

沙門氏桿菌之增菌培養 、分離及鑑別

食品藥物管理署研究檢驗組二科
葉民煉
108.09.25

藥求安全，食在安心



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

<http://www.fda.gov.tw/>

大 綱

- 沙門氏桿菌之限量標準
- 沙門氏桿菌之檢驗方法
 - ↳ 配製稀釋液、培養基
 - ↳ 調製檢液與增菌培養
 - ↳ 選擇性增菌培養與分離
 - ↳ 鑑定試驗及判定

現行沙門氏桿菌之限量標準

➤ 食品衛生標準

- 1.乳品類衛生標準(102.8.20)：不得檢出
- 2.飲料類衛生標準(102.8.20)：陰性
- 3.嬰兒食品類衛生及殘留農藥安全容許量標準(103.7.15)：陰性
- 4.食品原料阿拉伯樹膠規格標準(105.4.29)：陰性
- 5.液蛋衛生標準草案：殺菌液蛋不得檢出沙門氏菌、未殺菌液蛋之生菌數限量為 10^6 CFU/g(**108.5.30預告訂定，109.1.1施行**)

➤ 食品添加物使用範圍及限量暨規格標準(107.6.19)

- 1.乳酸鏈球菌素(Nisin)：陰性/10 g
- 2.乳鐵蛋白(Lactoferrin)：陰性/5 g
- 3.玉米糖膠(Xanthan Gum)：陰性
- 4.結蘭膠(Gellan)：陰性

預定訂定「食品中微生物衛生標準」草案(107.6.11)

衛授食字第1071300279號

衛生福利部 公告

發文日期：中華民國107年6月11日
發文字號：衛授食字第1071300279號
附件：「食品中微生物衛生標準」草案總說明及逐條說明之pdf檔案1份



主旨：預告訂定「食品中微生物衛生標準」草案。

依據：行政程序法第一百五十四條第一項。

公告事項：

- 一、訂定機關：衛生福利部。
- 二、訂定依據：食品安全衛生管理法第十七條。
- 三、「食品中微生物衛生標準」草案總說明及逐條說明如附件。本案另載於行政院公報資訊網、本部網站「衛生福利法規檢索系統」下「法規草案」網頁、本部食品藥物管理署網站「公告資訊」下「本署公告」網頁及國家發展委員會「公共政策網路參與平臺-眾開講」網頁(<https://join.gov.tw/policies/>)。
- 四、對於公告內容有任何意見或修正建議者，可於本公告刊登公報之隔日起60日內，至前揭「衛生福利法規檢索系統」或「公共政策網路參與平臺-眾開講」網頁陳述意見或洽詢：

(一)承辦單位：衛生福利部食品藥物管理署



食品藥物管理署
Food and Drug Administration

衛生福利部食品藥物管理署新聞稿

日期	107.6.11	單位	食品組	編號	
標題	預告訂定「食品中微生物衛生標準」草案				

衛生福利部(下稱衛福部)為整合有關食品微生物之相關標準，經參考國際管理趨勢、風險評估及國內需求，重新評估並提出「食品中微生物衛生標準」之草案，將自即日起展開 60 天之評論期，蒐集各界意見。

本草案研訂重點，除整合各項食品衛生標準中有關微生物之管理規範外，亦針對食品分類進行調整，以使管理之範疇更為明確。本次修正新增部分指標性病原菌(如：沙門氏菌)、擴大腸內菌叢之監測對象為腸桿菌科(Enterobacteriaceae)，取代部分傳統之衛生指標菌(如：大腸桿菌叢)，以使相關例行性衛生監測結果更具風險代表性；另外，並參考國際管理趨勢，改以微生物採樣計畫(sampling plan)要求，提高採樣數，以使相關監測結果更具統計代表性。

針對微生物採樣計畫之要求，係繼民國 103 年研修「嬰兒食品類衛生及殘留農藥安全容許量標準」後再次提出，考量與過去相關抽樣監測之模式有大幅度之調整，且針對特殊個案之採樣方式宜另有更為完善之配套措施，故本次同時提出「食品中微生物採樣計畫及原則指引」之草案，以提供實務採樣執行層面之參考。

考量該標準將大幅調整採樣方式、採樣數量及管理模式，相關實驗室、資訊系統之架接及有關抽驗辦法均需配套調整，爰本標準預定將延長緩衝期



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

食品中沙門氏桿菌之衛生標準(草案)107.6.11

食 品 品 項		採樣計畫		限量	
		n	c	m	M
表1. 乳及乳製品類	1.1 鮮乳、調味乳及乳飲品、1.2 乳粉、調製乳粉及供為食品加工原料之乳清粉、1.3 發酵乳、1.4 煉乳、1.5 乾酪、奶油及乳脂	5	0	陰性	
表2. 嬰兒食品類	2.1 嬰兒配方食品、2.2 較大嬰兒配方輔助食品、2.3 特殊醫療用途嬰兒配方食品	10	0	陰性	
	2.4 專供嬰兒食用之副食品	5	0	陰性	
表3. 生鮮即食食品及生熟食混和即食食品類	3.1 生鮮即食水產品、3.2 混和生鮮即食水產品之生熟食混和即食食品、3.3 生鮮即食蔬果、3.4 混和生鮮即食蔬果之生熟食混和即食食品、3.5 供即食之未全熟蛋及含有未全熟蛋之即食食品	5	0	陰性	
表4. 包裝/盛裝飲用水及飲料類	4.5 未經商業殺菌之鮮榨果蔬汁、添加少於50 %乳品且未經商業殺菌之含乳鮮榨果蔬汁 4.7 即時調製、未經殺菌處理，且架售期少於24小時之飲料	5	0	陰性	
表5. 冷凍食品及冰類	5.1 食用冰塊、5.2 冷凍即食食品，包括：冰品、冷凍水果 5.3&5.6 經充分加熱煮熟後再冷凍之水產品及其他食品 5.5 供生食之冷凍生鮮水產品	5	0	陰性	
表6. 其他即食食品類(表1.~表5.所列以外)	6.1 經復水或沖調即可食用之食品、6.2 即食食品，以常溫或熱藏保存者、6.3 即食食品，以冷藏或低溫保存者，包括：經復熱後即可食用之冷藏或低溫即食食品(如:18℃鮮食)及冷藏甜點、醬料等	5	0	陰性	

檢驗方法查詢

...

... 目前位置：首頁 > 業務專區 > 研究檢驗

業務專區

食品

藥品

醫療器材

化粧品

管制藥品

區管理中心

實驗室認證

研究檢驗

製藥工廠管理
(GMP/GDP)

邊境查驗專區

通報及安全監視
專區



生物藥品抽取樣品 前外觀檢查風險管 控機制

生物藥品抽取樣品前外
觀檢查風險管控機制自
108年4月1日實施

[詳細內容]



公告檢驗方法

提供食品衛生檢驗之依
據，並經法定公告程序
發布。

[詳細內容]



食品藥物國家實驗 室參訪

本署食品藥物國家實驗
室參訪申請各項事宜

[詳細內容]

研究檢驗出版品

食品藥物研究年報

藥物食品分析期刊

原藥檢局調查研究年報

藥物食品安全週報

檢驗方法專輯

原藥檢局科技研究

原食品藥物管理局科技
研究

相關連結

食品藥物消費者專區-檢
驗方法查詢

廣告資訊及不法藥物專
區

不合格產品專區

檢驗方法英文版

公告檢驗方法

提供食品衛生檢驗之依據，並經法
定公告程序發布。

建議檢驗方法

供國內外各界參考及實驗室依循，
實驗室可視檢驗需求進行方法修
正，並經確效後使用，惟其定量極
限須與建議方法訂有定量極限者一
致。

食品添加物規格檢驗方法

檢驗方法預告草案

網址 <http://www.fda.gov.tw/TC/site.aspx?sid=42>

食品中沙門氏桿菌之檢驗方法

95 年 9 月 4 日署授食字第 0951800021 號公告修正
102 年 12 月 23 日部授食字第 1021951187 號公告修正

食品微生物之檢驗方法－沙門氏桿菌之檢驗

Methods of Test for Food Microorganisms - Test of *Salmonella*

第一部：沙門氏桿菌之分離

- 1.適用範圍：本方法適用於食品中沙門氏桿菌之檢驗。
- 2.檢驗方法：檢體經增菌後，續以選擇性培養基培養，配合沙門氏桿菌型別鑑定之方法。

食品中沙門氏桿菌之檢驗方法

微生物檢驗儀器設備



高壓滅
菌釜



培養箱
水浴槽



生物安全
操作櫃



生化試
驗鑑定

檢體增菌培養液

1. 蛋白胨緩衝液(**Buffered peptone water, BPW**)
2. 乳糖培養液(**Lactose broth, LB**)
3. 無脂乳粉溶液(Nonfat dry milk, Reconstituted)
4. 營養培養液(Nutrient broth, NB)
5. 四硫代硫酸鹽培養液(Tetrathionate broth, TT)
6. 胰化酪蛋白大豆培養液(**Trypticase soy broth, TSB**)
7. 含硫酸亞鐵胰化酪蛋白大豆培養液
(Trypticase soy broth containing ferrous sulfate)
8. 含亞硫酸鉀胰化酪蛋白大豆培養液
(Trypticase soy broth containing potassium sulfite)
9. 預增菌培養液(Universal preenrichment broth, UPB)
10. 0.002%煌綠溶液

檢體增菌培養液

蛋白胨緩衝液(Buffered peptone water)

蛋白胨(peptone)..... 10 g
氯化鈉..... 5 g
磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4)..... 3.5 g
磷酸二氫鉀(KH_2PO_4)..... 1.5 g
蒸餾水..... 1000 mL
加熱溶解後，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為7.2±0.2。

乳糖培養液(Lactose broth)

牛肉抽出物(beef extract) ... 3 g
蛋白胨(peptone)..... 5 g
乳糖(lactose)..... 5 g
蒸餾水..... 1000 mL
加熱溶解後，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為6.9±0.2。

四硫代硫酸鹽培養液(Tetrathionate broth, TT)

