

# 藥物食品簡訊

月刊

王金城主編

第 285 期

日期：民國 93 年 9 月 20 日

發行人：孫慈悌 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>

## 九十三年度食品衛生 檢驗科技研討會

行政院衛生署為促進國內食品衛生檢驗科技之研發、提升檢驗品質、並增進食品衛生檢驗人員之技術交流，訂於本（九）月七日至八日（星期二至三）假苗栗縣之西湖渡假村舉辦「九十三年度食品衛生檢驗科技研討會」。研討會由該署藥物食品檢驗局主辦、台灣公

衛生管理、檢驗相關人員共襄盛舉，包括行政院農委會農業藥物毒物試驗所、經濟部標準檢驗局、台灣大學等多間大學相關系所及衛生局等專家、學者約 200 人參加；共將發表 84 篇論文，計有食品化學 51 篇、食品微生物 23 篇、檢驗品保 10 篇；其中口頭論文宣讀計有 34 篇（食品化學組 23 篇、食品微生物組 6 篇、檢驗品保組 5 篇）、壁報論文展示計有 50 篇（食品化學組 28 篇、食品微生物組 17 篇、檢驗品保組 5 篇）。

口頭論文發表時，特別邀請國內學者專家吳教授家誠、丁教授望賢、何教授國榮、凌教授永健、傅博士偉光、曾院長浩洋、李所長國欽及楊教授末雄分別主持食品化學、食品微生物及檢驗品保三個領域之研討；論文內容則包括有攙偽假冒之鑑定試驗、食品中環境污染物之分析、風險評估、基因改造食品之檢測、能力試驗、檢驗方法探討及市售食品衛生調查等。

衛生署表示，該署藥物食品檢驗局已經通過 ISO/IEC17025 之實驗室認證，同時在該局之輔導下，目前，全國 25 個衛生局中，也有 22 個通過實驗室認證，剩下的 3 個衛生局正由該局列於年度內完成認證輔導。顯示國內衛生機關之食品衛生檢驗技術及管理已邁入國際化水準，而研討會的舉辦，將更能促進實驗室管理經驗之切磋，相信將可帶動國內其他食品衛生檢驗室一起邁入國際之水準。

## 藥材誤用混淆現況分析報告(四)--- 九十二年度中藥廠申請查驗登記 所附原料藥材誤用之分析報告

黃坤森 黃成禹 張憲昌 林哲輝

中藥原料藥材均來自天然物，天然物產品之品質管理以源頭管理為首要。中藥廠向中醫藥委員會申請藥品查驗登記時，必須檢附該申請案之全處方藥材送本局供進行薄層層析法對照之用。本局於 89 年度起針對申請案件中藥材有誤用、混用的情形加以統計，89-91 年之報告分別刊登在本局藥物食品簡訊第 253、267、279 期，本報告除針對 92 年度申請藥品查驗登記時出現誤用、混用的種次比例及藥材種類情況加以統計外，並進一步與 89-91 年度的誤用、混用情況分析比較，供藥廠品管人員參考。

92 年度中藥廠商申請查驗登記案件數 716 件，每件平均以 10 種藥材計算，716 案件中藥材共有 7160 種次，經鑑定結果誤用、混用藥材共計 110 種次（其中包括 18 種次摻雜非藥用部位過多的情形）（表一、二），相當於 7160 種次之 1.54%，與 90、91 年度的誤用、混用藥材之種次比例 2.79%、1.97% 比較，有逐年下降的趨勢（表三）。

92 年度誤用、混用藥材種類有石菖蒲、青黛、鹿茸、巴豆霜……等 45 種。與 89-91 年度的 72 種藥材比較，相同者有三七、山梔子、山藥、川牛膝……等 29 種，另有半夏麴、白茅根、白膠香、白薇……等 16 種藥材則屬新增品項（表四）。

在本局對藥材的把關與要求下，以往藥廠或中藥材行難得出現的正品藥材如粉防己、篇蓄、槐枝、柳枝、白附子、大豆黃卷、白薇、昆布及澤蘭等，現在都已廣受使用，另有白前、白薇藥材和川牛膝、味牛膝、杜年膝藥材以前均常相互混用，現在大多數藥廠已能正確使用。

91 年 6 月本組出版中藥檢驗方法專輯(十二)「易混淆及誤用藥材之鑑別(I)」及 92 年 7 月 17 日及 18 日舉辦「易混淆及誤用中藥材研習會」，課程內容以針對中藥材實物講解的方式，讓參與的學員能從實際之正品及混用品、偽製品之藥材中分辨出真偽品藥材的特徵，提昇對藥材的鑑別能力，效果良好。

因此本局擬于今年針對中藥廠品管人員，再次舉辦「易混淆及誤用中藥材研習會」，藉以增進對藥材的鑑別能力。

表一、藥材誤用情形

| 藥材名 | 正品藥材基原                                         | 科名                   | 誤用藥材名稱 | 誤用藥材基原                                                               | 科名                   | 件數 |
|-----|------------------------------------------------|----------------------|--------|----------------------------------------------------------------------|----------------------|----|
| 三七  | 三七 <i>Panax notoginseng</i> (Burk.) F. H. Chen | 五加科<br>Araliaceae    | 虎杖     | 虎仗 <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.                        | 蓼科<br>Polygonaceae   | 1  |
| 山梔子 | 梔子 <i>Gardenia jasminoides</i> Ellis           | 茜草科<br>Rubiaceae     | 水梔子    | 大花梔子 <i>Gardenia jasminoides</i> Ellis var. <i>grandiflora</i> Nakai | 茜草科 Rubiaceae        | 1  |
| 山藥  | 薯蕷 <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.            | 薯蕷科<br>Dioscoreaceae | 木薯     | 木薯 <i>Manihot esculenta</i> Crantz.                                  | 大戟科<br>Euphorbiaceae | 1  |

|     |                                                                                                                              |                        |            |                                                             |                          |   |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------|---|
| 川牛膝 | 川牛膝 <i>Cyathula officinalis</i> Kuen                                                                                         | 莧科<br>Amaranthaceae    | 味牛膝        | 腺毛馬藍<br><i>Strobilanthes forrestii</i> Diels                | 爵床科<br>Acanthaceae       | 1 |
|     |                                                                                                                              |                        | 懷牛膝        | 牛膝 <i>Achyranthes bidentata</i> Bl.                         | 莧科<br>Amaranthaceae      | 1 |
| 川貝母 | 川貝母<br><i>Fritillaria cirrhosa</i> D. Don                                                                                    | 百合科<br>Liliaceae       | 浙貝母        | 浙貝母 <i>Fritillaria thunbergii</i> Miq.                      | 百合科 Liliaceae            | 4 |
| 巴豆霜 | 巴豆 <i>Croton tiglium</i> L.                                                                                                  | 大戟科<br>Euphorbiaceae   | 巴豆霜<br>摻大黃 | 巴豆 <i>Croton tiglium</i> L. 及大黃<br><i>Rheum palmatum</i> L. | 大戟科<br>Euphorbiaceae     | 1 |
| 木通  | 五葉木通 <i>Akebia quinata</i> (Thunb.) Decne.                                                                                   | 木通科<br>Lardizabalaceae | 關木通        | 木通馬兜鈴<br><i>Aristolochia manshuriensis</i> Kom.             | 馬兜鈴科<br>Aristolochiaceae | 2 |
| 木鱉子 | 木鱉子 <i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spr.                                                                            | 葫蘆科<br>Cucurbitaceae   | 番木鱉        | 番木鱉樹 <i>Strychnos nux-vomica</i> L.                         | 馬錢科<br>Loganiaceae       | 3 |
| 牛膽  | 牛 <i>Bos taurus domestica</i> Gmelin                                                                                         | 牛科 Bovidae             | 豬膽         | 豬 <i>Sus scrofa domestica</i> Brisson                       | 豬科 Suidae                | 1 |
| 半夏麴 | 半夏 <i>Pinellia ternata</i> (Thunb.) Breit. 等藥材之發酵品                                                                           | 天南星科<br>Araceae        | 薑半夏        | 半夏 <i>Pinellia ternata</i> (Thunb.) Breit. 以薑等藥材炮製          | 天南星科 Araceae             | 1 |
| 白前  | 柳葉白前<br><i>Cynanchum stauntonii</i> (Decne.) Schltr. Ex. Levl. 或 芫花<br>葉白前 <i>Cynanchum glaucescens</i> (Decne.) Hand.-Mazz. | 蘿藦科<br>Asclepiadaceae  | 白薇         | 白薇 <i>Cynanchum atratum</i> Bunge                           | 蘿藦科<br>Asclepiadaceae    | 2 |
| 白茅根 | 白茅 <i>Imperata cylindrica</i> Beauv. var. <i>major</i> (Nees) C. E. Hubb.                                                    | 禾本科<br>Gramineae       | 白草根        | 白草 <i>Pennisetum flaccidum</i> Griseb.                      | 禾本科 Gramineae            | 1 |
| 白膠香 | 楓香樹<br><i>Liquidambar formosana</i> Hance                                                                                    | 金縷梅科<br>Hamamelidaceae | 松香         | 馬尾松 <i>Pinus massoniana</i> Lamb.                           | 松科 Pinaceae              | 1 |
| 白薇  | 白薇 <i>Ampelopsis japonica</i> (Thunb.) Makino                                                                                | 葡萄科 Vitaceae           | 未知物        | -                                                           | -                        | 8 |
| 石菖蒲 | 石菖蒲 <i>Acorus gramineus</i> Soland.                                                                                          | 天南星科<br>Araceae        | 水菖蒲        | 菖蒲 <i>Acorus calamus</i> L.                                 | 天南星科 Araceae             | 3 |
|     |                                                                                                                              |                        | 阿爾泰銀蓮花     | 阿爾泰銀蓮花<br><i>Anemone altaica</i> Fisch.                     | 毛茛科<br>Ranunculaceae     | 1 |
| 石蓮肉 | 蓮 <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.                                                                                            | 睡蓮科<br>Nymphaeaceae    | 石蓮子        | 蓮 <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.                           | 睡蓮科<br>Nymphaeaceae      | 1 |
|     |                                                                                                                              |                        | 苦石蓮        | 喙莢雲實<br><i>Caesalpinia minax</i> Hance                      | 豆科 Leguminosae           | 1 |
| 血竭  | 麒麟血竭<br><i>Daemonorops draco</i> Blume                                                                                       | 棕櫚科 Palmae             | 血竭偽製品      | 松香 (馬尾松 <i>Pinus massoniana</i> Lamb.) 及紅色素之偽製品             | 松科 Pinaceae              | 1 |
| 杏仁  | 杏 <i>Prunus armeniaca</i> L.                                                                                                 | 薔薇科 Rosaceae           | 桃仁         | 桃 <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch.                        | 薔薇科 Rosaceae             | 1 |
| 沙苑子 | 扁莖黃耆<br><i>Astragalus complanatus</i> R. Brown                                                                               | 豆科<br>Leguminosae      | 紫雲英        | 紫雲英 <i>Astragalus sinicus</i> L.                            | 豆科 Leguminosae           | 1 |
|     |                                                                                                                              |                        | 蒺藜         | 蒺藜 <i>Tribulus terrestris</i> L.                            | 蒺藜科<br>Zygophyllaceae    | 1 |
|     |                                                                                                                              |                        | 豬屎豆        | 黃野百合<br><i>Crotalaria pallida</i> Ait.                      | 豆科 Leguminosae           | 2 |
| 決明子 | 決明 <i>Cassia obtusifolia</i> L.                                                                                              | 豆科<br>Leguminosae      | 望江南        | 望江南 <i>Cassia occidentalis</i> L.                           | 豆科 Leguminosae           | 1 |
| 赤茯苓 | 茯苓 <i>Poria cocos</i>                                                                                                        | 多孔菌科                   | 茯苓神        | 茯苓 <i>Poria cocos</i>                                       | 多孔菌科                     | 1 |

