

藥物食品簡訊

月刊

王金茂題

第 345 期

日期：民國 98 年 9 月 20 日

發行人：簡俊生 出版者：行政院衛生署藥物食品檢驗局 地址：臺北市南港區昆陽街 161-2 號
電話：(02) 26531318 網址：<http://www.nlfd.gov.tw> 工本費：10 元

98 年 8 月

市售禽畜產品

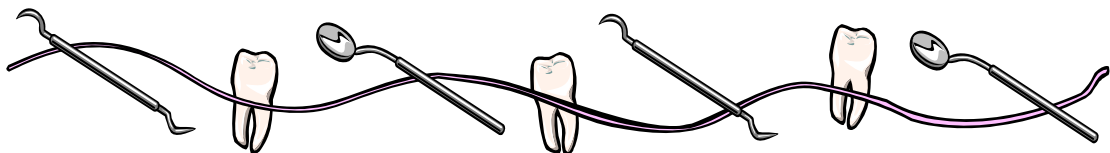
殘留動物用藥監測檢驗

結果全部合格



為維護民眾食用禽畜產品之安全，衛生署藥物食品檢驗局與衛生局聯合分工檢驗體系負責動物用藥檢驗局共同合作，執行 98 年度市售食品中殘留動物用藥監測，8 月共抽驗禽畜產品 41 件。檢驗結果皆符合規定，合格率 100%。

本局將持續執行各類食品衛生安全之把關工作，同時秉持資訊公開原則，提供不合格食品資訊，作為民眾選購食品之參考，以保障消費者日常生活之飲食安全與知的權利。



98 年 7 月

市售農產品

殘留農藥檢驗結果(二)



衛生署藥物食品檢驗局與衛生局聯合分工檢驗體系負責農藥檢驗室共同合作，執行 98 年度市售農產品殘留農藥監測計畫。7 月份第二次檢驗共抽驗農產品 138 件。結果有 125 件（合格率 90.6%）符合規定，不合格農產品檢出情形及採樣地點（如下表），已立即通知衛生局追查來源，並依法進行後續處理。

1. 紅菜 1 件：福瑞松(phorate) 3.81 ppm (容許量 0.05 ppm)，花蓮縣。
2. 葡萄 1 件：可尼丁(clothianidin) 0.26 ppm (不得檢出)及賽速安(thiamethoxam) 0.06 ppm (不得檢出)，基隆市。
3. A 菜 1 件：亞滅培(acetamiprid) 0.02 ppm (不得檢出)，桃園縣。
4. 油菜 1 件：芬普尼(fipronil) 0.02 ppm (不得檢出)，連江縣。
5. 小黃瓜 1 件：亞滅培(acetamiprid) 0.03 ppm (不得檢出)及賽速安 (thiamethoxam) 0.04 ppm (不得檢出)，新竹市。
6. 敏豆 1 件：亞托敏(azoxystrobin) 0.03 ppm (不得檢出)，新竹市。
7. 空心菜 1 件：達滅芬 (dimethomorph) 0.48 ppm (不得檢出)及賓克隆(pencycuron) 3.61 ppm (容許量 2.5 ppm)，台南市。
8. 水耕 A 菜 1 件：滅普寧(mepromil) 0.95 ppm (不得檢出)，新竹縣。
9. 黑格藍 1 件：貝芬替(carbendazim) 1.79 ppm (容許量 1.0 ppm)及達滅芬(dimethomorph) 2.0 ppm (容許量 0.5 ppm)，澎湖縣。
10. 胡瓜 1 件：亞滅培(acetamiprid) 0.03 ppm (不得檢出)，台南縣。
11. 萵苣 1 件：亞滅培(acetamiprid) 0.08 ppm (不得檢出)，高雄市。
12. 青江菜 1 件：達滅芬(dimethomorph) 0.80 ppm (容許量 0.5 ppm)，高雄市。
13. 黃椒 1 件：亞滅培 (acetamiprid) 0.05 ppm (不得檢出)，高雄市。

