



食品中志賀氏菌之 分離與培養

塗子毅

104.11.26



志賀氏桿菌 (*Shigella* spp.)

- 1896年日本細菌學家志賀潔(Dr. Kiyoshi Shiga)由痢疾患者糞便中分離出志賀氏痢疾桿菌(*Shigella dysenteriae*)
- 革蘭氏陰性桿菌，不產孢，兼性厭氧菌
- 唯一之帶菌者是人。然而，靈長類動物也曾發生集體感染。



志賀氏桿菌 (*Shigella* spp.)

- 志賀氏桿菌屬包含四亞群，共有43種O血清型
 - A : *Shigella dysenteriae*
 - B : *Shigella flexneri*
 - C : *Shigella boydii*
 - D : *Shigella sonnei*

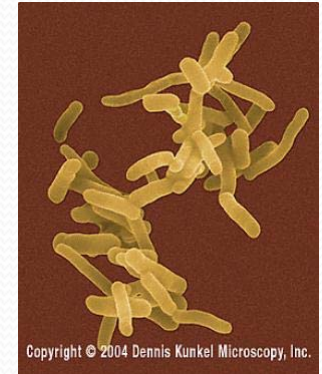


TABLE 1. Species and serogroups of *Shigella*

Species	Serogroup	Serotypes
<i>S. dysenteriae</i>	A	1 - 15
<i>S. flexneri</i>	B	1 - 6 (with 15 subtypes)
<i>S. boydii</i>	C	1 - 18
<i>S. sonnei</i>	D	1

志賀氏桿菌

- *S. dysenteriae* serotype 1 (Sd1)
 - 能生成 Shiga toxin
 - 具有高致死率(25%) 及病程較長且嚴重
 - 可能造成溶血性尿毒症候群(Hemolytic uremic syndrome)
 - 抗生素的抗藥性較其他 *Shigella* spp. 明顯
 - 具有較強的感染能力，易引起區域性或流行性痢疾
- *S. flexneri* 為開發中國家常見流行菌種，可能引起反應性關節炎(reactive arthritis)
- *S. boydii* 及 *S. sonnei* 主要引起輕微腹瀉，伴有水便或血便
- 台灣常見 *S. flexneri* 及 *S. sonnei* 佔所有病例數95%以上，Sd1 鮮少發生



invasion plasmid	Physiological and biochemical characteristics ^a	Agglutination with EIEC associate antisera	Agglutination with <i>Shigella</i> spp. antisera	
-				<i>E. coli</i> non-enteroinvasive
+	+			EIEC
	-	+		EIEC
		-	+	<i>Shigella</i>
			-	Provisional <i>Shigella</i>

^a Physiological and biochemical characteristics are included motility, salicin fermentation, etc.

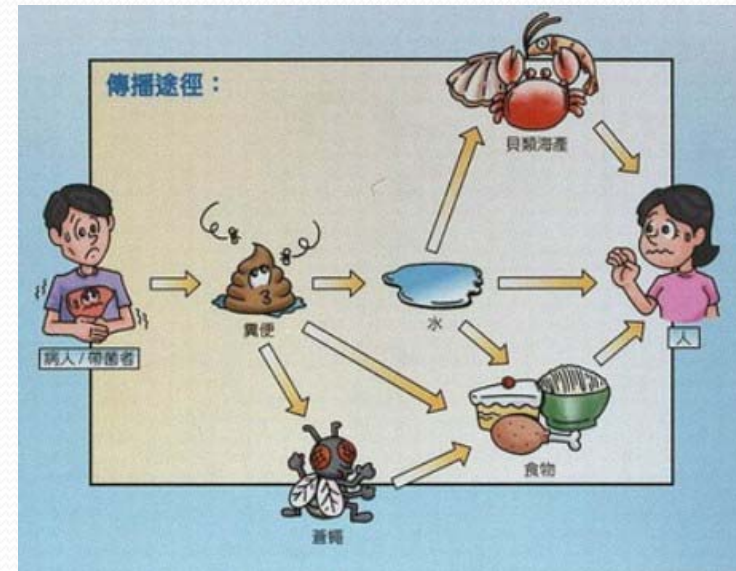
志賀氏桿菌環境耐受性

加熱至 60°C	10 分鐘可殺死
加熱至 100°C	30 秒鐘可殺死
陽光下	30 分鐘可殺死
冰塊中	能存活 96 天
耐酸性實驗	pH 2.0-2.5 下尚能存活 (正常胃酸無法殺死)
耐寒性實驗	有的還能過冬
D 群 <i>sonnei</i> 菌 對環境抵抗力最強	5-10°C 條件下可以生長 20-30°C 生長繁殖最好 一般室溫環境最適合該菌生存

(資料摘自疾病管制局教育訓練教材)

志賀氏桿菌傳播

- 糞口傳染(fecal-oral route)
 - 直接接觸傳染
 - 水源或食物受糞便污染
 - 蒼蠅等昆蟲所引起的傳播
 - 環境中(如水龍頭、器皿等)接觸後，在經手口接觸而轉移
- 患者糞便中含大量志賀氏桿菌約 $10^6 \sim 10^8$ Shigellae/g-糞便
- 發病後四星期為傳染持續期，無症狀帶菌者也可傳播



志賀氏桿菌傳播

- 注重個人衛生，養成飯前、便後或接觸食物前以肥皂及清水正確洗手的習慣，為阻斷傳染的最重要措施。廚房工作人員、醫、護、托育人員特別應注意經常洗手的動作。
- 食物及水應經充份煮熟（沸）後始可食用，外出旅遊建議喝瓶裝水。
- 生食、熟食砧板應分開使用，食物分類妥善貯存、注意保存溫度，離開冷藏時間不要超過4小時。
- 注重居家環境衛生，垃圾桶要加蓋，避免滋生蟑螂及蒼蠅。
- 野營時，糞坑應遠離營區，且設在飲用水源之下游。不可在山溝排泄，防範水源污染。
- 水源或蓄水設施與污染源（如廁所、化糞池等）應距離15公尺以上。旅行或野營時，個人或團體用水應加氯或用化學品，或煮沸消毒。
- 避免口腔與陰道或肛門的直接接觸，肛吻、肛交、口陰交等性行為應採取適當的防護，之後以肥皂及清水澈底洗手。

志賀氏桿菌中毒

- 人類感染劑量
 - 具有極高傳染力
 - 200個細菌便可致病
- 潛伏期
 - 1至7天，多數患者於感染後3天開始發病
- 症狀
 - 引起桿菌性痢疾(Shigellosis)，為第二類法定傳染疾病
 - 腹瀉伴隨發燒、噁心、嘔吐、腹部絞痛、裏急後重(腹痛窘迫，時時欲便。肛門重墜，便出不爽, tenesmus)、血便及粘液便等症狀。