|      |                                                                                                                                          |                                                 |         |                                                                                   |                                |   |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|---------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|---|
| 苓    | (Schw.) Wolf 之呈淡紅色或淡棕色者                                                                                                                  | Polyporaceae                                    |         | (Schw.) Wolf 並附有松根者                                                               | Polyporaceae                   |   |
| 防己   | 倒地拱 <i>Stephania tetrandra</i> S. Moore                                                                                                  | 防己科 Menispermaceae                              | 小果微花藤   | 小果微花藤 <i>Iodes ovalis</i> Bl. var. <i>vitiginea</i> (Hance) Gragnep.              | 茶茱萸科 Icacinaceae               | 4 |
| 防風   | 防風 <i>Saposhnikovia divaricata</i> (Turcz.) Hiroe                                                                                        | 繖形科 Umbelliferae                                | 馬英防風    | 葛縷子 <i>Carum carvi</i> L.                                                         | 繖形科 Umbelliferae               | 1 |
| 昆布   | 海帶 <i>Laminaria japonica</i> Aresch. 及昆布 <i>Ecklonia kurome</i> Okam.                                                                    | 昆布科 Laminariaceae 及翅藻科 Alariaceae               | 石蓴      | 石蓴 <i>Ulva lactuca</i> L.                                                         | 石蓴科 Ulvaceae                   | 2 |
| 金不換  | 千層塔 <i>Lycopodium serratum</i> Thunb.                                                                                                    | 石松科 Lycopodiaceae                               | 華千金藤    | 華千金藤 <i>Stephania sinica</i> Diels                                                | 防己科 Menispermaceae             | 1 |
| 青蒿   | 黃花蒿 <i>Artemisia annua</i> L.                                                                                                            | 菊科 Compositae                                   | 茵陳蒿     | 茵陳蒿 <i>Artemisia capillaris</i> Thunb.                                            | 菊科 Compositae                  | 1 |
| 青黛   | 馬藍 <i>Baphicacanthus cusia</i> (Nees.) Bremek 或蓼藍 <i>Polygonum tinctorium</i> Ait. 或菘藍 <i>Isatis indigotica</i> Fort. 之葉或枝葉經加工製得的乾燥粉末或團塊 | 爵床科 Acanthaceae 蓼科 Polygonaceae 十字花科 Cruciferae | 青黛製品    | 染料等之偽製品                                                                           | -                              | 4 |
| 柳枝   | 柳 <i>Salix babylonica</i> L.                                                                                                             | 楊柳科 Salicaceae                                  | 徐長卿     | 徐長卿 <i>Cynanchum paniculatum</i> (Bge.) Kitag                                     | 蘿藦科 Asclepiadaceae             | 1 |
| 桑寄生  | 桑寄生 <i>Taxillus chinensis</i> (DC.) Danser                                                                                               | 桑寄生科 Loranthaceae                               | 桑枝      | 桑 <i>Morus alba</i> L.                                                            | 桑科 Moraceae                    | 1 |
|      |                                                                                                                                          |                                                 | 大葉桑寄生   | 大葉桑寄生 <i>Scurrula liquidambaricolus</i> (Hayata) Hosokawa 及桑 <i>Morus alba</i> L. | 桑寄生科 Loranthaceae 及桑科 Moraceae | 3 |
|      |                                                                                                                                          |                                                 | 槲寄生     | 槲寄生 <i>Viscum cololatum</i> (Komar.) Nakai                                        | 桑寄生科 Loranthaceae              | 1 |
| 茵陳   | 茵陳蒿 <i>Artemisia capillaris</i> Thunb.                                                                                                   | 菊科 Compositae                                   | 北茵陳     | 牛至 <i>Origarum vulgaris</i> L.                                                    | 唇形科 Labiatae                   | 2 |
| 鹿茸   | 梅花鹿 <i>Cervus nippon</i> Temminck                                                                                                        | 鹿科 Cervidae                                     | 鹿角片     | 梅花鹿 <i>Cervus nippon</i> Temminck                                                 | 鹿科 Cervidae                    | 8 |
| 紫花地丁 | 紫花地丁 <i>Viola yedoensis</i> Makino                                                                                                       | 堇菜科 Violaceae                                   | 廣地丁     | 華南龍膽 <i>Gentiana loureiri</i> (D. Don) Griseb.                                    | 龍膽科 Gentianaceae               | 2 |
| 紫蘇子  | 紫蘇 <i>Perilla frutescens</i> (L.) Britt.                                                                                                 | 唇形科 Labiatae                                    | 黃芥子     | 芥 <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. et Coss.                                     | 十字花科 Cruciferae                | 1 |
| 菊花   | 菊花 <i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.                                                                                                | 菊科 Compositae                                   | 野菊      | 野菊 <i>Chrysanthemum indicum</i> L.                                                | 菊科 Compositae                  | 1 |
| 訶子   | 訶子 <i>Terminalia chebula</i> Retz. 或絨毛訶子 <i>Terminalia chebula</i> Retz. var. <i>tomentella</i> Kurt.                                    | 使君子科 Combretaceae                               | 去訶子肉之果實 | 訶子 <i>Terminalia chebula</i> Retz. 的果實去肉                                          | 使君子科 Combretaceae              | 1 |
| 篇蓄   | 篇蓄 <i>Polygonum aviculare</i> L.                                                                                                         | 蓼科 Polygonaceae                                 | 小飛揚     | 小飛揚 <i>Euphorbia thymifolia</i> L.                                                | 大戟科 Euphorbiaceae              | 1 |
| 槐枝   | 槐 <i>Sophora japonica</i> L.                                                                                                             | 豆科 Leguminosae                                  | 槐之花梗及果梗 | 槐 <i>Sophora japonica</i> L.                                                      | 豆科 Leguminosae                 | 2 |
| 蒼朮   | 茅蒼朮                                                                                                                                      | 菊科 Compositae                                   | 白朮      | 白朮 <i>Atractylodes</i>                                                            | 菊科 Compositae                  | 1 |