食品微生物之檢驗方法

金黃色葡萄球菌之檢驗

1. 適用範圍：本方法適用於食品中金黃色葡萄球菌及其腸毒素 (enterotoxins) 之檢驗。
2. 檢驗方法
 - 2.1. 工作環境：工作平台須寬敞、潔淨、光線良好，操作平台光度為 100 呎燭光以上，密閉室內換氣良好，儘可能沒有灰塵及流動空氣。每 15 分鐘落菌數不得超過 15 CFU/培養皿。
 - 2.2. 器具及材料
 - 2.2.1. 乾熱滅菌器。
 - 2.2.2. 高壓滅菌釜。
 - 2.2.3. 冰箱：能維持 $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 者。
 - 2.2.4. 培養箱：能維持內部溫度溫差 $\pm 1.0^{\circ}\text{C}$ 以內者。
 - 2.2.5. 水浴：能維持水溫溫差 $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 以內者。
 - 2.2.6. 攪拌均質器 (Blender) 或鐵胃 (Stomacher)：能適用於無菌操作者。
 - 2.2.7. 天平：可稱量到 2000 g，靈敏度為 0.1 g；可稱量到 120 g，靈敏度為 5 mg。
 - 2.2.8. 顯微鏡：能放大至 1000 倍之一般光學顯微鏡。
 - 2.2.9. 旋渦混合器 (Vortex mixer)。
 - 2.2.10. 離心機：轉速可達 3000 rpm 以上。
 - 2.2.11. pH 測定儀。
 - 2.2.12. 加熱器。
 - 2.2.13. 吸管輔助器 (Pipette aid)。
 - 2.2.14. 微量吸管 (Micropipette)：10 μL 、20 μL 、200 μL 及 1000 μL 。
 - 2.2.15. 吸管 (Pipette)：已滅菌。1 mL 吸管應有 0.01 mL 之刻度、5 及 10 mL 吸管應有 0.1 mL 刻度。
 - 2.2.16. 吸管尖 (Tip)：可滅菌。10 μL 、20 μL 、200 μL 及 1000 μL 。
 - 2.2.17. 培養皿：已滅菌，內徑約 90 mm，深度約 15 mm，底皿之內外面應平坦，無氣泡、刮痕或其他缺點。
 - 2.2.18. 稀釋用容器：無菌袋或有 1000 mL、500 mL、99 mL 及 90 mL 標記附蓋(栓)之可滅菌廣口瓶。
 - 2.2.19. 試管：10 \times 100 mm，13 \times 100 mm 試管或其他適用者。

- 2.2.20. 無菌濾膜：孔徑 0.45 μm 或以下之親水性醋酸纖維濾膜。
- 2.2.21. 無菌棉花棒或塗抹棒。
- 2.2.22. 載玻片及蓋玻片：適用於染色及鏡檢者。
- 2.2.23. 接種針及接種環（直徑約 3 mm）：鎳鉻合金，鉑鈦或鉻線材質，或可拋棄式者。
- 2.2.24. 藥勺、剪刀、小刀、壓舌板及鑷子：可滅菌或可拋棄式者。
- 2.2.25. 塗抹曲棒：可滅菌者，直徑 3 ~ 4 mm，塗抹區域 45 ~ 55 mm。
- 2.2.26. 試藥：氯化鈉、磷酸二氫鈉 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、無水磷酸氫二鈉 (Na_2HPO_4)、30%過氧化氫溶液、乙二胺四醋酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、結晶紫 (crystal violet)、碘化鉀、草酸銨、碘、沙黃 O (safranin O)、氫氧化鈉、磷酸二氫鉀 ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、亞碲酸鉀 (potassium tellurite)、葡萄糖、甘露糖醇 (mannitol)、丙酮酸鈉 (sodium pyruvate)、液態石蠟油或礦物油及乙醇等均採用化學試藥級。蛋白脛、溶菌素 (lysozyme) 及凝固酶血漿(兔來源，經 EDTA 處理)採用微生物級。
- 2.2.27. 試劑
- 2.2.27.1. 3%過氧化氫溶液：取 30%過氧化氫溶液 1 mL 加蒸餾水使成 10 mL，使用時新鮮配製。
- 2.2.27.2. 1%亞碲酸鉀溶液：取亞碲酸鉀 1 g 溶於蒸餾水 100 mL，稍加熱，使其完全溶解(當有白色不溶物存在，則表示此亞碲酸鉀粉末已不可使用)，溶液經 0.22 μm 孔徑濾膜過濾，貯存於冰箱中備用，當有白色沉澱產生即不可使用，使用期限以不超過 1 個月為宜。
- 2.2.27.3. 含 1%氯化鈉之 0.02 M 磷酸鹽緩衝溶液
溶液 A：取無水磷酸氫二鈉 28.4 g 及氯化鈉 100 g 溶於蒸餾水中，使成為 1000 mL，混勻。續取混合液 50 mL，加蒸餾水使成 500 mL，混勻，備用。
溶液 B：取磷酸二氫鈉 27.6 g 及氯化鈉 100 g 溶於蒸餾水中，使成為 1000 mL，混勻。續取混合液 10 mL 加蒸餾水使成 100 mL，混勻，備用。
將溶液 B 徐徐加至溶液 A 中，攪拌均勻，直至 pH 值為 7.3 ~ 7.4，即為含 1%氯化鈉之 0.02 M 磷酸鹽緩衝溶液。
- 2.2.27.4. 溶菌素溶液：取溶菌素 2 mg 溶於 2.2.28.3 節之含 1%氯化鈉之 0.02 M 磷酸鹽緩衝溶液 40 mL，取適量分裝後，冷凍保存，使用期限以不超過 3 星期為宜。
- 2.2.27.5. 液態石蠟油或礦物油：取液態石蠟油或礦物油 20 ~ 50 mL，裝入附蓋容器中約 1/2 滿，以 121 $^{\circ}\text{C}$ 滅菌 30 分鐘。
- 2.2.27.6. 革蘭氏染色液 (Gram stain solution)^(註)
- 2.2.27.6.1. 哈克氏 (Hucker's) 結晶紫液 (初染劑)