志賀氏桿菌感染

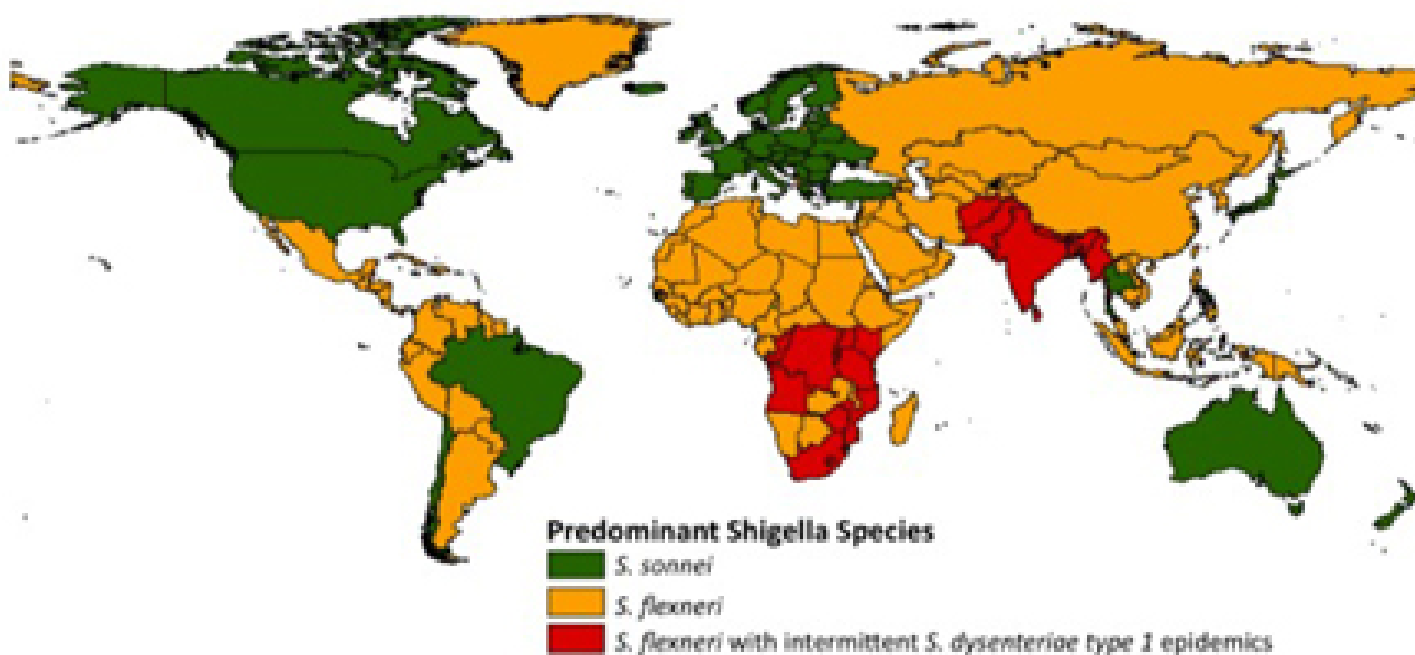
- 致病機制
 - *Shigella* spp.與侵入型大腸桿菌(enteroinvasive *Escherichia coli*, EIEC)相同，先入侵大腸和末端迴腸壁的黏膜上皮細胞，大量增生引起發炎反應，使黏膜壞死、表面潰瘍、出血
 - 經數天潛伏期後，產生腹痛、多次腹瀉、腹部痙攣及發熱，多次排便後即糞便呈液狀、並帶有血液及黏膜
- 志賀氏桿菌主要侵犯腸胃道，嫌少侵入血流造成其他感染併發症或菌血症。

志賀氏桿菌流行病學統計

- 每年於開發中國家約有1.7億人受到*Shigella* spp.感染，已開發國家則有150萬人遭受感染，且每年約有70萬人死於志賀氏桿菌所引起之血便等。
- 在開發中國家所發生之血便多數為志賀氏桿菌所引起，患者或死亡案例皆以5歲以下兒童為主。
- 1982-1997年間美國約有44萬人受到感染，且有600人死亡。

志賀氏桿菌流行病學統計

Global Distribution of Shigella Species





志賀氏菌中毒案例

Short report

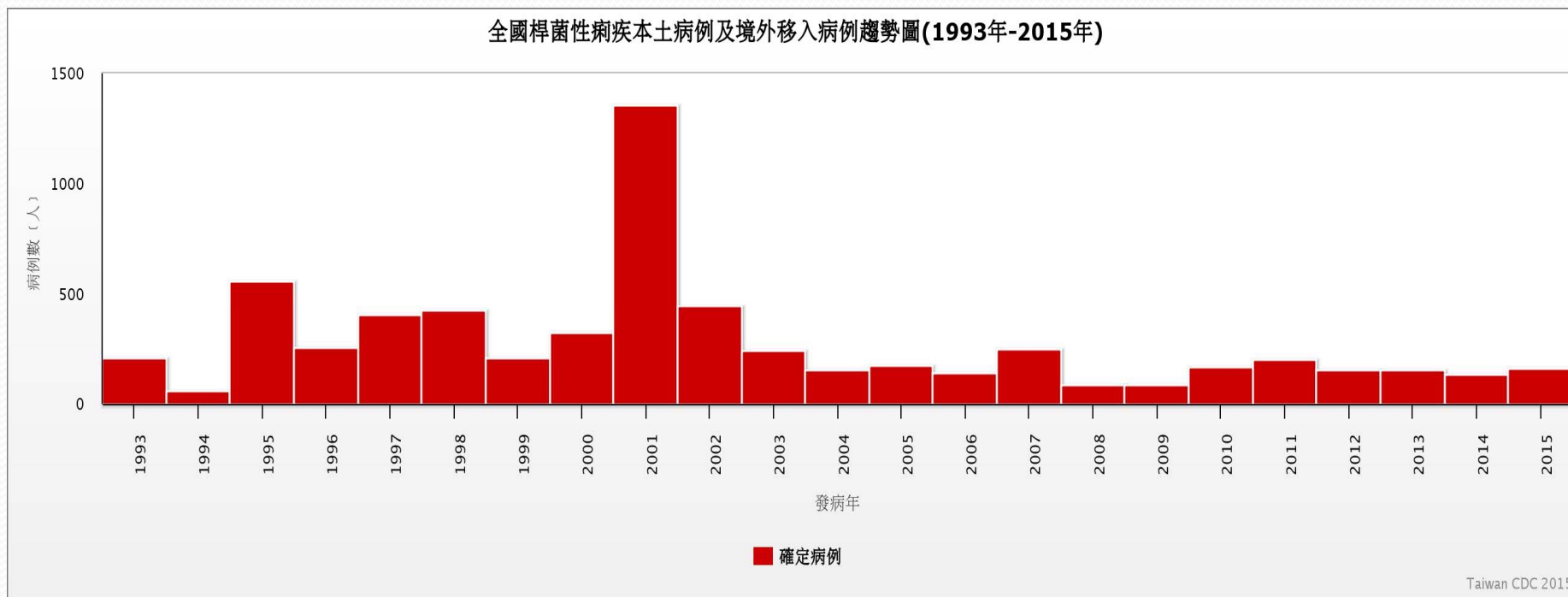
OUTBREAK OF SHIGELLOSIS IN DENMARK ASSOCIATED WITH IMPORTED BABY CORN, AUGUST 2007