TT 基礎培養液(TT broth base).
聚蛋白胨(polypeptone)..... 5 g
膽鹽(bile salts)..... 1 g
碳酸鈣(CaCO_3)..... 10 g
硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)..... 30 g
蒸餾水..... 1000 mL
將基礎培養液加熱沸騰，最終pH值為8.4±0.2。
使用前加入碘-碘化鉀溶液0.2 mL 及0.1%煌綠溶液0.1 mL。

營養培養液(Nutrient broth)

牛肉抽出物(beef extract)..... 3 g
蛋白胨(peptone)..... 5 g
蒸餾水..... 1000 mL
加熱溶解後，分取約10 mL，注入試管，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為6.8±0.2。

無脂乳粉溶液(Nonfat dry milk, Reconstituted)

無脂乳粉(nonfat dry milk)..... 100 g
蒸餾水..... 1000 mL
加熱溶解後，以121°C滅菌15分鐘。

胰化酪蛋白大豆培養液(Trypticase soy broth)

植物蛋白胨(phytone peptone)..... 3 g
胰化酪蛋白胨(trypticase peptone)..... 17 g
磷酸氫二鉀(K_2HPO_4)..... 2.5 g
氯化鈉..... 5 g
葡萄糖(glucose)..... 2.5 g
蒸餾水..... 1000 mL
加熱溶解後，取225 mL，倒入500 mL 三角錐瓶，以121°C滅菌15分鐘。最終pH值為7.3±0.2。

檢體增菌培養液

含硫酸亞鐵胰化酪蛋白大豆培養液

(Trypticase soy broth containing ferrous sulfate)

硫酸亞鐵(FeSO_4).....35 mg

胰化酪蛋白大豆培養液.....1000 mL

加熱溶解後以 121°C 滅菌15分鐘，最終 pH 值為 7.3 ± 0.2 。

含亞硫酸鉀胰化酪蛋白大豆培養液

(Trypticase soy broth containing potassium sulfite)

亞硫酸鉀(potassium sulfite).....5 g

胰化酪蛋白大豆培養液.....1000 mL

加熱溶解後，以 121°C 滅菌15分鐘，備用。

預增菌培養液(Universal preenrichment broth)

胰化蛋白胨(tryptone).....5 g

胰蛋白胨(proteose peptone).....5 g

磷酸二氫鉀(KH_2PO_4).....15 g

磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4).....7 g

氯化鈉.....5 g

葡萄糖(glucose).....0.5 g

硫酸鎂(MgSO_4).....0.25 g

檸檬酸銨鐵(ferric ammonium citrate).....0.1 g

丙酮酸鈉(sodium pyruvate).....0.2 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 6.3 ± 0.2 。

0.002%煌綠溶液：

取1%煌綠溶液2 mL，加入蒸餾水使成1000 mL。



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

檢體增菌培養液

增菌培養液名稱	成分	滅菌條件	最終pH值
蛋白胨緩衝液(Buffered peptone water, BPW)	蛋白胨、氯化鈉、磷酸氫二鈉、磷酸二氫鉀	121°C, 15分鐘	7.2±0.2
乳糖培養液(Lactose broth, LB)	牛肉抽出物、蛋白胨、乳糖	121°C, 15分鐘	6.9 ± 0.2
無脂乳粉溶液(Nonfat dry milk, Reconstituted)	無脂乳粉	121°C, 15分鐘	—
營養培養液(Nutrient broth, NB)	牛肉抽出物、蛋白胨	121°C, 15分鐘	6.8±0.2
四硫代硫酸鹽培養液(Tetrathionate broth, TT)	TT broth base：聚蛋白胨(polypeptone)、膽鹽、碳酸鈣、硫代硫酸鈉、碘-碘化鉀溶液、1%煌綠溶液	加熱沸騰	8.4±0.2
胰化酪蛋白大豆培養液(Trypticase soy broth, TSB)	植物蛋白胨(phytone peptone)、胰化酪蛋白胨(trypticase peptone)、磷酸氫二鉀、氯化鈉、葡萄糖	121°C, 15分鐘	7.3±0.2
含硫酸亞鐵胰化酪蛋白大豆培養液(TSB with FeSO ₄)	胰化酪蛋白大豆培養液(TSB)、硫酸亞鐵(FeSO ₄)	121°C, 15分鐘	7.3±0.2
含亞硫酸鉀胰化酪蛋白大豆培養液(TSB with K ₂ SO ₃)	胰化酪蛋白大豆培養液(TSB)、亞硫酸鉀(K ₂ SO ₃)	121°C, 15分鐘	7.3±0.2
預增菌培養液(UPB)	胰化蛋白胨(tryptone)、月示蛋白胨(proteose peptone)、磷酸二氫鉀、磷酸氫二鈉、氯化鈉、葡萄糖、硫酸鎂、檸檬酸銨鐵、丙酮酸鈉	121°C, 15分鐘	6.3±0.2
0.002%煌綠溶液	煌綠(brilliant green)	無菌濾膜過濾	—
※膽鹽(bile salts)/煌綠(brilliant green)：抑制革蘭氏陽性菌及其他革蘭氏陰性菌 ※丙酮酸鈉(sodium pyruvate)：促進微生物的代謝			

選擇性增菌培養液及分離培養基

- 選擇性增菌培養液

- ↳ Rappaport - Vassiliadis 培養液(RV)
- ↳ 四硫代硫酸鹽培養液(Tetrathionate broth, TT)
- ↳ 亞硒酸胱氨酸培養液(Selenite cystine broth, SC)

- 分離培養基

- ↳ 木糖離胺酸去氧膽酸鹽培養基(Xylose lysine deoxycholate agar, XLD)
- ↳ 海克頓腸內菌培養基(Hektoen enteric agar, HE)
- ↳ 亞硫酸鈹培養基(Bismuth sulfite agar, BS)

- 斜面培養基

- ↳ 三糖鐵培養基(Triple sugar iron agar, TSI)
- ↳ 離胺酸鐵培養基(Lysine iron agar, LIA)

Rappaport - Vassiliadis 培養液(RV)

組成分		克數	功能
RV基礎培養液 (RV broth base)	胰化蛋白胨(tryptone)	5 g	生長所需之營養源
	氯化鈉	8 g	維持滲透壓
	磷酸二氫鉀(KH_2PO_4)	1.6 g	緩衝pH
	蒸餾水	1000 mL	
氯化鎂溶液(400 g/1000 mL)		100 mL	提高滲透壓
孔雀綠草酸鹽溶液(0.4 g/100 mL)		10 mL	抑制沙門氏桿菌科以外之微生物
➤ RV基礎培養液1000 mL(當日現配)、氯化鎂溶液100 mL及孔雀綠草酸鹽溶液10 mL，混合均勻。 ➤ 分取10 mL，注入試管，以115℃滅菌15分鐘，最終pH值為5.5±0.2。 ※ 保存期限：氯化鎂溶液1年(室溫，棕色瓶)；孔雀綠草酸鹽溶液6個月(室溫，棕色瓶)；RV培養液冷藏且勿超過1個月。			

四硫代硫酸鹽培養液(Tetrathionate broth, TT)

組成分		克數	功能
TT基礎培養液 (TT broth base)	聚蛋白胨(polypeptone)	5 g	生長所需之營養源
	膽鹽(bile salts)	1 g	抑制革蘭氏陽性菌
	碳酸鈣(CaCO_3)	10 g	中和及吸收有毒代謝物
	硫代硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	30 g	與碘-碘化鉀溶液形成四硫代硫酸鹽，抑制其他正常腸道菌群
	蒸餾水	1000 mL	

➤ TT基礎培養液加熱沸騰，最終pH值為 8.4 ± 0.2 。

➤ 冷卻至 45°C 以下，分取10 mL，注入試管，儲藏於冰箱備用。

➤ 使用前加入碘-碘化鉀溶液0.2 mL及0.1%煌綠溶液0.1 mL。

※碘-碘化鉀溶液：碘化鉀5 g，溶於無菌水5 mL，加入碘6 g，攪拌至溶解，再加無菌水稀釋至20 mL，避光儲存。本操作務必在抽氣櫃內進行。

※0.1%煌綠溶液：煌綠0.1 g，溶於水使成100 mL，以無菌濾膜過濾。

亞硒酸胱胺酸培養液(Selenite cystine broth, SC)

組成分	克數	功能
聚蛋白胨(polypeptone) 或胰化蛋白胨(tryptone)	5 g	生長所需之營養源
乳糖(lactose)	4 g	能量來源
磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4)	10 g	緩衝pH
亞硒酸氫鈉(NaHSeO_3)	4 g	抑制革蘭氏陽性菌及大部分非沙門氏桿菌之革蘭氏陰性菌
胱胺酸(L-cystine)	0.01 g	改善沙門氏桿菌之復甦
蒸餾水	1000 mL	
➤ 加熱溶解後，取10 mL，分別注入試管，再於沸騰水浴上蒸氣加熱10分鐘(加熱時應經常搖動，但不可高壓殺菌)，最終pH值為7.0 ± 0.2。 ※配製後應當天使用。		

木糖離胺酸去氧膽酸鹽培養基 (Xylose lysine deoxycholate agar, XLD)

組成分	克數	功能
酵母抽出物(yeast extract)	3 g	生長所需之營養源
L-離胺酸(L-lysine)	5 g	區分非病原菌 (Lysine decarboxylase降解離胺酸，pH值為鹼性)
木糖(xylose)	3.75 g	區分志賀氏桿菌 (除了志賀氏桿菌，幾乎所有的腸道都能發酵木糖)
乳糖(lactose)	7.5 g	區分lysine-positive coliforms (發酵產生過量的酸，改變pH值為黃色)
蔗糖(sucrose)	7.5 g	區分lysine-positive coliforms (發酵產生過量的酸，改變pH值為黃色)
去氧膽酸鈉(sodium deoxycholate)	2.5 g	抑制革蘭氏陽性
檸檬酸銨鐵(ferric ammonium citrate)	0.8 g	硫化氫的產生，形成黑色菌落(硫化鐵沉澱物)
硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	6.8 g	硫化氫的產生，形成黑色菌落(硫化鐵沉澱物)
氯化鈉	5 g	維持滲透壓
酚紅(phenol red)	0.08 g	pH指示劑(紅色→黃色)
洋菜(agar)	15 g	凝固劑
蒸餾水	1000 mL	