溶液 A：取結晶紫 2 g 溶於 95%乙醇 20 mL。

溶液 B：取草酸銨 0.8 g 溶於蒸餾水 80 mL。

將溶液 A 與溶液 B 混合，靜置 24 小時後以濾紙過濾，取濾液作為初染劑。

2.2.27.6.2. 革蘭氏碘液 (媒染劑)

取碘化鉀 2 g 及碘 1 g 置於研鉢中，經研磨 5~10 秒，加蒸餾水 1 mL 研磨，次加蒸餾水 5 mL 研磨，再加蒸餾水 10 mL，研磨至碘化鉀和碘完全溶於蒸餾水中，將此溶液注入褐色瓶中，再以適量蒸餾水洗滌研鉢及杵後，以此洗液併入，使溶液達 300 mL。

2.2.27.6.3. 哈克氏複染液 (複染劑)

取沙黃 O 2.5 g 溶於 95%乙醇 100 mL，供作複染原液。使用時，取原液 10 mL 加入蒸餾水 90 mL，作為複染液。

註：革蘭氏染色液因放久可能失效，因此若購買成品時，要注意其保存期限；自行配製者，應檢查其染色效果。

2.2.28. 稀釋液

2.2.28.1. 生理食鹽水：取氯化鈉 8.5 g 溶於蒸餾水 1000 mL 中，分裝於稀釋用容器中，經 121°C 滅菌 15 分鐘。

2.2.28.2. 磷酸鹽緩衝液 (Butterfield's phosphate-buffered dilution water)：取磷酸二氫鉀 34 g 溶於蒸餾水 500 mL 中，以 1 N 氫氧化鈉溶液調 pH 值為 7.2，再加蒸餾水使成 1000 mL，以 121°C 滅菌 15 分鐘，貯存於冰箱中，作為原液備用。使用時，取原液 1.25 mL 加入蒸餾水至 1000 mL，分裝於稀釋用容器中，以 121°C 滅菌 15 分鐘。

2.2.28.3. 0.1%蛋白胨稀釋液 (0.1% peptone diluent)：取蛋白胨 1 g 溶於蒸餾水，使成為 1000 mL，分裝於稀釋用容器中，經 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.0 ± 0.1。

2.2.28.4. 蛋白胨緩衝液 (Buffered peptone water)：取蛋白胨 10 g，氯化鈉 5 g，無水磷酸氫二鈉 3.5 g，磷酸二氫鉀 1.5 g 溶於蒸餾水，使成為 1000 mL，分裝於稀釋用容器中，經 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.2 ± 0.2。

2.2.29. 培養基

2.2.29.1. 巴德派克培養基 (Baird-Parker medium, BP)

基礎培養基 (basal medium)

胰化蛋白胨 (tryptone)	10 g
牛肉抽出物 (beef extract)	5 g
酵母抽出物 (yeast extract)	1 g
丙酮酸鈉 (sodium pyruvate)	10 g
甘胺酸 (glycine)	12 g

氯化鋰 (LiCl · 6H ₂ O)	5 g
洋菜 (agar)	20 g
蒸餾水	950 mL

加熱溶解後以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.0 ± 0.2。蛋黃亞碲酸鹽強化培養液 (egg yolk tellurite enrichment, EYT)

蛋洗淨後，浸入 70% 乙醇溶液中 1 小時。以無菌操作，取出蛋黃加入無菌生理食鹽水，以體積 3 : 7 之比例混合攪拌均勻後，取 50 mL 加入經 0.45 μm 孔徑濾膜過濾之 1% 亞碲酸鉀溶液 10 mL，混合均勻後貯存於冰箱中備用。

完全培養基 (complete medium)

將基礎培養基冷卻至 45 ~ 50°C 時加入 EYT，以體積 95 : 5 之比例混合均勻。培養基注入培養皿前，應搖動混合使絮狀沈澱物分散均勻，搖動時應避免產生氣泡，每一培養皿約倒入 15 ~ 20 mL，凝固後呈不透明，使用前應使表面乾燥。製備好之培養基置於 20 ~ 25°C，使用期限以不超過 5 天為宜。

2.2.29.2. 腦心浸出物培養液 (Brain heart infusion broth, BHI)