The recently reported concurrent outbreaks of *Shigella sonnei* infections in Denmark [1] and Australia [2] have been found to be linked to a common baby corn packing house in Thailand via trace-back of the distribution chain. Distribution records indicated that three additional countries received affected product from the implicated Thai packing house during the period of potential contamination. These countries were notified through the World Health Organization's International Food Safety Authorities Network (INFOSAN). Associated cases of *S. sonnei* have not been reported in these three countries

230 cases of laboratory-confirmed *S. sonnei* infection

志賀氏桿菌流行病學統計

- 1993-2015年間台灣約有6369例桿菌性痢疾，其中5136 (80.6%)件為本土病例、1233 (19.4%)件為境外移入。



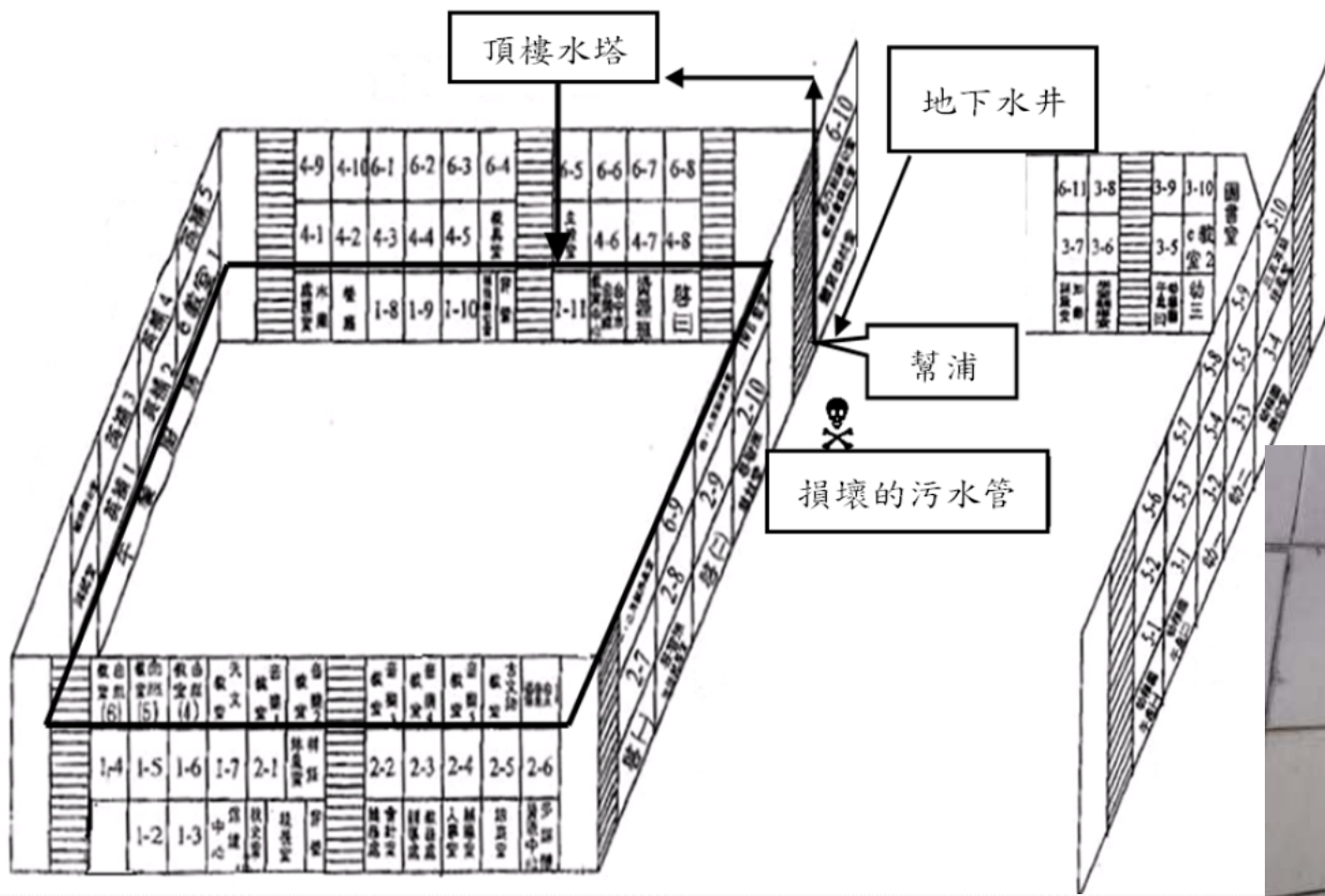
志賀氏菌中毒案例

- 2001年為本土桿菌性痢疾顛峰，全年累計1355件，僅22 (1.6%)件為境外移入，其餘1333 (98.4%)件為本土病例。主要來自花蓮縣 (397/29.2%)及宜蘭縣(351/25.9%)，年齡以0-9歲為主(707/52.2%)。主因花蓮地區慢性安養機構、學校等發生多起突發性流行。
- 志賀氏桿菌中毒在台灣部分山地鄉每年幾乎都有案例發生，山地鄉發生率為非山地鄉之數十倍至數百倍，為山地鄉常見食物中毒原因之一。

志賀氏菌中毒案例

- 民國84年桃園縣某國小群聚感染事件，由*S. sonnei*引起共404人受到感染，1至6年級學生採檢陽性率為16.1%。
- 民國86年新竹縣關西鄉某國小群聚感染事件，由*S. sonnei*引起共134人受到感染，1至6年級學生採檢陽性率為27.8%。
- 民國96年台中市某國小群聚感染事件，由*S. sonnei*引起共57人受到感染，全校罹病率為15.2%。

