-negative** *Enterobacter cloacae*	攻擊細胞膜，尤其是膜蛋白，造成滲透的壓力使抑制細胞生長。	Kramer et al., 1980
甲基葡萄糖苷聚氧乙烯醚 (Methyl glycopyranoside ethers)	非離子界面活性劑	**Gram-positive** *Listeria monocytogenes* *Staphylococcus aureus* *Enterococcus faecalis* **Gram-negative** *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa*	(1)界面活性劑形成的微胞，造成對脂質溶解。 (2)革蘭氏陰性菌的外膜，使外在物質不易進入，亦不易造成傷害；而革蘭氏陽性菌細胞膜因疏水作用產生微胞，使得脂質溶解。	Belmessieri et al., 2017

doi:10.6342/NTU201704234

7.2 pH 及硬度影響

本研究分別以短期及長期觀察 pH 與硬度對 *L. pneumophila* 活性及培養力濃度影響。

7.2.1 pH 影響

以 pH 而言，添加市售雨刷精於不同清潔用品濃度或不同水溫下接觸 *L. pneumophila*，相較於 pH 低於 8 者，其 pH 介於 8.45-10.57 使 *L. pneumophila* 培養力下降 2.55-2.66 Log CFU/mL，具統計顯著差異 (P-value<0.0001)；另外 37℃下長期追蹤結果，相較於 pH 低於 8 者，當 pH 介於 8.45-9.87 可使 *L. pneumophila* 活性下降 0.29 Log cells/mL 無統計顯著差異 (P-value=0.58)。顯示 pH 高於 8 者對 *L. pneumophila* 培養力較具影響，對 *L. pneumophila* 活性影響力較低。

對家用清潔劑而言，於 25℃下不同清潔用品濃度接觸 *L. pneumophila*，相較於 pH 低於 8 者，當 pH 介於 8.01-9.95 可使 *L. pneumophila* 培養力下降 4.15 Log CFU/mL，具統計顯著差異 (P-value<0.05)，當 pH 介於 10.12-11.87 可使 *L. pneumophila* 培養力下降 4.68 Log CFU/mL，具統計顯著差異 (P-value<0.0001)。另於 25 及 37℃下以添加 0.1 g/mL 探討 pH 對 *L. pneumophila* 培養力，相較於 pH 低於 8 者，pH 介於 8.07-9.95 可使 *L. pneumophila* 培養力下降 0.57 Log CFU/mL，無統計顯著差異 (P-value=0.26)，而當 pH 介於 10.04-11.87 可使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.70 Log CFU/mL，具統計上顯著差異 (P-value<0.05)，亦顯示愈鹼性的環境，對 *L. pneumophila* 培養力愈不利；另外 37℃下長期追蹤結果，相較於 pH 低於 8 者，當 pH 介於 8.02-9.83 可使 *L. pneumophila* 活性上升 4.17 Log cells/mL，而 pH 介於 10.07-11.20 則可使 *L. pneumophila* 活性下降 2.91 Log cells/mL，但皆無統計顯著差異 (P-value=0.26 及 0.80)，檢視不同 pH 切點下的組別，其各組之變異大，顯示添加家用清潔劑，其 pH 的變化對 *L. pneumophila* 活性無明顯影響。

由上述可知，pH 高於 8 時對 *L. pneumophila* 培養力具影響，且造成培養力下

doi:10.6342/NTU201704234

降。過去研究探討於不同 pH 值溫泉水對 *L. pneumophila* 生長影響如表 73 所示，以 Ohno 等人觀察當溫泉水 pH 介於 6-8 者對可培養性 *L. pneumophila* 無影響，而 pH 高於 8 時，其可培養性濃度下降 (Ohno et al., 2003)，Chang 等人亦以模擬溫泉水於不同 pH 環境下對 *L. pneumophila* 可培養性影響，觀察 *L. pneumophila* 培養力於 pH 介於 4-6 較 pH 於 8-10 佳，另外以土肉桂所萃取之精油於不同 pH 環境下對 *L. pneumophila* 抑菌影響，顯示於 pH 愈鹼其抑菌效果愈佳 (Chang et al., 2008)，另外亦研究顯示 pH 愈鹼對退伍軍人菌陽性樣本檢出為負相關 (Hsu et al., 2006; Huang et al., 2010; Kao et al., 2014; Qin et al., 2013)。然另有研究探討熱水系統、泳池、冷卻水塔、雨刷水箱或洗牙所用之噴水注射氣等，其 pH 較為中性環境下，對退伍軍人菌生長或檢出為正相關及無顯著影響 (Fragou et al., 2012; Goutziana et al., 2008; Karki & Le Cann, 2014; Leoni et al., 2005; Mouchtouri et al., 2007; Rakić & Štambuk-Giljanović, 2016; Zanetti et al., 2000; 徐藝瑋, 2015)，顯示退伍軍人菌受 pH 影響。

doi:10.6342/NTU201704234

表 73 彙整過去研究探討 pH 對退伍軍人菌影響

菌種	採樣地點	統計方法	結果	文獻來源
可培養性 *L. pneumophila* 活性 *L. pneumophila*	**兩刷水清潔用品**	**Regression Model**	**市售兩刷精：** pH 愈鹼 (10.09-10.57)，對可培養性細菌顯著下降 (P<0.0001) pH 愈鹼 (9.84-10.57)對活性細菌下降幅度小 (P=0.58) **家用清潔劑：** pH 愈鹼 (8.01-8.28)，對可培養性細菌顯著下降 (P<0.05)；pH 為 10.12-11.87，顯著下降 (P<0.0001) pH 的高低對活性細菌無影響	**本研究**
可培養性 *L. pneumophila* 總 *L. pneumophila* 活性 *L. pneumophila*	兩刷水箱	Univariate regression Multivariate liner regression (p<0.1)	單變項結果觀察到兩刷水箱有無檢出總 *L. pneumophila* 與 pH 落在 7.2~7.6 有相關(P=0.053) 多變項結果觀察到兩刷水箱有無檢出總 *L. pneumophila* 與 pH<7.1 有關 (p=0.002；OR=0.27) 多變項結果觀察到兩刷水箱有無檢出活性 *L. pneumophila* 與 pH<7.2 有關 (p=0.01；OR=0.35)	徐藝瑋，2015
可培養性 *Legionella*	熱水系統	-	樣本之 pH 範圍為 7.25-8.43。 pH 於 *Legionella* 陽性及陰性檢出樣本沒有明顯差異	Rakic et al., 2016
可培養性 *Legionella* 總 *Legionella*	熱水系統	Correlation cofficients	pH 對可培養性 *Legionella* 濃度無顯著相關	Fragou et al., 2012

doi:10.6342/NTU201704234

菌種	採樣地點	統計方法	結果	文獻來源
可培養性 *L. pneumophila* *Legionella spp.*	熱水系統	*t*-test (p<0.05) Liner regression	陽性樣本 *Legionella pneumophila* 之 pH：7.2±0.3 陰性樣本 *Legionella pneumophila* 之 pH：6.9±0.3 兩種型態樣本具顯著差異 p<0.0001 觀察到熱水系統對於培養性的 *L. pneumophila* 檢出 與 pH 呈正相關 (p<0.0001；r=0.37)	Leoni et al., 2005
可培養性 *Legionella* *L. pneumophila* sg2-14	水系統、泳池及空調系統	*t*-test 及 Mann-Whitney (p<0.05)	**以 pH 切點設 7.8** 在 *L. pneumophil* sg2-14 的結果，大於切點以上的，檢出率為 22.0% ；小於切點者，檢出率達 9.5% ，具統計上顯著正相關 (r^2 = 2.30；P = 0.005)	Goutziana et al., 2008
可培養性 *L. pneumophila* *Legionella spp.*	水系統	Chi-square (p<0.05)	**以 pH 切點設 7.8** 在 *L. pneumophil* serogroup 1 的結果，大於切點以上的，檢出率為 16.5% (sample/total=28/170)；小於切點者，檢出率達 10.1 (84/128)，兩者相差 1.6 倍，具顯著差異 (p=0.01)，顯示呈現正向趨勢 (越齡，退伍軍人菌的檢出率上升)	Mouchtouri et al. 2007
Legionella	冷卻水塔、水管	Logistic regression analysis Multivariate Logistic regression	陽性樣本所測得的 pH= 8.27 (95%CI= 8.17~8.38)； 陰性樣本所測得 pH= 7.99 (95%CI= 7.93~8.05) *Legionella* 的檢出與 pH 高低呈正相關 (OR= 5.05, 95%CI= 2.55~10.03, p<0.001)	Karki and Le., 2014

doi:10.6342/NTU201704234

菌種	採樣地點	統計方法	結果	文獻來源
可培養性 *Legionella*	溫泉水	Univariate regression Correlation cofficients	以 pH 切點為 7.9 pH 等於 7.9 或以上，其陽性檢出率為 55.6% pH 低於 7.9 者，其陽性檢出率為 64.6% *Legionella* 檢出率與 pH 無顯著相關性 (OR = 0.69；95% CI = 0.34-1.37；p = 0.286) *Legionella* 生成濃度與 pH 顯著負相關 (Correction coefficient = -0.35；p<0.01)	Qin et al., 2013
可培養性 *Legionella* 總 *L. pneumophila*	溫泉水	Mann-Whitney (p<0.05)	pH 範圍為 5-6，*Legionella* 檢出率為 50.0% (1/2)； pH 範圍為 6-7，*Legionella* 檢出率為 46.2% (6/13)； pH 範圍為 7-8，*Legionella* 檢出率為 31.0% (13/42)； pH 範圍為 8-9，*Legionella* 檢出率為 0.0% (0/15)； 呈現 pH 愈鹼，與 *Legionella* 檢出成負向趨勢 pH 於陽性及陰性檢出樣本不論以萃取方法、培養方法及合併方法，皆具顯著差異 (P = 0.03、0.001 及 0.001)	Huang et al., 2010
可培養性 *L. pneumophila*	溫泉水	Univariate analysis	*L. pneumophila* 在 pH 4~6 的培養力比 pH 8~10 來的較佳，且土肉桂萃取之精油亦於鹼性環境下對 *L. pneumophila* 抑菌效果佳。 pH 具顯著貢獻影響退伍軍人菌的生存 (培養力)，p<0.01	Chang et al., 2008
總 *Legionella*	溫泉水	-	pH 為弱酸 (pH = 5-7)，檢出率為 37.5%； pH 為弱鹼 (pH = 7-9)，檢出率為 20.8%，呈現 pH 愈鹼，與 *Legionella* 檢出成負向趨勢 pH 低於 5 者，無檢出 *Legionella* pH 高於 9 者，僅兩個陽性檢出樣本。	Hsu et al., 2006

doi:10.6342/NTU201704234

菌種	採樣地點	統計方法	結果	文獻來源
可培養性 *L. pneumophila* 總 *L. pneumophila* 活性 *L. pneumophila*	溫泉水	-	5≤pH≤8 退伍軍人菌並無影響，當 pH 高於 8 時，退伍軍人菌培養力下降	Ohno et al., 2003
總 *Legionella* 總 *L. pneumophila*	水庫	Mann-Whitney ($p<0.05$)	陽性樣本 *Legionella* 之 pH：8.11 (7-9.4) 陰性樣本 *Legionella* 之 pH：8.25 (7.7-8.9) 兩種型態樣本具顯著差異 $p = 0.028$，呈現 pH 愈鹼，與 *Legionella* 檢出成負向趨勢	Kao et al., 2014
可培養性 *Legionella*	口腔沖洗杯、噴水注射器、超聲波定標器及渦輪機	*t*-test ($p<0.05$)	陽性樣本 *Legionella pneumophila* 之 pH：7.69 陰性樣本 *Legionella pneumophila* 之 pH：7.75 兩種型態樣本無顯著差異	Zanetti et al., 2000

doi:10.6342/NTU201704234

7.2.2 硬度影響

以硬度而言，添加市售雨刷精於不同清潔用品濃度或不同水溫下接觸 *L. pneumophila*，相較於硬度低於 3 mg/L 者，其硬度介於 4-12 mg/L 可使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.45-2.66 Log CFU/mL，具統計顯著差異 (P-value<0.05 及 0.0001)；另外 37℃下長期追蹤結果，相較於硬度低於 3 mg/L 者，當硬度介於 4-11 mg/L 可使 *L. pneumophila* 活性下降 0.68 Log cells/mL，無統計顯著差異 (P-value=0.18)，顯示添加市售雨刷精，其硬度介於 3-12 mg/L 者對 *L. pneumophila* 培養力較具影響，對 *L. pneumophila* 活性影響力較低。