➤ 攪拌加熱至沸騰溶解，注意不可加熱過度。於50℃水浴中冷卻，最終pH值為7.4±0.2。每培養皿注入約20 mL，凝固後打開皿蓋約1/2~1/4，使培養基表面乾燥。配製後勿儲存超過一天。

海克頓腸內菌培養基 (Hektoen enteric agar, HE)

組成分	克數	功能
蛋白胨(peptone)	12 g	生長所需之營養源
酵母抽出物(yeast extract)	3 g	生長所需之營養源
膽鹽No.3 (bile salts No.3)	9 g	抑制革蘭氏陽性菌，但對某些革蘭氏陰性菌株也有毒性
乳糖(lactose)	12 g	有效區分腸道病原菌，另高含量乳糖使延遲乳糖發酵問題極小化
蔗糖(sucrose)	12 g	有效區分腸道病原菌
水楊苷(salicin)	2 g	有效區分腸道病原菌
氯化鈉	5 g	維持滲透壓
硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	5 g	硫化氫的產生，形成黑色菌落(硫化鐵沉澱物)
檸檬酸銨鐵(ferric ammonium citrate)	1.5 g	硫化氫的產生，形成黑色菌落(硫化鐵沉澱物)
溴麝香草藍(bromthymol blue)	0.065 g	pH指示劑
酸性復紅(acid fuchsin)	0.1 g	pH指示劑
洋菜(agar)	14 g	凝固劑
蒸餾水	1000 mL	

- 攪拌加熱至沸騰溶解，沸騰勿超過1分鐘。於50℃水浴中冷卻，最終pH值為7.5±0.2。每培養皿注入約20 mL，打開皿蓋約1/2~1/4，靜置約2小時，使培養基表面乾燥。配製後勿儲存超過一天。

亞硫酸鉍培養基 (Bismuth sulfite agar, BS)

組成分	克數	功能
聚蛋白胨(polypeptone)或蛋白胨(peptone)	10 g	生長所需之營養源
牛肉抽出物(beef extract)	5 g	生長所需之營養源
葡萄糖(glucose)	5 g	能量來源
無水磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4 ; anhydrous)	4 g	緩衝pH
無水硫酸亞鐵(FeSO_4 ; anhydrous)	0.3 g	硫化氫使鐵成分沉澱，形成具有金屬光澤之褐色至黑色的菌落
亞硫酸鉍 $[\text{Bi}_2(\text{SO}_3)_3]$	8 g	抑制革蘭氏陽性菌及大腸菌群
煌綠(brilliant green)	0.025 g	抑制革蘭氏陽性菌及大腸菌群
洋菜(agar)	20 g	凝固劑
蒸餾水	1000 mL	

- 攪拌加熱至沸騰溶解約1分鐘，不須高壓滅菌。冷卻至45~50℃，最終pH值為7.7±0.2。每培養皿注入約20 mL，打開皿蓋約1/2~1/4，靜置約2小時，使培養基表面乾燥。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。培養基以當天使用最佳，最多不得超過48小時，且應貯存於暗處。

三糖鐵培養基 (Triple sugar iron agar, TSI)

組成分	克數	功能
牛肉抽出物(beef extract)	3 g	生長所需之營養源
酵母抽出物(yeast extract)	3 g	生長所需之營養源
蛋白胨(peptone)	15 g	生長所需之營養源
月示蛋白胨(proteose peptone)	5 g	生長所需之營養源
葡萄糖(glucose)	1 g	能量來源(糖類發酵)
乳糖(lactose)	10 g	能量來源(糖類發酵)
蔗糖(sucrose)	10 g	能量來源(糖類發酵)
硫酸亞鐵(FeSO_4)	0.2 g	硫化氫的產生，使培養基變黑
氯化鈉	5 g	維持滲透壓
硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.3 g	硫化氫的產生，使培養基變黑
酚紅(phenol red)	0.024 g	pH指示劑(紅色→黃色)
洋菜(agar)	12 g	凝固劑
蒸餾水	1000 mL	

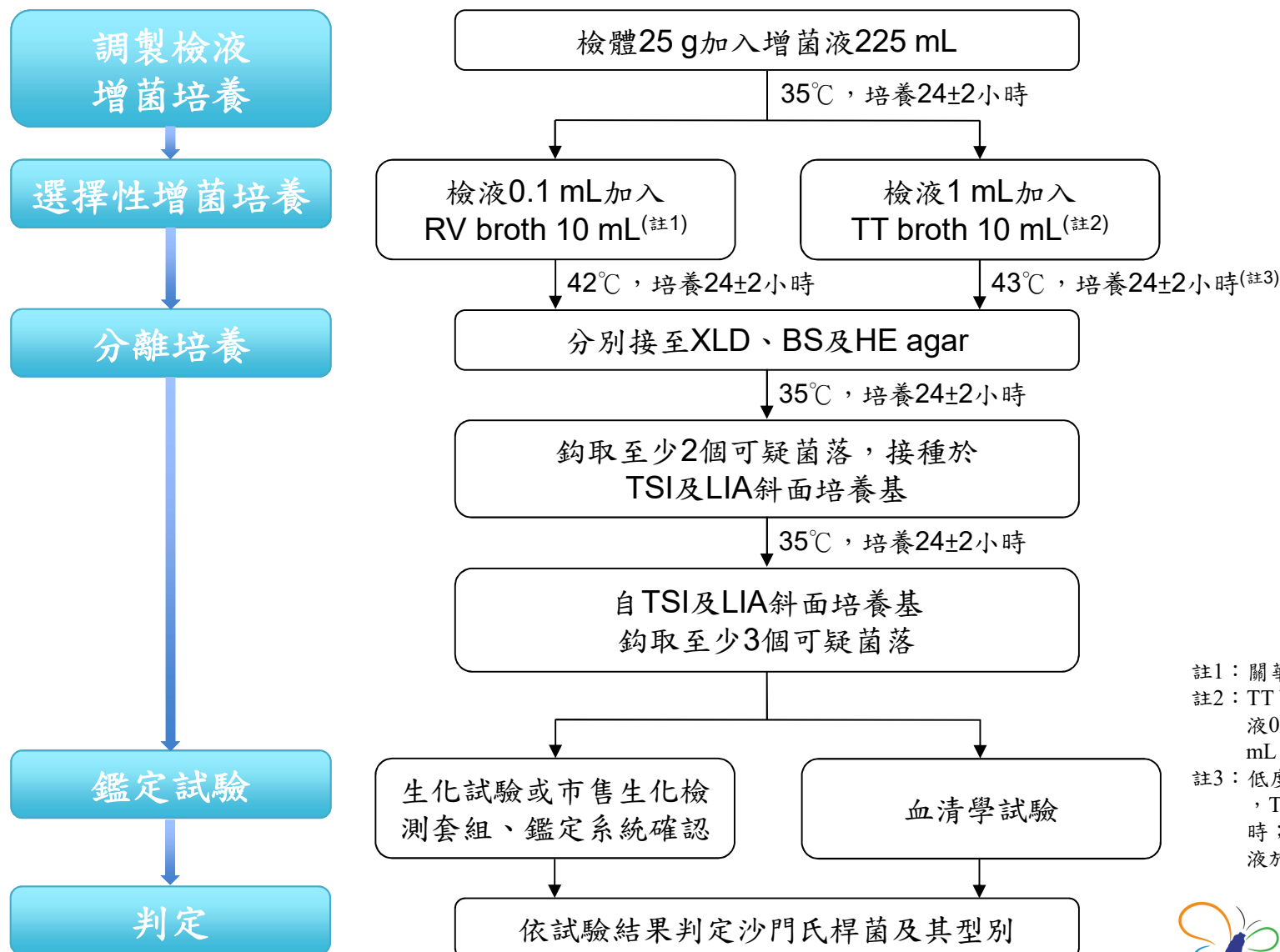
- 加熱溶解後，分取約5 mL，注入試管，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為7.4±0.2。滅菌後作成斜面培養基，斜面長度約4~5 cm，斜面底部之深度約2~3 cm。

離胺酸鐵培養基 (Lysine iron agar, LIA)

組成分	克數	功能
蛋白胨(peptone)	5 g	生長所需之營養源
酵母抽出物(yeast extract)	3 g	生長所需之營養源
葡萄糖(glucose)	1 g	能量來源
離胺酸鹽酸鹽(L-lysine hydrochloride)	10 g	測定離胺酸脫羧酶(Lysine decarboxylase)及離胺酸脫胺酶(lysine deaminase)
檸檬酸銨鐵(ferric ammonium citrate)	0.5 g	硫化氫的產生，使培養基變黑
無水硫代硫酸鈉 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; anhydrous)	0.04 g	硫化氫的產生，使培養基變黑
溴甲酚紫(bromcresol purple)	0.02 g	pH指示劑(紫色→黃色)
洋菜(agar)	15 g	凝固劑
蒸餾水	1000 mL	

➤ 加熱溶解後，分取約4 mL，注入試管中，以121℃滅菌12分鐘，最終pH值為6.7±0.2。滅菌後作成斜面培養基，此斜面長度約2.5 cm，斜面底部之深度約4 cm。