志賀氏菌中毒案例



志賀氏菌中毒案例

- 民國91年新竹縣湖口鄉某安養院群聚感染事件，由*S. flexneri*引起共10人受到感染，院內人員採檢陽性率為9.5%。
- 在台灣，精神病院或安養機構較常發生由*S. flexneri*所引起之突發性流行；而在學校或社區，則較常見*S. sonnei*所引起之流行，且常為水源受污染所致。
- 民國95年台中市某大學發生，實驗室研究生*S. flexneri*感染事件，「感染性生物材料管理及傳染病病人檢體採檢辦法」實施以來首例實驗室感染案件。



食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

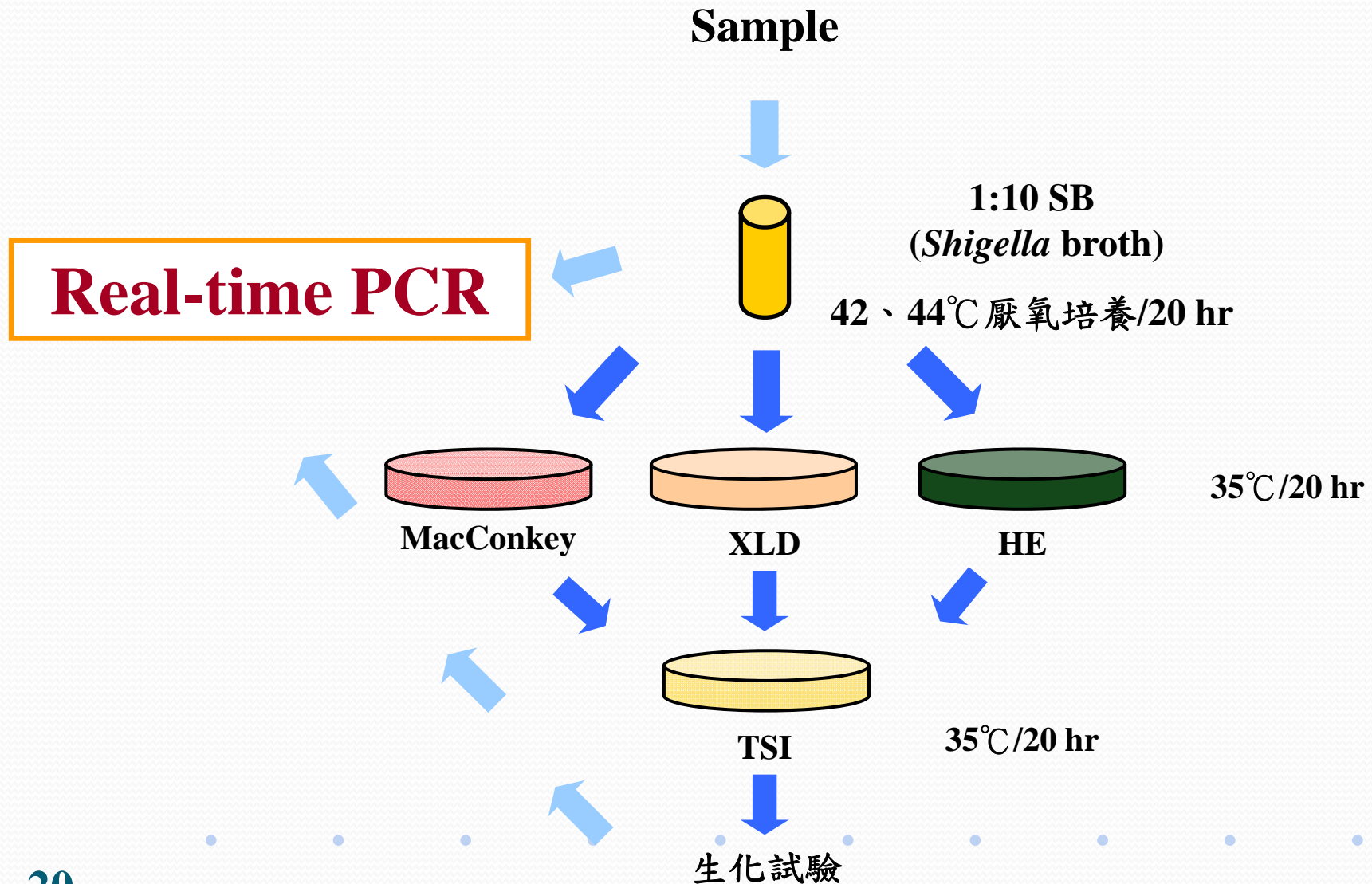
97年5月8日署授食字第0971800158號公告修正
102年9月6日部授食字第1021950329號公告修正
104年4月29日部授食字第1041900638號公告修正
MOHWM0003.02

食品微生物之檢驗方法－志賀氏桿菌之檢驗

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

第一部：志賀氏桿菌之分離

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





食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

2.2.30.2. 志賀氏桿菌培養液(*Shigella* broth)

基礎培養基(Basal medium)

胰化蛋白朊(tryptone)	20 g
磷酸氫二鉀(K_2HPO_4)	2 g
磷酸二氫鉀(KH_2PO_4)	2 g
氯化鈉	5 g
葡萄糖	1 g
乳化劑 Tween 80	1.5 mL
蒸餾水	1000 mL

溶解後，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.0±0.2。

諾伯黴素溶液(novobiocin solution)：取諾伯黴素 50 mg 溶於蒸餾水 1000 mL，經濾膜作無菌過濾，備用。

使用前，取諾伯黴素溶液 2.5 mL 加至基礎培養基 225 mL 中，供檢測 *S. sonnei* 使用；檢測 *S. sonnei* 外之其他志賀氏桿菌時，則取諾伯黴素溶液 15 mL 加至基礎培養基 225 mL 中。

食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

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

酵母抽出物(yeast extract)	3 g
L-離胺酸(L-lysine)	5 g
木糖(xylose)	3.75 g
乳糖	7.5 g
蔗糖	7.5 g
去氧膽酸鈉(sodium desoxycholate)	2.5 g
檸檬酸銨鐵(ferric ammonium citrate)	0.8 g
硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)	6.8 g
氯化鈉	5 g
洋菜(agar)	15 g
酚紅(phenol red)	0.08 g
蒸餾水	1000 mL