牛腦浸出物 (calf brain infusion)	200 g
牛心浸出物 (beef heart infusion)	250 g
胰蛋白胨 (proteose peptone)	10 g
氯化鈉 (NaCl)	5 g
磷酸氫二鈉 (Na ₂ HPO ₄)	2.5 g
葡萄糖 (dextrose)	2 g
蒸餾水	1000 mL

加熱溶解後，分裝於試管中，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.4 ± 0.2。

2.2.29.3. 胰化酪蛋白大豆培養基 (Trypticase soy agar, TSA)

胰化酪蛋白胨 (trypticase peptone)	15 g
植物蛋白胨 (phytone peptone)	5 g
氯化鈉 (NaCl)	5 g
洋菜 (agar)	15 g
蒸餾水	1000 mL

加熱溶解後，分裝於試管或三角瓶內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.3 ± 0.2，分裝於試管者作成斜面培養基。

2.2.29.4. 酚紅碳水化合物培養液 (Phenol red carbohydrate broth)

胰化酪蛋白胨 (trypticase peptone)	10 g
-----------------------------	------

牛肉抽出物 (beef extract)	1 g
酚紅 (phenol red)	0.018 g
氯化鈉 (NaCl)	5 g
蒸餾水	1000 mL

取葡萄糖或甘露醇 5 g 加入上述之培養液中，加熱溶解後，分裝於試管或三角瓶內，以 118°C 滅菌 10 分鐘後立即冷卻，最終 pH 值為 7.4 ± 0.2 。

2.2.29.5. 甲苯胺藍去氧核糖核酸培養基 (Toluidine blue deoxyribonucleic acid agar, TDNA)

去氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid)	0.3 g
氯化鈣 (CaCl ₂ , anhydrous)	1.1 mg
氯化鈉 (NaCl)	10 g
甲苯胺藍 O (toluidine blue O)	0.083 g
三甲醇胺基甲烷 [tris(hydroxymethyl) aminomethane]	6.1 g
洋菜 (agar)	10 g
蒸餾水	1000 mL

先將三甲醇胺基甲烷溶解於蒸餾水 1000 mL 中，調整 pH 值至 9.0 後，加入甲苯胺藍 O 除外之其他成分，加熱使之完全溶解，再加入甲苯胺藍 O，混合均勻，分裝於螺蓋試管中，貯存於冰箱中備用。置於室溫時，其貯存時間以不超過 4 個月為宜。使用前，先行加熱溶解，取 3 mL 滴於載玻片 (76×26 mm) 上，俟凝固後作成數個 2 mm 直徑之凹洞備用。

2.2.29.6. 胰化酪蛋白大豆培養液 (含 10% 氯化鈉及 1% 丙酮酸鈉) (Trypticase soy broth (TSB) with 10% NaCl and 1% sodium pyruvate)

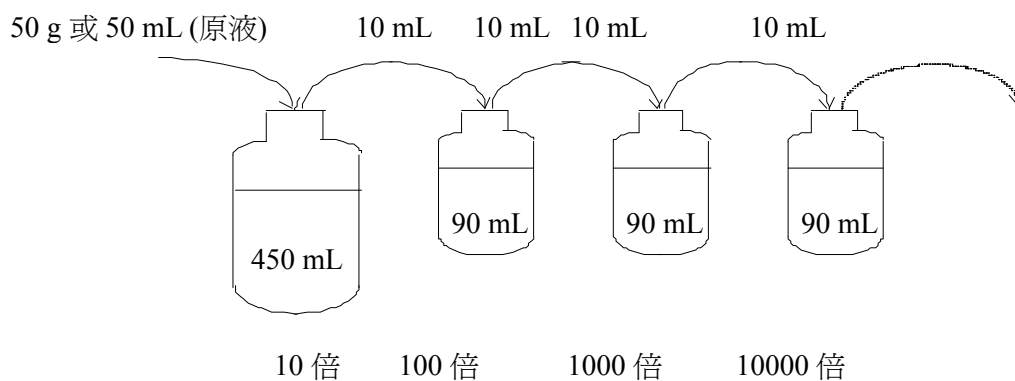
胰化酪蛋白腓 (trypticase peptone)	17 g
植物蛋白腓 (phytone peptone)	3 g
氯化鈉 (NaCl)	100 g
磷酸氫二鉀 (K ₂ HPO ₄)	2.5 g
葡萄糖 (dextrose)	2.5 g
丙酮酸鈉 (sodium pyruvate)	10 g
蒸餾水	1000 mL

加熱溶解後，取 10 mL 分裝於試管中，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.3 ± 0.2 。