對家用清潔劑而言，於 25℃下不同清潔用品濃度接觸 *L. pneumophila*，相較於硬度低於 3 mg/L 者，當硬度介於 3-12 mg/L 可使 *L. pneumophila* 培養力上升 3.53 Log CFU/mL，但無統計顯著差異 (P-value=0.22)，當硬度介於 30-185 mg/L 可使 *L. pneumophila* 培養力下降 4.25 Log CFU/mL，具統計上顯著差異 (P-value<0.05)。另於 25 及 37℃下以添加 0.1 g/mL 探討 pH 對 *L. pneumophila* 培養力，相較於硬度低於 3 mg/L，當硬度介於 3-12 mg/L 可使 *L. pneumophila* 培養力上升 2.33 Log CFU/mL，具統計上顯著差異 (P-value<0.0001)，而當硬度介於 165-195 mg/L 可使 *L. pneumophila* 培養力下降 0.45 Log CFU/mL，則不具統計顯著差異 (P-value=0.46)。另外於 37℃下長期追蹤結果，相較於硬度低於 3 mg/L 者，硬度介於 3-12 mg/L 或為 140-185 mg/L 分別使 *L. pneumophila* 活性上升 5.60 及 5.79 Log cells/mL，統計上均顯著差異 (P-value<0.0001)。顯示添加家用清潔劑，其硬度介於 3-12 mg/L 可使培養力上升，而硬度介於 30-195 mg/L 則使培養力下降，然對 *L. pneumophila* 活性影響，則顯示硬度愈高，則會使培養力上升。

由上述可知，市售雨刷精當硬度介於 4-12 mg/L，對 *L. pneumophila* 培養力及活性為負影響，而對於家用清潔劑而言，當硬度於 3-12 mg/L，對 *L. pneumophila* 培養力及活性為正影響，而硬度於 30-195 mg/L，對 *L. pneumophila* 培養力為負影

doi:10.6342/NTU201704234

響，對 *L. pneumophila* 活性為負影響。

過去研究亦探討硬度對退伍軍人菌生長影響如表 74 所示，如在熱水系統內，Bargellini 等人檢測退伍軍人菌數量與硬度呈負相關 (P<0.05；r=-0.115)，另以 250 mg/L 作為切點，亦觀察高於 250 mg/L 與退伍軍人菌檢出呈現負相關 (OR = 0.54；95% CI = 0.36-0.80；P<0.05)；另外於不同硬度數值範圍下，當硬度為 250-350 mg/L 時檢出率為 16.1%，而低於 250 或高於 350 mg/L 時，則退伍軍人菌陽性檢出率分別為 29.7%及 54.2%，呈現 U 型分布 (Bargellini et al., 2011)；Lasheras 等人，對於退伍軍人菌陽性樣本硬度為 2.48 mg/L 較陰性樣本硬度 (1.72 mg/L)高 (Lasheras et al., 2006)；Bonetta 等人則以硬度 150 mg/L 為切點，對可培養性及總 *L. pneumophila* 無顯著差異 (Bonetta et al., 2010)；Borella 等人則發現，*L. pneumophila* 血清型 1 檢出樣本硬度為 184 mg/L 較檢測出其他血清型硬度 (297 mg/L)顯著差異 (P<0.05)，另外亦單變項迴歸分析以硬度 200 mg/L 作為切點，顯示硬度高於 200 mg/L 與退伍軍人菌 (OR=0.31，95% CI = 0.12-0.84；P<0.05)及 *L. pneumophila* 血清型 1 (OR=0.12，95% CI = 0.05-0.31；P<0.001)檢出呈現負相關，而對其他血清型則呈現正相關 (OR=3.20，95% CI = 1.12-9.16；P<0.05)，同樣於多變項迴歸分析亦是有相同結果 (Borella et al., 2005)，另外 Borella 等人亦於 2004 年研究，以 250 mg/L 為切點觀察退伍軍人菌檢出呈負相關 (OR = 0.41；95% CI = 0.18-0.89；P<0.05) (Borella et al., 2004)；Yu-sen 等人以不同濃度鈣及鎂離子 (0、50 及 100 mg/L；0、40 及 80 mg/L) 環境下觀察銅及銀離子殺菌劑對可培養性 *L. pneumophila* 影響，結果顯示不同程度硬度結果對 *L. pneumophila* 殺菌效果無顯著差異(Yu-sen et al., 2002)；另外 Zanetti 等人調查洗牙相關設備及 Paszko-kolva 等人調查洗眼裝置，其硬度結果皆對退伍軍人菌檢出無顯著差異 (Paszko-Kolva et al., 1991; Zanetti et al., 2000)。本研究以家用清潔劑接觸可培養性 *L. pneumophila* 影響，則呈現到 U 型，雖本研究檢測樣本之硬度與上述研究硬度數值範圍不一致，但顯示硬度數值對退伍軍人菌並非為固定正負趨勢。

doi:10.6342/NTU201704234

表 74 彙整過去研究硬度對退伍軍人菌影響

菌種	採樣地點	統計方法	結果	文獻來源
可培養性 *L. pneumophila* 活性 *L. pneumophila*	**兩刷水清潔用品**	**Regression Model**	**市售兩刷精：** 硬度愈高 (TM = 4-12 mg/L)，對可培養性 *L. pneumophila* 負影響 (P<0.05) 硬度愈高 (3-12 mg/L)，對活性 *L. pneumophila* 負影響小 (P=0.18) **家用清潔劑：** 硬度於 (30-185 mg/L)，對可培養性 *L. pneumophila* 負影響 (P<0.05) 硬度於 (3-12 mg/L)，對可培養性 *L. pneumophila* 正影響 (P<0.05) 硬度於 (5-185 mg/L)，對活性 *L. pneumophila* 正影響 (P<0.001)	**本研究**
可培養性 *L. pneumophila* 總 *L. pneumophila* 活性 *L. pneumophila*	兩刷水箱	Univariate regression Speaman correlation Multivariate liner regression (p<0.1)	單變項結果觀察到兩刷水箱有無檢出活性 *L. pneumophila* 與硬度落在 49.3~83.9 mg/L 有相關(P=0.02) 多變項結果觀察到兩刷水箱有無檢出活性 *L. pneumophila* 與硬度>63 mg/L 有相關(p=0.02；OR=2.41) Speaman correlation 的結果觀察到總 *L. pneumophila* 的濃度與硬度呈現正相關(p=0.04；r=0.56) 多變項結果觀察到兩刷水箱有無檢出可培養性 *L. pneumophila* 與硬度>24.1 mg/L 有相關(p=0.01；OR=15.85)	徐藝瑋，2015

doi:10.6342/NTU201704234

菌種	採樣地點	統計方法	結果	文獻來源
可培養性 *Legionella*	熱水系統	Student's test Pearson's correlation cofficients Multivariate liner regression Wald test	**Student's test** 陽性樣本所測得的硬度= 231±111 mg/L； 陰性樣本所測得的硬度= 253+126 mg/L *Legionella* 檢出之硬度結果無顯著差異。 **Linear correlation** 硬度對 *Legionella* spp 數呈負相關 (P<0.05；r=-0.115) **Univariate regression** 以 250 mg/L 為切點，高於 250 mg/L 與 *Legionella* spp.檢出呈現負相關 (OR = 0.54；95% CI = 0.36-0.80；P<0.05) **Wald test** 硬度為 250-350 mg/L，其 *Legionella* 陽性檢出率為 16.1%，與硬度低於 250 mg/L 及高於 350 mg/L (陽性檢出率分別為 29.7%及 54.2%，其 X2 = 19.4；P<0.001)，陽性檢出率呈現 U 型態分布	Bargellini et al., 2011
可培養性 *Legionella*	熱水系統	Wald test	陽性檢出樣本平均硬度達 2.48 mg/L (95% CI 2.2-2.76)，陰性樣本平均硬度達 1.72 mg/L (95% CI 1.44-2.02)，顯示硬度相對高者，陽性樣本檢出高。	Lasheras et al., 2006
可培養性 *L. pneumophila* 總 *L. pneumophila*	熱水系統	Chi-square (p<0.05)	以硬度為 150 mg/為切點，對可培養性及總 *L. pneumophila* 無顯著差異	Bonetta et al., 2010

doi:10.6342/NTU201704234

菌種	採樣地點	統計方法	結果	文獻來源
可培養性 *Legionella*	熱水系統	Student's test Univariate regression Multivariate liner regression	**Student's test** 檢測出 *L. pneumophila* serogroup 1 樣本所含硬度 (184 mg/L)具顯著低於其他檢測出 *L. pneumophila* serogroup 2-14 樣本所含硬度 (297 mg/L) **Univariate regression** 以 200 mg/L 為切點，高於 200 mg/L 者與 *Legionella* spp. (OR=0.31，95% CI = 0.12-0.84；P<0.05)及 *L. pneumophila* serogroup 1 (OR=0.12，95% CI = 0.05-0.31；P<0.001)形成呈現負相關，而與 *L. pneumophila* serogroup 2-14 形成呈現正相關 (OR=3.20，95% CI = 1.12-9.16；P<0.05)。 **Multivariate liner regression** 以 200 mg/L 為切點，高於 200 mg/L 者與 *Legionella* spp. (OR=0.15，95% CI = 0.04-0.53；P<0.01)及 *L. pneumophila* serogroup 1 (OR=0.09，95% CI = 0.03-0.25；P<0.001)形成呈現負相關，而與 *L. pneumophila* serogroup 2-14 形成呈現正相關 (OR=3.33，95% CI = 1.02-10.85；P<0.05)。	Borella et al., 2005
可培養性 *Legionella*	熱水系統	Univariate regression	以 250 mg/L 為切點，高於 250 mg/L 與 *Legionella* spp.檢出呈現負相關 (OR = 0.41；95% CI = 0.18-0.89；P<0.05)	Borella et al., 2004
可培養性 *L. pneumophila*	銅及銀離子殺菌劑	-	Ca 及 Mg 離子濃度分別以去離子水調整不同濃度(0、50 及 100 mg/L；0、40 及 80 mg/L)，觀察處在不同硬度濃度環境下銅及銀離子殺菌劑對 *L. pneumophila* 抑菌影響	Lin et al., 2002

doi:10.6342/NTU201704234

菌種	採樣地點	統計方法	結果	文獻來源
可培養性 *Legionella*	口腔沖洗杯、噴水注射器、超聲波定標器及渦輪機	*t*-test ($p<0.05$)	陽性樣本所測得的硬度= 1.2 mg/L； 陰性樣本所測得硬度= 1.7 mg/L *Legionella* 檢出之硬度結果無顯著差異。	Zanetti et al., 2000
可培養性 *Legionella*	洗眼裝置	Correlation cofficients	平均硬度為 129.37 mg/L，標準差為 30.42 mg/L，範圍為 50-250 mg/L 硬度對可培養性 *Legionella* 無顯著相關	Paszko-kolva et al., 1991