加熱至沸騰溶解(注意不可加熱過度)。水浴中冷卻至 50°C ，最終 pH 值為 7.4 ± 0.2 。每培養皿注入約 20 mL，稍開皿蓋，靜置約 2 小時，使培養基表面乾燥(配製後勿超過一天使用)。



食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

2.2.30.5. 海克頓腸內菌培養基(Hektoen enteric agar, HE)

蛋白胨(peptone)	12 g
酵母抽出物(yeast extract)	3 g
膽鹽 No.3 (bile salts No.3)	9 g
乳糖	12 g
蔗糖	12 g
水楊苷(salicin)	2 g
氯化鈉	5 g
硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)	5 g
檸檬酸銨鐵(ferric ammonium citrate)	1.5 g
溴麝香草藍(bromthymol blue)	0.065 g
酸性復紅(acid fuchsin)	0.1 g
洋菜(agar)	14 g
蒸餾水	1000 mL

攪拌加熱至沸騰溶解(沸騰勿超過 1 分鐘)。於水浴中冷卻至 50°C，最終 pH 值為 7.5±0.2。每培養皿注入約 20 mL，稍開皿蓋，靜置約 2 小時，使培養基表面乾燥(配製後勿超過一天使用)。



食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

2.3. 檢液之調製

- 2.3.1. 固態檢體：先適當切碎，混合均勻後，取 25 g 加至含諾伯黴素之志賀氏桿菌培養液 225 mL 中，充分混合均勻，振搖約 10 分鐘後，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 25 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，使充分均勻混合後，取檢體 25 mL，以下步驟同 2.3.1. 節之操作。



食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

- 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。如測試檢體工作無法於一小時內開始進行，檢體應勿先添加稀釋液，並貯存在 $\leq -10^{\circ}\text{C}$ 環境中。
- 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 25 g，以下步驟同 2.3.1.節之操作。



食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

2.3.6. 環境檢體或塗抹物檢體：

2.3.6.1. 環境檢體：取 1 g 置於含志賀氏桿菌培養液 10 mL 之試管內，供作檢液。

2.3.6.2. 塗抹物檢體：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，添加蛋白胨緩衝液 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振盪至塗抹物頭部之棉絮鬆開。取溶出液 1 mL 置於含志賀氏桿菌培養液 10 mL 之試管內，供作檢液。

或將塗抹棒之頭部置於含志賀氏桿菌培養液 10 mL 之試管內，以無菌操作折(剪)斷塗抹物木柄，供作檢液。

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

2 檢體總量不足 25 g (mL)，應依檢體量，添加適量之志賀氏桿菌培養液，作成 10 倍稀釋檢液。



食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

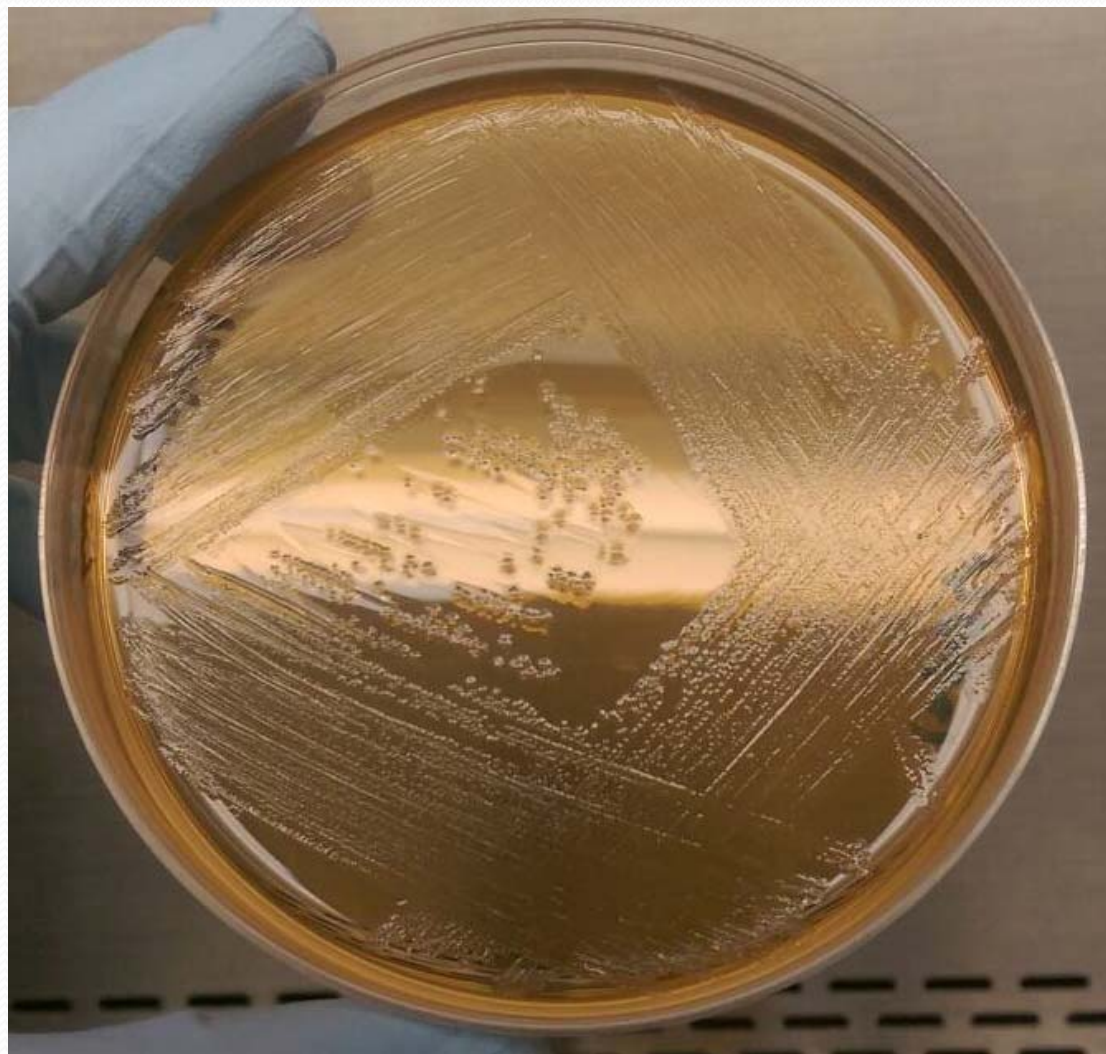
2.4. 鑑別試驗

2.4.1. 增菌培養：將 2.3.節調製之檢液充分振搖，混合均勻後置入厭氧瓶中，再放入新鮮的催化劑及氣體包，於 42°C(欲檢測 S. sonnei 時，培養溫度為 44°C)培養 20 小時。

