

藥物食品簡訊

月刊

第 286 期
日期：民國 93 年 10 月 20 日

王金城題

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>

藥物食品分析期刊列入「科學索引目錄(SCI)」擴大版
政府出版品創刊十二年 屢獲國內外肯定 成果斐然

衛生署藥物食品檢驗局出版的「藥物食品分析期刊 (Journal of Food and Drug Analysis, JFDA)」, 已被列入科學索引目錄擴大版 (SCI Expanded) 收錄名單。2003 年影響係數 0.597, 於食品科學類 95 種期刊中排名全世界第 50。

藥物食品分析期刊創刊於民國 82 年, 收載藥物、食品、化粧品檢驗分析學術論文, 該刊的編輯委員涵蓋國內外著名學者專家 (表一), 目前已刊載的論文, 除了該局本身的研究成果外, 亦來有自世界各地, 要求的水準甚高, 其文章以英文刊登之百分比已由 1996 年的 26% 升至 2004 年的 100% (圖一), 可見該刊努力進行國際化的成效。該刊自 85 年起即連續 8 年榮獲行政院國家科學委員優良學術期刊獎 (85、86 年獲甲等獎, 87 年至 92 年均獲優等獎), 早已被 BIOSIS Previews、EMBASE (Excerpta Medica)、Chemical Abstracts、International Food Information Service (FSTA) 及 ISI Products: Research Alert、Biochemistry & Biophysics Citation Index 等國際知名資料庫收載。一向只收錄傑出期刊的美國科學資訊所 (Institute for Scientific Information, ISI) 出版的「期刊被引用報告 (Journal Citation Report—Science Edition, JCR)」, 自 1998 年起收錄該刊, 2003 年起更將該刊收錄於 SCI Expanded, 依據最新之 2003 年版 JCR 顯示, 收錄之 5,700 種科技類國際著名期刊中, 國內科技領域總共有 16 種獲收錄, 其中生物醫學類僅 6 種期刊榮獲收錄 (表二), 「藥物食品分析」即為其

一。

ISI 是世界最大的資訊服務機構，其發行之科學引用文獻索引 (Science Citation Index, SCI) 為全世界首創且蒐羅範圍最廣之學術參考工具。其影響係數 (Impact Factor) 是國內大學院校教授升等及評定博士班學生論文成績之重要依據。1996 年時，「藥物食品分析」被引用次數為 16 次，其後逐年上升，至 2004 年已達 180 次，成長達 11 倍以上 (圖二)，其影響係數亦迭創新高，2003 年時已達 0.597，排在前三名 (表二)。「藥物食品分析」於出刊八年後即達到國際認定之水準，相較於國內類似期刊大多需二十多年之出版歷史，其成效十分卓著，對於提升國內生物科技領域之研究水準，甚具貢獻。

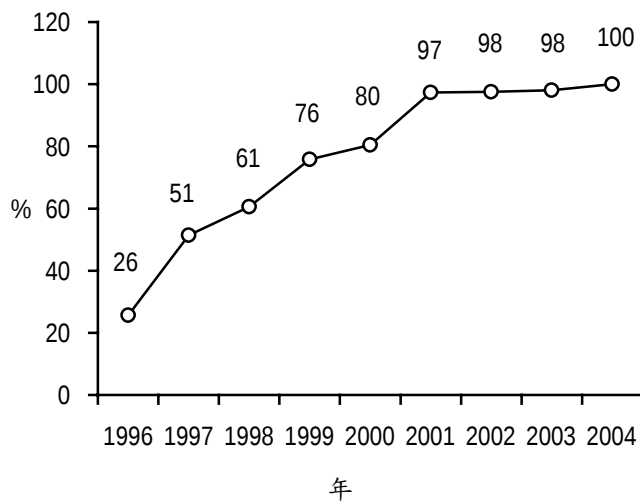
表一：藥物食品分析期刊編輯委員

國內委員*	國外委員
胡幼圃 (國防醫學院)	Lester A. Mitscher (Kansas Univ., USA)
孫璐西 (台灣大學)	Haruki Yamada (Kitasato Institute, Japan)
許順吉 (師範大學)	Kuo-Hsiung Lee (Univ. of North Carolina, USA)
孫寶年 (海洋大學)	Ray H. Liu (Univ. of Alabama, USA)
張吳名任 (長庚大學)	I. K. Ho (Univ. of Mississippi, USA)
黃顯宗 (東吳大學)	Peter P. Fu (NCTR, FDA, USA)
李佩端 (中國醫藥大學)	Chiu S. Lin (FDA, USA)
黃昭蓮 (中央研究院)	Keith Chan (Univ. of Maryland, USA)
王惠珀 (藥政處)	
李志恆 (衛生署管制藥品管理局)	
陳惠芳 (衛生署)	

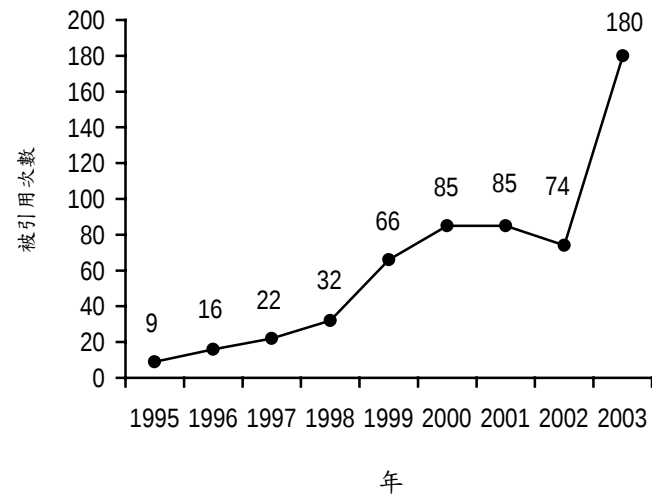
*不包括藥物食品檢驗局內之委員

表二：收錄於 2003 年 JCR 之國內生物醫學類期刊及其影響係數

刊名	影響係數
生物醫學雜誌	1.937
中國生理學雜誌	1.143
藥物食品分析	0.597
動物研究學刊	0.533
中央研究院植物學彙刊	0.506
台灣醫誌	0.418