doi:10.6342/NTU201704234

7.3 具活性但不具培養性 (Viable but nonculturable, VBNC)之 *L. pneumophila*

本研究於 37℃長期追蹤實驗中，22 種雨刷水清潔用品以添加 0.1 g/mL 濃度接觸 *L. pneumophila*，於 30 日內追蹤其活性及培養力濃度，以探討清潔用品接觸 *L. pneumophila* 後對其活性及培養力之影響 (表 62 及 63)。對市售雨刷精而言，接觸 GD、CD 及 CP 後 3 日即無檢出具可培養性及活性之 *L. pneumophila* (<1 CFU/mL 及<620 cells/mL)，顯示對 *L. pneumophila* 之培養力及活性有顯著抑制作用且此時已無 VBNC 狀態之 *L. pneumophila*；其次為 TM 及 SN，接觸 3 日後亦無檢出可培養性 *L. pneumophila*，然仍可檢出活性 *L. pneumophila*，其平均濃度分別為 3.0×10^3 及 2.0×10^3 cells/mL，顯示於 3 日時仍有低濃度之 *L. pneumophila* 處於具活性但不具培養性狀態，然至 30 日時仍檢出活性 *L. pneumophila*，其平均濃度分別為 6.4×10^2 及 3.5×10^3 cells/mL；AA、CAP、SF 及 BP 顯示於 3 日無檢出可培養性 *L. pneumophila*，但大部分 *L. pneumophila* 仍具活性，其平均濃度為 2.1×10^5-6.8×10^5 cells/mL，顯示此四種 CS 雖對 *L. pneumophila* 之可培養力抑制，但幾乎未改變 *L. pneumophila* 活性，致使高濃度 *L. pneumophila* 均為具活性但不具培養性狀態，於至 30 日時亦含高濃度活性 *L. pneumophila*，其平均濃度為 9.1×10^4-1.6×10^5 cells/mL；至於 GY、TY 及 BS 三者於 3 日時仍檢出微量可培養性 *L. pneumophila*，其平均濃度分別為 4、0.67 及 5.42 CFU/mL，此時活性細菌濃度分別為 2.3×10^5、5.5×10^4 及 1.1×10^4 cells/mL，三者於 8 日時則已無檢出可培養性 *L. pneumophila*，而其活性濃度於 7-18 日內則持平，其平均濃度分別為 4.1×10^5-4.5×10^5 cells/mL、7.9×10^4-1.9×10^4 cells/mL 及 3.2×10^3-1.3×10^3 cells/mL，顯示 GY、TY 及 BS 對 *L. pneumophila* 培養力之影響較其他 CS 弱，至 8 日後才完全抑制，且仍有高活性濃度 *L. pneumophila*，亦意謂著 *L. pneumophila* 接觸此三種 CS 需較長時間才進入具活性但不具培養性的型態，此外，BS 於 24 日時則已無檢出活性 *L. pneumophila*，而 GY 及 TY 則於最後至 30 日仍含活性 *L. pneumophila* 濃度分別為 1.4×10^5 及 9.2×10^3 cells/mL，顯示 BS 於最後

doi:10.6342/NTU201704234

仍可有效抑制 *L. pneumophila*，而 GY 及 TY 對活性 *L. pneumophila* 無影響。

對家用清潔劑而言，MA 使 *L. pneumophila* 於 3 日時即無檢出具可培養性及活性細菌，代表此時已無 VNBC 狀態之 *L. pneumophila*；其次為 WD，3 日時已無檢出可培養性 *L. pneumophila*，然仍有 1.4×10^3 cells/mL 活性 *L. pneumophila*，其即屬具活性但不具培養性菌群；至於 MB、BL、MG、SO、AM、LT 及 WB，接觸 3 日後亦無檢出可培養性 *L. pneumophila*，但大部分細菌仍具活性，其平均濃度介於 9.6×10^4-2.0×10^6 cells/mL，顯示樣本中存在高濃度具活性但不具培養性 *L. pneumophila*，最後於 30 日時活性 *L. pneumophila* 濃度仍介於 5.1×10^3-2.4×10^6 cells/mL，顯示長時間下仍對活性 *L. pneumophila* 無影響；當接觸 DW 3 日時樣本中仍檢得 38 CFU/mL 之可培養性 *L. pneumophila*，而活性 *L. pneumophila* 濃度則為無檢出 (<620 cells/mL)，顯示其活性濃度雖低於本研究偵測下限，但仍具培養力，而於 8 日時無檢出可培養性 *L. pneumophila*，7-18 日時測得活性 *L. pneumophila* 濃度介於 2.6×10^3-8.0×10^2 cells/mL，顯示接觸 DW 於 8 日後，低濃度 *L. pneumophila* 已進入具活性但不具培養性型態。

由上述可知，本研究所探討之 12 種市售雨刷精品牌中，接觸 3 日後能同時完全抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性之清潔用品者佔 25% (3/12)，接觸 3 日時含有低濃度 VBNC *L. pneumophila* 者佔 16.7% (2/12)，含高濃度 VBNC *L. pneumophila* 者佔 33.3% (4/12)，抑制 *L. pneumophila* 培養力較為緩慢且此時尚含 VBNC *L. pneumophila* 者佔 25% (3/12)；10 種家用清潔劑品牌中，接觸 3 日後能同時完全抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性之清潔用品者佔 10% (1/10) ，接觸 3 日時含有低濃度 VBNC *L. pneumophila* 者佔 10% (1/10) ，含高濃度 VBNC *L. pneumophila* 者佔 70% (7/10) ，對抑制 *L. pneumophila* 培養力較為緩慢，需至 8 日才完全抑制且仍存有 VBNC *L. pneumophila* 者佔 10% (1/10)；據此，進一步無分類 22 種雨刷水清潔用品，其中 3 日完全效抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性之清潔用品者佔 18.2% (4/22)，3 日時仍含低濃度 VBNC *L. pneumophila* 者佔 13.6% (3/22)，含高濃度 VBNC

doi:10.6342/NTU201704234

L. pneumophila 者佔 50% (11/22)，對培養力抑制作用緩慢且 8 日時才出現 VBNC *L. pneumophila* 者佔 18.2% (4/22)。

上述結果顯示，僅 4 種 (18.2%)雨刷水清潔用品能於接觸 3 日後完全抑制 *L. pneumophila* 之活性及可培養性，多數雨刷水清潔用品中則存在著 VBNC 狀態之 *L. pneumophila*。具活性但不具培養性型態係指微生物處於壓力環境下，即使已無可培養性但仍維持著活性。過往研究顯示 *L. pneumophila* 面臨 monochloramine 處置 (L. Alleron et al., 2008; Turetgen, 2008)及接觸 Chlorine、Glutaraldehyde (Delgado-Viscogliosi et al., 2009)與處於高溫如 70℃下 (Allegra et al., 2011; Delgado-Viscogliosi et al., 2009)，均出現 VBNC 狀態之 *L. pneumophila*，而處於 VBNC 型態之 *L. pneumophila* 若與環境中自然宿主之阿米巴原蟲接觸，*L. pneumophila* 有機會再次複製、復甦及恢復其培養力，並於最後釋放出 *L. pneumophila* (Al-Bana et al., 2014; Laëtitia Alleron et al., 2013; L. Alleron et al., 2008; Turetgen, 2008)。此外，原本處於 VBNC 型態之 *L. pneumophila*，其細胞表面上將累積毒性蛋白，如具感染力之 Mip 蛋白，將可能對宿主肺組織之巨噬細胞分解後，於身體內部釋放病原體(Laëtitia Alleron et al., 2013)，其對公共衛生之潛在危害是不可小覷的。本研究所探討之 22 種雨刷水清潔用品中，僅 4 種能快速完全抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性，其中 3 者為市售雨刷精，對於具感染退伍軍人病風險之職業駕駛人而言，選擇使用具有效抑制之雨刷精將有效抑制 *L. pneumophila* 生長減少職業感染；而此對於其他非職業駕駛亦甚為重要，以降低社區零星式退伍軍人病之發生。

doi:10.6342/NTU201704234

第八章 研究限制與未來建議

8.1 研究限制

本研究研究限制如下述：

1. 本研究係以磷酸鹽緩衝液作為實驗組及控制組之基質，主要目的是為保持微生物能在等滲透壓、中性及穩定的環境下生存。而實際環境下，與清潔用品混和稀釋的溶液多為自來水，對於清潔劑能否在自來水體環境中能有效抑制退伍軍人菌，仍不得而知。另外於測量物理化學因子，因磷酸鹽緩衝所提供的背景資訊比例佔高，如導電度、總固體溶解質及濁度，會使干擾對清潔用品評估其真實濃度，故本研究僅探討 pH 及硬度的影響。
2. 本研究係以三重複進行抑菌實驗，也因如此，樣本數對於本研究所探討 22 種雨刷水清潔用品，針對每一個用品於不同參數 (清潔用品濃度、接觸時間及水溫等)，僅 3 個樣本，樣本數不足以無母數統計分析 (至少要 5 個)。另外以廣義估計模式當中，因本研究性質屬於重複測量結果，為配合統計檢定力，故將樣本做合併探討變項對 *L. pneumophila* 培養力及活性影響。
3. 本研究所探討 22 種雨刷水清潔用品，其主要成分皆是參考各產品標示及產品網站所提供資訊，並非完整成分及所占比例，且產品內所含何種成分是真正對 *L. pneumophila* 培養力及活性有影響於本研究是無法清楚得知的，而清潔用品內成分富含多種化學物質，是否有與界面活性劑交互作用，或對微生物有益，無法進一步確認，故亦不能推測其界面活性劑為主要影響微生物成分。

doi:10.6342/NTU201704234

8.2 未來建議

建議未來研究，以自然水模擬實際環境中，使用清潔用品對退伍軍人菌影響，較能觀察退伍軍人菌於環境下對清潔用品的交互作用，同時可多探討其他物理化學因子如除了 pH 與硬度之外，導電度、總固體溶解質、濁度及餘氯等，亦是可以作為探討因子對退伍軍人菌之影響；另外，需基於研究成本及時間，若能做至少 5 重複樣本，足夠樣本數以滿足統計檢定力，可再以更多統計層面探討更多參數條件下的差異；最後對於個產品成分，未來建議能以不同分析工具如氣相色譜法-質譜儀或液向層析儀等分析產品成分化學物質，並分別以純化學物質去探討對退伍軍人菌培養力及活性影響，將使對於 *L. pneumophila* 之抑菌措施會有更大的幫助。

對於未來研究建議，可探討實場上的環境條件，如模擬水溫持續上下變化下，探討雨刷水清潔用品對 *L. pneumophila* 影響。另外建議以自來水作為基質，亦較能接近實場上水體環境。

doi:10.6342/NTU201704234

第九章 結論

9.1 清潔用品品牌種類

本研究以抑菌實驗探討22種雨刷水清潔用品對*L. pneumophila*培養力及活性影響，結論如下：

1. 以廣義估計模式分析顯示，對市售雨刷精品牌中，TM 為最佳，對 *L. pneumophila* 培養力及活性皆有較佳抑制作用，具顯著影響 (P-value<0.0001)。另外 GD 亦對活性抑制較佳，具顯著影響 (P-value<0.0001)。
2. 對家用清潔劑而言，則以 MB 對培養力抑制較佳，具顯著影響 (P-value<0.0001)，WD、DW 及 MA 則對活性抑制較佳，具顯著影響 (P-value<0.0001)。
3. 本研究探討 22 種雨刷水清潔用品，相較於家用清潔劑，添加市售雨刷精抑菌效果較佳。

9.2 清潔用品濃度

於短期 25℃探討 0.1 與 0.01 g/mL 對 *L. pneumophila* 培養力影響，幾點結論如下：

1. 對於市售雨刷精品牌而言，TM、CP、GD、SN、AA、CAP 及 CD 以添加濃度為 0.1 比 0.01 g/mL 抑菌效果佳，於 120 分鐘內差距可差 2-5 Log CFU/mL；BP、TY 及 GY 添加 0.1 比 0.01 g/mL 相比於 120 分鐘內僅差 1 Log CFU/mL，對 *L. pneumophila* 培養力抑菌效果較弱；BS 不論添加 0.1 及 0.01 g/mL 無差異，亦顯示此物質對 *L. pneumophila* 培養力無抑菌效果。
2. 對家用清潔品牌而言，MG、WD、DW、MA、MB 及 AM 以添加濃度為 0.1 比 0.01 g/mL 抑菌效果佳，於 120 分鐘內差距可差 2-5 Log CFU/mL；BL 添加 0.1 比 0.01 g/mL 相比於 120 分鐘內僅差 1 Log CFU/mL，對 *L. pneumophila* 培

doi:10.6342/NTU201704234

養力抑菌效果較弱；LT、SO 及 WB 不論添加 0.1 及 0.01 g/mL 無差異，亦顯示對 *L. pneumophila* 培養力無抑菌效果。

3. 以廣義估計模式分析市售雨刷精及家用清潔劑結果皆顯示，相較於添加濃度為 0.01 g/mL，添加 0.1 g/mL 分別使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.37 及 1.64 Log CFU/mL，具統計顯著差異 (P-value<0.0001)。
4. 統計分析 21 種雨刷水清潔用品兩種濃度，亦顯示使 *L. pneumophila* 培養力下降 1.45 Log CFU/mL，具統計顯著差異 (P-value<0.0001)。
5. 本研究結果顯示雨刷水清潔用品之添加濃度為 0.1 g/mL，相對於 0.01 g/mL，較有效抑制 *L. pneumophila* 培養力。