2.3. 檢液之調製

2.3.1. 固態檢體：適當切碎混合均勻後，取檢體 50 g，加入稀釋液 450

- mL，充分混合均勻，即為 10 倍稀釋檢液。
- 2.3.2. 粉狀、粒狀或其他易於粉碎之檢體：可用已滅菌之藥勺或其他方便使用之用具加以粉碎後，混合均勻，取檢體 50 g，以下步驟同 2.3.1 節之操作。
- 2.3.3. 液態檢體：可用振搖方式，使充分均勻混合，取檢體 50 mL，即為原液，以下步驟同 2.3.1 節之操作。
- 2.3.4. 冷凍檢體：須解凍者，如冷凍魚、禽畜肉、蔬果、水餃等，應在冷藏之溫度下解凍 (如 2~5°C，18 小時內即可解凍完全)；亦可使用較高溫度快速解凍 (即放在 45°C 以下之水浴中，可於 15 分鐘內解凍之檢體適用之)。解凍時應經常搖動檢體，以幫助檢體之解凍。俟檢體解凍後，再予以適當切碎並混合均勻。不須解凍者，如食用冰塊、冰棒等冰類製品，應速先行使成適當小塊；再依照 2.3.1 節方法，製成 10 倍稀釋檢液。如檢驗工作無法立即進行，應將檢體貯存在-20°C 中。
- 2.3.5. 凝態及濃稠液態檢體：如布丁、煉乳、海苔醬等，經適當攪拌均勻後，取檢體 50 g，以下步驟同 2.3.1 節之操作。
- 2.3.6. 系列稀釋檢液：使用已滅菌之吸管，吸取上述之 10 倍稀釋檢液 10 mL 加至稀釋液 90 mL 中，依序作成一系列適當之 100 倍、1000 倍、10000 倍等稀釋檢液，其稀釋方法如下圖所示。



- 2.3.7. 塗抹物 (Swab) 檢體：將塗抹棒之頭部置於已滅菌試管內，以無菌操作折(剪)斷塗抹物木柄，添加蛋白腴緩衝液 5 mL 後，將試管蓋旋緊，於 10 秒內來回叩擊手心使其劇烈振盪(振盪幅度需達 15 公分) 50 次，或以旋渦混合器充分震盪至塗抹物頭部之棉絮鬆開，其溶出液供作檢液。

- 註：1. 除肉製品使用蛋白腴稀釋液外，其他檢體通常以磷酸鹽緩衝液作為稀釋液。
2. 檢體總量不足 50 g (mL) 時，應依檢體量，添加適量之稀釋液，

作成 10 倍稀釋檢液。

3. 處理含油脂量多，不易勻散及易起泡沫之檢體時，應加入適量已滅菌之乳化劑(如 1% Tween 80)，並充分振搖，使之乳化。

2.4. 鑑別試驗

2.4.1. 分離培養

2.4.1.1. 直接平板法 (Direct plate count method)

- 2.4.1.1.1. 將 2.3 節之稀釋檢液及(或)原液充分振搖，混合均勻。
- 2.4.1.1.2. 各吸取每一稀釋檢液及(或)原液 0.1 mL 分別置入 BP 培養基平板，每一檢液至少做二重複，共 2 個平板；預期檢體中含低菌量金黃色葡萄球菌時，可各吸取每一稀釋檢液及(或)原液 1 mL，置入 3 個 BP 培養基平板(例如：0.3 mL、0.3 mL 及 0.4 mL)，每一檢液至少做二重複，共 6 個平板。
- 2.4.1.1.3. 以已滅菌塗抹曲棒均勻塗抹乾後，倒置於 35°C 培養 45 ~ 48 小時，觀察所形成菌落之生長狀態。菌落為圓形，直徑 2 ~ 3 mm，表面凸起、平滑、具乳酪膠狀，呈灰黑色或黑色，周邊色淡，菌落外圍依序由內而外，有不透明環及透明環環繞，則為可疑之金黃色葡萄球菌。
- 2.4.1.1.4. 選取含 20 ~ 200 個菌落之平板^(註)，鉤取可疑菌落分別接種於 1 mL BHI 培養液，製成懸浮液，並同時接種於 TSA 斜面培養基，均以 35°C 培養 18 ~ 24 小時，供後續試驗使用。

- 註：1. 當可疑菌落只出現在大於 200 個菌落或小於 20 個菌落之平板時，則以出現可疑菌落之平板進行試驗。
2. 當平板中含不同型態之可疑菌落時，則各型態之可疑菌落均應鉤取至少 2 個進行試驗。
 3. 必要時，平板之菌落應再行純化。

2.4.1.2. 最確數 (Most Probable Number, 簡稱 MPN)計數法：預期檢體中只含低菌量金黃色葡萄球菌時使用。

- 2.4.1.2.1. 將 2.3 節之稀釋檢液及(或)原液分別充分混合均勻。
- 2.4.1.2.2. 分別吸取 1 mL 接種於已裝有 10 mL 之 TSB 培養液(含 10%氯化鈉及 1%丙酮酸鈉)試管中，每一檢液各接種 3 支(三階三支；為原液、10 倍、100 倍稀釋檢液時，每階試管含檢體量 1, 0.1, 0.01 (g 或 mL)；為 10 倍、100 倍、1000 倍稀釋檢液時，每階試管含檢體量 0.1, 0.01, 0.001 (g 或 mL))，於 35°C 培養 48 ± 2 小時。