檢驗流程圖



註1：關華豆膠使用SC培養液。

註2：TT broth需先加入碘-碘化鉀溶液0.2 mL及0.1%煌綠溶液0.1 mL。

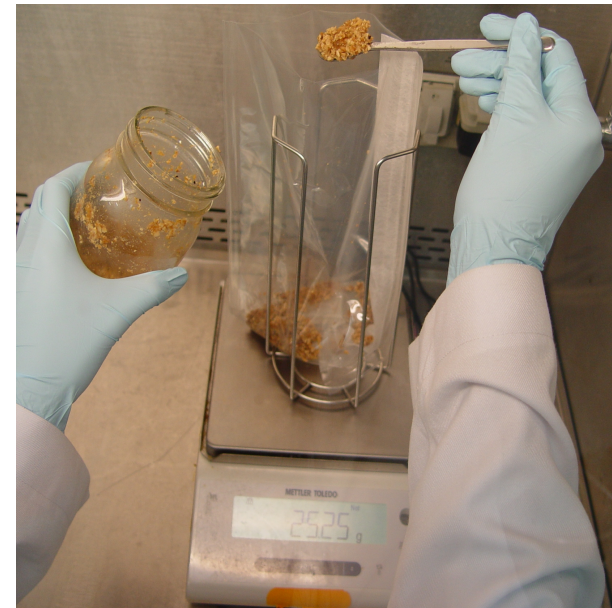
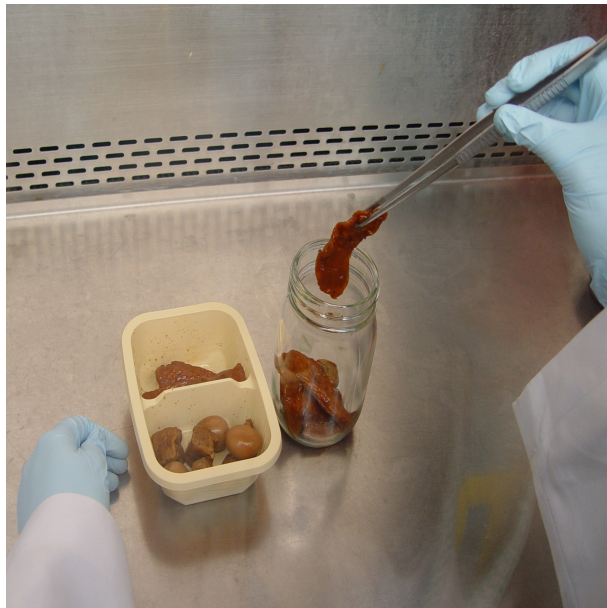
註3：低度污染食品(關華豆膠除外)，TT培養液於35°C培養24±2小時；關華豆膠，SC及TT培養液於35°C培養24±2小時。



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

調製檢液

檢體混合均勻



樣品置入無菌均質瓶



攪拌均質機
混合檢體



稱取檢體25g

增菌培養



加入增菌培養液225 mL，
混合均勻



靜置 60 ± 5 分鐘



調整pH值(6.8 ± 0.2)