9.3 接觸時間

本研究分別以短期及長期觀察清潔用品接觸 *L. pneumophila* 培養力及活性濃度變化，結論如下：

1. 以廣義估計模式分析市售雨刷精、家用清潔劑於短期接觸 120 分鐘內皆顯示隨著時間增加，清潔用品接觸 *L. pneumophila* 可培養性濃度下降 (P-value<0.0001)；於長期追蹤下，於 30 日內市售雨刷精於 7 日時活性濃度顯著下降 (P-value<0.05)，於 18 日後更具顯著差異 (P-value<0.0001)；添加家用清潔劑則於 24 及 30 日活性濃度顯著下降 (P-value<0.05)，顯示市售雨刷精較家用清潔劑早對 *L. pneumophila* 有抑菌影響。
2. 統計分析 21 種雨刷水清潔用品，於短期接觸時間，亦顯示時間越長對 *L. pneumophila* 之培養力有顯著下降(P-value<0.0001)，而以 22 種雨刷水清潔用品探討長期追蹤，顯示於 18 日時活性濃度顯著下降 (P-value<0.05)，於 24 及 30 日更具顯著差異 (P-value<0.0001)。
3. 本研究於短期時間觀察有三個現象：(1)於 0.5 分鐘時達無檢出，抑制 *L.*

doi:10.6342/NTU201704234

pneumophila 培養力效果為立即性；(2)於 120 分鐘時才達無檢出，抑制其培養力較緩慢；(3)於 120 鐘內仍有 *L. pneumophila* 培養力濃度。

4. 本研究長期追蹤觀察有三個現象：(1)於 0 日達無檢出，抑制 *L. pneumophila* 活性為立即；(2)於 7-18 日，*L. pneumophila* 活性有下降之趨勢；(3)於 30 日內仍有 *L. pneumophila* 活性濃度。

9.4 水溫

本研究以短期抑菌實驗，以添加濃度 0.1 g/mL 進行 25 及 37℃抑菌實驗，結論如下：

1. 11 種市售雨刷精因水溫度上升其接觸 *L. pneumophila* 培養力相對高佔 54.5% (6/11)，培養力下降者佔 18.2% (2/11)，不變或無法評估者佔 27.3% (3/11)。
2. 10 種家用清潔劑，因水溫度上升其培養力相對高者佔 30%(3/10)，培養力下降者佔 40%(4/10)，不變或無法評估者佔 30%(3/10)。
3. 以整體觀察溫度上升而培養力上升佔 42.8% (9/21)，培養力下降者佔 28.6%(6/21)，不變或無法評估者佔 28.6%(6/21)。
4. 以廣義估計模式分析市售雨刷精及家用清潔劑，其結果顯示市售雨刷精，相較於 25℃，於 37℃下使 *L. pneumophila* 培養力上升 0.35 Log CFU/mL，具統計顯著差異 (P-value<0.0001)；對於家用清潔劑而言，相較於 25℃，於 37℃下可使 *L. pneumophila* 培養力下降 0.03 Log CFU/mL，統計上無顯著差異 (P-value=0.80)。
5. 統計分析 21 種雨刷水清潔用品，相較於 25℃，於 37℃下無統計顯著差異 (P-value=0.20)。
6. 本研究探討水溫的影響，顯示於 37℃下退伍軍人菌可能較能抵抗雨刷水清潔用品抑制影響或延遲抑菌效果。

doi:10.6342/NTU201704234

9.5 pH 與硬度影響

本研究分別以短期及長期觀察 pH 與硬度對 *L. pneumophila* 活性及培養力濃度影響，結論如下：

1. 以 pH 而言，添加市售雨刷精於不同清潔用品濃度或不同水溫下接觸 *L. pneumophila*，顯示 pH 高於 8 者對 *L. pneumophila* 培養力較具影響，對 *L. pneumophila* 活性影響力較低；對家用清潔劑而言，顯示愈鹼性的環境，對 *L. pneumophila* 培養力愈不利，對 *L. pneumophila* 活性則無明顯影響。
2. 以硬度而言，添加市售雨刷精於不同清潔用品濃度或不同水溫下接觸 *L. pneumophila*，顯示硬度介於 3-12 mg/L 者對 *L. pneumophila* 培養力較具影響，對 *L. pneumophila* 活性影響力較低；對家用清潔劑而言，其硬度介於 3-12 mg/L 可使培養力上升，而硬度介於 30-195 mg/L 則使培養力下降，然對 *L. pneumophila* 活性影響，則顯示硬度高這，活性濃度亦高。

9.6 具活性但不可培養性

本研究於 37℃長期追蹤實驗中，探討 22 種雨刷水清潔用品以添加 0.1 g/mL 對 *L. pneumophila* 進行 30 日追蹤其活性及培養力濃度狀況，以能有立即性對活性及培養性有抑制作用的面向探討，其結論如下：

1. 12 種市售雨刷精品牌中，於 3 日能有效抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性佔 25% (3/12)，含低濃度 VBNC 之 *L. pneumophila* 佔 16.7% (2/12)，含高濃度 VBNC 之 *L. pneumophila* 佔 33.3% (4/12)，於 8 日培養力完全抑制且 VBNC 之 *L. pneumophila* 佔 25% (3/12)。
2. 10 種家用清潔劑品牌中，於 3 日能有效抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性佔 10% (1/10)，含低濃度 VBNC 之 *L. pneumophila* 佔 10% (1/10)，含高濃度 VBNC 之 *L. pneumophila* 佔 70% (7/10)，於 8 日培養力完全抑制且 VBNC 之 *L.*

doi:10.6342/NTU201704234

pneumophila 佔 10% (1/10)。

3. 對 22 種雨刷水清潔用品而言，於 3 日能有效抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性佔 18.2% (4/22)，含低濃度 VBNC 之 *L. pneumophila* 佔 13.6% (3/22)，含高濃度 VBNC 之 *L. pneumophila* 佔 50% (11/22)，於 8 日培養力完全抑制且 VBNC 之 *L. pneumophila* 佔 18.2% (4/22)。
4. 本研究顯示僅 4 種雨刷水清潔用品於 3 日能有效抑制 *L. pneumophila* 培養力及活性，大部分雨刷水清潔用品仍會有高濃度 VBNC 之 *L. pneumophila*。

doi:10.6342/NTU201704234

附錄

1. *L. pneumophil*a 可培養性濃度檢量線結果

本研究彙整 3 次檢量線結果如表 75 所示，其三條檢量線皆排除濃度最高者及兩個中濃度者，每條檢量線結果皆含 5 筆，共 15 筆數據。檢量線平均濃度介於 1.65×10^{7}-7.90×10^{8} CFU/mL，其變異係數介於 15.31-56.14%。將 15 筆與 OD 值建立檢量線如圖 60 所示，獲得檢量線公式為 Y (*L. pneumophila*, CFU/mL) = 5×10^{8}(OD 值) – 4×10^{7}，其 R^2=0.98。

表 75 *L. pneumophila* 可培養性濃度檢量線

稀釋倍數關係	Concentration, CFU/mL, (n=3)		
	Mean	SD[c]	CV[d] (%)
0.75	7.90×10^{8}	1.37×10^{8}	17.31
0.5	6.40×10^{8}	9.80×10^{7}	15.31
0.125	1.17×10^{8}	2.46×10^{7}	21.12
0.0625	4.29×10^{7}	2.36×10^{7}	55.06
0.03125	1.65×10^{7}	9.23×10^{6}	56.14

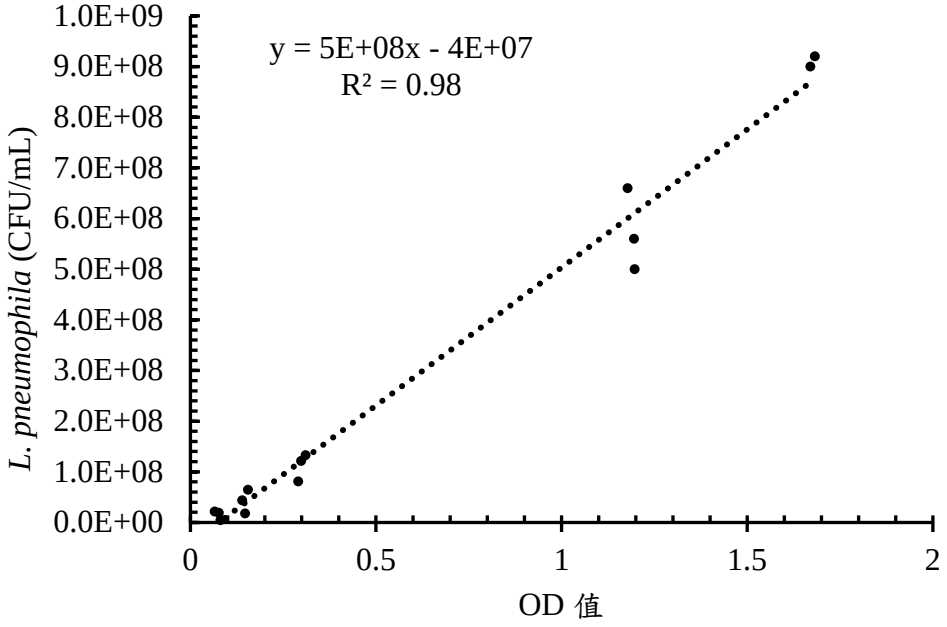


圖 60 可培養性 *L. pneumophila* 檢量線

doi:10.6342/NTU201704234

2. 兩刷水清潔用品之抑菌實驗下物理化學因子結果

2-1 市售兩刷精之抑菌實驗下物理化學因子

表 76 市售兩刷精於不同水溫及清潔用品濃度下接觸 *L. pneumophila* 於 2 時及 30 日 pH 及硬度結果 (n=3)

清潔類型 [a]	編號	清潔用品名稱	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	接觸時間	pH[b], Mean (SD)	硬度 [c], Mean (SD), mg/L
CS	C1	TM	25	0.1	2 時	7.55 (0.05)	10.00 (2.00)
			25	0.01	2 時	7.43 (0.02)	2.33 (1.53)
			37	0.1	2 時	7.47 (0.01)	9.00 (1.73)
			37	0.1	30 日	7.36 (0.01)	8.67 (2.08)
	C2	CD	25	0.1	2 時	7.65 (0.02)	ND[d] (-)
			25	0.01	2 時	7.49 (0.01)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.63 (0.02)	ND (-)
			37	0.1	30 日	7.55 (0.01)	ND (-)
	C3	AA	25	0.1	2 時	10.55 (0.03)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.95 (0.03)	ND (-)
			37	0.1	2 時	10.11 (0.02)	ND (-)
			37	0.1	30 日	9.61 (0.44)	ND (-)
	C4	GD	25	0.1	2 時	10.10 (0.01)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.82 (0.03)	ND (-)
			37	0.1	2 時	9.90 (0.05)	ND (-)
			37	0.1	30 日	8.48 (0.03)	ND (-)
	C5	CAP	25	0.1	2 時	7.55 (0.05)	2.67 (1.15)
			25	0.01	2 時	7.50 (0.04)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.57 (0.02)	3.00 (0.00)
			37	0.1	30 日	7.37 (0.00)	6.00 (3.46)
	C6	CP	25	0.1	2 時	7.51 (0.01)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.52 (0.03)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.54 (0.02)	ND (-)
			37	0.1	30 日	7.30 (0.12)	2.33 (1.53)
	C7	SN	25	0.1	2 時	7.64 (0.05)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.49 (0.05)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.48 (0.01)	2.67 (0.58)
			37	0.1	30 日	7.30 (0.11)	ND (-)

doi:10.6342/NTU201704234

清潔類型[a]	編號	清潔用品名稱	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	接觸時間	pH[b], Mean (SD)	硬度[c], Mean (SD), mg/L
	C8	GY	25	0.1	2 時	7.63 (0.04)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.42 (0.01)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.51 (0.01)	2.33 (1.53)
			37	0.1	30 日	7.45 (0.05)	ND (-)
	C9	TY	25	0.1	2 時	7.51 (0.05)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.47 (0.01)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.44 (0.01)	ND (-)
			37	0.1	30 日	6.16 (0.16)	0.33 (0.58)
	C10	BP	25	0.1	2 時	7.64 (0.03)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.51 (0.13)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.56 (0.06)	ND (-)
			37	0.1	30 日	7.48 (0.02)	ND (-)
	C11	SF	25	0.1	2 時	7.44 (0.02)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.47 (0.04)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.46 (0.02)	1.33 (1.53)
			37	0.1	30 日	7.44 (0.02)	ND (-)
	C12	BS	25	0.1	2 時	7.57 (0.01)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.50 (0.01)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.55 (0.01)	ND (-)
			37	0.1	30 日	7.46 (0.03)	ND (-)

a: 市售雨刷精 (Commercial screenwash, CS)

b: LOD of pH is -2

c: LOD of Hardness is 1 mg/L

d: 無檢出 Not detected

doi:10.6342/NTU201704234

2-2 家用清潔劑之抑菌實驗下物理化學因子

表 77 家用清潔劑於不同水溫及清潔用品濃度下接觸 *L. pneumophila* 於 2 時及 30 日 pH 及硬度結果 (n=3)