註：接種之檢液應以最高稀釋倍數有負反應者才可用於計數。

- 2.4.1.2.3. 從 2.4.1.2.2 節每一支呈混濁(細菌生長的現象)之 TSB 培養液試管中各取一接種環菌量，劃線於 BP 培養基，於 35°C 培養 48 小時。
- 2.4.1.2.4. 由每個有細菌生長的平板中至少鉤取一個可疑菌落，依照 2.4.1.1.4 節，接種於 BHI 培養液及 TSA 斜面培養基，培養後供後續試驗使用。
- 2.4.2. 革蘭氏染色 (Gram stain)
- (1) 加適量無菌生理食鹽水於載玻片上，以接種針(或環)自 2.4.1 節之 TSA 斜面培養基上鉤取適量菌株，均勻塗抹成薄抹片，風乾後迅速通過火焰 3-4 次微熱固定，勿直接火烤。
 - (2) 初染：將已固定之抹片，用哈克氏結晶紫液染 1 分鐘，水洗。
 - (3) 媒染：加革蘭氏碘液作用 1 分鐘，水洗。
 - (4) 脫色：用 95%乙醇洗至不再有紫色褪出時，再水洗，此步驟僅約 30 秒，惟視抹片之厚薄而定。
 - (5) 複染：用哈克氏複染液複染 30 秒，水洗。
 - (6) 風乾。
 - (7) 鏡檢：呈現深紫色者為革蘭氏陽性菌，呈現淡紅色者為革蘭氏陰性菌。金黃色葡萄球菌為革蘭氏陽性，菌體呈單一或對或不規則之簇狀排列的球菌，不產芽孢。
- 2.4.3. 凝固酶試驗(Coagulase test)：吸取凝固酶血漿各 0.5 mL，分別加至 2.4.1 節 BHI 培養液 0.25 mL 中，於 35°C 培養 6 小時，每隔 1 小時觀察有無凝塊之形成，若無凝塊形成時，應繼續培養至 24 小時觀察之；有凝塊形成，應將試管緩緩傾斜或倒置，凝塊仍留在原處時，其凝固程度為 4+，則可判定金黃色葡萄球菌為陽性。若有可疑或其凝固程度為 3+，2+，1+時，則應繼續進行下列輔助試驗。
- 2.4.4. 輔助試驗 (Ancillary tests)
- 2.4.4.1. 觸酶試驗 (Catalase test)：自 2.4.1 節之 TSA 斜面培養基上鉤菌，塗抹於載玻片上，加 1~2 滴 3%過氧化氫溶液，觀察有無氣泡產生。產生氣泡者，為正反應；不產生氣泡者，為負反應。金黃色葡萄球菌為正反應。
 - 2.4.4.2. 溶菌素敏感性試驗 (Lysostaphin sensitivity test)：自 2.4.1 節之 TSA 斜面培養基上鉤菌，移植於裝有含 1%氯化鈉之 0.02 M 磷酸鹽緩衝溶液 0.2 mL 之試管中，作成懸浮液 (試管 A) (呈混濁狀態)。從試管 A 中取懸浮液 0.1 mL，置入另一試管 (試管 B)中，然後取溶菌素溶液 0.1 mL 加入試管 A (最終濃度為 25 µg/mL)，作為試驗組；同時，另取含 1%氯化鈉之 0.02 M 磷酸鹽緩衝溶液 0.1 mL 加入試管 B，作為對照組。將試管 A 及試管 B 於 35°C 放置 2 小時，放置期間隨時觀察，當 A 試管由混濁變成澄清者，為正反

應；仍維持原混濁狀態者，為負反應。金黃色葡萄球菌為正反應。

- 2.4.4.3. 厭氧下葡萄糖之利用 (Anaerobic utilization of glucose): 自 2.4.1 節之 TSA 斜面培養基上鉤菌，接種於酚紅葡萄糖培養液中，再徐徐加入已滅菌之液態石蠟油或礦物油至高度約 2.5 cm，於 37°C 培養 5 天。培養液由紅色轉變成黃色者，為正反應；培養液顏色不變者，為負反應。金黃色葡萄球菌為正反應。
- 2.4.4.4. 厭氧下甘露醇之利用 (Anaerobic utilization of mannitol): 自 2.4.1 節之 TSA 斜面培養基上鉤菌，接種於酚紅甘露糖醇培養液中，再徐徐加入已滅菌之液態石蠟油或礦物油至高度約 2.5 cm，於 37°C 培養 5 天。培養液由紅色轉變成黃色者，為正反應；培養液顏色不變者，為負反應。金黃色葡萄球菌為正反應。
- 2.4.4.5. 熱安定型核酸分解酶試驗 (Thermostable nuclease test): 取 2.4.1 節之 BHI 培養液置於沸水中加熱 15 分鐘後，冷卻。吸取培養液約 0.01 mL 滴入 TDNA 之凹洞內後，置於含潮濕海綿之培養皿內，於 35°C 培養 4 小時，隨時觀察其顏色變化情形，凹洞旁之培養基由藍色變成粉紅色，環之寬度在 1 mm 以上者為正反應，否則為負反應。金黃色葡萄球菌為正反應。