2.4.2. 分離培養

2.4.2.1. 自 2.4.1.節之增菌培養液中取一接種環量，在馬康奇培養基、XLD 及 HE 培養基表面劃線後(二重複)，於 35°C 培養 20 小時，觀察所形成菌落之形態。志賀氏桿菌在馬康奇培養基上的典型菌落為外緣呈粗糙不規則或平整，無色透明或淡粉紅色；在XLD 培養基上的典型菌落為外緣呈粗糙不規則或平整，紅色、無色透明或與培養基同色。在HE 培養基上的典型菌落為外觀潮濕扁平，菌落外緣粗糙不規則或平整，呈綠色、藍綠色、無色透明或與培養基同色。

食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗



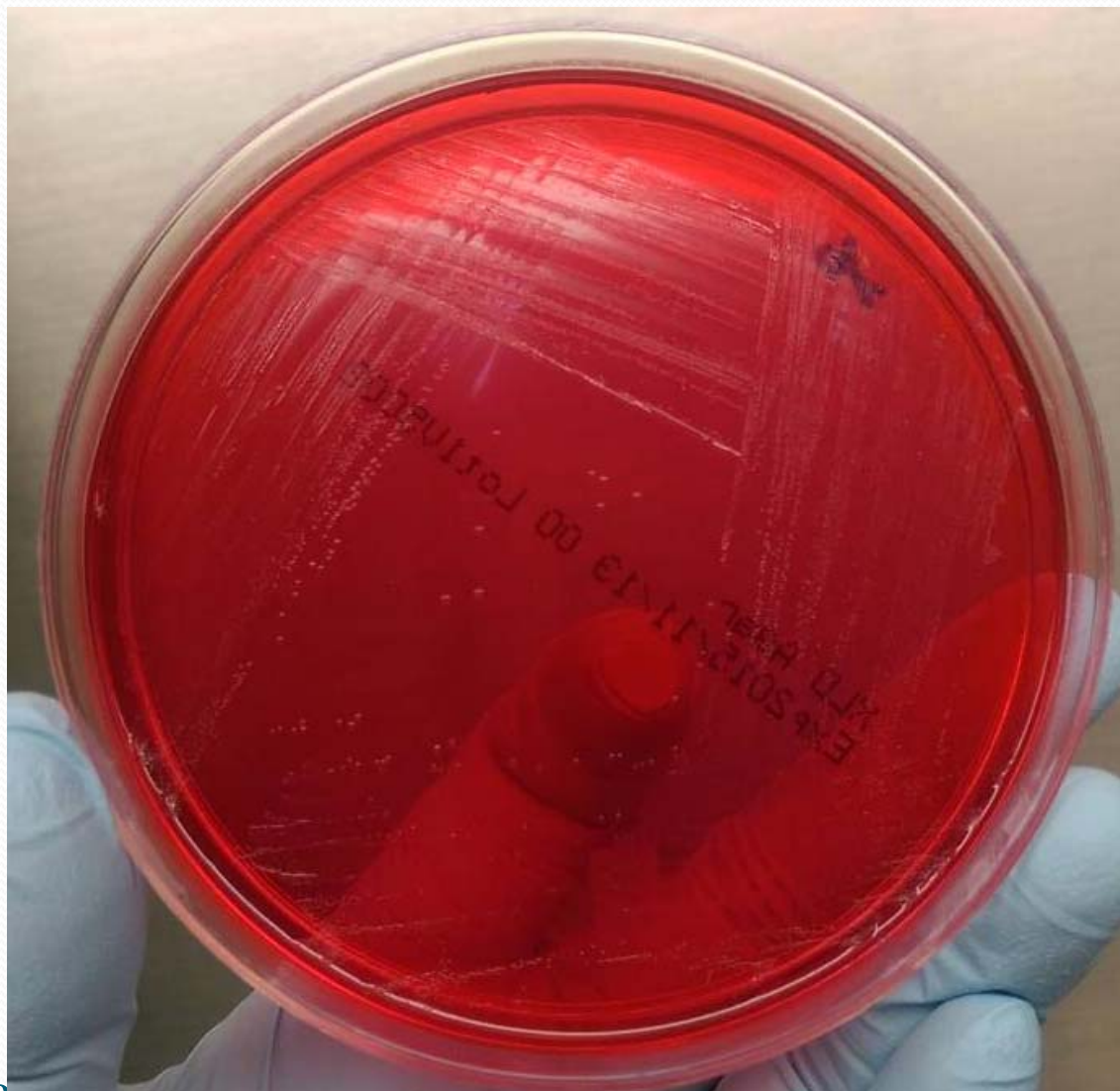
志賀氏桿菌在馬康奇培養基上的典型菌落為外緣呈粗糙不規則或平整，無色透明或淡粉紅色。



食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

- 木糖離胺酸去氧膽酸鹽培養基(Xylose lysine desoxycholate agar, XLD)
 - 主要應用於分離臨床檢體或食品中 *Salmonella* 和 *Shigella*
 - pH > 7.4 的菌落會因酚紅而呈現紅色至粉紅色
 - 多數細菌能發酵木糖、乳糖及蔗糖而使pH下降，進而使培養基由原先紅色轉變為黃色
 - 志賀氏桿菌不會發酵木糖、乳糖及蔗糖，且不會產生H₂S，故典型菌落為紅色、無色透明或與培養基同色