|      |                                                                                           |                  |     |                                              |                   |    |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-----|----------------------------------------------|-------------------|----|
|      | <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC. 或北蒼朮<br><i>Atractylodes chinensis</i> (DC.) Koidz |                  |     | <i>macrocephala</i> Koidz.                   |                   |    |
| 製白附子 | 獨角蓮 <i>Typhonium giganteum</i> Engl.                                                      | 天南星科 Araceae     | 製附子 | 烏頭 <i>Aconitum carmichaeli</i> Debx.         | 毛茛科 Ranunculaceae | 2  |
| 稀簽   | 稀簽 <i>Siegesbeckia orientalis</i> L.                                                      | 菊科 Compositae    | 魚針草 | 魚針草 <i>Bidens bipinnata</i> L.               | 唇形科 Labiatae      | 1  |
| 澤蘭   | 毛葉地瓜兒苗<br><i>Lycopus lucidus</i> Turcz. var. <i>hirtus</i> Regel                          | 唇形科 Labiatae     | 未知物 | —                                            | —                 | 3  |
| 懷牛膝  | 牛膝 <i>Achyranthes bidentata</i> Bl.                                                       | 莧科 Amaranthaceae | 川牛膝 | 川牛膝 <i>Cyathula officinalis</i> Kuen         | 莧科 Amaranthaceae  | 1  |
|      |                                                                                           |                  | 味牛膝 | 腺毛馬藍<br><i>Strobilanthes forrestii</i> Diels | 爵床科 Acanthaceae   | 2  |
| 蘆薈   | 蘆薈 <i>Aloe vera</i> L. var. <i>chinensis</i> (Haw.) Berger                                | 百合科 Liliaceae    | 未知物 | —                                            | —                 | 2  |
| 合計   |                                                                                           |                  |     |                                              |                   | 92 |

表二、摻雜非藥用部位過量之藥材

| 藥材名 | 正品藥材基原                                    | 科名                | 非藥用部位   | 件數 |
|-----|-------------------------------------------|-------------------|---------|----|
| 巴豆霜 | 巴豆 <i>Croton tiglium</i> L.               | 大戟科 Euphorbiaceae | 摻種皮過量   | 2  |
| 柴胡  | 柴胡 <i>Bupleurum chinense</i> DC.          | 繖形科 Umbelliferae  | 摻地上部位過量 | 10 |
| 柳枝  | 柳 <i>Salix babylonica</i> L.              | 楊柳科 Salicaceae    | 柳枝含葉    | 1  |
| 橘紅  | 橘 <i>Citrus reticulata</i> Blanco 的乾燥外層果皮 | 芸香科 Rutaceae      | 摻有橘白及絲絡 | 5  |
| 合計  |                                           |                   |         | 18 |

表三、中藥製劑查驗登記誤用藥材之統計表

|       | 送驗案件數(件) | 誤用藥材 種類數(種) | 誤用種次數(次) | 誤用種次 比例(%) |
|-------|----------|-------------|----------|------------|
| 89 年度 | 483      | 33          | 85       | 1.76       |
| 90 年度 | 845      | 51          | 236      | 2.79       |
| 91 年度 | 826      | 59          | 163      | 1.97       |
| 92 年度 | 716      | 45          | 110      | 1.54       |

表四、89-91 年度與 92 年度誤用藥材種類之比較

| 89-92 年度<br>誤用藥材<br>序號<br>(共 88 種藥材) | 89-91 年度<br>誤用藥材<br>序號<br>(共 72 種藥材) | 92 年度<br>誤用藥材<br>序號<br>(共 45 種藥材) | 89-92 年度<br>誤用藥材<br>序號<br>(共 88 種藥材) | 89-91 年度<br>誤用藥材<br>序號<br>(共 72 種藥材) | 92 年度<br>誤用藥材<br>序號<br>(共 45 種藥材) |
|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| 1                                    | 1 三七                                 | 1 三七                              | 45                                   | 45 秋石                                |                                   |
| 2                                    | 2 山藥                                 | 2 山藥                              | 46                                   | 46 紅芽                                |                                   |
| 3                                    | 3 川牛膝                                | 3 川牛膝                             | 47                                   | 47 胡麻                                |                                   |
| 4                                    | 4 川貝                                 | 4 川貝                              | 48                                   | 48 郁李仁                               |                                   |
| 5                                    | 5 巴豆                                 | 5 巴豆                              | 49                                   | 49 浙貝                                |                                   |
| 6                                    | 6 木通                                 | 6 木通                              | 50                                   | 50 烏藥                                |                                   |
| 7                                    | 7 木通                                 | 7 木通                              | 51                                   | 51 烏藥                                |                                   |
| 8                                    | 8 木通                                 | 8 木通                              | 52                                   | 52 烏藥                                |                                   |
| 9                                    | 9 木通                                 | 9 木通                              | 53                                   | 53 烏藥                                |                                   |
| 10                                   | 10 白朮                                | 10 白朮                             | 54                                   | 54 密蒙花                               |                                   |
| 11                                   | 11 石蓮肉                               | 11 石蓮肉                            | 55                                   | 55 連翹                                |                                   |
| 12                                   | 12 石蓮肉                               | 12 石蓮肉                            | 56                                   | 56 鹿角                                |                                   |
| 13                                   | 13 血竭                                | 13 血竭                             | 57                                   | 57 琥珀                                |                                   |
| 14                                   | 14 沙苑子                               | 14 沙苑子                            | 58                                   | 58 琥珀                                |                                   |
| 15                                   | 15 防己                                | 15 防己                             | 59                                   | 59 番木鱉                               |                                   |
| 16                                   | 16 防風                                | 16 防風                             | 60                                   | 60 黃芩                                |                                   |
| 17                                   | 17 青黛                                | 17 青黛                             | 61                                   | 61 黃芩                                |                                   |
| 18                                   | 18 柳枝                                | 18 柳枝                             | 62                                   | 62 黃芩                                |                                   |
| 19                                   | 19 桑寄生                               | 19 桑寄生                            | 63                                   | 63 椿根                                |                                   |
| 20                                   | 20 桑寄生                               | 20 桑寄生                            | 64                                   | 64 高麗                                |                                   |
| 21                                   | 21 柴胡                                | 21 柴胡                             | 65                                   | 65 蒲公                                |                                   |
| 22                                   | 22 茵陳                                | 22 茵陳                             | 66                                   | 66 樟腦                                |                                   |
| 23                                   | 23 鹿茸                                | 23 鹿茸                             | 67                                   | 67 白朮                                |                                   |
| 24                                   | 24 紫花                                | 24 紫花                             | 68                                   | 68 龍膽                                |                                   |
| 25                                   | 25 葛根                                | 25 葛根                             | 69                                   | 69 膽南                                |                                   |
| 26                                   | 26 槐枝                                | 26 槐枝                             | 70                                   | 70 蘇合                                |                                   |
| 27                                   | 27 製白附子                              | 27 製白附子                           | 71                                   | 71 蘇合                                |                                   |
| 28                                   | 28 豬鬃                                | 28 豬鬃                             | 72                                   | 72 蘇合                                |                                   |
| 29                                   | 29 懷牛膝                               | 29 懷牛膝                            |                                      |                                      |                                   |
| 30                                   | 30 丁香                                |                                   |                                      |                                      | 30 半夏                             |
| 31                                   | 31 人工麝香                              |                                   |                                      |                                      | 31 白膠                             |
| 32                                   | 32 大豆黃卷                              |                                   |                                      |                                      | 32 白膠                             |
| 33                                   | 33 山茱萸                               |                                   |                                      |                                      | 33 白膠                             |
| 34                                   | 34 牛黃                                |                                   |                                      |                                      | 34 杏仁                             |
| 35                                   | 35 冬蟲夏草                              |                                   |                                      |                                      | 35 決明子                            |
| 36                                   | 36 白膠香                               |                                   |                                      |                                      | 36 赤布                             |
| 37                                   | 37 石自紅                               |                                   |                                      |                                      | 37 昆布                             |
| 38                                   | 38 西紅花                               |                                   |                                      |                                      | 38 金銀                             |
| 39                                   | 39 忍冬                                |                                   |                                      |                                      | 39 紫菀                             |
| 40                                   | 40 沒藥                                |                                   |                                      |                                      | 40 薊花                             |
| 41                                   | 41 乳香                                |                                   |                                      |                                      | 41 薊花                             |
| 42                                   | 42 松香                                |                                   |                                      |                                      | 42 薊花                             |
| 43                                   | 43 金櫻子                               |                                   |                                      |                                      | 43 薊花                             |
| 44                                   |                                      |                                   |                                      |                                      | 44 薊花                             |
|                                      |                                      |                                   |                                      |                                      | 45 薊花                             |