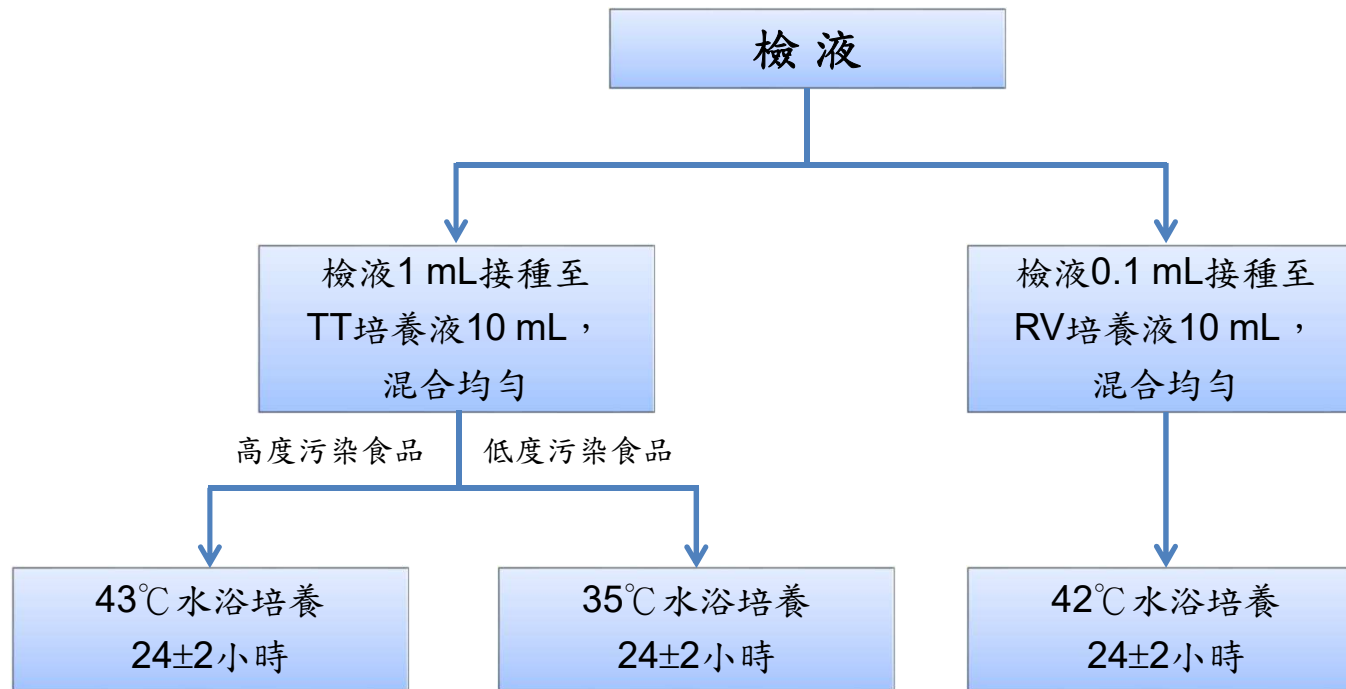


35°C 培養 24 ± 2 小時，
供作檢液



衛生福利部
食品藥物管理署
FDA Food and Drug Administration

選擇性增菌培養



使用前

碘-碘化
鉀溶液
0.2 mL

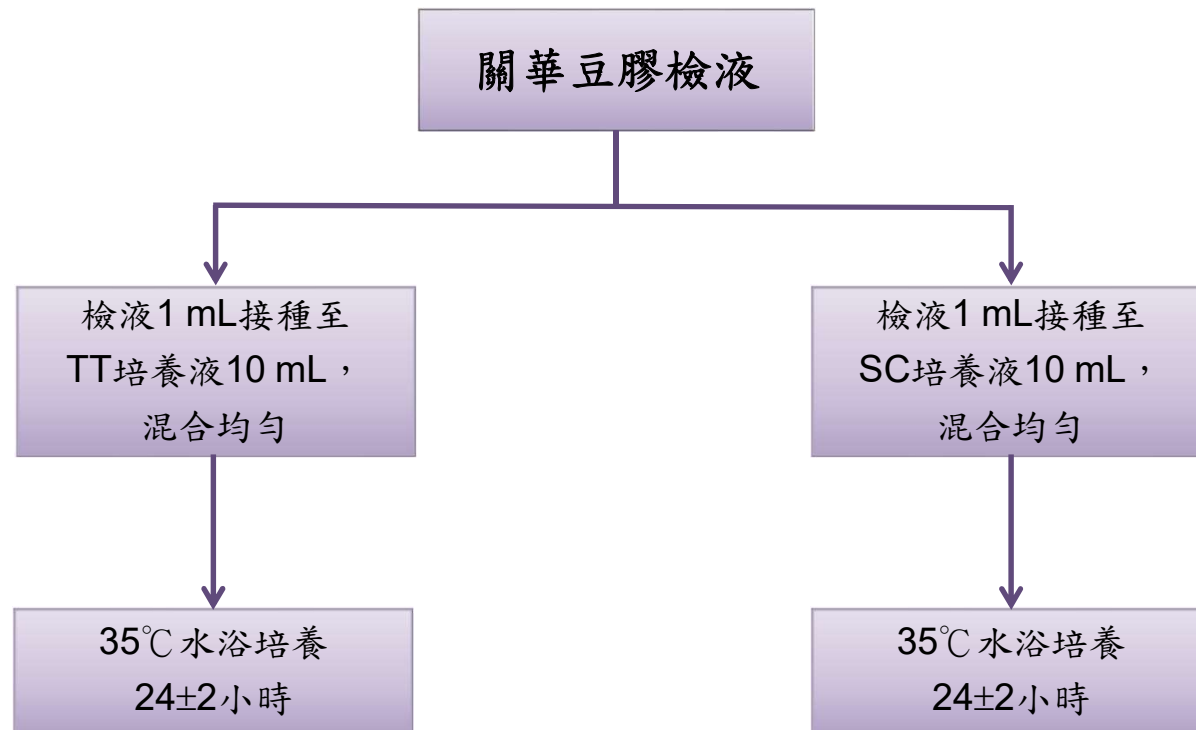
+

0.1%煌
綠溶液
0.1 mL



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

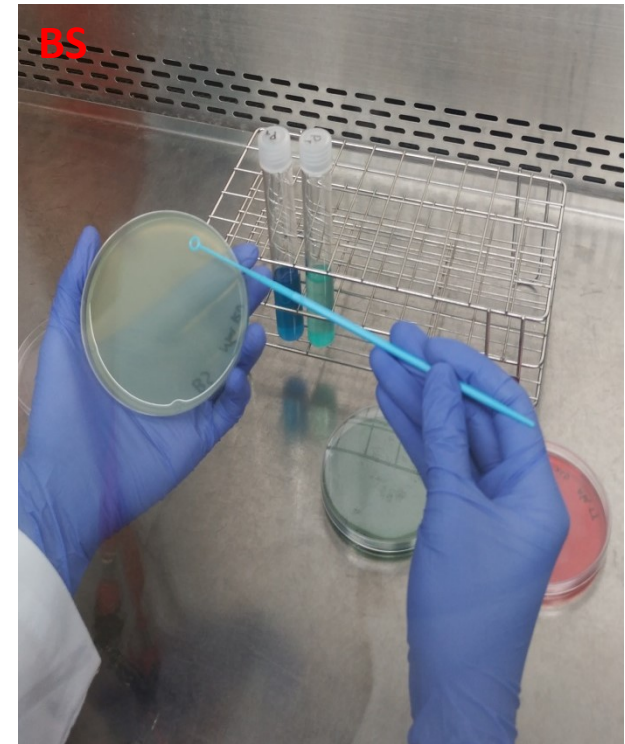
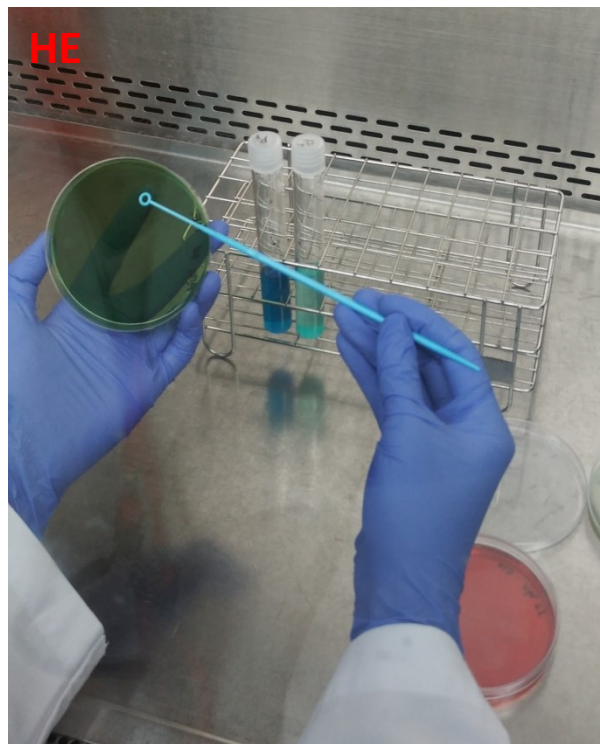
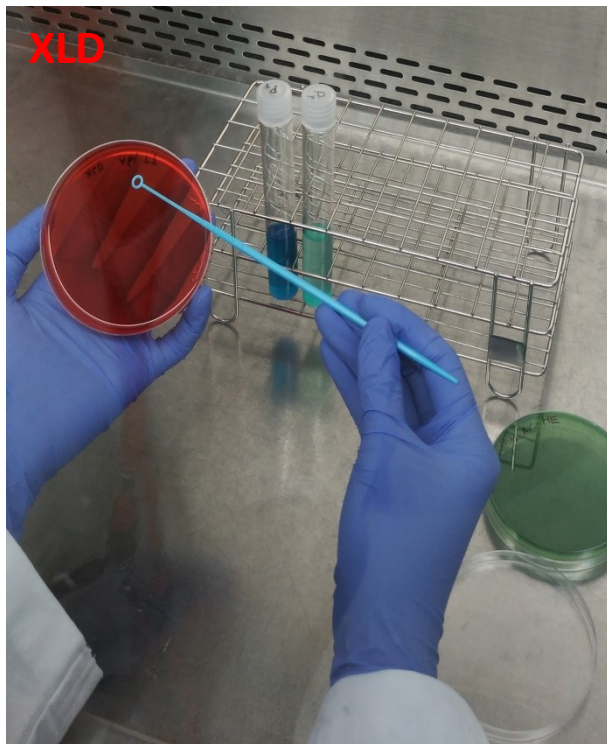
選擇性增菌培養



檢體類別	增菌培養液		
	TT	RV	SC
高度污染食品	43°C	42°C	X
低度污染食品	35°C	42°C	X
關華豆膠	X	35°C	35°C
◎水浴培養24±2小時			

分離培養

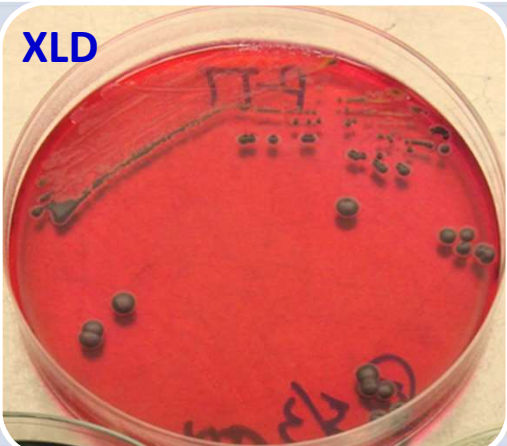
劃線培養



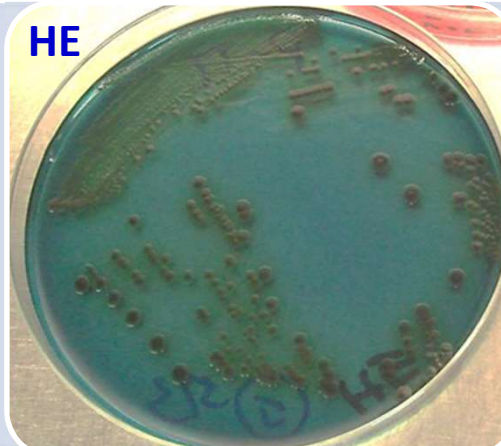
1. RV及TT增菌培養液鉤取1 loop菌量
2. HE、XLD及BS培養基劃線培養
3. 增菌培養：35°C，24±2小時→觀察菌落型態

分離培養

典型菌落/非典型菌落判定



- ✓ 典型菌落：粉紅色菌落，有(或無)黑色中心。很多典型菌落有大而具光澤黑色中心或呈黑色菌落。
- ✓ 非典型菌落：黃色菌落，有(或無)黑色中心。



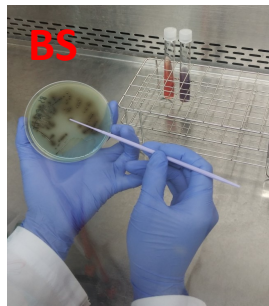
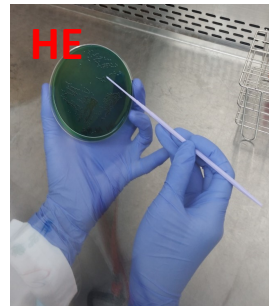
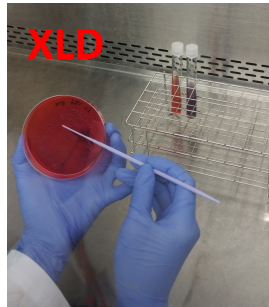
- ✓ 典型菌落：藍綠或藍色菌落，有(或無)黑色中心。很多典型菌落有大而具光澤之黑色中心或黑色菌落。
- ✓ 非典型菌落：黃色菌落，有(或無)黑色中心。



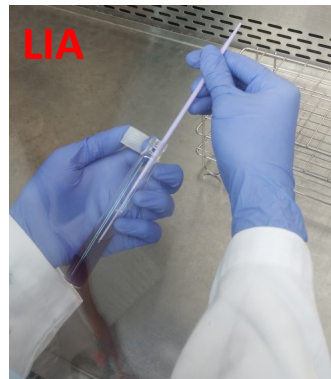
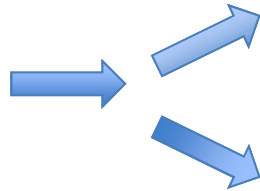
- ✓ 典型菌落：褐色、灰色或黑色，有時會產生金屬光澤。菌落周圍之培養基顏色，起初為褐色，隨著培養時間加長而轉為黑色並產生光環效應。
- ✓ 非典型菌落：綠色菌落，周圍培養基色澤稍微變深或不變色。

TSI及LIA斜面培養

斜面劃線及穿刺接種



挑選菌落



斜面劃線及穿刺接種

35°C
培養
24±2
小時

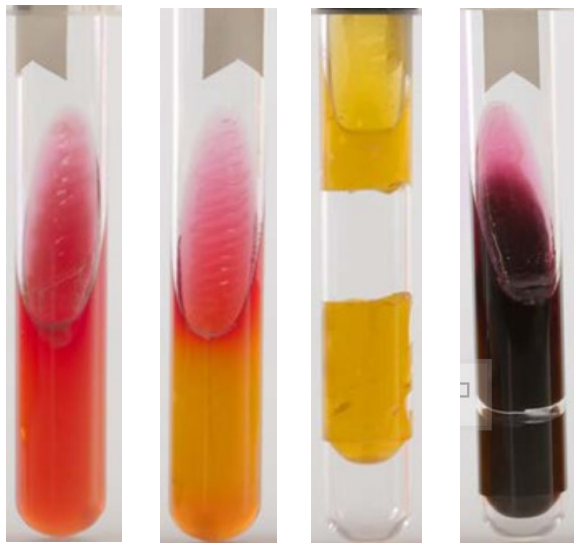
1. 挑選菌落：HE、BS及XLD培養基中各挑2個或2個以上之典型菌落，無典型菌落時，挑取2個或2個以上之非典型菌落。
2. 斜面劃線及穿刺接種：每一菌落同時接種於TSI及LIA斜面培養基，並同時進行斜面劃線及穿刺接種。

TSI及LIA斜面培養

糖類發酵、硫化氫(H_2S)及離胺酸脫羧酶

TSI

- (A)無糖類發酵：紅色斜面/紅色底部
- (B)葡萄糖發酵：紅色斜面/黃色底部
- (C)葡萄糖/乳糖/蔗糖發酵：
黃色斜面/黃色底部
- (D)硫化氫(H_2S)產生



(A) (B) (C) (D) (Mikoleit, 2010)

LIA

- 1.離胺酸脫羧酶(Lysine Decarboxylase)：
正反應：底部紫色(A)
負反應：底部黃色(B, C)
- 2.離胺酸脫胺酶(lysine deaminase)：
正反應：斜面紅色(C)
負反應：斜面紫色(A, B, D)
- 3.硫化氫(H_2S)：
正反應：變黑(D)
負反應：無變黑(A, B, C)



(A) (B) (C) (D)

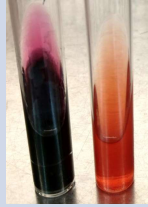
(Mikoleit, 2010)



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

TSI及LIA斜面培養

沙門氏桿菌之典型反應

斜面培養基	斜面	底部	硫化氫(H ₂ S) 反應	結果圖片
TSI	紅色(鹼性)	黃色(酸性)	變黑	 T B
LIA	—	紫色(鹼性)	變黑	 T B

1. LIA底部產生鹼性(紫色)→菌株須保留作生化及血清學試驗
2. LIA底部產生酸性(黃色)及TSI產生鹼性斜面(紅色)及酸性底部(黃色)→菌株須保留作生化及血清學試驗
3. LIA底部產生酸性(黃色)及TSI產生酸性斜面(黃色)及酸性底部(黃色)→菌株丟棄
4. TSI呈非沙門氏桿菌典型反應，則自XLD/HE/BS培養基鉤取更多可疑菌落接種於TSI及LIA培養基