圖一：藥物食品分析歷年英文發表百分比



圖二：藥物食品分析歷年被引用次數

本局第二十二號 調查研究年報出刊

本局九十二年度調查研究年報，於九十三年九月出刊，共收錄研究論文 98 篇，內容包括調查研究報告 20 篇，同仁發表於國內外學術期刊及學術會議論文 78 篇，為本局同仁一年來之研究成果，內容豐富。

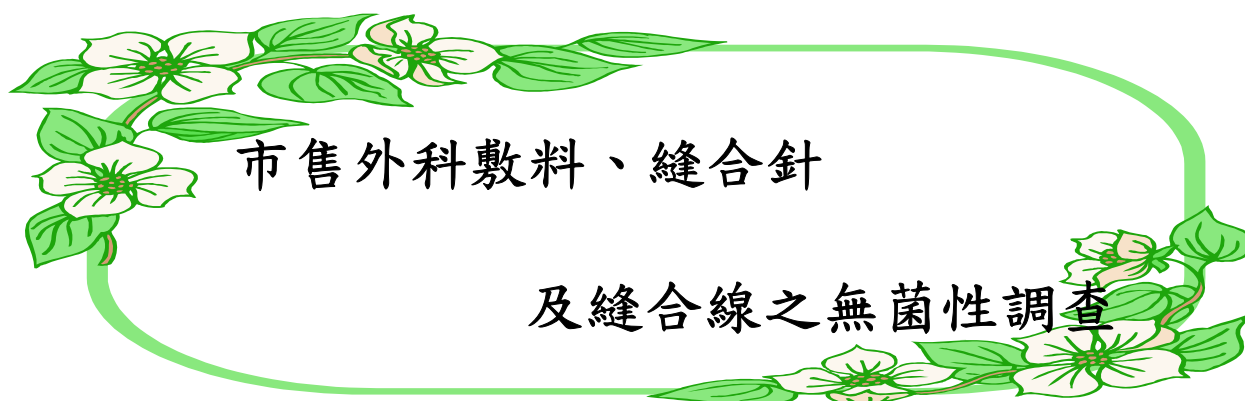
本年報每本收工本費 400 元，意者，請利用郵政劃撥「11282594 藥物食品檢驗局員工消費合作社」訂購。

第二十二號調查研究年報，其中調查研究報告 20 篇之目錄如下：

1. Aspirin 口服製劑中游離水楊酸含量調查---張沅琦、史濟振、陳玉盆
2. 市售及醫院用醫檢橡膠手套針孔試驗之調查---吳亭瑤、簡哲新、杜培文、鄒玫君
3. 原料藥品質調查（二）---楊明玉、范孟棋、古凱文、黃明權、鄒玫君
4. 不含抗生素之外傷用軟膏之微生物品質調查---何明純、張若平、陳惠芳、

林嘉伯、陳樹功

5. 廣告類中藥製劑之品質調查-補腎類---秦玲、林秀珍、盧芬鈴、張麗雲、鄭淑晶、黃秋羽、林雅姿、林美智、顧祐瑞、楊禮安、黃成禹、劉宜祝、林哲輝
6. 九十二年度中藥製劑檢出西藥成分之分析---賴國誌、劉宜祝、林哲輝、陳樹功
7. 市售大戟藥材之鑑別---徐雅慧、羅吉方、張憲昌、林哲輝
8. 市售桔樓根類藥材之鑑別---張憲昌、莊美淑、林哲輝
9. 市售天南星藥材之鑑別---賴齡、羅吉方、張憲昌、林哲輝
10. 以快速氣相層析法檢測乾豆類中達乃安殘留量---曾素香、林育如、張碧秋、周薰修
11. 市售蔬果殘留農藥監測---沈孜徽、溫惠琴、李蕙芳、張碧秋、陳泰華、林阿洋、徐錦豐、周薰修
12. 市售蜂蜜產品中殘留農藥、多氯聯苯及重金屬之調查---蘇淑珠、鄭維智、邱雅琦、張美華、陳石松、施如佳、李蕙芳、張碧秋、鄭秋真、周薰修
13. 台灣地區販售動物內臟鉛含量背景調查---張美華、施如佳、邱雅琦、陳石松、鄭秋真、周薰修
14. 九十二年度食米中重金屬（鎘、汞、鉛）含量之調查---張美華、施如佳、邱雅琦、陳石松、吳克慧、田金平、鄭秋真、陳泰華、林阿洋、周薰修
15. 九十二年度醬油中 3-單氯丙二醇含量之調查---鄭維智、周珮如、張碧秋、周薰修
16. 台灣地區魚貝類中多氯聯苯殘留調查---鄭維智、陳素燕、張碧秋、周薰修
17. 超市包裝場蔬果殘留農藥監測---溫惠琴、陳泰華、林阿洋、張碧秋、周薰修
18. 台灣地區販售根菜類之含鉛量背景調查---邱雅琦、施如佳、張美華、陳石松、鄭秋真、周薰修
19. 國產及進口香菸中尼古丁、焦油及一氧化碳含量監測---張碧秋、許哲綸、趙利青、鄭維智、周薰修
20. 市售生鮮金針殘留農藥之調查---傅曉萍、胡仲勳、徐錦豐



市售外科敷料、縫合針

及縫合線之無菌性調查

本局為瞭解市售外科敷料、縫合針及縫合線（附針/不附針）等

醫療器材之無菌品質，完成 43 件市售該類醫療器材之檢驗，結果均符合藥典無菌性之規定。

由於市售外科敷料、縫合針及縫合線（附針/不附針）等醫療器材皆可與人體傷口或組織直接接觸，如果製造時滅菌不完全或運送、保存不當，以致遭受微生物污染，將直接危及病患，影響醫療品質。因此，對於該類醫療器材之管理，必須加強市售品之抽樣監測，以確保其品質。