備註：

\*1 藥材名黑色字體灰色底(藥材項目 1-29)：表示 89-91 年度與 92 年度誤用藥材種類相同品項

\*2 藥材名綠色字體(藥材項目 30-72)：表示 89-91 年度間誤用藥材種類，但 92 年度未發現著

\*3 藥材名棕色字體(藥材項目 30-45)：表示 92 年度新增誤用藥材種類品項

## 食品中毒原因菌-霍亂弧菌之檢驗

張育彰

自十九世紀以來，由霍亂弧菌(*Vibria cholerae*)引起的霍亂(cholera)曾造成七次世界性的大流行，霍亂肇因於飲用受污染的水或食物。今年 7 月 23 日衛生署將霍亂弧菌公告(衛署食字第 0930407492 號)為食品中毒原因菌。

霍亂弧菌為革蘭氏陰性菌，菌體長約 1~3  $\mu\text{m}$ ，寬約 0.4~0.6  $\mu\text{m}$ ，外形呈弧形、逗點形或直桿狀，不形成孢子，具有鞭毛，有運動性，在長期培養後多為桿狀。霍亂弧菌對酸性敏感，但能抵抗強鹼達 pH 9.6 及在含 NaCl 2~3% 鹽濃度下生長。由於腸內桿菌不能在強鹼環境中生長，利用高度鹼性之培養基如鹼性蛋白月東(alkaline peptone water, APW, pH 8.6)及 TCBS 培養基(thiosulfate-citrate-bile sucrose salt agar, pH 8.6)等分離霍亂弧菌可將大部分腸內桿菌排除掉。以 APW 進行霍亂弧菌的增菌培養，繼之畫線培養於 TCBS 培養基上，霍亂弧菌在此培養基生長狀況良好，生成凸面、光滑、圓形、黃色的菌落，可與形成綠色菌落的腸炎弧菌(*V. parahaemolyticus*)清楚區分，但在此培養基上與霍亂弧菌相似的黃色菌落可能為溶藻弧菌(*V. alginolyticus*)，因此需利用各種生化特性檢驗進一步鑑別霍亂弧菌。

霍亂的潛伏期由 6 小時至 5 日不等，臨床症狀可能有腹痛、噁心、嘔吐或休克，主要症狀為嚴重的水樣腹瀉，腹瀉特徵如“洗米水”似糞便。造成的因素為霍亂弧菌產生的腸毒素使小腸黏膜水份過度分泌，而且造成鈉吸收不全，使成嚴重水瀉，每日體液喪失可達 20 公升，嚴重時產生酸毒症及死亡。霍亂的致病因子主要是霍亂腸毒素(cholera-enterotoxin, CT 或稱為 choleraegen)，為一個聚合蛋白質，由一個 A 次單體及五個 B 次單體組成的毒蛋白。A 次單體主要扮演毒素的角色，活化腺苷酸環化酵素(adenyl cyclase)使 cAMP 濃度上升，造成細胞內水份流至腸腔，使水份與離子大量流失造成腹瀉脫水等症狀。B 次單體和腸細胞膜上的 GM1 ganglioside 受體(receptor)結合協助 A 次單體進入細胞內。

幾乎所有致病性的霍亂弧菌皆屬於體抗原 O 型第一群(O1)，其兩種生物型(biotype)為霍亂生物型(biotype *cholerae*)或稱古典生物型(biotype *classical*)和艾托生物型(biotype *El Tor*)，此兩者能和體抗原 O1 型之抗血清發生凝集。全球霍亂弧菌大流行中前六次是由 O1 古典生物型引起，第七次以後以艾托生物型為主。艾托生物型與古典生物型的主要差別為前者可產生羊血球溶血素，後者對羊血球無溶血作用。由三種抗原因子 A、B 及 C 所排列組合，可將 O1 型區分為三種血清型：帶有 A 及 B 型為小川型(Ogawa)、A 及 C 型為稻葉型(Inaba)及同時擁有 A、B 及 C 型的彥島型(Hikojima strain)。1992 年非 O1 型的新型菌株 0139 在印度及孟加拉興起且快速擴散，引起世界各國衛生機構的關注與重視。0139 型與 O1 型霍亂弧菌的主要差異為 (1) 0139 型菌株缺乏和 O1 型血清凝集之抗體 (2) 0139 型菌株能與 0139 型抗血清發生凝集 (3) 0139 型菌株具有莢膜(capsule)。目前已有市售之血清可區分上述霍亂弧菌 O1 型及 0139 型，以及 O1 型之小川型、稻葉型及彥島型等三種血清型。

霍亂腸毒素是引起霍亂的主因，因此霍亂弧菌腸毒素的檢測成為檢驗工作重要的一環。霍亂腸毒素的檢測可分檢測腸毒素蛋白和腸毒素基因兩部分，毒素蛋白的檢測可利用酵素免疫分析法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)或逆向被動乳膠凝集法(Reverse passive latex agglutination, RPLA)，目前檢測以 RPLA 方法為主，如美國食品藥物管理局(FDA)霍亂腸毒素檢方法即以此為腸毒素蛋白的檢驗方法之一。而 ELISA 方法因操作過程繁複且須儀器輔助此檢驗方法，目前較少被使用。腸毒素基因的檢測可利用聚合酵素鏈反應(Polymerase chain reaction, PCR)方法或核酸探針雜交法(Probe hybridization)，由於霍亂弧菌腸毒素的產生可能受各種環境因子如溫度、pH 值、離子種類及是否有其他菌的存在等因素影響，經分離後的霍亂弧菌在實驗室的條件下培養是否可產出腸毒素或產出的腸毒素量是否與在檢體時的情形相當，皆可能導致腸毒素蛋白檢測的誤差，因此輔以腸毒素基因的檢測可間接得知分離的霍亂弧菌是否為潛在的致病菌株。

大多數分離自食品及環境之霍亂弧菌不具致病性，主要之霍亂弧菌為非 O1 及非 0139 血清型，因此分離出的霍亂弧菌需進行血清型的鑑定及腸毒素的相關檢測。食品中霍亂弧菌之檢驗中，檢體以增菌的方式再經選擇性培養基(TCBS)，以各種生化試驗及血清學原理檢測霍亂弧菌，其詳細方法如附錄。生化試驗所需時間約 2~3 天，以自動鑑定系統取代傳統的生化試驗，可縮短檢驗時間。若懷疑檢體遭霍亂弧菌污染，可由增菌後之培養液直接進行 PCR 檢測是否有霍亂弧菌腸毒素基因存在，此法雖可快速獲得初步檢驗結果，但仍需完成生化試驗及血清學試驗以獲得整體檢驗結果。

(附錄)