清潔類型 [a]	編號	清潔用品名稱	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	接觸時間	pH[b], Mean (SD)	硬度 [c], Mean (SD), mg/L
HD	H1	MB	25	0.1	2 時	11.86 (0.01)	ND[d] (-)
			25	0.01	2 時	8.08 (0.06)	ND (-)
			37	0.1	2 時	11.49 (0.10)	ND (-)
			37	0.1	30 日	10.83 (0.53)	ND (-)
	H2	BL	25	0.1	2 時	7.48 (0.03)	ND (-)
			25	0.01	2 時	8.08 (0.06)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.43 (0.02)	ND (-)
			37	0.1	30 日	7.26 (0.03)	ND (-)
	H3	DW	25	0.1	2 時	8.21 (0.03)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.60 (0.01)	ND (-)
			37	0.1	2 時	8.19 (0.05)	0.33 (0.58)
			37	0.1	30 日	7.97 (0.06)	1.33 (0.58)
	H4	WD	25	0.1	2 時	8.24 (0.05)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.56 (0.03)	ND (-)
			37	0.1	2 時	8.12 (0.05)	ND (-)
			37	0.1	30 日	7.82 (0.09)	ND (-)
	H5	MG	25	0.1	2 時	10.47 (0.01)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.56 (0.03)	ND (-)
			37	0.1	2 時	10.34 (0.02)	ND (-)
			37	0.1	30 日	10.10 (0.03)	ND (-)
	H6	MA	25	0.1	2 時	10.15 (0.03)	ND (-)
			25	0.01	2 時	7.72 (0.04)	ND (-)
			37	0.1	2 時	10.05 (0.10)	ND (-)
			37	0.1	30 日	9.80 (0.02)	ND (-)
	H7	SO	25	0.1	2 時	7.59 (0.02)	3.33 (2.08)
			25	0.01	2 時	7.51 (0.01)	3.00 (2.65)
			37	0.1	2 時	7.75 (0.01)	6.33 (4.04)
			37	0.1	30 日	8.07 (0.03)	1.00 (1.00)
	H8	AM	25	0.1	2 時	7.38 (0.01)	173.33 (10.41)
			25	0.01	2 時	7.52 (0.02)	32.67 (2.52)
			37	0.1	2 時	7.41 (0.03)	186.67 (10.41)
			37	0.1	30 日	7.36 (0.01)	160.00 (22.91)

doi:10.6342/NTU201704234

清潔類型 [a]	編號	清潔用品名稱	水溫 (℃)	清潔用品濃度 (g/mL)	接觸時間	pH[b], Mean (SD)	硬度 [c], Mean (SD), mg/L
	H9	LT	25	0.1	2 時	7.82 (0.03)	3.33 (1.53)
			25	0.01	2 時	7.52 (0.01)	ND (-)
			37	0.1	2 時	7.91 (0.01)	7.00 (3.00)
			37	0.1	30 日	7.86 (0.02)	9.00 (3.00)
	H10	WB	25	0.1	2 時	7.42 (0.01)	9.00 (2.65)
			25	0.01	2 時	7.50 (0.01)	3.00 (1.00)
			37	0.1	2 時	7.36 (0.03)	5.33 (1.53)
			37	0.1	30 日	7.38 (0.04)	7.00 (1.73)

a: 家用清潔劑 (Household detergent, HD)

b: LOD of pH is -2

c: LOD of Hardness is 1 mg/L

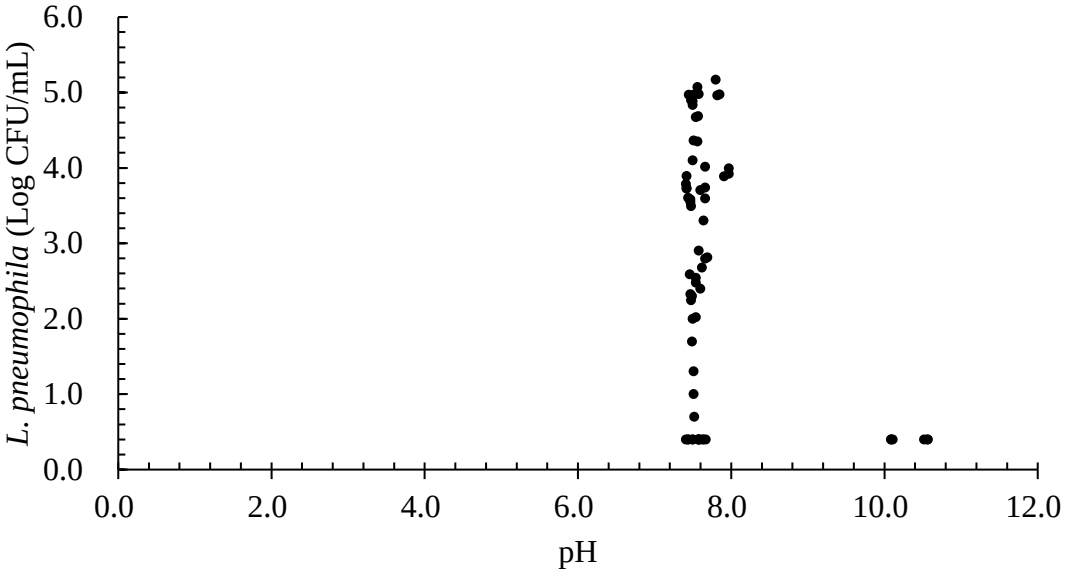
d: 無檢出 Not detected

doi:10.6342/NTU201704234

3. 兩刷水清潔用品於抑菌實驗下之物理化學因子散佈圖

3-1 25℃下市售兩刷精以添加 0.1 及 0.01 g/mL 接觸 2 時之物理化學因子散佈圖

(A)



(B)

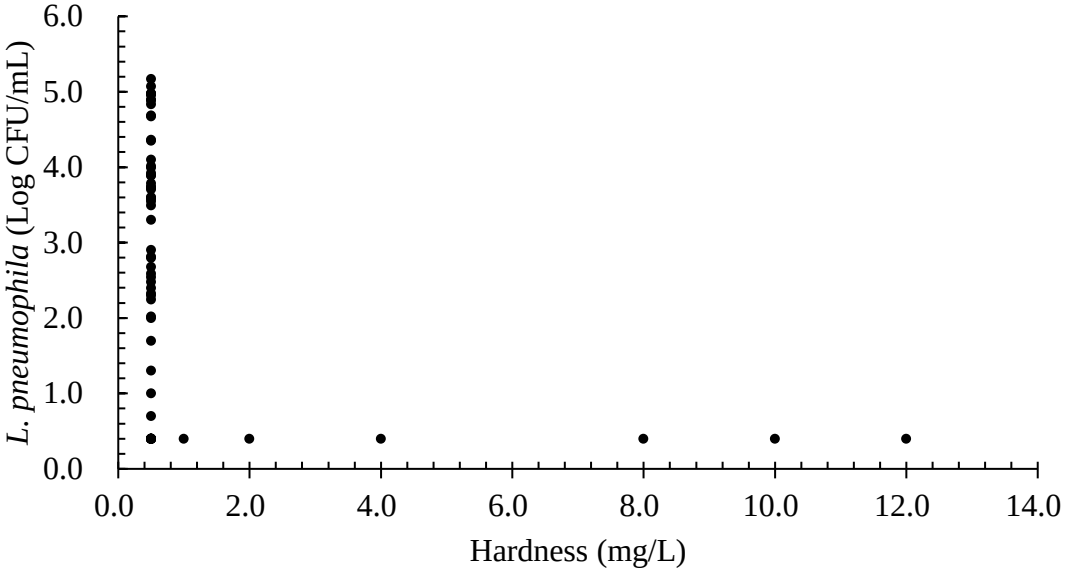
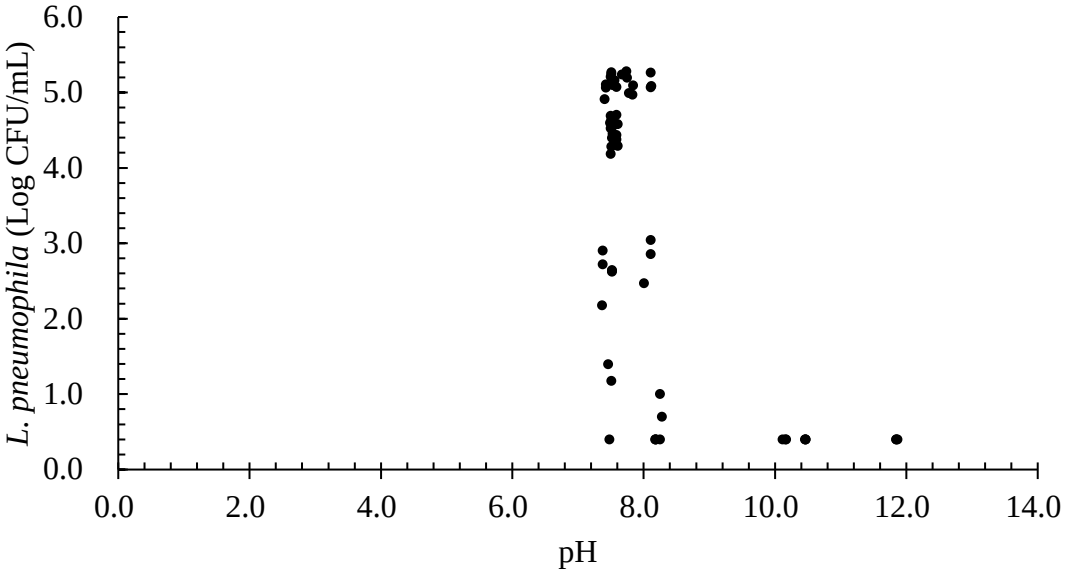


圖 61 25℃下 0.1 及 0.01 g/mL 市售兩刷精接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 2 時之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖

doi:10.6342/NTU201704234

3-2 25℃下家用清潔劑以添加 0.1 及 0.01 g/mL 接觸 2 時之物理化學因子散佈圖

(A)



(B)