本監測計畫，係採源頭抽樣，委請各衛生局配合直接至代理商、製造廠執行抽樣工作，共取得有效檢體 43 件，其中國產 8 件佔 18.6%，輸入 35 件佔 81.4%，包括外科用敷料 3 件、止血膠棉 5 件、含藥紗布 2 件及縫合線 33 件。依據美國藥典第 27 版及中華藥典第五版進行無菌試驗，結果顯示 43 件檢體均符合藥典無菌性之規定。然而其中有國產縫合線 1 件許可證超過有效期限，另有輸入外科用敷料 1 件、止血膠棉 3 件、縫合線 12 件檢體外盒無中文標示，均與規定不合已分別函請原送驗衛生局依藥事法相關規定處辦。

食品中單核球增多性李斯特菌

檢驗方法之介紹

郭荔平

前言

單核球增多性李斯特菌(*Listeria monocytogenes*，簡稱李斯特菌)為李斯特菌屬細菌(*Listeria spp*)之一種。除李斯特菌外，尚包括 *L. innocua*，*L. ivanovii*，*L. welshimeri*，*L. seeligeri* 及 *L. grayi* 等五株菌。但唯一會對人類造成危害者僅李斯特菌，它屬革蘭氏陽性菌，具鞭毛，不產孢，生長溫度範圍廣(2.5~42℃)，對環境適應性強，可於低溫、高鹽及酸鹼度(pH)範圍較寬廣之環境下生長，普遍存在於自然環境中，常可自土壤、溫血動物腸胃道、各式水體、污泥、腐葉中分離，並經由動物、飼料、昆蟲或糞便之傳播而進入蔬果、肉品、牛乳、魚、蝦及甲殼類等食品，故此類生鮮食品及其相關製品均有遭受李斯特菌污染之可能。

李斯特菌受到重視起源自 1980 年代，於 1981 年加拿大首度發生因食用遭李斯特菌污染之捲心菜(Coleslaw)而引起大規模之李斯特菌食品中毒事件，此後又於 1983 及 1985 年在美國亦陸續發生食用被李斯特菌污染之牛乳及墨西哥式軟乳酪(Mexican-style soft cheese)而造成之食品中毒案例，隨後幾年內世界各地接續不斷地發生李斯特菌中毒案例，造成多人死亡(如表一)。李斯特菌遂逐漸受到食品微生物界、政府衛生主管機關及食品業界的關注，而被視為重要之食品病原菌。國內於民國 86 年 10 月發生醉爾斯(Dreyer's)冰品檢驗出李斯特菌污染事

件，所幸衛生單位處理得宜，未有消費者受害。由上述案例顯示李斯特菌是遍存於日常之各類食品中，只要環境條件適當且被高危險群人口食用，隨時都有爆發食品中毒事件之潛在機會。衛生署早於民國八十年九月十七日即以衛署食字第 971990 號函公告李斯特菌為食品中毒原因菌。

身體健康、免疫系統正常的人是不易罹患李斯特菌症(Listeriosis)，較易罹患之高危險群人口為老年人、新生兒、孕婦、免疫系統機能較弱者，長期服用腎上腺皮質類固醇之患者或長期接受血液透析者。感染劑量介於 $10^2 \sim 10^9$ (CFU/g)，視個體免疫系統強弱而定；其臨床病徵與一般食品中毒原因菌不同，常類似感冒，有發燒、頭痛、冷顫、背痛、失去平衡感、頸部僵直等症狀，此外亦可能併發腎盂炎、菌血症、腦膜炎，嚴重者可導致死亡，死亡率約 25-30%，使用抗生素如 ampicillin，penicillin 單獨投用或合併 gentamycin 即可治療李斯特菌症。而將食品熟食是一般消費者避免罹患李斯特菌症的最佳方法，高危險群人口則應避免吃生食或部份煮熟之肉類、軟乳酪及未清洗之生鮮蔬果。

在過去的二十餘年中，食品微生物界對李斯特菌的檢驗技術，不論是在新檢驗方法的開發，抑或是商品化快速篩選及鑑定套組的研發應用，均呈現長足的進步。今特就最新適用於食品中(乳品除外)單核球增多性李斯特菌檢驗方法介紹如後，提供相關研究及檢驗人員參酌，以收事半功倍之效。

1.適用範圍：本方法適用於禽畜肉、蛋及蛋製品等中單核球增多性李斯特菌之檢驗，惟乳品除外。

2.檢驗方法：

2.1 工作環境：工作平臺須寬敞、潔淨、光線良好，操作平臺光度為 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 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ 者。

2.2.4 吸管或自動吸管/吸管尖：已滅菌。1mL 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 或 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 增菌用容器：無菌袋或有 450 mL，99 mL，90 mL 標記附蓋(栓)之廣口瓶。

2.2.7 試管：10 ×100 mm，13 ×100 mm 試管或其他合適者。

2.2.8 培養箱：能維持內部溫差 $\pm 1.0^\circ\text{C}$ 以內者。

2.2.9 水浴：能維持水溫溫差在 $\pm 1.0^\circ\text{C}$ 以內者。

2.2.10 攪拌均質器(Blender)或鐵胃(Stomacher)：能適用於無菌操作者。

2.2.11 無菌濾膜：0.45 μm 或以下孔徑之親水性醋酸纖維膜。

2.2.12 接種針及接種環(直徑約 3 mm)：鎳鉻合金，鉑鉍或鉻線材質，或可拋棄式者。

2.2.13 無菌棉花棒。

2.2.14 載玻片及蓋玻片：能於染色、鏡檢時，載(蓋)菌用之載(蓋)玻片。

2.2.15 光源：日光燈。

2.2.16 天平：可稱量到 2,000 g，靈敏度為 0.1g；可稱量到 120 g 者，靈敏度為 5 mg。

2.2.17 藥勺、剪刀、小刀、壓舌板及鑷子：可滅菌或可拋棄式。

2.2.18 pH 測定儀。

2.2.19 pH 試紙：pH 值範圍為 6~8。

2.2.20 加熱器。

2.2.21 振盪器。

2.2.22 顯微鏡：能放大至 1,000 倍之一般光學顯微鏡。

2.2.23 馬克法蘭氏濁度標準組(McFarland nephelometer standard units)。

2.2.24 發酵管(Durham fermentation tube)：外徑 7 ×20 mm 或其他適當規格，使用時倒置於 16 ×150 mm 試管內。

2.2.25 試驗菌株：*Staphylococcus aureus* (ATCC 49444, BCRC 14980；ATCC 25923, BCRC 10781)