### 霍亂弧菌檢驗方法

1. 適用範圍：本方法適用於食品中霍亂弧菌之檢驗。
2. 檢驗方法
  - 2.1. 工作環境：工作平台須寬敞、潔淨、光線良好，操作平台光度約為 100 呎燭光，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  $5 \pm 3^\circ\text{C}$ 。
- 2.2.4 吸管：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。
- 2.2.5 培養皿：已滅菌，內徑約 90~100 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。
- 2.2.6 稀釋用容器：附蓋之 1000 mL 廣口瓶及 100 mL 稀釋瓶或無菌袋。
- 2.2.7 培養箱：能維持內部溫差在  $\pm 1.0^\circ\text{C}$  以內者。
- 2.2.8 水浴：能維持水溫溫差在  $\pm 0.2^\circ\text{C}$  以內者。
- 2.2.9 攪拌均質器(Blender)或鐵胃(Stomacher)：適用於無菌操作者。
- 2.2.10 曲玻棒。
- 2.2.11 離心機：離心力可達 8000  $\times g$  以上。
- 2.2.12 離心管：已滅菌，5 mL。
- 2.2.13 試管：13  $\times$  100 mm 及 10  $\times$  100 mm 試管或其他適用者。
- 2.2.14 低溫冷凍櫃：能保持  $-70 \pm 2^\circ\text{C}$ 。
- 2.2.15 菌種保存試管。
- 2.2.16 游標尺(Vernier calipers)。
- 2.2.17 顯微鏡：能放大至 1000 倍以上之一般光學顯微鏡。
- 2.2.18 載玻片及蓋玻片：適用於染色及鏡檢用。
- 2.2.19 接種針及接種環(直徑約 3 mm)：鍍鉻合金，鉑鉍或鉻線，或可拋棄式者。
- 2.2.20 天平：可稱量到 2000 g，靈敏度為 0.1 g，可稱量到 120 g 者，靈敏度為 1 mg。
- 2.2.21 振盪器。
- 2.2.22 藥勺、剪刀、小刀、鑷子及牙籤：可滅菌者。
- 2.2.23 pH 測定儀。
- 2.2.24 燈箱：一般日光燈光源，30 瓦。
- 2.2.25 酒精燈、濾紙及褐色試藥瓶。
- 2.2.26 研鉢、杵：研磨試藥用。
- 2.2.27 吸管尖頭(Pipette tips)：已滅菌，10  $\mu\text{L}$ 、20  $\mu\text{L}$ 、200  $\mu\text{L}$  及 1000  $\mu\text{L}$ 。
- 2.2.28 微量吸管。
- 2.2.29 無菌濾膜：孔徑 0.45  $\mu\text{m}$  或 0.2  $\mu\text{m}$  之親水性醋酸纖維膜。
- 2.2.30 聚合酵素鏈反應器。
- 2.2.31 電泳槽：供 DNA 電泳用。
- 2.2.32 照相裝置：供拍攝電泳膠片用。
- 2.2.33 紫外燈箱：具波長 312 nm 及 365 nm 紫外燈。
- 2.2.34 試藥  
氯化鈉、氫氧化鈉、葡萄糖、蔗糖、乳糖、甘露糖(mannose)、甘露糖醇(mannitol)、阿拉伯糖(arabinose)、檸檬酸鐵銨、檸檬酸鐵、磷酸二氫鈉、無水磷酸氫二鈉、磷酸氫二鈉、磷酸二氫鈉、硫代硫酸鈉、溴甲酚紫、氯化鎂、硼酸、碳酸氫鈉、碘化鉀、去氧核甘三磷酸(deoxynucleoside triphosphates, dNTPs)、聚合酵素(polymerase)、溴化乙錠(ethidium bromide)、溴酚藍(bromophenol blue)、二甲苯藍(xylene cyanol FF)、DNA 分子量標記物質(DNA molecular weight marker)：100-bp DNA Ladder Marker、乙二胺四乙酸二鈉(ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt,  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ )、乙醇、甘油、膽酸鈉、檸檬酸鈉、三羥甲基氨基甲烷(tris(hydroxymethyl)aminomethane, Tris)、牛膽汁(oxgall)、溴瑞酚藍、瑞香草酚藍、硫酸亞鐵、酚紅、L-精胺酸(L-arginine)、L-離胺酸(L-lysine)、L-鳥胺酸(L-ornithine)、結晶紫、動物膠、草酸銨(ammonium oxalate)、沙黃 O (safranin O)、精胺酸鹽酸鹽(L-arginine hydrochloride)、N,N,N',N'-四甲基對位苯二胺鹽酸鹽(N,N,N',N'-tetramethyl-p-phenylenediamine  $\cdot 2\text{HCl}$ )、硝基苯派喃半乳糖苷(o-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactoside, ONPG)、礦物油或液態石臘、O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropyl-pteridine)、瓊膠(agarose)及碘(iodine)等均採用化學級或分子生物分析級試藥。蛋白胨、胨蛋白胨、胰化蛋白胨、胰化酪蛋白胨、酵母抽出物、植物蛋白胨、胰化酪蛋白、洋菜及牛肉抽出物均採用微生物級。
- 2.2.35 試劑
- 2.2.35.1 氧化酶試劑(Oxidase test reagent)  
取 N,N,N',N'-四甲基對位苯二胺鹽酸鹽 1 g 溶於蒸餾水 100 mL 後，貯存於褐色瓶，並置入冰箱中，使用期限以不超過 1 星期為宜。
- 2.2.35.2 1.0 M 磷酸二氫鈉溶液  
取磷酸二氫鈉( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 6.9 g 溶於蒸餾水 45 mL 中，徐徐注入 30% (w/v) 氫氧化鈉溶液約 3 mL，調整 pH 值為 7.0，然後再加入蒸餾水使成 50 mL，即為 1.0 M 磷酸二氫鈉溶液，貯存於  $4^\circ\text{C}$  冰箱中備用。
- 2.2.35.3 硝基苯派喃半乳糖苷試劑(ONPG reagent)  
取硝基苯派喃半乳糖苷 80 mg 溶於  $37^\circ\text{C}$  蒸餾水 15 mL 中，加入 2.2.33.2 節之 1.0 M 磷酸二氫鈉溶液 5 mL，即為 0.0133 M 硝基苯派喃半乳糖苷試劑，貯存於  $4^\circ\text{C}$  冰箱中，使用時須加溫至  $37^\circ\text{C}$ 。
- 2.2.35.4 礦物油或液態石臘  
取礦物油或液態石臘 20 ~ 50 mL，裝入有蓋容器中約 1/2 滿，以  $121^\circ\text{C}$  滅菌 30 分鐘。
- 2.2.35.5 O/129 紙錠(O/129 disks)

製備 0/129 濃度 150  $\mu\text{g}$  紙錠，係將溶解於無菌水的 0/129 (15  $\text{mg/mL}$ ) 或 0/129- $\text{PO}_4$  (20.8  $\text{mg/mL}$ ) 溶液，取 10  $\mu\text{L}$  加入已滅菌之紙錠(直徑約 6 mm)。而 0/129 濃度 10  $\mu\text{g}$  紙錠，則將溶解於無菌水的 0/129 (1.0  $\text{mg/mL}$ ) 溶液，取 10  $\mu\text{L}$  加入已滅菌之紙錠，於無菌陰暗處自然風乾，並貯存於無菌褐色瓶置於冰箱中備用，儲存期限 1 年。

#### 2.2.35.6 革蘭氏染色液(Gram stain solution)

##### 2.2.35.6.1 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。

##### 2.2.35.6.2 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 秒鐘後，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，併入洗液，加蒸餾水至 300 mL，作為媒染劑。

##### 2.2.35.6.3 哈克氏(Hucker's)複染劑(複染劑)

取沙黃 0.25 g 溶於 95% 乙醇 100 mL，供作複染原液。使用時，取原液 10 mL 加蒸餾水 90 mL，作為複染劑。

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

#### 2.2.35.7 5 倍 TBE (Tris-borate-EDTA) 緩衝溶液

取三羥甲基氨基甲烷 54.0 g、硼酸 27.5 g 及 0.5M pH 8.0 EDTA 溶液 20 mL，加水溶解最終體積 1000 mL，供作 5 倍 TBE 緩衝液。臨用前以水稀釋為 0.5 倍。

#### 2.2.35.8 膠片染色

取溴化乙錠 0.1 g，加水 10 mL 溶解，供作原液(含溴化乙錠 10  $\text{mg/mL}$ )，使用前需以水稀釋成含溴化乙錠 10  $\mu\text{g/mL}$ 。溴化乙錠為致癌物質，配製時應注意安全。

#### 2.2.35.9 6 倍載入膠片緩衝溶液(6 xgel loading buffer)

稱取溴酚藍 25.0 g、二甲苯藍 0.25g 及量取甘油 30 mL，加入無菌水使成 100 mL，置於 4°C 冰箱儲存備用。

#### 2.2.36 培養基：

##### 2.2.36.1 鹼性蛋白胨水(Alkaline peptone water, APW)

|                                                      |         |
|------------------------------------------------------|---------|
| 蛋白胨(peptone)                                         | 10.0 g  |
| 氯化鈉(NaCl)                                            | 10.0 g  |
| 蒸餾水                                                  | 1000 mL |
| 溶解後分取適量注入試管，以 121°C 滅菌 10 分鐘，最終 pH 值為 8.5 $\pm$ 0.2。 |         |

##### 2.2.36.2 鹼性蛋白胨鹽類培養液(Alkaline peptone salt broth, APS)

|                                                        |         |
|--------------------------------------------------------|---------|
| 蛋白胨(peptone)                                           | 10.0 g  |
| 氯化鈉(NaCl)                                              | 30.0 g  |
| 蒸餾水                                                    | 1000 mL |
| 溶解後，分取適量注入試管中，以 121°C 滅菌 10 分鐘，最終 pH 值為 8.5 $\pm$ 0.2。 |         |

##### 2.2.36.3 硫代硫酸鹽-檸檬酸鹽-膽鹽-蔗糖培養基(Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar, TCBS)

|                                                                      |         |
|----------------------------------------------------------------------|---------|
| 酵母抽出物(yeast extract)                                                 | 5.0 g   |
| 蛋白胨(peptone)                                                         | 10.0 g  |
| 蔗糖(sucrose)                                                          | 20.0 g  |
| 硫代硫酸鈉( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) | 10.0 g  |
| 膽酸鈉(sodium cholate)                                                  | 3.0 g   |
| 檸檬酸鈉(sodium citrate $\cdot$ 2 $\text{H}_2\text{O}$ )                 | 10.0 g  |
| 牛膽汁(oxgall)                                                          | 5.0 g   |
| 氯化鈉(NaCl)                                                            | 10.0 g  |
| 檸檬酸鐵(ferric citrate)                                                 | 1.0 g   |
| 溴瑞酚藍(bromthymol blue)                                                | 0.04 g  |
| 瑞香草酚藍(thymol blue)                                                   | 0.04 g  |
| 洋菜(agar)                                                             | 15.0 g  |
| 蒸餾水                                                                  | 1000 mL |
| 加熱攪拌溶解後，再加熱 1~2 分鐘，不可高壓滅菌，冷卻至 50°C 時，注入培養皿。                          |         |