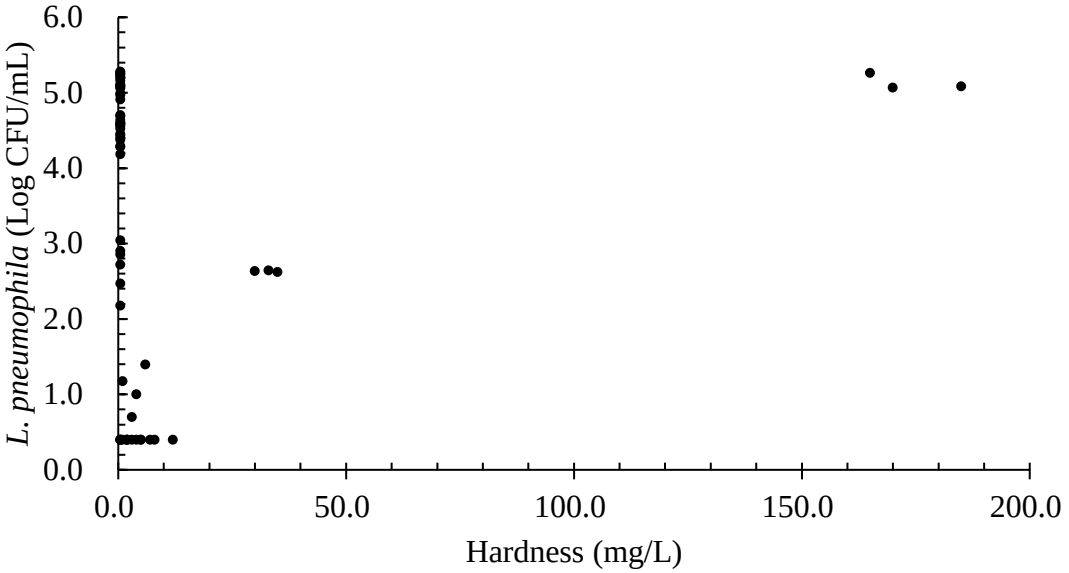
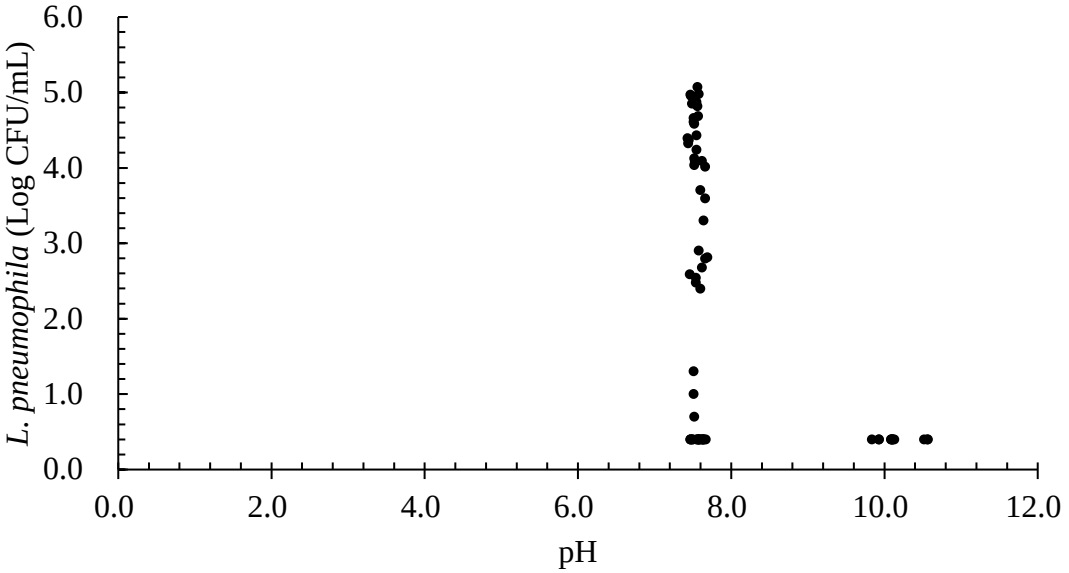


圖 62 25℃下 0.1 及 0.01 g/mL 家用清潔劑接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 2 時之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖

doi:10.6342/NTU201704234

3-3 25 及 37℃下市售雨刷精以添加 0.1 g/mL 接觸 2 時之物理化學因子散佈圖

(A)



(B)

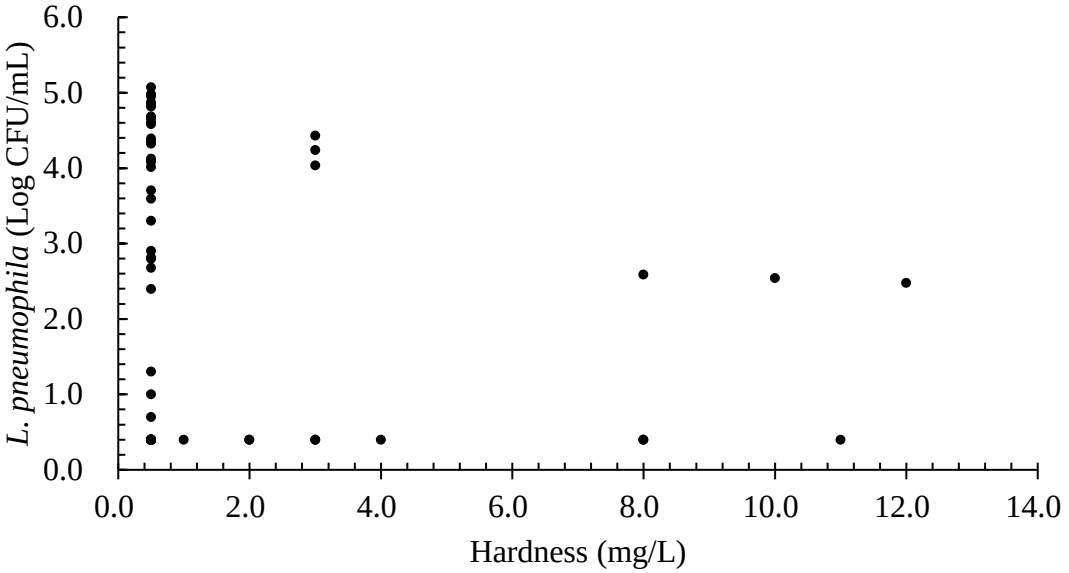
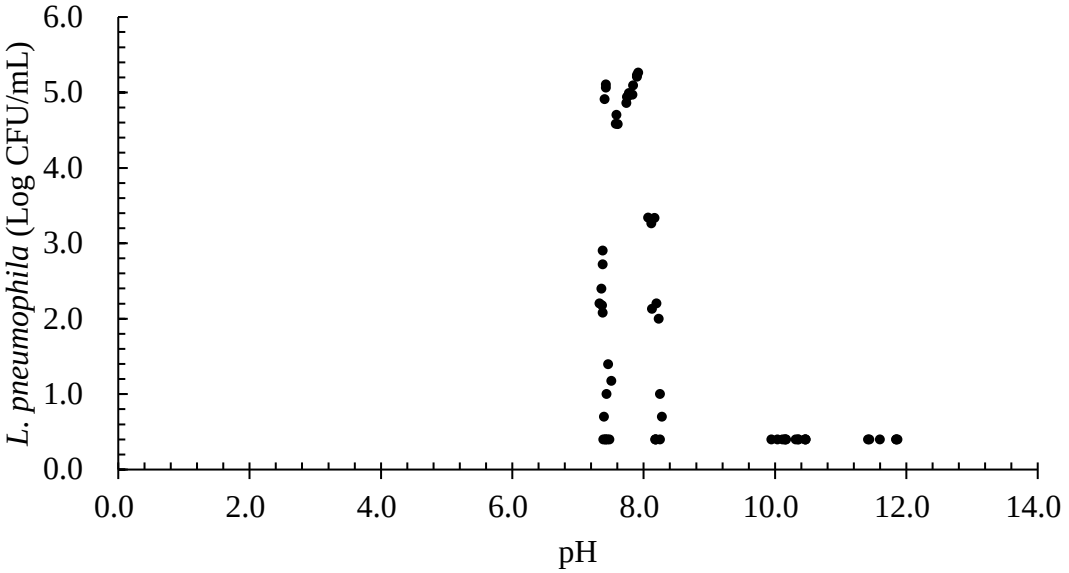


圖 63 25 及 37℃下 0.1 g/mL 市售雨刷精接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 2 時之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖

doi:10.6342/NTU201704234

3-4 25 及 37℃下家用清潔劑以添加 0.1 g/mL 接觸 2 時之物理化學因子散佈圖

(A)



(B)

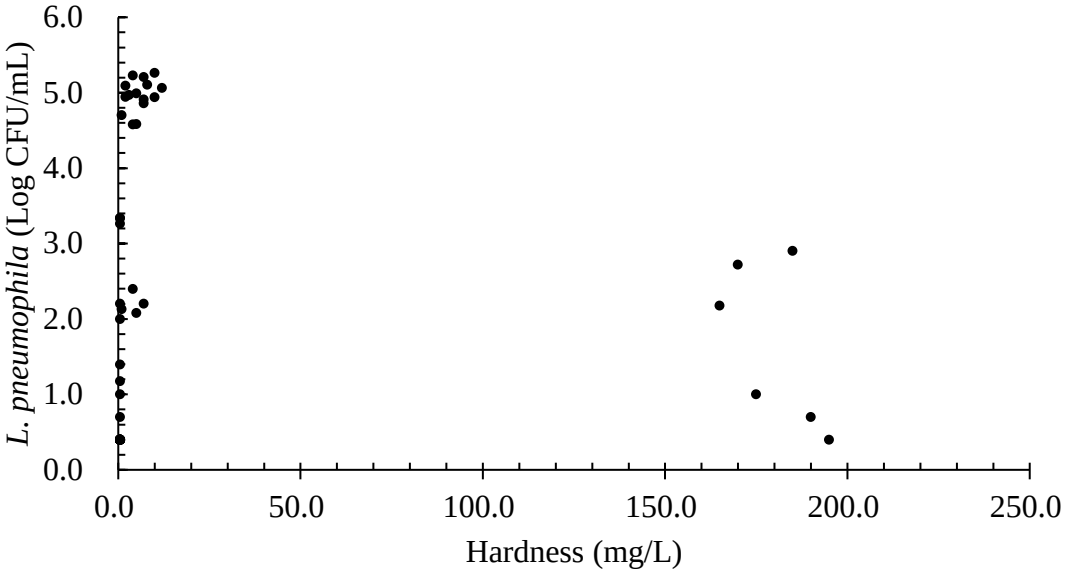
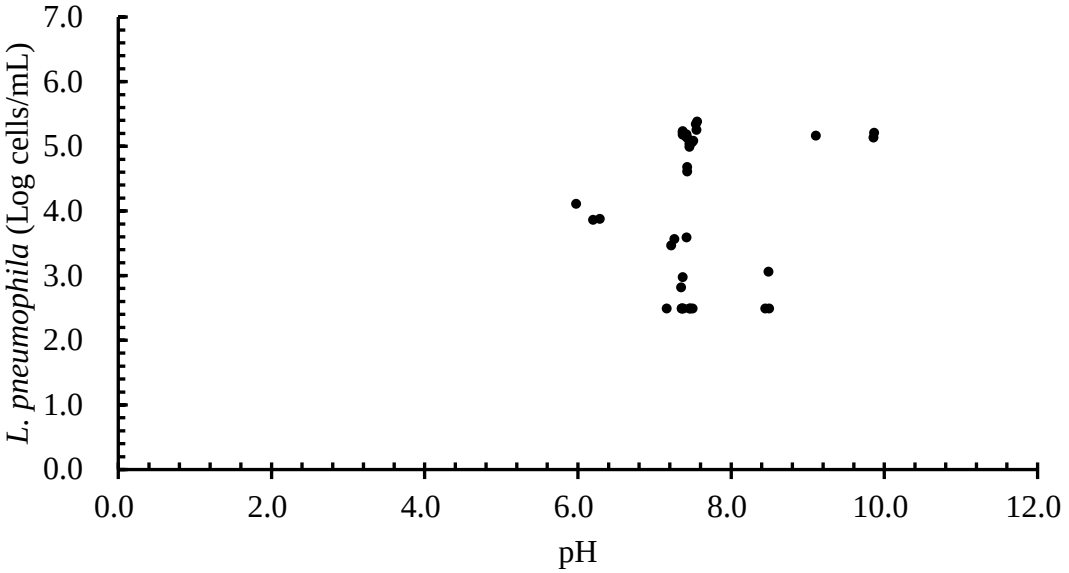


圖 64 25 及 37℃下 0.1 g/mL 家用清潔劑接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 2 時之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖

doi:10.6342/NTU201704234

3-5 37℃下市售兩刷精以添加 0.1 g/mL 接觸 30 日之物理化學因子散佈圖

(A)



(B)