鑑定試驗

● 生化試驗

-傳統方法

-API生化測試套組

※如使用經確效認可之市售培養基、生化檢測套組或生化試驗鑑定系統，其檢驗結果有爭議時，以本檢驗方法為準。

-Vitek自動微生物鑑定系統

-沙門氏菌快速免疫檢測試紙條套組

TFDA首頁>業務專區>研究檢驗>食品篩檢資訊專區>2.食品篩檢資訊專區推薦公開之產品資訊
(<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=10817&scid=743>)

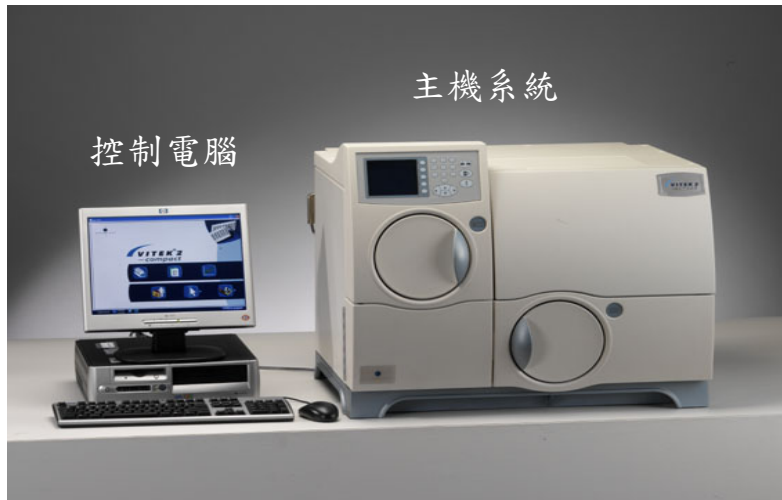
-其他：Foodborne Pathogen Test Kits Validated by Independent Organizations
www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/f97532f4-9c28-4ecc-9aee-0e1e6cde1a89/Validated-Test-Kit.pdf?MOD

● 血清學試驗

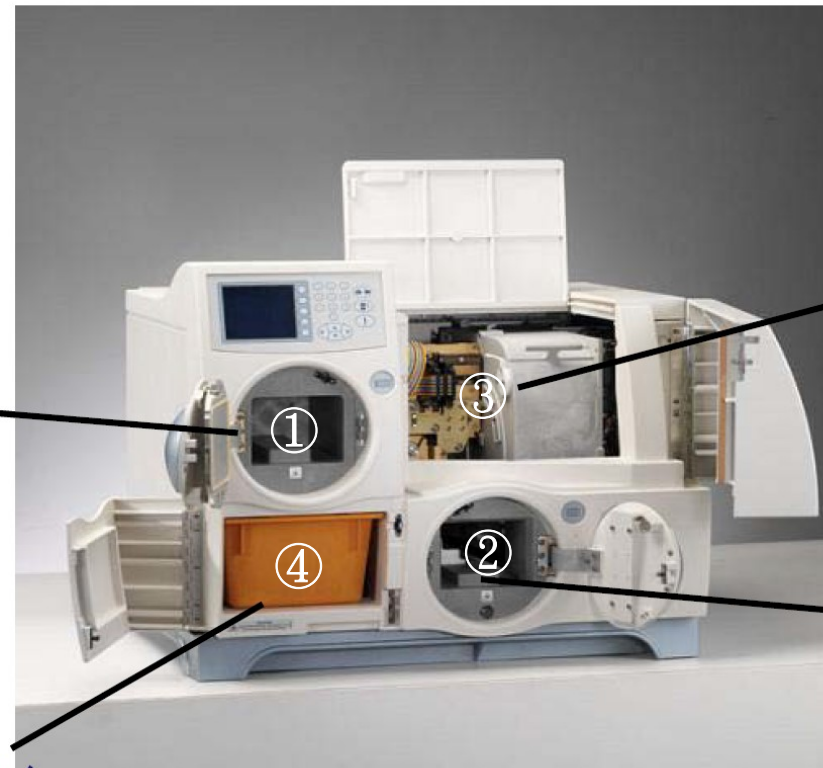
-本體(O)抗血清試驗：多價抗血清、單價抗血清

-鞭毛(H)血清試驗組

Vitek自動微生物鑑定系統



真空添充倉



培養判讀倉

裝載倉

廢物倉



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

Vitek自動微生物鑑定系統

生化試驗49項

GN卡



8x8=64

VITEK® 2 GN ID card size
10 cm x 6 cm x 0.5 cm, 16 grams

VITEK® 2 GN ID card

Identification of Gram-negative bacilli

Rapid, accurate species-level identification of clinically important Gram-negative bacilli

- Identify more than 150 fermentative & non-fermentative Gram-negative bacilli
- Convenient & safe:** closed, ready-to-use disposable system

Biochemical Details

2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	+	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	(+)
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

Vitek自動微生物鑑定系統

活化菌株

- 分離純化菌株劃線培養於TSA(35°C, 24小時)

製備菌液

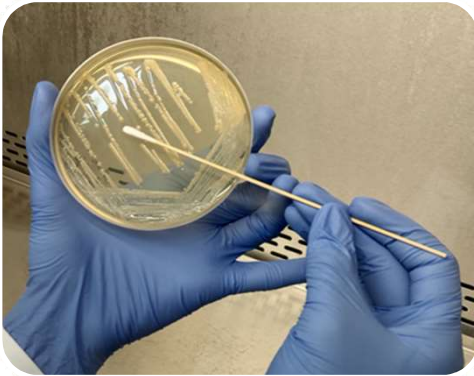
- 0.45%無菌食鹽水3 mL加入專用小管
- 無菌棉花棒沾取菌落至0.45%無菌食鹽水，混合均勻
- 調整菌液濃度至0.50~0.63 McF(以比濁計測定)

Vitek上機

- GN(革蘭氏陽性菌)鑑定卡片
- 充填卡片
- 裝載卡片(讀取條碼→封口→載入卡片→移除卡片)
- 鑑定結果(3~10小時)

Vitek自動微生物鑑定系統

沾取菌落



調整菌液濃度



GN鑑定卡片



設定工作表



裝載卡片



充填卡片



Vitek自動微生物鑑定系統

鑑定報告

bioMerieux Customer:
System #:

Laboratory Report

Printed Jun 21, 2018 11:35 CST
Printed by: LabSuper

Identification Information	Card: GN	Lot Number: 2410217403	Expires: Jul 1, 2018 12:00 CST
	Completed: Jun 15, 2018 17:39 CST	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours
Selected Organism	99% Probability	Salmonella group	Confidence: Excellent identification
	Bionumber: 0017611541566610		
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Salmonella group	% Probability		Confidence Level
Salmonella spp	96~99%		Excellent
Salmonella ser.Paratyphi B	93~95%		Very Good
Salmonella ser.Typhimurium	89~92%		Good
Salmonella enterica ssp enterica	85~88%		Acceptable
Salmonella ser.Enteritidis			
Salmonella ser.Paratyphi C			
Analysis Messages:			
Confirm by serological tests			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			

沙門氏桿菌抗血清試驗

市售套組

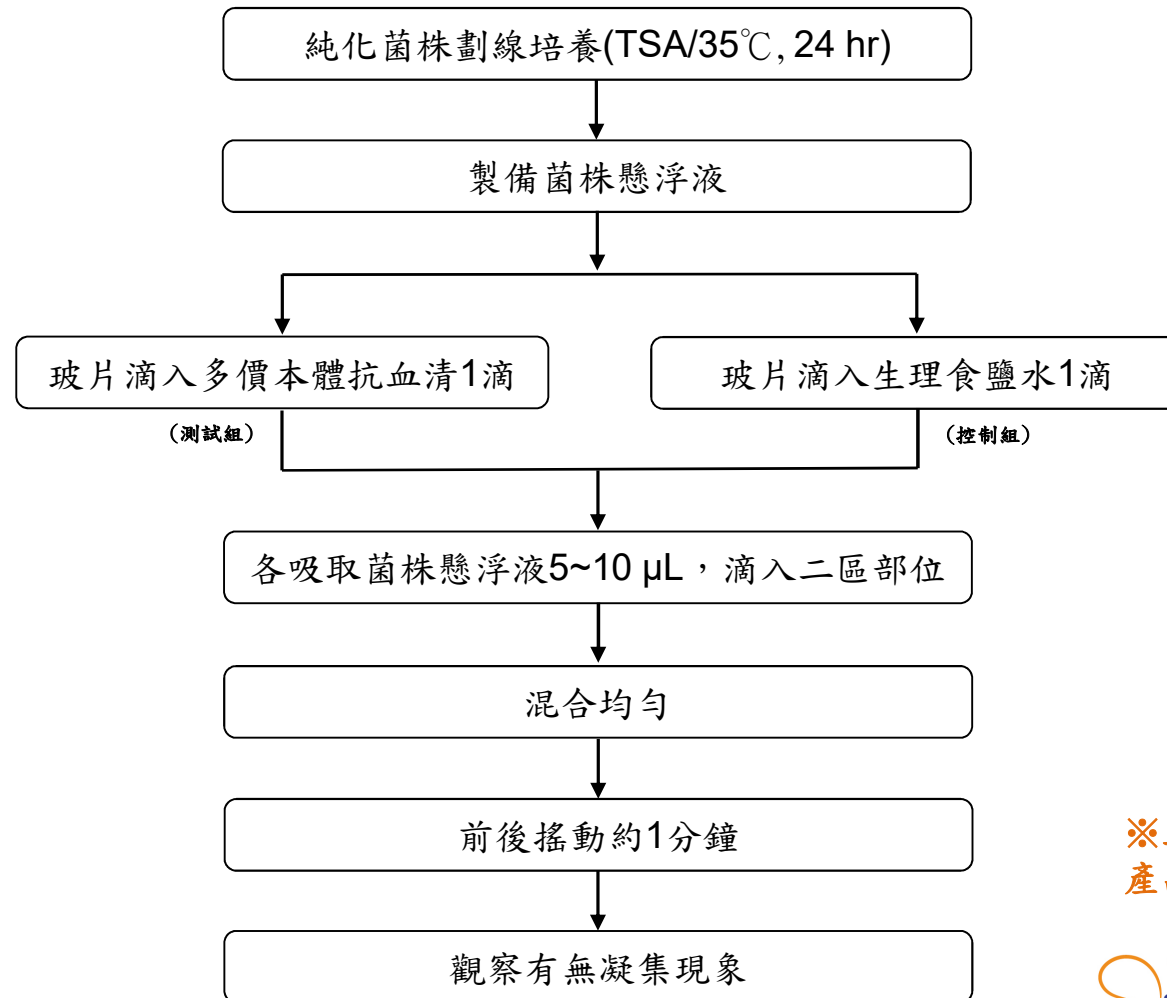
廠牌	產品資訊網址
Denka Seiken	https://denka-seiken.com/products/bacteriology/salmonella/
BD	https://www.bd.com/en-us/offerings/capabilities/microbiology-olutions/stains-and-reagents/bd-antigens-and-antisera
SSI	https://www.ssidiagnostica.com/antisera/salmonella-antisera/
Remel	https://www.thermofisher.com/search/browse/category/tw/zt/602410/Microbial+Testing+Kits+%26+Reagents%2FAgglutinating+Sera+for+Microbiology
Bio-Rad	https://www.bio-rad.com/en-tw/category/salmonella-serotyping?ID=LS55Q1KG4