Rhodococcus equi (ATCC 6939, BCRC 12859)

Listeria monocytogenes (ATCC 19111, BCRC 14845)

Listeria innocua (ATCC 33090, BCRC 14843)

2.2.26 試藥：無水磷酸二氫鉀、無水磷酸氫二鈉、丙酮酸鈉鹽、粟糖甘(esculin)、檸檬酸鐵銨、氯化鋰(lithium chloride)、萘利啶酸鈉鹽(nalidixic acid, sodium salt)、腸黏菌素(colistin methane sulfonate)、吡啶黃素(acriflavin)、95%乙醇、澱粉、氯化鈉、甘露糖醇、葡萄糖、酚紅、硝酸鉀、磷酸氫二鉀、溴甲酚紫(bromocresol purple)、鼠李糖(rhamnose)、木糖(xylose)、麥芽糖、結晶紫(crystal violet)、草酸銨(ammonium oxalate)、碘化鉀、磷酸鉀、碘、沙黃 O (safranin O)、氫氧化鈉、30%過氧化氫溶液、磺胺酸(sulfanilic acid)、醋酸、N-(1-萘基) 乙 烯 二 胺 鹽 酸 鹽 [N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride]、甲基紅、 α -萘酚(α -naphthol)、無水酒精、sodium (或 ammonium) moxalactam、氫氧化鉀、鋅粉、 α -肌酸(α -creatine)、N,N,N',N'-四 甲 基 對 - 苯 二 胺 鹽 酸 鹽 (N,N,N',N'-tetramethyl- ρ -phenylenediamine $\cdot$ 2HCl)均採用化學試藥級。酵母抽出物、牛肉抽出物、月示蛋白腺、蛋白腺、洋菜、胰化酪蛋白腺、植物蛋白腺、蛋白腺 3 號、緩衝蛋白腺粉末、小牛腦浸出物、牛心浸出物均採用微生物級。

2.2.27 試劑

2.2.27.1 革蘭氏染色液(Gram stain solutions) (註)

(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 中。

溶液 B：取草酸銨 0.8 g 溶於水 80 mL 中。

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) 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，加水 1 mL 研磨，次加水 5 mL 研磨，再加水 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，再以適量水洗滌研鉢及杵後，以此洗液併入，使溶液達 300 mL。

(3) 哈克氏複染液(複染劑)：取沙黃 O 2.5 g 溶於 95%乙醇 100 mL 中，供作複染原液。使用時，取原液 10 mL 加水 90 mL，做為複染液。

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

2.2.27.2 3%過氧化氫溶液：取 30%過氧化氫溶液 5 mL 加入無菌水 45 mL 中，置於褐色瓶中，冷藏備用。

2.2.27.3 無菌生理食鹽水(Physiological saline solution)：取氯化鈉 8.5 g 溶於水 1000 mL 中，以 121°C 滅菌 15 分鐘。

2.2.27.4 磷酸鹽緩衝溶液：取磷酸二氫鉀 34 g 溶於水 500 mL 中，以 1 N 氫氧化鈉溶液調節 pH 值為 7.2，再加水至全量為 1000 mL，經 121°C 滅菌 15 分鐘後，貯存於冰箱中，做為原液備用。使用時，取原液 1.25 mL 加水至 1000 mL，分裝於稀釋用容器中，經 121°C 滅菌 15 分鐘後，調最終 pH 值為 7.2 $\pm$ 0.1。

2.2.27.5 0.1 M 磷酸鉀緩衝溶液(pH 6.0)：取磷酸鉀 17.6 g，溶於水 500 mL 中，調整 pH 值為 6.0，再加水至全量為 1000 mL，經 121°C 滅菌 15 分鐘後，貯存於冰箱中備用。

2.2.27.6 1%腸黏菌素溶液：取腸黏菌素 1 g，溶於 pH 6.0，0.1 M 之磷酸鉀緩衝溶液 100 mL，存於冰箱備用。

2.2.27.7 2%萘利啶酸溶液(2% Nalidixic acid solution)：取萘利啶酸鈉鹽 2.0 g 溶於水 100 mL 中，過濾除菌，冷藏備用。

2.2.27.8 氫氧化鉀溶液：取氫氧化鉀 2.5 g 及氯化鈉 20 g 溶於水 500 mL 中，以 1 N 氫氧化鈉溶液調節 pH 值為 12.3，再加水至 1000 mL，經 121°C 滅菌 15 分鐘後，貯存於室溫備用。

2.2.27.9 Moxalactam 溶液：取 sodium (或 ammonium) moxalactam 1 g 溶於 pH 6.0，0.1 M 之磷酸鉀緩衝溶液 100 mL，以過濾除菌，分取 2 mL 注入試管內，貯存於冰箱備用。

2.2.27.10 亞硝酸鹽偵檢試劑(Nitrite detection reagents)：

試液 A：取磺胺酸 1 g 溶於 5 N 醋酸 125 mL 中，冷藏備用。

試液 B：取 N-(1-萘基)乙烯二胺鹽酸鹽 0.25 g 溶於 5 N 醋酸 200 mL 中，冷藏備用。

2.2.27.11 甲基紅指示劑(Methyl red indicator)：取甲基紅 0.1 g 溶於 95% 乙醇 300 mL 後，再加入水 200 mL，冷藏備用。

2.2.27.12 歐普氏試劑(Voges-Proskauer reagents, VP reagents)：

試液 A：取 α -萘酚 5 g 溶於無水酒精 100 mL 中，冷藏備用。

試液 B：取氫氧化鉀 40 g 溶於水 100 mL 中，冷藏備用。

2.2.27.13 氧化酶試劑(Oxidase reagent)：取 N,N,N',N'-四甲基對-苯二胺鹽酸鹽 1 g 溶於水 100 mL，置入褐色瓶中，冷藏備用。