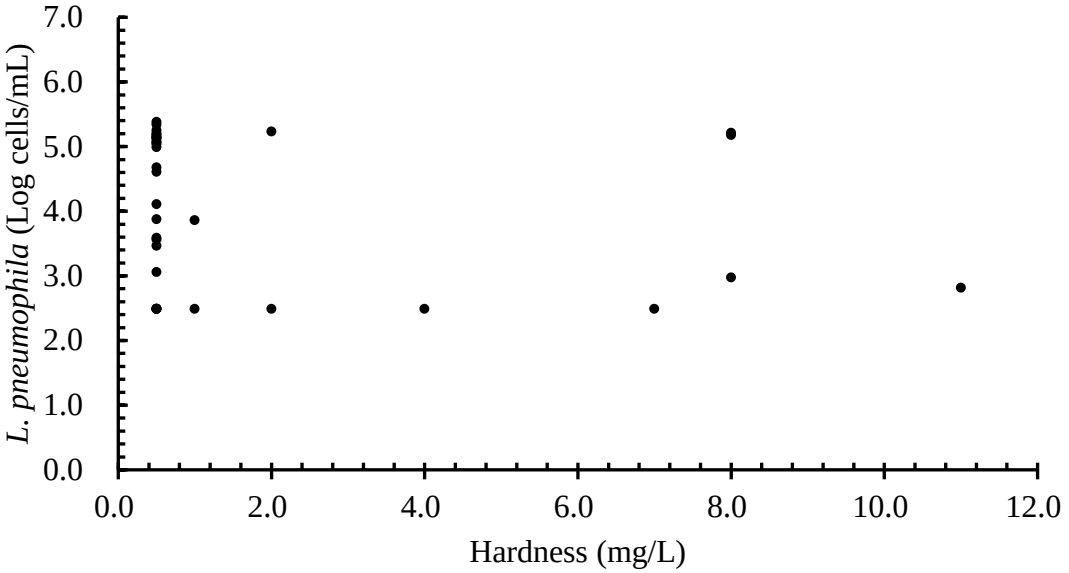
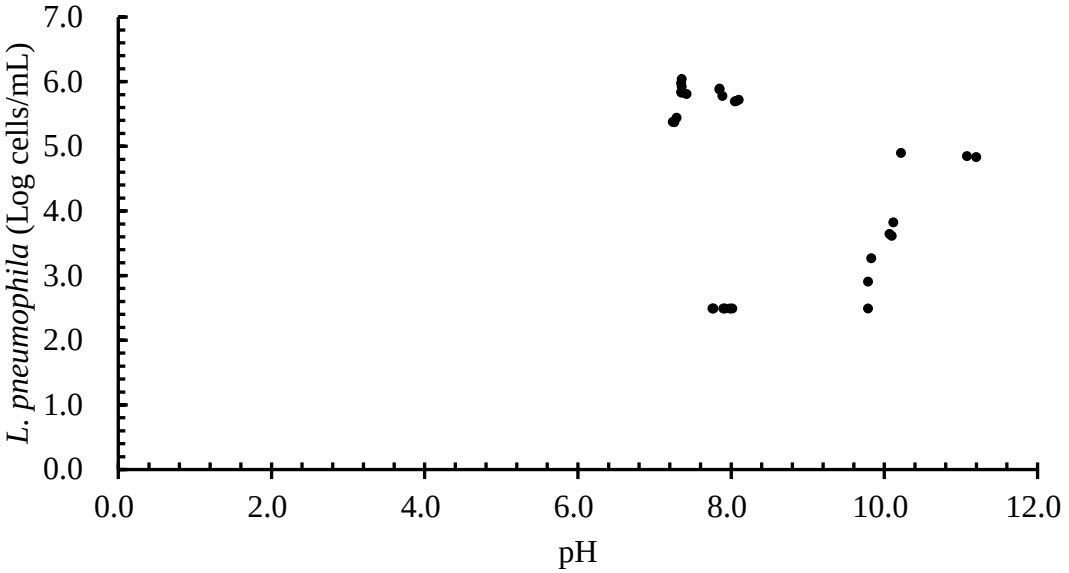


圖 65 37℃下 0.1 g/mL 市售兩刷精接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 30 日之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖

doi:10.6342/NTU201704234

3-5 37℃下家用清潔劑以添加 0.1 g/mL 接觸 30 日之物理化學因子散佈圖

(A)



(B)

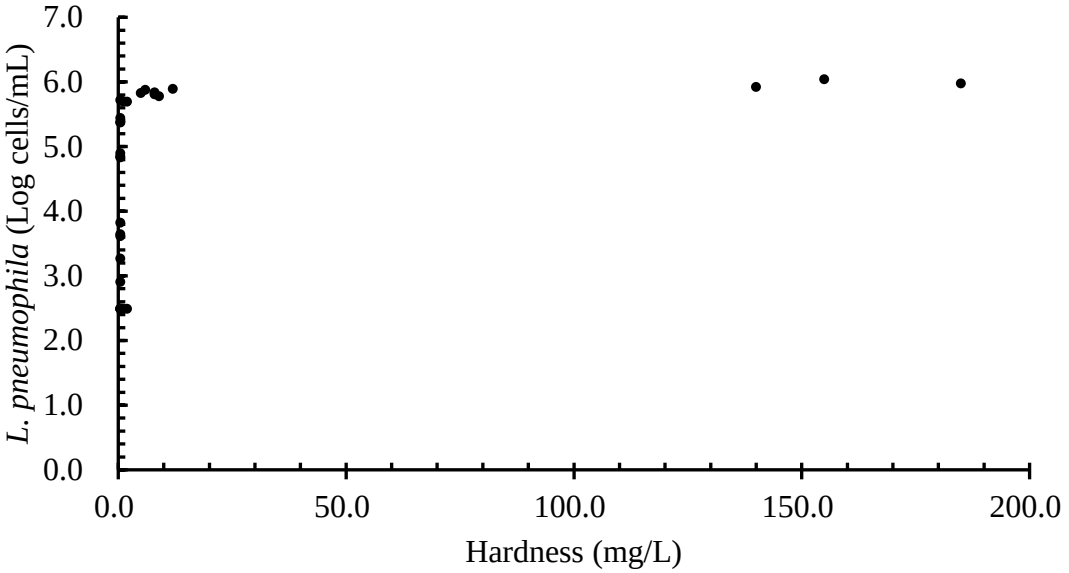


圖 66 37℃下 0.1 g/mL 家用清潔劑接觸可培養性 *L. pneumophila* 於 30 日之物化因子 (A) pH 散佈圖；(B) 硬度散佈圖

doi:10.6342/NTU201704234

參考文獻

Al-Bana, B. H., Haddad, M. T., & Garduño, R. A. (2014). Stationary phase and mature infectious forms of Legionella pneumophila produce distinct viable but non-culturable cells. *Environmental microbiology, 16*(2), 382-395.

Alexandropoulou, I. G., Konstantinidis, T. G., Parasidis, T. A., Nikolaidis, C., Panopoulou, M., & Constantinidis, T. C. (2013). First report of Legionella pneumophila in car cabin air filters. Are these a potential exposure pathway for professional drivers? *Scand J Infect Dis, 45*(12), 948-952. doi:10.3109/00365548.2013.840917

Allegra, S., Grattard, F., Girardot, F., Riffard, S., Pozzetto, B., & Berthelot, P. (2011). Longitudinal evaluation of the efficacy of heat treatment procedures against Legionella spp. in hospital water systems by using a flow cytometric assay. *Applied and Environmental Microbiology, 77*(4), 1268-1275.

Alleron, L., Khemiri, A., Koubar, M., Lacombe, C., Coquet, L., Cosette, P., . . . Frere, J. (2013). VBNC Legionella pneumophila cells are still able to produce virulence proteins. *Water Research, 47*(17), 6606-6617.

Alleron, L., Merlet, N., Lacombe, C., & Frere, J. (2008). Long-term survival of Legionella pneumophila in the viable but nonculturable state after monochloramine treatment. *Curr Microbiol, 57*(5), 497-502. doi:10.1007/s00284-008-9275-9

Bargellini, A., Marchesi, I., Righi, E., Ferrari, A., Cencetti, S., Borella, P., & Rovesti, S. (2011). Parameters predictive of Legionella contamination in hot water systems: association with trace elements and heterotrophic plate counts. *Water Research, 45*(6), 2315-2321.

Becalski, A., & Bartlett, K. H. (2006). Methanol exposure to car occupants from windshield washing fluid: a pilot study. *Indoor Air, 16*(2), 153-157. doi:10.1111/j.1600-0668.2005.00411.x

Belmessieri, D., Gozlan, C., Duclos, M. C., Molinier, V., Aubry, J. M., Dumitrescu, O., . . . Lemaire, M. (2017). Synthesis, surfactant properties and antimicrobial activities of methyl glycopyranoside ethers. *Eur J Med Chem, 128*, 98-106. doi:10.1016/j.ejmech.2017.01.038

Bonetta, S., Bonetta, S., Ferretti, E., Balocco, F., & Carraro, E. (2010). Evaluation of Legionella pneumophila contamination in Italian hotel water systems by quantitative real-time PCR and culture methods. *Journal of applied microbiology, 108*(5), 1576-1583.

Borella, P., Montagna, M. T., Romano-Spica, V., Stampi, S., Stancanelli, G., Triassi,

doi:10.6342/NTU201704234

M., . . . Tatò, D. (2004). Legionella infection risk from domestic hot water. *Emerging infectious diseases, 10*(3), 457.

Borella, P., Montagna, M. T., Stampi, S., Stancanelli, G., Romano-Spica, V., Triassi, M., . . . Napoli, C. (2005). Legionella contamination in hot water of Italian hotels. *Applied and Environmental Microbiology, 71*(10), 5805-5813.

Chang, C. W., Chang, W. L., Chang, S. T., & Cheng, S. S. (2008). Antibacterial activities of plant essential oils against Legionella pneumophila. *Water Res, 42*(1-2), 278-286. doi:10.1016/j.watres.2007.07.008

Chong, C., & Hamersma, B. (1995). Automobile radiator antifreeze and windshield washer fluid as IBA carriers for rooting woody cuttings. *HortScience, 30*(2), 363-365.

Delgado-Viscogliosi, P., Solignac, L., & Delattre, J. M. (2009). Viability PCR, a culture-independent method for rapid and selective quantification of viable Legionella pneumophila cells in environmental water samples. *Appl Environ Microbiol, 75*(11), 3502-3512. doi:10.1128/AEM.02878-08

Den Boer, J. W., Nijhof, J., & Friesema, I. (2006). Risk factors for sporadic community-acquired Legionnaires' disease. A 3-year national case-control study. *Public Health, 120*(6), 566-571. doi:10.1016/j.puhe.2006.03.009

Domingue, E. L., Tyndall, R., Mayberry, W., & Pancorbo, O. (1988). Effects of three oxidizing biocides on Legionella pneumophila serogroup 1. *Applied and Environmental Microbiology, 54*(3), 741-747.

Fatma, N., Panda, M., Kabir ud, D., & Beg, M. (2016). Ester-bonded cationic gemini surfactants: Assessment of their cytotoxicity and antimicrobial activity. *Journal of Molecular Liquids, 222*, 390-394. doi:10.1016/j.molliq.2016.07.044

Fields, B. S. (1996). The molecular ecology of legionellae. *Trends in microbiology, 4*(7), 286-290.

Fields, B. S., Benson, R. F., & Besser, R. E. (2002). Legionella and Legionnaires' Disease: 25 Years of Investigation. *Clinical Microbiology Reviews, 15*(3), 506-526. doi:10.1128/cmr.15.3.506-526.2002

Fragou, K., Kokkinos, P., Gogos, C., Alamanos, Y., & Vantarakis, A. (2012). Prevalence of Legionella spp. in water systems of hospitals and hotels in South Western Greece. *International journal of environmental health research, 22*(4), 340-354.

Furuhata, K., Dogasaki, C., Hara, M., & Fukuyama, M. (2003). Inactivation of Legionella pneumophila from whirlpool bath waters by grapefruit (Citrus paradisi) seed extract. *Biocontrol Science, 8*(3), 129-132.

Gao, Y., Zhou, P., Lin, Y. E., Vidic, R. D., & Stout, J. E. (2001). Efficacy of DBNPA against Legionella pneumophila: experimental results in a model water system. *ASHRAE Transactions, 107*, 184.

doi:10.6342/NTU201704234

Goutziana, G., Mouchtouri, V. A., Karanika, M., Kavagias, A., Stathakis, N. E., Gourgoulianis, K., . . . Hadjichristodoulou, C. (2008). Legionella species colonization of water distribution systems, pools and air conditioning systems in cruise ships and ferries. *BMC public health, 8*(1), 390.

Hsu, B.-M., Chen, C.-H., Wan, M.-T., & Cheng, H.-W. (2006). Legionella prevalence in hot spring recreation areas of Taiwan. *Water Research, 40*(17), 3267-3273.

Huang, S.-W., Hsu, B.-M., Wu, S.-F., Fan, C.-W., Shih, F.-C., Lin, Y.-C., & Ji, D.-D. (2010). Water quality parameters associated with prevalence of Legionella in hot spring facility water bodies. *Water Research, 44*(16), 4805-4811.

Ishikawa, S., Matsumura, Y., Katoh-Kubo, K., & Tsuchido, T. (2002). Antibacterial activity of surfactants against Escherichia coli cells is influenced by carbon source and anaerobiosis. *Journal of applied microbiology, 93*(2), 302-309.

Jackson, M., & Payne, H. (1995). Bittering agents: their potential application in reducing ingestions of engine coolants and windshield wash. *Veterinary and human toxicology, 37*(4), 323-326.

Kao, P.-M., Hsu, B.-M., Hsu, T.-K., Ji, W.-T., Huang, P.-H., Hsueh, C.-J., . . . Huang, Y.-L. (2014). Application of TaqMan fluorescent probe-based quantitative real-time PCR assay for the environmental survey of Legionella spp. and Legionella pneumophila in drinking water reservoirs in Taiwan. *Science of the Total Environment, 490*, 416-421.