食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

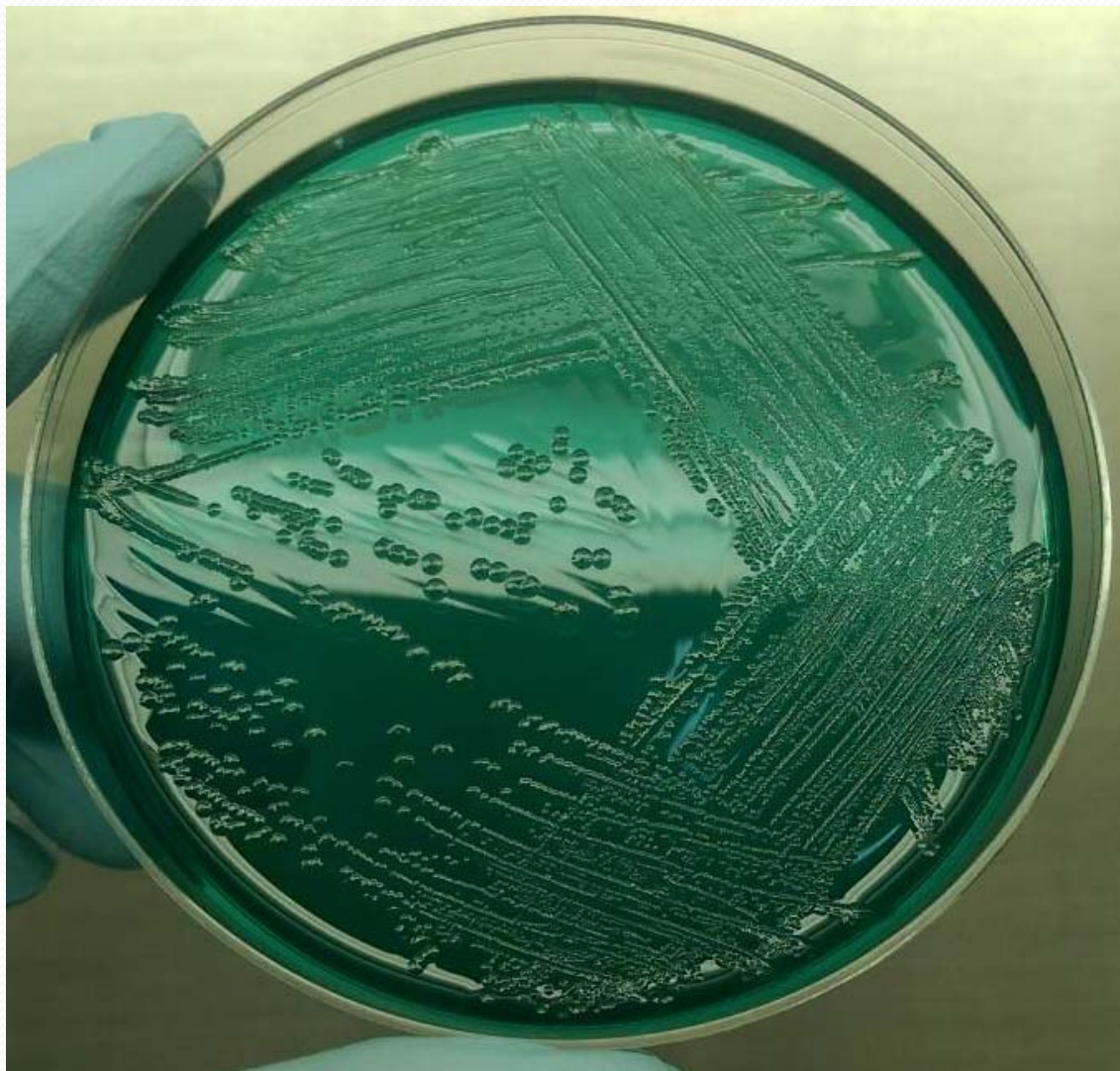


志賀氏桿菌在XLD培養基上典型菌落為外緣呈粗糙不規則或平整，紅色、無色透明或與培養基同色。

食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

- 海克頓腸內菌培養基(Hektoen enteric agar, HE)
 - 主要應用於分離臨床檢體或食品中*Salmonella*和*Shigella*
 - 培養基上菌落呈鹼性時會使HE上菌落呈現綠色或與培養基同色
 - 多數細菌能發酵水陽苷、乳糖及蔗糖而使pH下降，進而使培養基由原先綠色轉變為黃色或紅色。
 - 志賀氏桿菌不會發酵水陽苷、乳糖及蔗糖僅利用蛋白胨，且不會產生H₂S，故典型菌落為綠色、藍綠色、無色透明或與培養基同色

食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗



志賀氏桿菌在HE培養基上的典型菌落為外觀潮濕扁平，菌落外緣粗糙不規則或平整，呈綠色、藍綠色、無色透明或與培養基同色。

食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

2.4.2.2. 純菌株(Pure culture)：自 2.4.2.1.節之培養基上鉤取典型菌落，利用斜面劃線及穿刺法接種於 TSI 斜面培養基中，於 35°C 培養 24 小時後開始觀察直至 48±2 小時。志賀氏桿菌在 TSI 斜面培養基之斜面呈紅色(鹼性)，底部呈黃色(酸性)，但無氣體或硫化氫產生。惟少數 *S. flexneri* 菌株可能會產生微量氣體。

2.5. 鑑定試驗：

2.5.1. 初步試驗：

2.5.1.1. 尿素酶試驗(Urease test)：志賀氏桿菌負反應

2.5.1.2. 運動性試驗(Motility test)：志賀氏桿菌負反應

2.5.1.3. 革蘭氏染色(Gram stain)：

志賀氏桿菌為革蘭氏陰性、無莢膜、無芽孢之桿菌

經上述試驗，確認為可疑志賀氏桿菌者，自小牛肉浸出液培養基鉤菌進行下列生化試驗及血清學試驗。



食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

- Vitek 2 GN鑑定卡
 - *Shigella* group (*S. dysenteriae*、*S. boydii*及*S. flexneri*)
 - *S. sonnei*
- API 50 CHE
 - *S. dysenteriae*、*S. boydii*、*S. flexneri*及*S. sonnei*
- 傳統生化及發酵試驗





食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

● 2.5.2. 生化試驗：

- 2.5.2.1. 氰化鉀試驗(KCN test)：志賀氏桿菌為負反應(培養液呈清澈)
- 2.5.2.2. 丙二酸鹽試驗(Malonate test)：志賀氏桿菌為負反應(培養液呈原色)
- 2.5.2.3. 吲哚試驗(Indole test)：志賀氏桿菌為正反應或負反應
- 2.5.2.4. 歐普氏試驗(VP test)：志賀氏桿菌為負反應(培養液呈原色)
- 2.5.2.5. 甲基紅試驗(Methyl red test)：志賀氏桿菌為正反應(培養液呈紅色)
- 2.5.2.6. 檸檬酸鹽利用試驗(Citrate utilization test)：志賀氏桿菌為負反應(維持培養基原色)
- 2.5.2.7. 脫羧酶試驗(Decarboxylase test)：離胺酸脫羧酶試驗志賀氏桿菌為負反應(培養液由紫色變為黃色)；鳥胺酸脫羧酶試驗志賀氏桿菌為正反應或負反應(培養液維持紫色或由紫色變為黃色)