2.2.28 培養基：

2.2.28.1 UVM 培養液(UVM broth)

月示蛋白胨(protose peptone) 5.0 g

胰化蛋白胨(tryptone) 5.0 g

雷藍可粉末(Lab lemco powder) 5.0 g

酵母抽出物(yeast extract) 5.0 g

氯化鈉(NaCl) 20.0 g

磷酸二氫鉀(KH_2PO_4) 1.35 g

磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4) 12.0 g

粟糖甘(esculin) 1.0 g

2% 萘利啶酸(nalidixic acid) 1.0 mL

吡啶黃素(acriflavin) 12.0 mg

蒸餾水 1000 mL

加熱沸騰溶解後，以 121°C 滅菌 15 分鐘，滅菌完成後應立即移出高壓滅菌釜冷卻，培養基因過熱而導致顏色變黑或變深，應予捨棄。

2.2.28.2 費氏培養液(Fraser broth)

月示蛋白胨(protose peptone) 5.0 g

胰化蛋白胨(tryptone) 5.0 g

雷藍可粉末(Lab lemco powder) 5.0 g

酵母抽出物(yeast extract) 5.0 g

氯化鈉(NaCl) 20.0 g

磷酸二氫鉀(KH_2PO_4) 1.35 g

磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4) 12.0 g

粟糖甘(esculin) 1.0 g

2% 萘利啶酸(nalidixic acid) 1.0 mL

氯化鋰(lithium chloride) 3.0 g

蒸餾水 1000 mL

加熱溶解後，量取 10 mL，分裝於 20 × 150 mm 試管，以 121°C 滅菌 15 分鐘，滅菌完成後應立即移出高壓滅菌釜冷卻，貯存冰箱中備用。使用前於每支試管內加入已過濾除菌之吡啶黃素 0.1 mL (2.5 mg/mL) 及 5% 之檸檬酸鐵銨溶液(ferric ammonium citrate solution) 0.1 mL。

2.2.28.3 改良式牛津培養基(Modified Oxford medium, MOX)

哥倫比亞血液基礎培養基(Columbia blood agar base)

39~44 g (視廠牌而定)

洋菜(agar) 2.0 g

粟糖甘(esculin) 1.0 g

檸檬酸鐵銨(ferric ammonium citrate) 0.5 g

氯化鋰(lithium chloride) 15.0 g

1% 腸黏菌素溶液(colistin solution) 1.0 mL

蒸餾水 1000 mL

加熱溶解後，以 121°C 滅菌 10 分鐘，最終 pH 值為 7.2，並用恆溫水浴方式，迅速冷卻至 46°C，同時加入已過濾除菌之 moxalactam 溶液 2 mL 混合均勻，每個培養皿分裝 12 mL。(本培養基勿需再添加任何補充劑)。

2.2.28.4 馬血(或綿羊血)雙重培養基(Horse or sheep blood overlay medium, HL)

底層

- 哥倫比亞血液基礎培養基 44.0 g
蒸餾水 1000 mL
加熱溶解後，以 121°C 滅菌 15 分鐘，置於 46°C 水浴中備用。
- 上層
將 4% 馬血(或綿羊血)加入 46°C 溶解態之哥倫比亞血液基礎培養基中充分混勻。
取溶解態之底層培養基 10 mL 加入培養皿中，凝固後再倒入上層培養基 5~6 mL，貯存於冰箱備用，培養基顏色改變，應予捨棄。
- 2.2.28.5 胰化酪蛋白大豆瓊脂培養基(Trypticase soy agar, TSA)
胰化酪蛋白(trypticase peptone) 15.0 g
植物蛋白胨(phytone peptone) 5.0 g
氯化鈉(NaCl) 5.0 g
洋菜(agar) 15.0 g
蒸餾水 1000 mL
加熱沸騰溶解後，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。
- 2.2.28.6 發酵培養液(Fermentation broth)
基礎發酵培養液
蛋白胨(peptone) 10.0 g
雷藍可粉末(Lab lemco powder) 1.0 g
氯化鈉(NaCl) 5.0 g
酚紅溶液(360 mg / 20 mL 0.1 N NaOH) 1.0 mL
蒸餾水 900 mL
混合溶解、調整 pH 值為 7.4，再以 121°C 滅菌 15 分鐘。
碳水化合物溶液 5 %
木糖(xylose)
甘露糖醇(mannitol)
鼠李糖(rhamnose)
分別過濾除菌後備用，使用時取基礎發酵培養液 900 mL 及各種碳水化合物溶液 100 mL 分別混合。以無菌操作分裝至 10 × 100 mm 無菌螺旋蓋試管中，每支約 5 mL，最終 pH 值為 7.4 ± 0.2 (25°C)。
- 2.2.28.7 腦心浸出物培養基(Brain heart infusion agar, BHI agar)
小牛腦浸出物(calf brain infusion) 200.0 g
牛心浸出物(beef heart infusion) 250.0 g
月示蛋白胨(proteose peptone) 10.0 g
氯化鈉(NaCl) 5.0 g
磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄) 2.5 g
葡萄糖(glucose) 2.0 g
洋菜 15.0 g
蒸餾水 1000 mL
加熱沸騰完全溶解後，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.4 ± 0.2。培養基注入培養皿前，應搖動混勻，使絮狀沈澱物分散均勻，搖動時應避免產生氣泡，每一培養皿倒入 15~20 mL，凝固後打開皿蓋 1/2~1/4，使培養基表面乾燥，已注入培養皿之培養基以當天使用為佳，在冰箱中貯存者應注意有無雜菌污染。
- 2.2.28.8 腦心浸出物培養液(Brain heart infusion broth, BHI broth)
小牛腦浸出物(calf brain infusion) 200.0 g
牛心浸出物(beef heart infusion) 250.0 g
月示蛋白胨(proteose peptone) 10.0 g
氯化鈉(NaCl) 5.0 g
磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄) 2.5 g
葡萄糖(glucose) 2.0 g
蒸餾水 1000 mL
加熱完全溶解後，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.4 ± 0.2。已注入試管之培養液以當天使用為佳，在冰箱中貯存者於使用前應注意有無雜菌污染。