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

本體抗血清試驗(Serological somatic test)

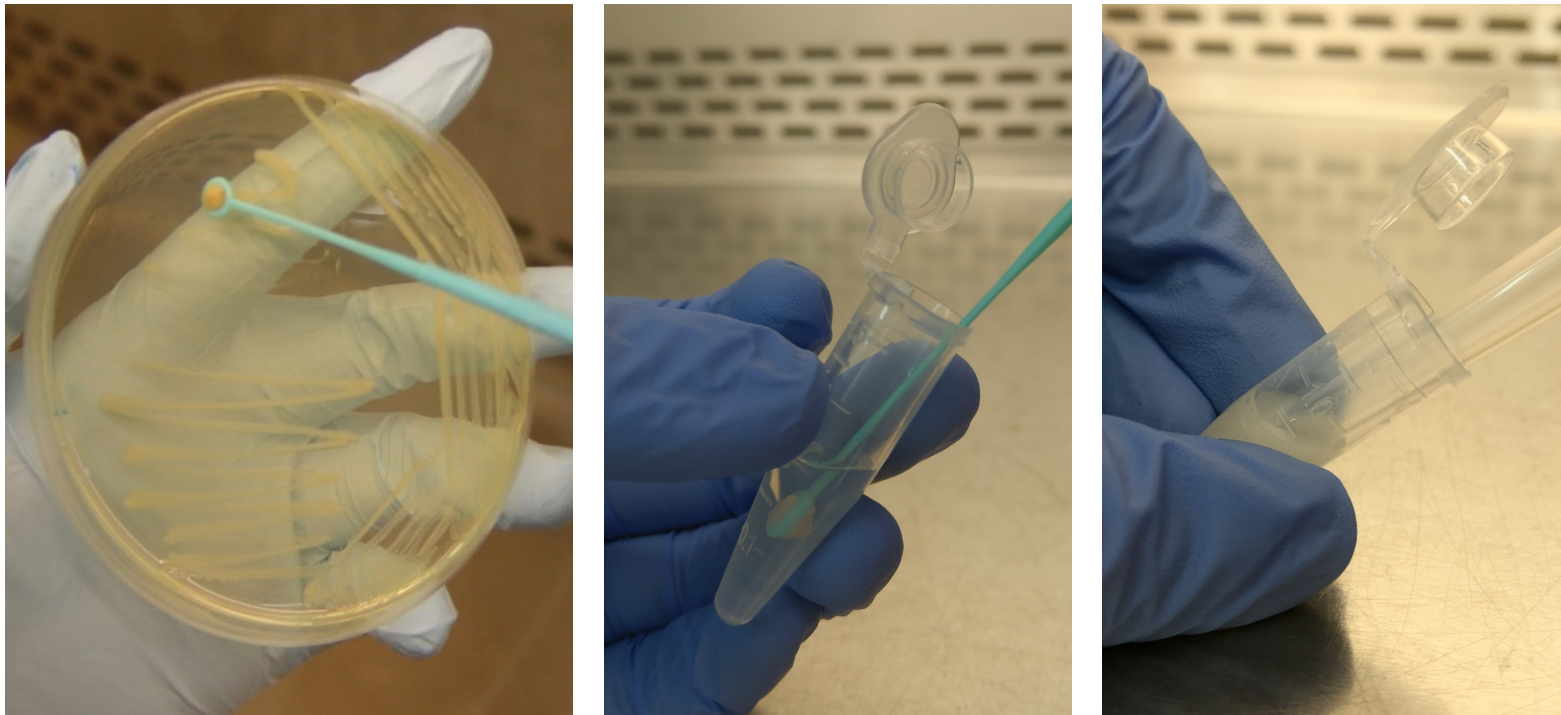
Slide agglutination for O antigen and Vi grouping



※血清型別試驗請依
產品說明進行檢測

本體抗血清試驗(Serological somatic test)

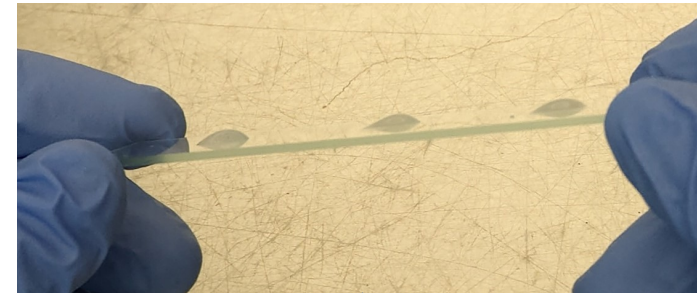
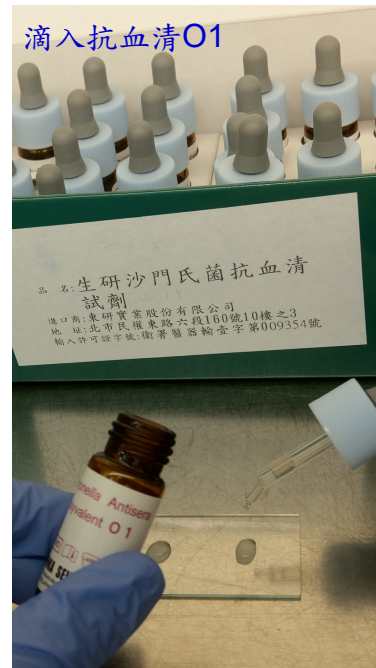
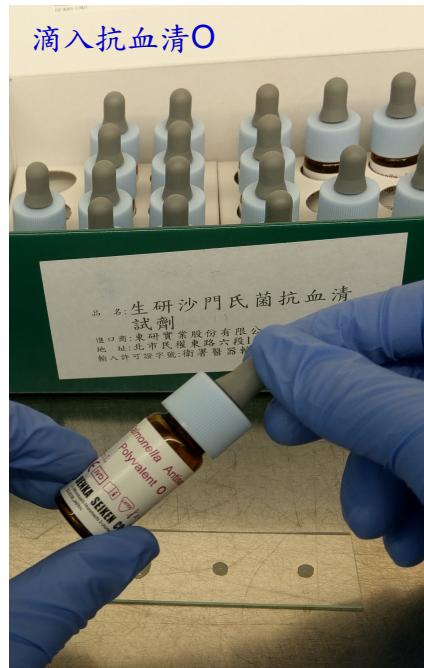
Slide agglutination for O antigen and Vi grouping



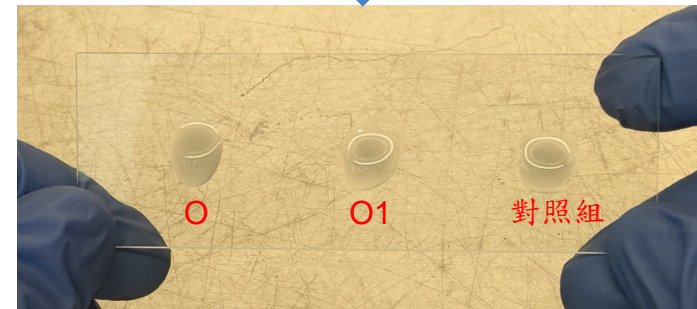
自非選擇性培養基(e.g. NA、TSA等)鉤取適量菌落(約 3~5個火柴棒頭大小)至0.85%生理食鹽水 0.5 mL，混合均勻，使成菌株懸浮液。

本體抗血清試驗(Serological somatic test)

Slide agglutination for O antigen and Vi grouping



前後搖動



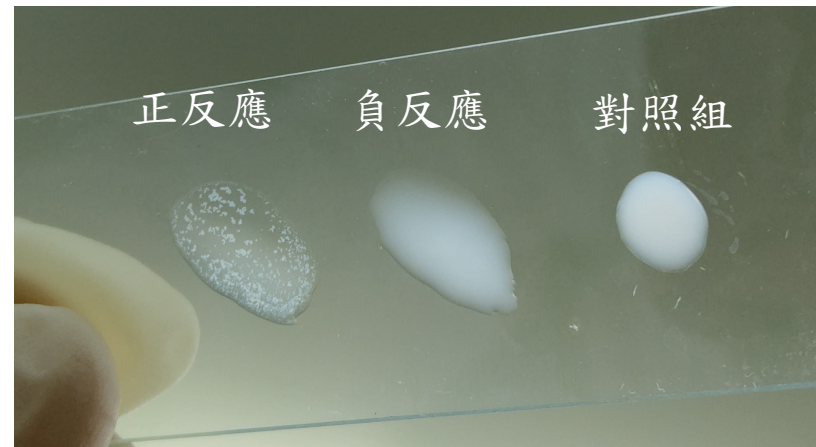
1. 將1滴多價抗血清(O、O1)滴在玻片，另以0.85%生理食鹽水30 μ L作為對照組
2. 加入菌株懸浮液5~10 μ L
3. 以Tip或Loop將抗血清與菌株懸浮液混合均勻
4. 玻片前後搖動1分鐘，觀察是否產生凝集

本體抗血清試驗(Serological somatic test)