##### 2.2.36.4 三糖鐵培養基(Triple sugar iron agar, TSI)

|                                            |               |
|--------------------------------------------|---------------|
| 牛肉抽出物(beef extract)                        | 3.0 g         |
| 酵母抽出物(yeast extract)                       | 3.0 g         |
| 蛋白胨(peptone)                               | 15.0 g        |
| 胨蛋白胨(proteose peptone)                     | 5.0 g         |
| 氯化鈉(NaCl)                                  | 20.0 ~ 30.0 g |
| 乳糖(lactose)                                | 10.0 g        |
| 蔗糖(sucrose)                                | 10.0 g        |
| 葡萄糖(glucose)                               | 1.0 g         |
| 硫酸亞鐵( $\text{FeSO}_4$ )                    | 0.2 g         |
| 硫代硫酸鈉( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) | 0.3 g         |
| 酚紅(phenol red)                             | 0.024 g       |

- 洋菜(agar) 12.0 g  
蒸餾水 1000 mL  
加熱攪拌溶解後，分取適量注入試管中至 1/3 滿，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.4 ±0.2，滅菌後作成斜面培養基。
- 2.2.36.5 克氏雙糖鐵培養基(Kligler iron agar, KIA)  
胨蛋白胨(proteose peptone) 20.0 g  
氯化鈉(NaCl) 20.0 ~ 30.0 g  
乳糖(lactose) 20.0 g  
葡萄糖(glucose) 1.0 g  
檸檬酸鐵銨(ferric ammonium citrate) 0.5 g  
硫代硫酸鈉(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 0.5 g  
酚紅(phenol red) 0.025 g  
洋菜(agar) 15.0 g  
蒸餾水 1000 mL  
加熱攪拌溶解後，分取適量注入試管中至 1/3 滿，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.4 ±0.2，滅菌後作成斜面培養基。
- 2.2.36.6 精胺酸葡萄糖斜面培養基 (Arginine – glucose slant, AGS)  
蛋白胨(peptone) 5.0 g  
酵母抽出物(yeast extract) 3.0 g  
胰化蛋白胨(tryptone) 10.0 g  
氯化鈉(NaCl) 20.0 g  
葡萄糖(glucose) 1.0 g  
精胺酸鹽酸鹽(L-arginine hydrochloride) 5.0 g  
檸檬酸鐵銨(ferric ammonium citrate) 0.5 g  
硫代硫酸鈉(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 0.3 g  
溴甲酚紫(bromocresol purple) 0.02 g  
洋菜(agar) 13.5 g  
蒸餾水 1000 mL  
加熱攪拌溶解，分取適量注入試管中，以 121°C 滅菌 10 ~12 分鐘，最終 pH 值為 6.9 ±0.1，滅菌後作成斜面培養基。
- 2.2.36.7 加鹽胰化酪蛋白大豆培養液(Trypticase soy broth, TSB – 2~3% NaCl )  
植物蛋白胨(phytone peptone) 3.0 g  
胰化酪蛋白胨(trypticase peptone) 17.0 g  
磷酸氫二鉀(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 2.5 g  
氯化鈉(NaCl) 20.0 ~ 30.0 g  
葡萄糖(dextrose) 2.5 g  
蒸餾水 1000 mL  
加熱攪拌溶解後，分取適量注入試管或三角瓶中，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.3 ±0.2。
- 2.2.36.8 加鹽胰化酪蛋白大豆培養基(Trypticase soy agar, TSA– 2~3% NaCl )  
植物蛋白胨(phytone peptone) 5.0 g  
胰化酪蛋白胨(trypticase peptone) 15.0 g  
氯化鈉(NaCl) 20.0 ~ 30.0 g  
洋菜(agar) 15.0 g  
蒸餾水 1000 mL  
加熱攪拌溶解後，分取適量注入試管或三角瓶中，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.3 ±0.2，做成斜面或平面培養基。
- 2.2.36.9 Hugh-Leifson 葡萄糖培養液 (Hugh-Leifson glucose broth, HLGB)  
蛋白胨(peptone) 2.0 g  
酵母抽出物(yeast extract) 0.5 g  
氯化鈉(NaCl) 30.0 g  
葡萄糖(glucose) 10.0 g  
溴甲酚紫(bromocresol purple) 0.015 g  
洋菜(agar) 3.0 g  
蒸餾水 1000 mL  
加熱攪拌溶解後分裝試管中，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.4 ±0.2。
- 2.2.36.10 脫羧酶基礎培養液(Decarboxylase basal medium)  
蛋白胨(peptone) 5.0 g  
酵母抽出物(yeast extract) 3.0 g  
氯化鈉(NaCl) 20.0 ~ 30.0 g  
葡萄糖(glucose) 1.0 g  
溴甲酚紫(bromocresol purple) 0.02 g  
蒸餾水 1000 mL  
加熱攪拌溶解後，取 L-精胺酸 5 g 溶解於上述之培養液中，混合均勻，分取適量注入試管內，以 121°C 滅菌 10 分鐘，最終 pH 值為 6.5 ±0.2，使成精胺酸脫羧酶培養液。含 L-離胺酸及 L-鳥胺酸之脫羧酶培養液配製方法亦同。對照組之配製，除脫羧酶基礎培養液外，不需添加任何物質。
- 2.2.36.11 氯化鈉胰化酪蛋白培養液(Salt trypticase broth, STB)  
胰化酪蛋白或胰化蛋白胨(trypticase or tryptone) 10.0 g

- 蒸餾水 1000 mL  
加氯化鈉於此培養液內，配成 0%、3%、6% 及 8% 之不同濃度，分取適量注入試管內。以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.2 ± 0.2。
- 2.2.36.12 溴甲酚紫培養液(Bromcresol purple broth)  
蛋白胨(peptone) 10.0 g  
牛肉抽出物(beef extract) 3.0 g  
氯化鈉(NaCl) 20.0 ~ 30.0 g  
溴甲酚紫(bromcresol purple) 0.04 g  
蒸餾水 1000 mL  
加熱攪拌溶解後分取 2.5 mL 注入試管內，以 121°C 滅菌 10 分鐘，加入無菌濾膜過濾之 50% (w/v) 甘露糖溶液 (mannose solution) 0.278 mL，使醣類之最終濃度為 5% (w/v)，最終 pH 值為 7.0 ± 0.2。含乳糖、甘露糖醇、蔗糖及阿拉伯糖之溴甲酚紫培養液配製方法亦同。
- 2.2.36.13 加鹽動物膠培養基 (Gelatin salt agar, GS)  
蛋白胨(peptone) 4.0 g  
酵母抽出物(yeast extract) 1.0 g  
動物膠(gelatin) 15.0 g  
氯化鈉(NaCl) 30.0 g  
洋菜(agar) 15.0 g  
蒸餾水 1000 mL  
加熱攪拌溶解，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.2 ± 0.2。
- 2.2.36.14 AKI 培養液 (AKI medium)  
蛋白胨(peptone) 15.0 g  
酵母抽出物(yeast extract) 4.0 g  
氯化鈉(NaCl) 5.0 g  
蒸餾水 970 mL  
加熱攪拌溶解，以 121°C 滅菌 15 分鐘，待冷卻後加入經無菌過濾之 10% 碳酸氫鈉 30 mL，最終 pH 值為 7.4 ± 0.2。
- 2.2.37 抗血清  
2.2.37.1 霍亂弧菌本體 (O) 抗血清 (O antisera): 01 及 0139 型抗血清。
- 2.2.38 逆相被動乳膠凝集 (Reversed latex agglutination, RPLA) 套組: 可檢驗霍亂弧菌之腸毒素。
- 2.2.39 稀釋液  
2.2.39.1 2% 或 3% 氯化鈉溶液: 取氯化鈉 20 g 或 30 g 溶於蒸餾水 1000 mL 中，分裝於試管或廣口瓶內，經 121°C 滅菌 15 分鐘，使成含 2% 或 3% 之氯化鈉溶液。
- 2.2.39.2 磷酸鹽緩衝溶液 (Phosphate buffered saline, PBS): 取氯化鈉 7.650 g，無水磷酸氫二鈉 0.724 g，磷酸二氫鉀 0.210 g 溶於蒸餾水 1000 mL 中，以 1N 氫氧化鈉溶液調 pH 值為 7.4，以 121°C 滅菌 15 分鐘，作為磷酸鹽緩衝稀釋液。
- 2.3 檢液之調製  
2.3.1 檢體之處理: 檢體為魚類時，取樣包括表面組織、內臟及鰓。檢體為貝類時，取 10 至 12 個貝類將內部組織均質化。檢體為甲殼類時，包括整個動物體，可能時包括動物體中間部分如鰓及內臟組織。
- 2.3.2 檢液之調製: 稱取檢體 50 g 於攪拌均質器內，加入稀釋液 450 mL，高速攪拌 2 分鐘，作成 10 倍稀釋檢液。
- 2.3.3 檢液之處理: 分別使用滅菌之吸管，吸取 2.3.2 節之 10 倍稀釋檢液 10 mL 加入稀釋液 90 mL 中，依序作成一系列適當之 100 倍、1000 倍、10000 倍等稀釋檢液。
- 2.4 鑑別試驗  
2.4.1 增菌培養: 將 2.3 節之稀釋檢液及 (或) 原液充分搖勻後，再分別吸取三連續倍數之稀釋檢液各 1 mL 接種於 APW 或 APS 培養液 10 mL 中，每稀釋檢液各接種 2 支，並於 35~37°C，培養 6~15 小時。
- 2.4.2 分離培養: 由 2.4.1 節之 APW 或 APS 培養液面起深 1 cm 處，分取一接種環量菌液劃線接種在 TCBS 培養基表面，於 35~37°C 培養 18~24 小時後，觀察菌落之型態。可疑霍亂弧菌者，其菌落較大 (直徑約 2 ~ 3 mm)、平滑、呈黃色、略平、中央不透明外緣透明。鈎取至少 3 個可疑菌落，接種於 TSA-2~3% NaCl 培養基，於 35~37°C 培養 18~24 小時，再另行接種於 TSB-2~3% NaCl 培養液，於 35~37°C 培養 18~24 小時，以備進行生化試驗。
- 2.4.3 生化試驗  
2.4.3.1 初步試驗  
2.4.3.1.1 三糖鐵培養基 (TSI) 試驗  
自 TCBS 或 TSA-2~3% NaCl 培養基上鈎菌，以斜面劃線及穿刺法接種於 TSI 培養基，在 35~37°C 培養 18~24 小時，觀察培養基變化情形，可疑霍亂弧菌者，其斜面應呈黃色 (酸性) 少數呈紅色 (鹼性)，底部亦呈黃色 (酸性)。
- 2.4.3.1.2 克氏雙糖鐵培養基 (KIA) 試驗  
自 TCBS 或 TSA-2~3% NaCl 培養基上鈎菌，以斜面劃線及穿刺法接種於 KIA 培養基，在 35~37°C 培養 18~24 小時，觀察培養基變化情形，可疑霍亂弧菌者，其斜面應呈紅色 (鹼性)，底部呈黃色 (酸性)。
- 2.4.3.1.3 革蘭氏染色 (Gram stain)  
(1) 取 TSA-2~3% NaCl 培養基 16~24 小時培養之菌株，於載玻片上製成薄抹片，風乾或微熱固定。