2.2.28.9 CAMP 測試培養基(CAMP test agar)

添加 5%之綿羊血於胰化酪蛋白大豆培養基(trypticase soy agar)中，混合均勻，再取 8 mL 加入培養皿中，貯藏於冰箱備用，顏色發生變化者，應予捨棄。

2.2.28.10 胰化酪蛋白大豆酵母抽出物培養基(Trypticase soy agar with 0.6% yeast extract, TSAYE)

胰化酪蛋白大豆培養基粉末(trypticase soy agar, dehydrated)

40.0 g

酵母抽出物(yeast extract)

6.0 g

蒸餾水

1000 mL

加熱溶解後，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.3 ± 0.2 ，每一培養皿倒入 15~20 mL，培養基注入培養皿前，應搖動混勻，搖動時應避免產生汽泡。

2.2.28.11 硝酸鹽培養液(Nitrate broth)

牛肉抽出物(beef extract)

3.0 g

蛋白胨(peptone)

5.0 g

硝酸鉀

1.0 g

蒸餾水

1000 mL

加熱煮沸至完全溶解後，分取 5~7 mL 注入試管內，以 121°C 滅菌 12~15 分鐘，最終 pH 值為 7.0 ± 0.1 。

2.2.28.12 葡萄糖培養液(Glucose broth, MR-VP broth)

月示蛋白胨(proteose peptone)

7.0 g

葡萄糖(glucose)

5.0 g

磷酸氫二鉀(K_2HPO_4)

5.0 g

洋菜(agar)

15.0 g

蒸餾水

1000 mL

加熱溶解後，分取 5 mL 注入試管內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 6.9 ± 0.2 。

2.2.28.13 葡萄糖溴甲酚紫培養液(Glucose bromcresol purple broth)

葡萄糖(glucose)

2.0 g

蛋白胨(peptone)

10.0 g

牛肉抽出物(beef extract)

3.0 g

氯化鈉(NaCl)

5.0 g

溴甲酚紫(bromcresol purple)

0.04 g

蒸餾水

1000 mL

加熱溶解後，再分取 8 mL 注入已裝有發酵管之試管內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.0 ± 0.2 。

2.2.28.14 運動性測試培養基(Motility test medium, MTM)

牛肉抽出物(beef extract)

3.0 g

蛋白胨(peptone)

10.0 g

氯化鈉(NaCl)

5.0 g

洋菜(agar)

4.0 g

蒸餾水

1000 mL

加熱攪拌沸騰溶解後，分取 5 mL 注入 10 × 100 mm 附蓋(栓)試管內，經 121 °C 滅菌 15 分鐘後，冷卻備用，最終 pH 值為 7.4 ± 0.2 。

2.2.28.15 營養培養基(Nutrient agar)

牛肉抽出物(beef extract)

3 g

蛋白胨(peptone)

5 g

洋菜(agar)

15 g

蒸餾水

1000 mL

加熱沸騰溶解後，分裝於試管內，經 121 °C 滅菌 15 分鐘後，作成斜面培養基，最終 pH 值為 6.8 ± 0.2 。

2.3.檢液之調製^(註 1 及 2)

2.3.1 固態檢體先適當切碎，混合均勻後，取 25 g 加入已滅菌之 UVM 培養液 225 mL 中，用已滅菌之攪拌均質器以低速攪拌，攪拌時間不超過 2 分鐘，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

便使用之用具加以混勻，取 25 g 加入已滅菌之 UVM 培養液 225 mL 中，即為 10 倍稀釋檢液。

2.3.3 液態檢體搖勻後，取 25 mL 加入已滅菌之 UVM 培養液 225 mL 中，即為 10 倍稀釋檢液。

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℃，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℃ 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 25g (mL)，以下步驟同 2.3.1 節之操作。

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

註 2.檢體總量不足 25 g (mL)時，則添加適量之增菌液作成 10 倍稀釋檢液。

2.4. 鑑定試驗

2.4.1 增菌培養：將第 2.3 節之檢液充分振搖，混合均勻後，放入無菌容器內置於 $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培養箱中培養 22 小時，以無菌吸管取 0.1 mL 增菌液至 10 mL 費氏培養液中，置於 $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培養箱，培養 26 小時。

2.4.2 分離培養：李斯特菌存在時，費氏培養液因粟糖苷的利用而產生黑變。故將有黑變的費氏培養液試管以無菌棉花棒沾取，塗佈於 MOX 培養基的 1/2 部份，再以接種環進行二區劃線(圖一)，置於 $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培養箱中培養 24~48 小時。經 24 小時培養之費氏培養液仍無黑變現象時，則需多培養 24 小時，再重覆上述劃菌步驟。典型李斯特菌於 24 小時內菌落周邊即呈現黑環區，典型菌落約 1 mm，但部分生長慢菌株，則需多培養 24 小時，以接種環挑取 20 個直徑約 1 mm 之具黑環區之可疑菌落，接種於 HL 培養基，置於 $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，18~26 小時培養。菌落形成後，將培養皿底部正對光源，觀察透明之溶血現象(beta-hemolysis)，選取一~三個小且具溶血圈的菌落，分別並接種於 BHI agar、BHI broth 及斜面營養培養基，置於 $18\sim 25^{\circ}\text{C}$ ，16~18 小時培養，以備進行各生化特性測試用。所有含可疑菌落之 HL 培養基應於室溫或冷藏保持至確認試驗完成。倘費氏培養液及 MOX 培養基上之菌株均無因粟糖苷的利用而產生黑變之現象時，可視該檢體內不含李斯特菌。

2.4.3 初步鑑別試驗：

2.4.3.1 運動性試驗：自 2.4.2 節 BHI broth 上鈎菌，以懸滴法(hanging drop)或溼漬法(wet mount)，觀察細菌翻滾運動性，具運動性者為正反應，否則為負反應，李斯特菌為正反應。