2.5. 判定

2.5.1. 金黃色葡萄球菌陽性者，應符合下表所列之結果。

試 驗	正反應(+)	負反應(-)	金黃色葡萄球菌之反應
革蘭氏染色	陽性、無芽孢之球菌，菌體呈單一、成對或不規則之簇狀排列	無左述現象	+
凝固酶試驗	凝塊形成	無凝塊形成	+
觸酶試驗	氣泡產生	無氣泡產生	+
厭氧下葡萄糖利用試驗	黃色	原色	+
厭氧下甘露糖醇利用試驗	黃色	原色	+
溶菌素敏感性試驗	澄清	混濁	+
熱安定型核酸分解酶試驗	產生粉紅色環其寬度在 1 mm 以上	原色	+

「+」表示 90%以上為正反應。

2.5.2. 由 2.5.1 節判定為金黃色葡萄球菌陽性者，依 2.6 節計數其菌數。

2.6. 計數

2.6.1. 直接平板法菌數之計算：

2.6.1.1. 選取每片含 20 ~ 200 個菌落之同一稀釋倍數之所有平板計數可疑菌落，鉤取可疑菌落至少 2 個進行試驗，依 2.5 節判定計算出可疑菌落中含有金黃色葡萄球菌之比率 (R，見下公式)，再以 2.6.1.2 或 2.6.1.3 節公式計算出檢體中金黃色葡萄球菌數。具有不同型態之可疑菌落時，應分別計數、分別計算比率(R)、分別求得各型態之金黃色葡萄球菌數，再將之相加總，得到檢體中所有型態之金黃色葡萄球菌數。

$$\text{比率 (R)} = \frac{N_1}{N_0}$$

N_0 ：進行試驗之可疑菌落數。

N_1 ：經試驗後判定為金黃色葡萄球菌之菌落數。

2.6.1.2. 各稀釋倍數中僅有一稀釋倍數平板之菌落數為 20 ~ 200 時，應計數該稀釋倍數之所有平板(2 個或 6 個)中可疑菌落數總和並依下列公式計算。其菌數之表示方式為 CFU/g 或 CFU/mL，記錄菌數時應將第三位數字四捨五入，使其有效數字為兩位。

$$\text{金黃色葡萄球菌數(CFU/g 或 CFU/mL)} = (\sum a) \times \frac{A}{V_A} \times R$$

$\sum a$ ：A 稀釋倍數之所有平板中可疑菌落數總和。

V_A ：A 稀釋倍數之所有平板中檢液總體積。

A：稀釋倍數。

R：比率。

2.6.1.3. 當有兩種稀釋倍數平板之菌落數在 20 ~ 200 之間時，先個別計算出各稀釋倍數之金黃色葡萄球菌數，再取其平均值，依下列公式計算。

金黃色葡萄球菌數(CFU/g 或 CFU/mL)=

$$\left[(\sum a) \times \frac{A}{V_A} + (\sum b) \times \frac{B}{V_B} \right] \times \frac{R}{2}$$

$\sum a$ ：A 稀釋倍數之所有平板中可疑菌落數總和。

$\sum b$ ：B 稀釋倍數之所有平板中可疑菌落數總和。

V_A : A 稀釋倍數之所有平板中檢液總體積。

V_B : B 稀釋倍數之所有平板中檢液總體積。

A、B : 稀釋倍數。

R : 比率。

- 2.6.2. 最確數計算：由 2.5 節判定為金黃色葡萄球菌之各階試管數，利用接種量為每試管 0.1, 0.01, 0.001 (g 或 mL) 之三階三支最確數表(如附表)，推算出金黃色葡萄球菌之最確數 (MPN/g 或 MPN/mL)。

附表：最確數表

正反應試管數			最確數 (MPN/g 或 MPN/mL)	95% 信賴界 限		正反應試管數			最確數 (MPN/g 或 MPN/mL)	95% 信賴界限	
0.1*	0.01	0.001		下限	上限	0.1	0.01	0.001		下限	上限
0	0	0	< 3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	> 1100	420	--

* : 各階試管中所含檢體量 (g 或 mL)