Karki, K., & Le Cann, P. (2014). Identification of Environmental Factors Involved in Legionella Development. *International Journal of Interdisciplinary and Multidisciplinary Studies (IJIMS), 2*(2), 120-127.

Kramer, V. C., Calabrese, D. M., & Nickerson, K. (1980). Growth of Enterobacter cloacae in the presence of 25% sodium dodecyl sulfate. *Applied and Environmental Microbiology, 40*(5), 973-976.

Kurtz, J., Bartlett, C., Newton, U., White, R., & Jones, N. (1982). Legionella pneumophila in cooling water systems: report of a survey of cooling towers in London and a pilot trial of selected biocides. *Epidemiology & Infection, 88*(3), 369-381.

Lasheras, A., Boulestreau, H., Rogues, A. M., Ohayon-Courtes, C., Labadie, J. C., & Gachie, J. P. (2006). Influence of amoebae and physical and chemical characteristics of water on presence and proliferation of Legionella species in hospital water systems. *Am J Infect Control, 34*(8), 520-525. doi:10.1016/j.ajic.2006.03.007

Leoni, E., De Luca, G., Legnani, P. P., Sacchetti, R., Stampi, S., & Zanetti, F. (2005). Legionella waterline colonization: detection of Legionella species in domestic, hotel and hospital hot water systems. *J Appl Microbiol, 98*(2), 373-379.

doi:10.6342/NTU201704234

doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02458.x

Liang, K.-Y., & Zeger, S. L. (1986). Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika, 73*(1), 13-22.

Majtan, V., & Majtanova, L. (2000). Effect of quaternary ammonium salts and amine oxides on the surface hydrophobicity of Enterobacter cloacae. *CHEMICAL PAPERS-SLOVAK ACADEMY OF SCIENCES, 54*(1), 49-52.

Molofsky, A. B., & Swanson, M. S. (2004). Differentiate to thrive: lessons from the Legionella pneumophila life cycle. *Mol Microbiol, 53*(1), 29-40. doi:10.1111/j.1365-2958.2004.04129.x

Mouchtouri, V., Velonakis, E., Tsakalof, A., Kapoula, C., Goutziana, G., Vatopoulos, A., . . . Hadjichristodoulou, C. (2007). Risk factors for contamination of hotel water distribution systems by Legionella species. *Appl Environ Microbiol, 73*(5), 1489-1492. doi:10.1128/AEM.02191-06

Muder, R. R., Victor, L. Y., & Woo, A. H. (1986). Mode of transmission of Legionella pneumophila: a critical review. *Archives of internal medicine, 146*(8), 1607-1612. Retrieved from http://archinte.jamanetwork.com/data/journals/intemed/16859/archinte_146_8_030.pdf

Muraca, P., Stout, J. E., & Yu, V. L. (1987). Comparative assessment of chlorine, heat, ozone, and UV light for killing Legionella pneumophila within a model plumbing system. *Applied and Environmental Microbiology, 53*(2), 447-453.

Ohno, A., Kato, N., Yamada, K., & Yamaguchi, K. (2003). Factors Influencing Survival of Legionella pneumophila Serotype 1 in Hot Spring Water and Tap Water. *Applied and Environmental Microbiology, 69*(5), 2540-2547. doi:10.1128/aem.69.5.2540-2547.2003

Palmer, M. E., Longmaid, K., Lamph, D., Willis, C., Heaslip, V., & Khattab, A. (2012). Legionella pneumophila found in windscreen washer fluid without added screenwash. *European journal of epidemiology, 27*(8), 667-667.

Paszko-Kolva, C., Yamamoto, H., Shahamat, M., Sawyer, T., Morris, G., & Colwell, R. (1991). Isolation of amoebae and Pseudomonas and Legionella spp. from eyewash stations. *Applied and Environmental Microbiology, 57*(1), 163-167.

Polat, Y., Ergin, C., Kaleli, I., & Pinar, A. (2007). Investigation of Legionella pneumophila seropositivity in the professional long distance drivers as a risky occupation. *Mikrobiyoloji bulteni, 41*(2), 211-217.

Qin, T., Yan, G., Ren, H., Zhou, H., Wang, H., Xu, Y., . . . Shao, Z. (2013). High prevalence, genetic diversity and intracellular growth ability of Legionella in hot spring environments. *PLoS ONE, 8*(3), e59018.

Rakić, A., & Štambuk-Giljanović, N. (2016). Physical and chemical parameter

doi:10.6342/NTU201704234

correlations with technical and technological characteristics of heating systems and the presence of Legionella spp. in the hot water supply. *Environmental monitoring and assessment, 188*(2), 73.

Rasmussen, R. (2001). Quantification on the LightCycler. *Rapid cycle real-time PCR, methods and applications, 1*, 21-34.

Sakamoto, R., Ohno, A., Nakahara, T., Satomura, K., Iwanaga, S., Kouyama, Y., . . . Yamaguchi, K. (2009). Is driving a car a risk for Legionnaires' disease? *Epidemiol Infect, 137*(11), 1615-1622. doi:10.1017/S0950268809002568

Salager, J.-L. (2002). Surfactants types and uses.

Schulze-Röbbecke, R., Rödder, M., & Exner, M. (1987). Multiplication and killing temperatures of naturally occurring legionellas. *Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Serie B, Umwelthygiene, Krankenhaushygiene, Arbeitshygiene, praventive Medizin, 184*(6), 495-500.

Schwake, D. O., Alum, A., & Abbaszadegan, M. (2015). Automobile windshield washer fluid: A potential source of transmission for Legionella. *Sci Total Environ, 526*, 271-277. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.03.122

Shih, H.-Y., & Lin, Y. E. (2010). Efficacy of copper-silver ionization in controlling biofilm-and plankton-associated waterborne pathogens. *Applied and Environmental Microbiology, 76*(6), 2032-2035.

Shukla, D., & Tyagi, V. (2006). Cationic gemini surfactants: a review. *Journal of oleo science, 55*(8), 381-390.

Thomas, W. M., Eccles, J., & Fricker, C. (1999). Laboratory observations of biocide efficiency against Legionella in model cooling tower systems. *ASHRAE Transactions, 105*, 607.

Tsuchido, T., Ahn, Y.-H., & Takano, M. (1987). Lysis of Bacillus subtilis cells by glycerol and sucrose esters of fatty acids. *Applied and Environmental Microbiology, 53*(3), 505-508.

Turetgen, I. (2008). Induction of Viable but Nonculturable (VBNC) state and the effect of multiple subculturing on the survival ofLegionella pneumophila strains in the presence of monochloramine. *Annals of microbiology, 58*(1), 153-156.

Walker, J., Mackerness, C., Mallon, D., Makin, T., Williets, T., & Keevil, C. (1995). Control ofLegionella pneumophila in a hospital water system by chlorine dioxide. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 15*(4), 384-390.

Wallensten, A., Oliver, I., Ricketts, K., Kafatos, G., Stuart, J. M., & Joseph, C. (2010). Windscreen wiper fluid without added screenwash in motor vehicles: a newly identified risk factor for Legionnaires' disease. *Eur J Epidemiol, 25*(9), 661-665. doi:10.1007/s10654-010-9471-3

Yu-sen, E. L., Vidic, R. D., Stout, J. E., & Victor, L. Y. (2002). Negative effect of high

doi:10.6342/NTU201704234

pH on biocidal efficacy of copper and silver ions in controlling Legionella pneumophila. *Applied and Environmental Microbiology, 68*(6), 2711-2715.

Zanetti, F., Stampi, S., De Luca, G., Fateh-Moghadam, P., Bucci Sabattini, M. A., & Checchi, L. (2000). Water characteristics associated with the occurrence of Legionella pneumophila in dental units. *European journal of oral sciences, 108*(1), 22-28.

Zhu, X., Wu, D., Wang, W., Tan, F., Wong, P. K., Wang, X., . . . Qiao, X. (2016). Highly effective antibacterial activity and synergistic effect of Ag-MgO nanocomposite against Escherichia coli. *Journal of Alloys and Compounds, 684*, 282-290. doi:10.1016/j.jallcom.2016.05.179

王鳳英. (1993). 界面活性劑的原理與應用，再版，高立圖書公司，臺北.

徐藝瑋. (2015). 車輛空調與雨刷水系統退伍軍人菌污染調查.

許正忠，賴齡，陳惠章，陳瑤瓊，郭曉文，王依婷，. . . 鄭守訓. (2011). 市售食品用洗潔劑砷，壬基酚類界面活性劑及螢光增白劑含量調查. *Ann. Rept. Food Drug Res*, *2*, 201-205.

許雅婷. (2012). 大台北都會區車輛雨刷水之退伍軍人菌汙染調查.

楊雁婷. (2009). 市售清潔劑清潔效能研究.

doi:10.6342/NTU201704234

口委問題回覆

一、余國賓老師

No	問題	回覆
1	你的研究雖然都是先以清潔用品品牌做區分、接觸時間等等，但像其他因子(如 pH 值、硬度、導電度……)，卻需要分開跑，是否用 mix model 去探討較合適？	謝謝老師的問題，主要是本研究樣本特性屬於重複性測量，而物理化學特性的測量僅有一次性，故不適合合併做統計分析。
2	你的研究將 pH 值跟硬度以連續變項進行統計分析，是否用連續變項跑看看比較合適？	謝謝老師的建議，後續會再與老師討論，觀察兩者類型結果何者適合做為描述本研究的統計意義。
3	Q1:為何後續抑菌實驗時並沒有測量導電度、TDS 及濁度? Q2:添加 PBS 是否會對原本的清潔用品 pH 值有影響？	A1:謝謝老師的問題，本研究進行前測時發現，所用之 PBS 緩衝液會是主要貢獻這些物理化學特性結果的數值，故無法以這三項去做後續統計分析處理。 A2:PBS 的確是作為一個中性的緩衝溶液，故一些清潔用品屬於弱酸的結果給轉變為中性，但是仍有部分清潔用品的鹼性特性是有顯現出來的，故依照每個清潔用品係以 PBS 作為基底質的情況下，視為可以以統計分析去做比較。
4	因為你的研究所探討的水溫是固定的，但現實生活上，溫度並非一直控制於一定的溫度，是否在現實生活上，使影響清潔用品對微生物的反應也有所不同，是否可以用本研究的結	謝謝老師的問題，目前本研究結果較難以說明於變動性水溫下，清潔用品是否能依然如其抑菌特性，這是可以作為未來的研究建議，可去執行研究並作探討。

doi:10.6342/NTU201704234

	果外推？	
5	每個時間都有一個 Beta 值會有點複雜，建議使用 Kinetics value，來表示該清潔用品同時包含濃度及時間點下去說明對微生物的影響。	謝謝老師的指點，後續會修正及補上。
6	為什麼統計結果所使用兩顆星星要設到 0.0001，統計值是否過小？	謝謝老師的問題，這部分主要是 SAS 跑廣義估計方程式後的報表結果，其統 P-value 會顯示 0.0001，而本研究是以 P-value 為 0.05 作為具統計意義，故以 0.05 及報表結果分別標示一顆星及兩顆星。
7	荷蘭的研究(表 2)95% CI 包含 OR 值，可能會有點爭議，可以考慮不要納進來。	謝謝老師的建議，後續會修正。
8	P.149 第三段內容表格編號未填上，請補上。	謝謝老師的指點，後續會修正。
9	做的成果很多~~值得肯定!!	謝謝老師的肯定。

doi:10.6342/NTU201704234

二、林莞俞老師

No	問題	回覆
1	p.60 統計分析方法，請將模式改成為”廣義估計方程式”	謝謝老師的建議，後續會修正。
2	統計分析方法沒有引用文獻，請補上	謝謝老師的建議，後續會修正。
3	解釋為何使用廣義估計方程式的方法？為何不能使用無母數的方法？因為有長期追蹤實驗、相依性的資料，而無母數的要求為樣本是獨立的特性	謝謝老師的指點，後續會修正。
4	常態分布的檢定請補充看的是哪一種常態分布(SAS)	謝謝老師的建議，後續會修正。
5	建議使用迴歸模式檢視 pH 及硬度是否有共線性的問題。	謝謝老師的建議，主要是以樣本特性的散佈圖做為觀察共線性的問題，未來會將膨脹係數補上。

doi:10.6342/NTU201704234