2.4.3.2 鏡檢：自 2.4.2 節之 BHI agar 鈎取經培養 24 小時之菌落，作革蘭氏染色後鏡檢，其結果為革蘭氏染色陽性，無芽胞，呈單一或短鏈排列的球桿菌(coccibacilli)，經上述試驗確認為可疑者，則應進行生化反應。

革蘭氏染色步驟如下：

- (1) 取 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。李斯特菌為革蘭氏陽性，菌體呈單一或短鏈排列的球桿菌，不產芽胞。

2.4.4 確定試驗：

2.4.4.1 傘狀運動試驗(Umbrella motility test)：

自 BHI agar 鉤菌，穿刺培養於運動性測試培養基中約 1/2 深，於 20~25℃ 培養箱中，培養 2~3 天，培養基上緣下 3~5 mm 處呈現傘狀者（圖二）為正反應，否則為負反應。李斯特菌為正反應。

2.4.4.2 CAMP 試驗(CAMP test)：

將試驗菌株 *Rhodococcus equi* 及 *Staphylococcus aureus* 接種於 BHI agar 上，培養隔夜後，以經無菌生理食鹽水潤濕之棉花棒分別沾取 *R. equi* 及 *S. aureus* 至無菌生理食鹽水，調整菌液濃度至少達馬克法蘭氏濁度值 1.0，再依相同操作調整可疑菌株菌液濃度達馬克法蘭氏濁度值 2.0 以上，再接種於 CAMP 測試培養基上，中間則以接種環接種可疑菌株（圖三），接種時並不交互重疊，置於 35℃，培養 24~48 小時後觀察結果，正反應者為相接處會呈現箭形溶血區 (arrow shaped hemolytical zone)，靠近 *S. aureus* 處溶血較多，且近 *R. equi* 處溶血不明顯者是為正反應，否則為負反應，李斯特菌為正反應。

2.4.4.3 觸酶試驗(Catalase test)：

自斜面營養培養基上鉤菌，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，否則為負反應，李斯特菌為正反應。

2.4.4.4 氧化酶試驗(Oxidase test)：

自斜面營養培養基上鉤菌，塗抹於滴有氧化酶試劑試紙上，10~15 秒後變為深藍色者為正反應，否則為負反應，李斯特菌為負反應。

2.4.4.5 歐普氏試驗(VP test)：

鉤菌接種於 MR-VP 培養液中，並置於 35℃ 培養箱中培養 48 ±2 小時後，取培養液 1 mL 至另一滅菌試管中，加入歐普氏試劑之試液 A 0.6 mL 及歐普氏試劑之試液 B 0.2 mL 後，再加入少許肌酸，振搖均勻，經 4 小時後觀察結果，呈現粉紅色則為正反應，否則為負反應，李斯特菌為正反應。

2.4.4.6 甲基紅試驗(Methyl red test)：

將 2.4.4.5 節剩餘之 MR-VP 培養液，再培養 48 ±2 小時後，加入甲基紅指示劑 0.3 mL，輕輕搖勻，仍為紅色者為正反應，否則為負反應，李斯特菌為正反應。

2.4.4.7 酚紅碳水化合物利用試驗(Phenol red carbohydrate utilization test)：

自營養斜面培養基上鉤菌，分別接種於酚紅鼠李糖培養液，酚紅木糖培養液，酚紅甘露糖醇培養液中，於 35℃ 培養箱中，培養 48 ±2 小時，每隔 24 小時觀察一次，培養液顏色由紅色變為黃色為正反應，否則為負反應。李斯特菌反應為鼠李糖培養液正反應，木糖培養液負反應，甘露糖醇培養液負反應。

2.4.4.8 葡萄糖發酵試驗(Glucose fermentation test)：

鉤菌接種於葡萄糖溴甲酚紫培養液中，並置於 35℃ 培養箱中培養 48 ±2 小時後，顏色由紫色變為黃色，即為正反應，否則為負反應，李斯特菌為正反應。

2.4.4.9 硝酸鹽還原反應(Reduction of nitrate)：

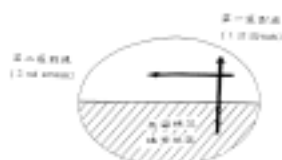
自營養斜面培養基上鉤菌接種於硝酸鹽培養液中，並置於 35℃ 培養箱中，培養 18~24 小時後，各加入亞硝酸鹽試液 A 及 B 0.5~1 mL，輕輕搖勻後觀察結果，呈現紅紫色為正反應，顏色無變化時則加入少許鋅粉而有紅紫色呈現時，則為負反應，李斯特菌為負反應。

2.5.判定：

單核球增多性李斯特菌陽性者，應符合下表所列之結果

試驗或基質	正反應	負反應	李斯特菌之反應
1.生長於 MOX 培養基之典型菌落外觀特徵	小菌落，周邊產生黑色沈澱	菌落周邊無黑色沈澱產生	+
2.觸酶試驗	氣泡產生	無氣泡產生	+
3.革蘭氏染色	陽性(深紫色)、無芽孢、短桿菌	無左述現象	+
4.傘狀運動試驗	培養基上緣下 3~5 mm	無左述現象	+

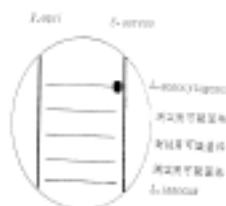
	出現傘狀		
5.CAMP 試驗	與 <i>S. aureus</i> 相接處具溶血現象，與 <i>R. equi</i> 相接處則否	無左述現象	+
6.硝酸鹽還原反應	紅紫色	原色	-
7.氧化酶試驗	深藍色	非深藍色	-
8.歐普氏試驗	粉紅色	原色	+
9.甲基紅試驗	紅色	黃色	+
10.酚紅鼠李糖利用試驗	黃色	紅色	+
11.酚紅木糖利用試驗	黃色	紅色	-
12.酚紅甘露糖醇利用試驗	黃色	紅色	-
13.葡萄糖發酵試驗	黃色	紫色	+
14.β-溶血試驗	具微弱溶血透明現象	無左述現象	+