- 2.5.2.8.醋酸鹽氧化試驗(Acetate oxidation test)：除少數*S. flexneri*血清型4a為正反應，其餘志賀氏桿菌為負反應。(培養基斜面上菌體生長且由綠色變為藍色者為正反應，否則為負反應。)
- 2.5.2.9.黏酸鹽利用試驗(Mucate utilization test)：志賀氏桿菌為負反應。(培養基維持藍色)
- 2.5.2.10.溴甲酚紫糖類發酵試驗：志賀氏桿菌發酵葡萄糖產酸，部分不產氣；部分發酵半乳糖醇、甘油、乳糖、甘露醇、棉子糖、鼠李糖、蔗糖及木糖產酸但不產氣；核糖醇、肌醇及水楊苷則不產酸及氣。(培養液由紫色轉變為黃色者為產酸，杜蘭發酵管有氣體者為產氣)

食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

2.6. 判定：志賀氏桿菌陽性者，應符合表一及表二所列之結果。

表一、志賀氏桿菌之生化反應

試驗		正反應 (+)	負反應 (-)	志賀氏桿菌之反應 ⁽¹⁾
三糖鐵培養基試驗	斜面	黃色	紅色	-
	底部	黃色	紅色	+
	產氣	培養基裂縫或斷裂	培養基完整	- ⁽²⁾
	硫化氫	黑色	非黑色	-
尿素酶試驗		紫紅色	原色	-
吲哚試驗		表面產生紅色	表面產生黃色	d ⁽³⁾
甲基紅試驗		紅色	黃色	+
歐普氏試驗		紅色	原色	-
檸檬酸鹽試驗		粉紅色	黃褐色(原色)	-
氰化鉀試驗		混濁	澄清	-
運動性試驗		沿穿刺線有放射狀線產生	沿穿刺線無放射狀線產生	-
離胺酸脫羧酶試驗		紫色	黃色	-
鳥胺酸脫羧酶試驗		紫色	黃色	d ⁽⁴⁾
溴甲酚紫糖類發酵試驗 ⁽⁵⁾	葡萄糖	產酸	不產酸	+
	核糖醇	產酸	不產酸	- ⁽⁶⁾
	半乳糖醇	產酸	不產酸	-
	甘油	產酸	不產酸	d ⁽⁷⁾
	肌醇	產酸	不產酸	d ⁽⁸⁾
	乳糖	產酸	不產酸	-
	甘露醇	產酸	不產酸	d ⁽⁹⁾
	棉子糖	產酸	不產酸	d ⁽¹⁰⁾
	鼠李糖	產酸	不產酸	d ⁽¹¹⁾
	水楊苷	產酸	不產酸	-
	蔗糖	產酸	不產酸	d ⁽¹²⁾
	木糖	產酸	不產酸	d ⁽¹³⁾
丙二酸鹽試驗		藍色	綠色	-
黏酸鹽利用試驗		黃色	藍色	- ⁽¹⁵⁾
醋酸鹽氧化試驗		藍色	綠色	- ⁽¹⁶⁾
多價本體族群抗血清血清學試驗		凝集	無凝集	+

(1) +：90%以上菌株為正反應；d：11~89%菌株為正反應；-：90%以上菌株為負反應。

食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

表二、*S. dysenteriae*、*S. flexneri*、*S. boydii* 及 *S. sonnei* 之生化反應⁽¹⁾

試驗	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. sonnei</i>
引噪試驗 ⁽²⁾	d	d	d	—
鳥胺酸脫羧酶	—	— ⁽³⁾	—	+
乳糖產酸	—	—	—	(+) ⁽⁴⁾
蔗糖產酸	—	—	—	(+)
甘露醇產酸	—	+	+	+
半乳糖醇產酸 ⁽⁵⁾	d	d	—	—
棉仔糖產酸	—	—	d	(+)
木糖產酸	—	d	—	—

- (1) +：90%以上菌株為正反應；d：11~89%菌株為正反應；—：90%以上菌株為負反應。
- (2) 部分 *S. flexneri* 菌株在 TSI 培養基中會產生微量氣體。
- (3) *S. sonnei*、*S. dysenteriae* 血清型 1 及 *S. flexneri* 血清型 6 為引噪負反應；*S. dysenteriae* 血清型 2、血清型 7、血清型 8 及 *S. boydii* 血清型 5、血清型 7、血清型 9、血清型 11、血清型 13、血清型 15 為正反應；其餘的志賀氏桿菌為正或負反應。
- (4) *S. boydii* 血清型 13 及 *S. sonnei* 為鳥胺酸脫羧酶正反應。
- (5) 除少數外，志賀氏桿菌發酵糖類不產氣。



食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

2.2.31. 抗血清

2.2.31.1. 志賀氏桿菌多價本體族群抗血清 (*Shigella* somatic polyvalent antisera) : A, A₁, B, C, C₁, C₂, D 及 A-D (Alkalescens- Dispar biotypes) 等 8 種。

2.2.31.2. 志賀氏桿菌單價本體族群抗血清 (*Shigella* somatic monovalent antisera) : *S. dysenteriae* (type-sera 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 及 12)、*S. flexneri* (type-sera I, II, III, IV, V, VI 與 group sera (3) 4, 6 及 7 (8))、*S. boydii* (type-sera 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 及 18)、*S. sonnei* (phase I 及 phase II) 共 41 種。

食品微生物之檢驗方法-志賀氏桿菌之檢驗

2.5.3. 血清學試驗(Serological test)：鉤菌至生理食鹽水 3 mL 中，混合均勻，調整菌液濃度至馬克法蘭濁度標準 5 (McFarland Turbidity Standard No. 5)，供作菌體懸浮液。利用蠟筆在玻片或培養皿上畫九格大小約 1 × 3 cm 的矩形，第一格至第八格矩形之上方分別滴入一滴志賀氏桿菌多價本體族群抗血清(A、A₁、B、C、C₁、C₂、D、A-D 共八組)，另下方滴入一滴菌體懸浮液；第九格矩形的下方滴入菌體懸浮液，另上方滴一滴生理食鹽水(對照組)。以無菌接種環或接種針將菌體懸浮液與抗血清(或生理食鹽水)均勻混合，反覆前後傾斜搖動 3~4 分鐘後，在燈箱光源上方觀察。正反應者，菌體懸浮液與抗血清產生凝集現象(此處正反應係指混合後有明顯之凝集現象，並且背景有 50%以上呈透明)，但對照組則無；負反應者菌體懸浮液與抗血清，以及菌體懸浮液與生理食鹽水均無凝集現象，志賀氏桿菌為正反應。志賀氏桿菌多價本體族群抗血清試驗呈正反應時，續以單價本體族群抗血清重覆上述步驟，確認菌株血清型別。血清學試驗呈負反應時，須將菌體懸浮液，蒸氣加熱 30 分鐘，冷卻後，重複上述凝集試驗。

綜合討論

Thank you for your
attention!