說明：最確數表適用的接種量為各階試管含檢體 0.1, 0.01, 0.001 (g 或 mL)，當接種量不同時應乘或除倍率，換算公式為：

$$\text{最確數 MPN/g (MPN/mL)} = \frac{\text{最確數表之最確數}}{\text{第一階試管含檢體量} \times 10}$$

例如：經判定含有測試菌之正反應試管數為 3-1-0 時，對照最確數表之最確數為 43，

(1) 當接種量為各階試管含檢體 1, 0.1, 0.01 (g 或 mL)，推算出

$$\text{測試菌之最確數} = \frac{43}{1 \times 10} = 4.3 \text{ MPN/g (MPN/mL)}。$$

(2) 當接種量為各階試管含檢體 0.1, 0.01, 0.001 (g 或 mL)，推

$$\text{算出測試菌之最確數} = \frac{43}{0.1 \times 10} = 43 \text{ MPN/g (MPN/mL)}。$$

(3) 當接種量為各階試管含檢體 0.01, 0.001, 0.0001 (g 或

$$\text{mL)，推算出測試菌之最確數} = \frac{43}{0.01 \times 10} = 4.3 \times 10^2 \text{ MPN/g}$$

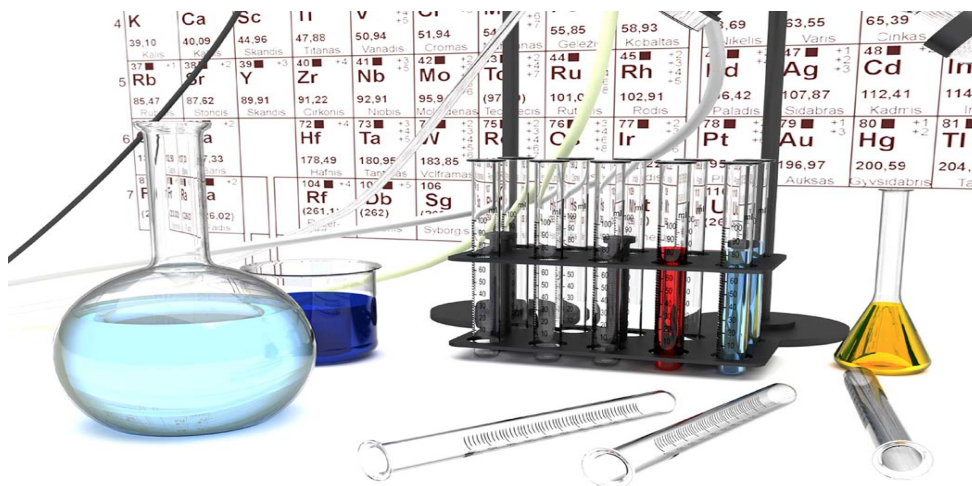
(MPN/mL)。

2.7. 腸毒素之檢驗

2.7.1. 金黃色葡萄球菌腸毒素：鉤取經 2.5 節確認為金黃色葡萄球菌之單一菌落，接種於 BHI 培養液，於 35°C 培養 24 小時後，培養液以 3000 rpm 轉速離心 20 分鐘，取上清液進行腸毒素檢驗。檢驗方式可逕自參考使用經確效認可之腸毒素檢測方法或市售套組。

2.7.2. 食品中金黃色葡萄球菌腸毒素：萃取方法依食品種類及檢測方式而異，可逕自參考使用經確效認可之腸毒素檢測方法或市售套組，依其建議及產品說明進行萃取及檢測。

2.8. 可參考使用經確效認可之市售培養基、生化檢測套組或鑑定系統，惟檢驗結果有爭議時，應以傳統方法為準。



藥物食品檢驗局

98 年 8 月份大事記

- 8月11日 發布「98年7月市售禽畜產品殘留動物用藥檢驗結果」。
- 發布「衛生署派員進駐國光生物科技股份有限公司—依國際GMP標準執行軟體評鑑並督導H1N1新型流感疫苗生產」。
- 8月13日 公告修正指定中華民國國家標準(CNS)總號4090 類號N6097 食品中黃麴毒素檢驗法等16種中華民國國家標準得為食品衛生管理法所定之食品衛生檢驗方法。
- 8月14日 發布「98年8月市售農產品殘留農藥檢驗結果(一)」
- 舉辦「素食食品精準度試驗結果討論說明會」
- 8月18日 美國食品藥物管理局退休官員食品
安全處前副處長 Mr. Lou
Carson 蒞局參訪。
- 8月19日 發布「98年7月市售農產品殘
留農藥檢驗結果(二)」。
- 8月21、28日 舉辦「中藥及保健食品之
品質規格與檢驗研習會」



著作財產人：行政院衛生署藥物食品檢驗局
本局保留所有權利，如有需要，請洽詢行政院衛生署藥物食品檢驗局