圖一：XEROX 培養基之塗布劃線法



圖二：李氏菌動力與變形試驗



圖三：CAMP 試驗之結果判讀方式

2.6 最確數之測定：將 2.3 節之稀釋檢液及(或)原液充分搖勻後，進行連續稀釋二次，分別吸取 1 mL 檢液及(或)原液，接種於 9 mL UVM 培養液中，各接種三支(稱三階三支)，並於 35~37 °C 培養 24~48 小時後，劃線培養於 MOX 培養基。經由上節各項判定為單核球增多性李斯特菌陽性者之各階(管)數，利用接種量為每管 0.1, 0.01, 0.001 (g 或 mL) 之三階三支最確數表(如附表)，推算出單核球增多性李斯特菌之最確數(MPN/g 或 MPN/mL)。

附表：最確數表

正反應試管數 (每試管所含檢體 量 g 或 mL)			MPN/ mL (g)	95% 信賴界限		正反應試管數 (每試管所含檢體 量 g 或 mL)			MPN/ mL (g)	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	<3.6	--	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

正反應試管數 (每試管所含檢體 量 g 或 mL)			MPN/ mL (g)	95% 信賴界限		正反應試管數 (每試管所含檢體 量 g 或 mL)			MPN/ mL (g)	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	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	--

說明：

(1)接種量為每試管含檢體(或原液) 0.1, 0.01, 0.001 (g 或 mL)，經 UVM 培養液增菌培養，劃線至 MOX 培養基，並挑選可疑菌落進行生化試驗，確認含有單核球增多性李斯特菌之試管數為 3-1-0，對照 MPN 數應為 43，推算出單核球增多性李斯特菌之最確數為 43 (MPN/g 或 MPN/mL)。

(2)接種量為每試管含檢體(或原液) 1, 0.1, 0.01 (g 或 mL)，而含有單核球增多性李斯特菌之試管數為 3-1-0 時，則該檢體單核球增多性李斯特菌之最確數為 $43 \div 10 = 4.3$ (MPN/g 或 MPN/mL)。

(3)接種量為每試管含檢體(或原液) 0.01, 0.001, 0.0001 (g 或 mL)，而含有單核球增多性李斯特菌之試管數為 3-1-0 時，則該檢體單核球增多性李斯特菌之最確數為 $43 \times 10 = 4.3 \times 10^2$ (MPN/g 或 MPN/mL)，其餘類推。

2.7 可參考使用國際間認可之市售培養基、生化檢測套組或生化試驗鑑定系統，惟檢驗結果有爭議時，應以傳統方法為準。

備註：懷孕婦女與潛在的免疫功能不正常的個體禁止接近單核球增多性李斯特菌的檢驗工作區域。

參考文獻：

1. Johnson, J. L. 2002. Chapter 8. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from meat, poultry and egg products. In "USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook, Volume 1", 3rd ed. Revision 3, pp.8.01- 8.18. Dey B. P. ed., US Government Printing Office, Washington, D.C. U.S.A.
2. Andrews, W. H., June, G. A and Sherrod, P. S. 1998. Appendix 2. Most Probable Number from Serial Dilution. In "FDA Bacteriological Analytical Manual." 8th ed., pp.2.07~2.12. AOAC. International, Gaithersburg, MD, USA.
3. Hitchins, A. D. 2003. Chapter 10. *Listeria monocytogenes*. In "FDA Bacteriological Analytical Manual." 8th. ed., pp.10.01-10.13. AOAC International, Gaithersburg, MD. U.S.A.
4. Donnelly, C. W., Brackett, R. E., Doores, S., Lee, W. H. and Lovett, J. 1998. Chapter 38. *Listeria*. In "Compendium of methods for the microbiological examination of foods." 4th. ed., pp. 637-658. American Public Health Association. Washington, D.C. U.S. A.

表一：單核球增多性李斯特菌之食品中毒事件一覽

年別	國別	病例人數(死亡人數)	中毒食品	血清型	文獻
1980-1981	加拿大	41 (18)	捲心菜	4b	Schlech et al., 1983
1983	美國	49 (14)	經巴氏滅菌之牛奶	4b	Fleming et al., 1985
1983-1987	瑞士	122 (34)	Vacherin 乳酪	4b	Bille, 1990
1985	美國	142 (48)	墨西哥式軟乳酪	4b	Linnan et al., 1988
1987-1989	英國	>350 (>90)	比利時式肉餅	4b	McLauchlin et al., 1991
1992	紐西蘭	4 (2)	煙燻綠蠔	1/2a	Baker et al., 1993
1992	法國	279 (63)	調味豬舌	4b	Goulet et al., 1993
1994	美國	45 (0)	巧克力牛乳	1/2b	Dalton et al., 1997
1995	法國	20 (4)	生乳製軟乳酪	4b	Goulet et al., 1995
1998-1999	美國	50 (8)	即食肉製品 (熱狗)	4b	CDC, MMWR., 1999

藥物食品檢驗局

九月份大事記

9月2日 成立「本局資訊安全管理系統(ISMS)推動小組」。

9月7日 舉辦「食品衛生檢驗科技研討會」。

9月17日 組長周薰修、薦任技正劉芳淑、薦任技士蔡佳芬、鄭維智、呂康組及楊禮安赴美參加「國際公定分析科學家協會第118屆年會及研討會」，並發表壁報論文，為期七天。

9月20日 舉行本局二十六週年局慶大會，並辦理核心價值「創新」、「進取」、「專業」演講比賽。

另於下午一時舉辦「戴奧辛之快速檢驗法及風險分析研討會」。

9月24日 科長陳作琳赴德國參加「第十一屆國際醫葯品稽查協約組織血液及組織專家研討會」。

9月30日 協助台灣公定分析化學家協會(AOAC)辦理「辨識易混淆及誤用中藥材研習會」，為期二天。

邀請台北醫學大學洪傳岳副校長蒞局，就「兩岸三地的生技學名藥產業」專題演講。