Slide agglutination for O antigen and Vi grouping

觀察結果：

- 正反應：菌液與本體多價抗血清產生凝集，且菌液與0.85%生理食鹽水無凝集者。
- 負反應：菌液與本體抗血清，以及菌液與0.85%生理食鹽水均無凝集者。



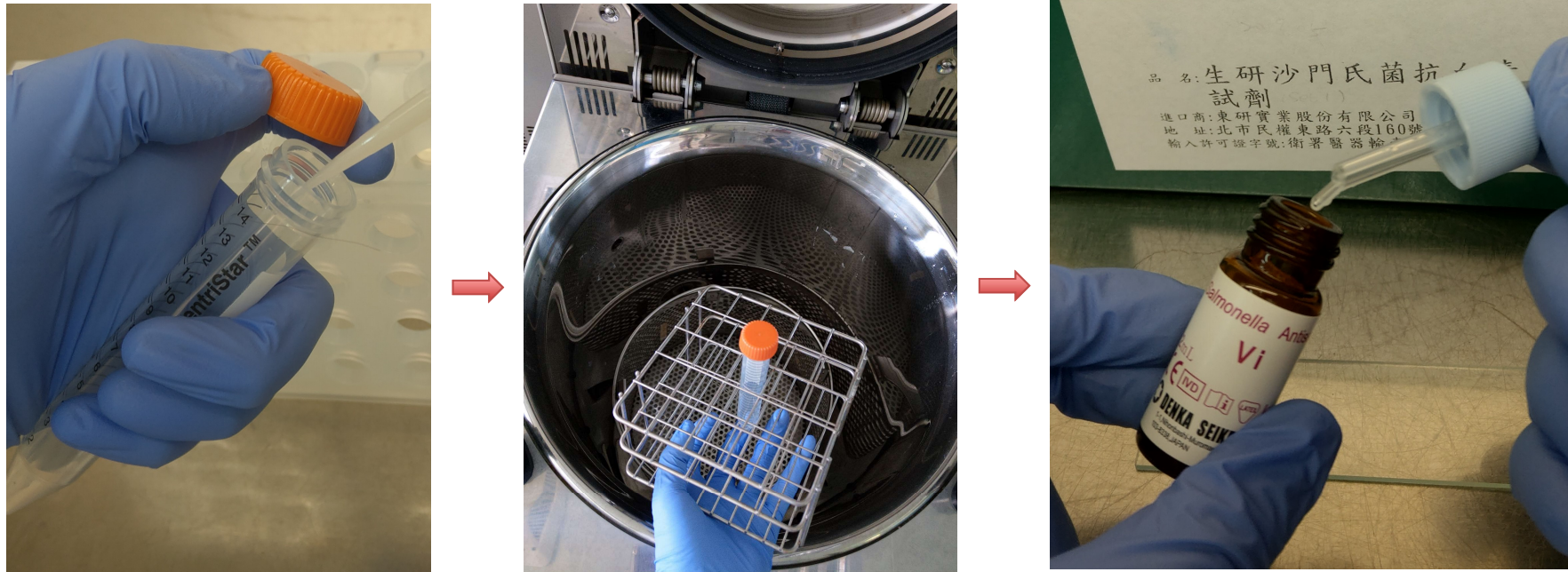
※多價抗血清(O或O1)有凝集反應時，續測試單價抗血清凝集反應。

※多價抗血清(O及O1)均無凝集時，另測試 Vi 抗血清。

※Vi抗血清出現正反應時，續以經熱處理菌液進行抗血清試驗(Poly O sera及Vi serum)，如下。

本體抗血清試驗(Serological somatic test)

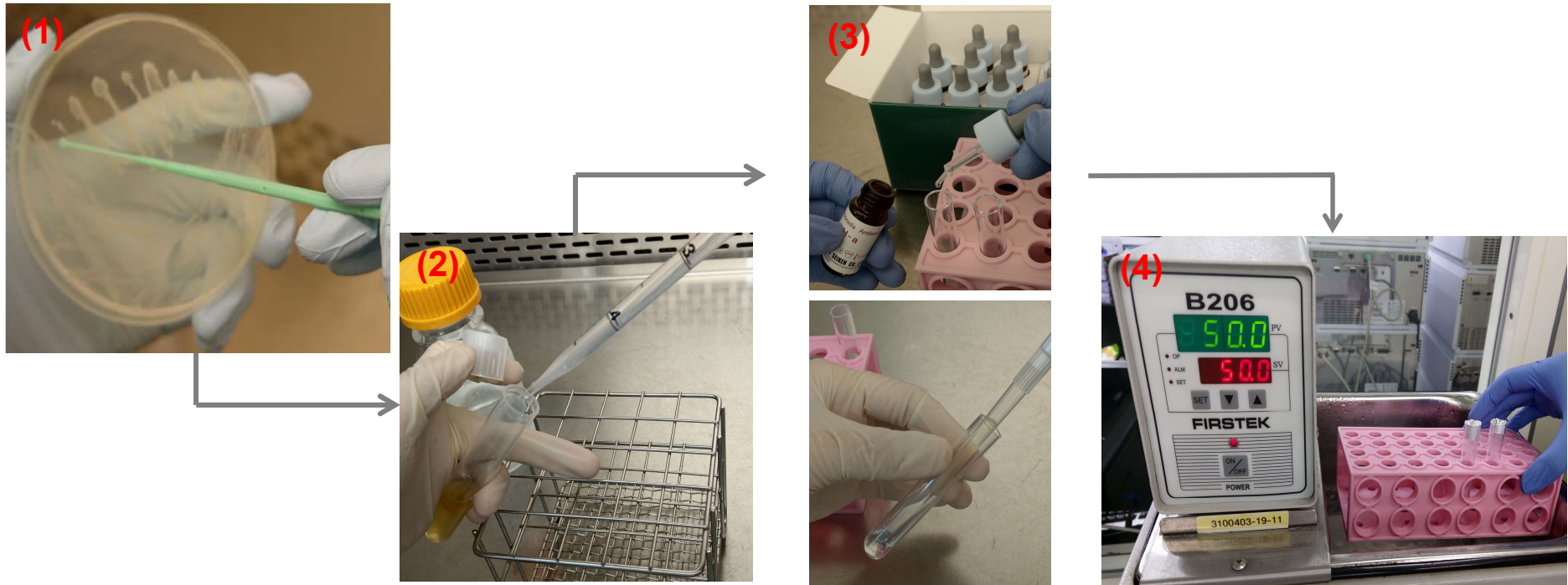
Slide agglutination for O antigen and Vi grouping



1. 取菌體懸浮液200 μ L加入0.85%生理食鹽水2 mL，混合均勻。
2. 混合液加熱處理(121°C, 15 min或100°C, 1 hr)，離心(900 $\times$ g, 20 min)後去除上清液。
3. 沉澱物加入0.85%食鹽水200 μ L後混合均勻，進行多價抗血清及Vi抗血清凝集試驗。
4. 多價抗血清為正反應且Vi結果為負反時，菌株可能為**S. Typhi**或**S. Paratyphi C**，續進行O9與O7單價抗血清凝集試驗。

鞭毛抗血清試驗(Serological flagellar test)

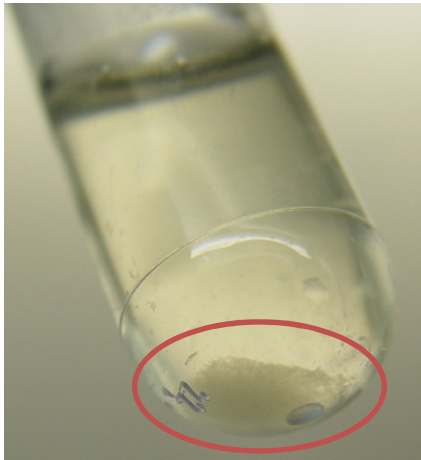
Tube agglutination test for H antigen serotyping



1. 純化菌株接種至BHI培養液，並於37°C培養6~8小時。
2. 增菌培養液5 mL，加入1%福馬林生理食鹽水5 mL，混合均勻。
3. 將3滴鞭毛抗血清滴入試管，再加入上述福馬林化菌株培養液0.5 mL。
※另以0.85%生理食鹽水100 μ L與福馬林化菌株培養液0.5 mL，作為對照組。
4. 上述混合液50°C水浴1小時後判讀結果。

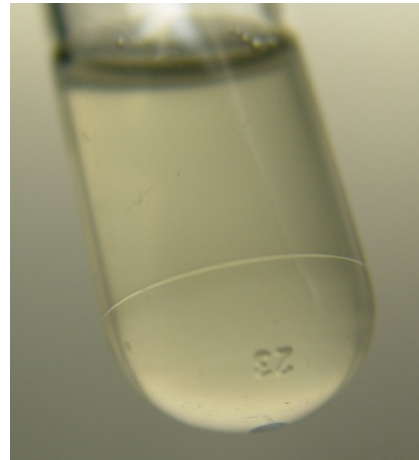
鞭毛抗血清試驗(Serological flagellar test)

Tube agglutination test for H antigen serotyping

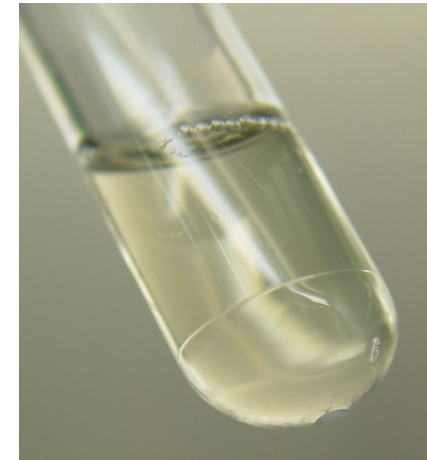


正反應

(Cotton-wool-like agglutination)



負反應



對照組

結果判定：

正反應：測試組呈凝集且對照組無凝集

負反應：測試組及對照組均無凝集

結果判定	測試組	對照組
正反應	+	-
負反應	-	-

※若**H-L, H-1, H-G, H-z4, H-e,n** 為正反應，續作**Set 3 (H-L factor), Set 4 (H-1 factor), Set 5 (H-G factor), Set 6 (H-z4, H-e,n)**



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

Thanks for Your Attention



衛生福利部
食品藥物管理署
Food and Drug Administration

<http://www.fda.gov.tw/>