- (2) 初染：將已固定之抹片，用哈克氏結晶紫液染 1 分鐘，水洗，水洗應不超過 5 秒鐘。
  - (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，再以自來水沖洗，此步驟需時甚短，僅數秒即可，惟視抹片之厚薄而定。
  - (5) 複染：用哈克氏複染液複染 30 秒鐘，水洗。
  - (6) 自然風乾。
  - (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。霍亂弧菌為革蘭氏陰性，菌體呈彎曲或直短棒狀，不產芽胞。
- 2.4.3.1.4 加鹽動物膠培養基(GS)試驗  
自 TCBS 或 TSA-2~3% NaCl 培養基上鈎菌接種於 GS 培養基，於 35~37°C 培養 12~24 小時，霍亂弧菌可在 GS 上生長，菌落周圍會出現不透明環。
  - 2.4.3.1.5 細胞色素氧化酶試驗(Cytochrome oxidase test)  
自 GS 培養基或 TSA-2~3% NaCl 培養基 24 小時培養之新鮮菌落進行氧化酶試驗。滴加氧化酶試劑於菌落上，氧化酶陽性之菌落呈現粉紅色，並逐漸成深紫色；或以接種環或無菌牙籤，刮取少量細菌(避免使用鎳鉻製品)，置於含有氧化酶試劑濕潤濾紙上，正反應會慢慢有深紫色出現(10 秒鐘內)，否則為負反應，霍亂弧菌應為正反應。
  - 2.4.3.1.6 O/129 敏感性試驗(O/129 sensitivity test)  
可使用含 O/129 10 µg 和 150 µg 之紙錠置於已接種菌之 TSA-2~3% NaCl 培養基上，或將菌接種在已含有 O/129 10 µg/mL 和 150 µg/mL 之 TSA-2~3% NaCl 培養基上。經 35~37°C 培養 18~24 小時後，霍亂弧菌應對含 O/129 10 µg 及 150 µg 者均具抑制作用之敏感性。
  - 2.4.3.1.7 精胺酸葡萄糖斜面培養基(AGS)試驗  
由 TSA-2~3% NaCl 培養基上鈎菌接種 AGS 斜面培養基，於 35~37°C 培養 18~24 小時，霍亂弧菌典型反應呈現鹼性(紫色)斜面和微酸性(淡黃色)底部。
  - 2.4.3.2. 確認試驗
    - 2.4.3.2.1 葡萄糖氧化與發酵試驗(Glucose oxidation-fermentation test)  
自 TSA-2~3% NaCl 斜面培養基上鈎菌接種於二支 HLGB 培養液，其中一支注入已滅菌之液態石蠟或礦物油至高約 1~2 cm，在 35±2°C 培養二天後，觀察其反應情形，HLGB 培養液顏色呈黃色者為正反應，紫色為負反應，霍亂弧菌應為正反應。
    - 2.4.3.2.2 精胺酸二水解酶試驗(Arginine dihydrolase test)  
自 TSA-2~3% NaCl 斜面培養基上鈎菌分別接種於精胺酸脫羧酶培養液及脫羧脒每基礎培養液中，接種後分別注入已滅菌之液態石蠟或礦物油覆蓋表面高約 1~2 cm，需鬆蓋，於 35~37°C 培養，每 24 小時觀察一次最多觀察 4 天。精胺酸脫羧脒每培養液呈紫色，且脫羧酶基礎培養液呈黃色者為正反應，否則為負反應，霍亂弧菌應為負反應。
    - 2.4.3.2.3 離胺酸脫羧酶試驗(Lysine decarboxylase test)  
自 TSA-2~3% NaCl 斜面培養基上鈎菌分別接種於離胺酸脫羧酶培養液及脫羧酶基礎培養液中，接種後分別注入已滅菌之液態石蠟或礦物油覆蓋表面高約 1~2 cm，需鬆蓋，於 35~37°C 培養，每 24 小時觀察一次最多觀察 4 天。離胺酸脫羧酶培養液呈紫色且脫羧酶基礎培養液呈黃色者為正反應，否則為負反應，霍亂弧菌應為正反應。
    - 2.4.3.2.4 鳥胺酸脫羧酶試驗(Ornithine decarboxylase test)  
自 TSA-2~3% NaCl 斜面培養基上鈎菌分別接種於鳥胺酸脫羧酶培養液及脫羧酶基礎培養液中，接種後分別注入已滅菌之液態石蠟或礦物油覆蓋表面高約 1~2 cm，需鬆蓋，於 35~37°C 培養，每 24 小時觀察一次最多觀察 4 天。鳥胺酸脫羧酶培養液呈紫色，且脫羧酶基礎培養液呈黃色者為正反應，否則為負反應，霍亂弧菌應為正反應。
    - 2.4.3.2.5 嗜鹽性試驗(Halophilism test)  
自 TSB-2~3% NaCl 培養液上鈎菌分別接種於含 0、3、6 及 8% 氯化鈉之 STB 培養液中，於 35~37°C 培養 18~24 小時後，觀察之。霍亂弧菌可在 0% 及 3% 氯化鈉生長良好，但在 6 及 8% NaCl 生長極緩慢或不能生長。
    - 2.4.3.2.6 42°C 生長試驗(Growth test, 42°C)  
由培養 24 小時之 TSB-2~3% NaCl 中鈎菌接種於 TSB-2% NaCl 培養液後，於 42°C 水浴中培養 24 小時。培養液呈混濁狀者為正反應，否則為負反應，霍亂弧菌應為正反應。
    - 2.4.3.2.7 發酵試驗(Fermentation test):  
自 TSA-2~3% NaCl 斜面培養基上鈎菌，接種於含各種糖類之溴甲酚紫培養液中，注入已滅菌之液態石蠟或礦物油覆蓋表面高約 1~2 cm，於 35~37°C 培養，每 24 小時觀察一次最多觀察 5 天。顏色由紫色轉變為黃色，為正反應，否則為負反應。霍亂弧菌對甘露糖醇、甘露糖及蔗糖應為正反應，對阿拉伯糖及乳糖應為負反應。
    - 2.4.3.2.8 硝基苯派喃半乳糖苷試驗(ONPG test):  
自 2.4.3.1.1 節之可疑霍亂弧菌之 TSI 斜面培養基(或其他含乳糖的培養基)上鈎菌，置於含有已滅菌之 0.85% 生理食鹽水 0.2 mL 之試管中，作成濃懸浮液後，再加入一片浸過硝基苯派喃半乳糖苷試劑之紙錠，並輕輕搖動後，於 35~37°C 培養 6~24 小時，紙錠變成黃色者為正反應，否則為負反應，霍

亂弧菌應為正反應。

#### 2.4.4 血清學試驗(Serological test)

##### 2.4.4.1 細菌本體抗原抗血清凝集試驗 [Agglutination test of antigen with somatic (O) antisera test]:

將菌接種在 TSA-2~3% NaCl 培養基，於 35~37°C 培養 18~24 小時。用蠟筆在載玻片上劃成數個適當格位，於格位上方滴入各種體抗原抗血清 1 滴，鉤取一接種環菌量，於有抗血清之格位上來回塗抹 1 分鐘。於另一格位滴入一滴 2~3% 氯化鈉溶液作對照組，反覆傾斜混合 1 分鐘。正反應者應呈凝集現象，對照組則無；負反應者，則兩組均無凝集現象。

#### 2.4.5 腸毒性測試(Determination of enterotoxigenicity)

##### 2.4.5.1 霍亂毒素(Cholera toxin, CT)試驗

可採用市售之逆相被動乳膠凝集(reversed latex agglutination, RPLA)套組進行霍亂毒素檢驗。自 TSA-2~3% NaCl 培養基上鉤菌，接種於 AKI 培養液 10 mL 中，於 35~37°C 培養 16~20 小時，取培養液 5~7 mL 以 8000 x g 離心 10 分鐘。取上清液通過 0.2 μm 之無菌濾膜，收集濾液備用。以逆相被動乳膠凝集套組檢驗濾液是否含有霍亂弧菌腸毒素，操作方法依照各商品說明書。

##### 2.4.5.2 霍亂毒素基因(ctx gene)試驗

##### 2.4.5.2.1 霍亂毒素基因聚合酵素鏈反應(Polymerase chain reaction, PCR)引子，序列如下：

Forward 5'-TGA AAT AAA GCA GTC AGG TG-3'  
Reverse 5'-GGT ATT CTG CAC ACA AAT CAG-3'  
PCR 增幅產物大小 777 bp

##### 2.4.5.2.2 DNA 模板處理

自 TSA-2~3% NaCl 培養基上鉤取一接種環的菌量置入含無菌水 150 μL 之 1.5 mL 無菌試管中，混合均勻。置入水浴槽煮沸 15 分鐘，以 8000 x g 離心 10 分鐘，吸取上清液至另一新的 1.5 mL 無菌試管，於 -20°C 保存備用。

##### 2.4.5.2.3 聚合酵素鏈反應

取 DNA 模板 10 μL，加入 10 倍 PCR 緩衝溶液(含 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>) 2.5 μL、聚合酵素(2 U/μL) 1.0 μL、dNTP (2.5 mM) 4.0 μL、Forward 引子(10 μM) 1.0 μL、Reverse 引子(10 μM) 1.0 μL、無菌純水 30.5 μL，最終體積為 50 μL。聚合酵素鏈反應使用聚合酵素鏈反應器，溫度循環條件為 94°C，5 分鐘；94°C/1 分鐘，55°C/1 分鐘，72°C/1 分鐘共計 35 個循環；72°C，7 分鐘。

##### 2.4.5.2.4 膠片電泳分析

取 PCR 增幅產物 10 μL 與 6 倍載入膠片緩衝溶液 1 μL 混合均勻注入 2 % 膠片孔中，以 50 或 100 伏特電壓進行電泳。同時必須取 DNA 分子量標記物質進行電泳，作為 PCR 增幅產物大小之判別與計算依據。經電泳後之膠片置入溴化乙錠染液中進行染色約 15 分鐘，續置入水中漂洗及退染，再置於紫外燈箱上，以波長 365 nm 之紫外光照射觀察是否有明顯之 DNA 螢光帶，進行照相並判讀結果。

2.5 以上試驗可參考使用國際間認可之市售培養基、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。

2.6 判定：霍亂弧菌陽性者，應符合下表所列之結果

| 試驗或基質         |           | 正反應     | 負反應       | 霍亂弧菌的反應 <sup>a</sup> |
|---------------|-----------|---------|-----------|----------------------|
| 三糖鐵培養基試驗      | 斜面        | 黃色      | 紅色        | +                    |
|               | 底部        | 黃色      | 紅色        | +                    |
| 克氏雙糖鐵瓊脂培養基試驗  | 斜面        | 黃色      | 紅色        | -                    |
|               | 底部        | 黃色      | 紅色        | +                    |
| 革蘭氏染色         |           | 陽性(深紫色) | 陰性(淡紅色)   | -                    |
| 42°C 培養生長試驗   |           | 混濁      | 澄清        | +                    |
| 硝基苯派喃半乳糖苷試驗   |           | 黃色      | 原色        | +                    |
| 葡萄糖氧化與發酵試驗    |           | 黃色      | 紫色        | +                    |
| 細胞色素氧化酶試驗     |           | 深紫色     | 非深紫色      | +                    |
| 精胺酸二水解酶試驗     |           | 紫色      | 黃色        | -                    |
| 離胺酸脫羧酶試驗      |           | 紫色      | 黃色        | +                    |
| 鳥胺酸脫羧酶試驗      |           | 紫色      | 黃色        | +                    |
| 嗜鹽性試驗         | 0%及 3%氯化鈉 | 可生長     | 不生長或生長極緩慢 | +                    |
|               | 6%及 8%氯化鈉 | 可生長     | 不生長或生長極緩慢 | -                    |
| 加鹽動物膠培養基試驗    |           | 生長      | 不生長       | +                    |
| 精胺酸葡萄糖斜面培養基試驗 | 斜面        | 黃色      | 紫色        | -                    |
|               | 底部        | 黃色      | 紫色        | +                    |
| 發酵試驗          | 蔗糖        | 黃色      | 紫色        | +                    |
|               | 乳糖        | 黃色      | 紫色        | -                    |
|               | 甘露糖       | 黃色      | 紫色        | +                    |
|               | 阿拉伯糖      | 黃色      | 紫色        | -                    |
|               | 甘露糖醇      | 黃色      | 紫色        | +                    |
| O/129 敏感性試驗   | 10 μg     | 生長      | 不生長       | S <sup>b</sup>       |
|               | 150 μg    | 生長      | 不生長       | S <sup>b</sup>       |

| 試驗或基質         | 正反應 | 負反應 | 霍亂弧菌的反應 <sup>a</sup> |
|---------------|-----|-----|----------------------|
| 細菌本體抗原抗血清凝集試驗 | 凝集  | 無凝集 | A/nA <sup>c</sup>    |

a: 「+」表示 80% 以上菌株為正反應，「-」表示 80% 以上菌株為負反應。

b: 「S」表示具抑制作用，不生長之敏感性。

c: 「A」表示與細菌本體抗原抗血清(01 型或 0139 型)凝集，「nA」表示無法與細菌本體抗原抗血清(01 型及 0139 型)凝集。

參考文獻：

1. AOAC International. 1998. AOAC Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 16<sup>th</sup> ed., 4<sup>th</sup> Revision, Volume I, Chapter 17, Microbiological Methods, pp108-110
2. Cholera, *Vibrio cholerae* 01 and 0139, and Other Pathogenic Vibrios by Richard A. Finkelstein. (<http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch024.htm>) Date accessed: Aug. 18, 2004.
3. Kaysner, C. A., and DePaola, A. 2004. Chapter 9. *Vibrio*. In FDA Bacteriological Analytical Manual, Substantially rewritten and revised from *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and *Vibrio* spp., Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. (Revision A). AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
4. U.S. Food & Drug Administration, 1992, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook: *Vibrio cholerae* Serogroup 01 (<http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap7.html>) Date accessed: Aug. 18, 2004.
5. World Health Organization: Cholera (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs107/en/>) Date accessed: Aug. 18, 2004.
6. 蔡文城，2002，微生物學(第四版)，藝軒圖書出版公司，pp. 496-509

## 藥物食品檢驗局八月份大事記

- 8 月 4 日 舉辦「水產品及肉品中動物用藥分析研討會」。
- 8 月 8 日 研究員張憲昌及技士黃坤森赴中國大陸考察「中醫藥之科技管理」，為期十五天。
- 8 月 10 日 舉辦九十三年資訊安全教育訓練。
- 8 月 11 日 舉辦「白喉破傷風百日咳混合疫苗品質管制研討會」，邀請日本厚生省國立感染症研究所(NIID)第五室室長 Horiuchi 博士及長庚兒童醫院周怡宏醫師蒞局演講。
- 8 月 16 日 技士張若平赴澳洲，參加「第 21 屆 NRL 血清研討會」，為期七天。
- 8 月 26 日 邀請日本國立茶水女子大學佐竹元吉教授、李宜融博士及津村製藥株式會社常任顧問岡田稔蒞局，演講並交換心得
- 8 月 27 日 舉辦「Dioxin Responsive DR-CALUX Bioassay」說明會。
- 8 月 31 日 出席經濟部召開「九〇五專案」業務協調會議，報告「全面性市售農畜禽水產食品之藥物殘留監測計畫」。