

# 食品微生物之檢驗方法—大腸桿菌之檢驗修正草案總說明

為加強食品微生物之管理，並依據食品安全衛生管理法第三十八條規定：「各級主管機關執行食品、食品添加物、食品器具、食品容器或包裝及食品用洗潔劑之檢驗，其檢驗方法，經食品檢驗方法諮議會諮議，由中央主管機關定之」，爰擬具「食品微生物之檢驗方法—大腸桿菌之檢驗」修正草案，其修正要點如下：

- 一、「鑑別試驗」新增「直接平板法」。
- 二、修正EC培養液之培養溫度。
- 三、「最確數計數法」中修正自每一片L-EMB培養基鉤取可疑菌落數。
- 四、增列「參考文獻」。
- 五、修正「檢驗流程圖」。
- 六、增修訂部分文字。

## 食品微生物之檢驗方法—大腸桿菌之檢驗修正草案對照表

修正規定	現行規定	說明
<p>1. 適用範圍：本方法適用於食品中大腸桿菌之檢驗。</p> <p>2. 檢驗方法：檢體經系列稀釋後，<u>以選擇性培養基培養及計數或以三階三支進行培養，配合MPN計數之方法。</u></p> <p>2.1. 工作環境：工作平台須寬敞、潔淨、光線良好，操作平台光度為100呎燭光以上，密閉室內換氣良好，儘可能沒有灰塵及流動空氣。每15分鐘落菌數不得超過15 CFU/培養皿。</p> <p>2.2. 器具及材料</p> <p>2.2.1. 乾熱滅菌器：<u>能維持內部溫度在<math>170 \pm 10^{\circ}\text{C}</math>者。</u></p> <p>2.2.2. 高壓滅菌釜：<u>可達<math>121^{\circ}\text{C}</math>以上者。</u></p> <p>2.2.3. 冰箱：能維持<math>5 \pm 3^{\circ}\text{C}</math>者。</p> <p>2.2.4. 培養箱：能維持內部溫度溫差<math>\pm 1^{\circ}\text{C}</math>以內者。</p> <p>2.2.5. 水浴：能維持水溫溫差<math>\pm 0.2^{\circ}\text{C}</math>以內者。</p> <p>2.2.6. 攪拌均質器或鐵胃：能適用於無菌操作者。</p> <p>2.2.7. 顯微鏡：放大至1000倍之一般光學顯微鏡。</p> <p>2.2.8. 天平：可稱量到2000 g，靈敏度為0.1 g；可稱量到<u>100 g者，靈敏度為1 mg。</u></p> <p>2.2.9. <u>攪拌器。</u></p> <p>2.2.10. 旋渦混合器。</p> <p>2.2.11. 酸鹼度測定儀。</p> <p>2.2.12. 加熱器。</p> <p>2.2.13. 振盪器。</p> <p>2.2.14. 吸管輔助器<u>或微量吸管。</u></p> <p>2.2.15. 吸管<u>或吸管尖</u>：已滅菌，1 mL吸管應有0.01 mL刻</p>	<p>1. 適用範圍：本方法適用於食品中大腸桿菌之檢驗。</p> <p>2. 檢驗方法：檢體經系列稀釋後，以三階三支進行培養，配合MPN計數之方法。</p> <p>2.1. 工作環境：工作平台須寬敞、潔淨、光線良好，操作平台光度為100呎燭光以上，密閉室內換氣良好，儘可能沒有灰塵及流動空氣。每15分鐘落菌數不得超過15 CFU/培養皿。</p> <p>2.2. 器具及材料</p> <p>2.2.1. 乾熱滅菌器。</p> <p>2.2.2. 高壓滅菌釜。</p> <p>2.2.3. 冰箱：能維持<math>5 \pm 3^{\circ}\text{C}</math>者。</p> <p>2.2.4. 培養箱：能維持內部溫度溫差<math>\pm 1.0^{\circ}\text{C}</math>以內者。</p> <p>2.2.5. 水浴：能維持水溫溫差<math>\pm 0.2^{\circ}\text{C}</math>以內者。</p> <p>2.2.6. 攪拌均質器(Blender)或鐵胃(Stomacher)：能適用於無菌操作者。</p> <p>2.2.7. 顯微鏡：放大至1000倍之一般光學顯微鏡。</p> <p>2.2.8. 天平：可稱量到2000 g，靈敏度為0.1 g；可稱量到<u>120 g者，靈敏度為5 mg。</u></p> <p>2.2.9. 精密天平：靈敏度為<u>0.001 g。</u></p> <p>2.2.10. 旋渦混合器(Vortex mixer)。</p> <p>2.2.11. 酸鹼度測定儀(pH meter)。</p> <p>2.2.12. 加熱器。</p> <p>2.2.13. 振盪器(Shaker)。</p> <p>2.2.14. 吸管輔助器(Pipette aid)。</p>	<p>一、「鑑別試驗」新增「直接平板法」。</p> <p>二、修正EC培養液之培養溫度。</p> <p>三、「最確數計數法」中修正自每一片L-EMB培養基鈎取可疑菌落數。</p> <p>四、增列「參考文獻」。</p> <p>五、修正「檢驗流程圖」。</p> <p>六、增修訂部分文字。</p>

<p>度；5及10 mL吸管應有0.1 mL 刻度。</p> <p>2.2.16. 容器：<u>附螺旋蓋之玻璃、聚乙烯、鐵弗龍或其他能耐121°C濕熱滅菌20分鐘以上之三角錐瓶、玻璃瓶或廣口瓶，或無菌袋。</u></p> <p>2.2.17. 培養皿：已滅菌，內徑約90 mm，深度約15 mm，底皿之內外面應平坦，無氣泡、刮痕或其他缺點。</p> <p>2.2.18. 接種針及接種環(直徑約3 mm)：鎳鉻合金，鉑鈹或鉻線材質，或可拋棄式者。</p> <p>2.2.19. 試管：16 × 150 mm試管或其他適用者。</p> <p>2.2.20. <u>杜蘭發酵管(Durham fermentation tube)：外徑9 × 22 mm或其他適當者。</u></p> <p>2.2.21. 載玻片及蓋玻片：適用於染色及鏡檢用。</p> <p>2.2.22. 藥勺、剪刀、小刀及鑷子：可滅菌，或可拋棄式者。</p> <p>2.2.23. <u>濾紙及褐色試藥瓶。</u></p> <p>2.2.24. <u>研鉢、杵：研磨試藥用。</u></p> <p>2.2.25. 試藥</p> <p>亞甲藍(methylene blue)、膽鹽3號(bile salts No.3)、葡萄糖(<u>glucose</u>)、乳糖(lactose)、硫酸月桂酸鈉(sodium lauryl sulfate)、伊紅Y(eosin Y)、磷酸氫鉍鈉、硫酸鎂、檸檬酸鈉(sodium citrate·2H<sub>2</sub>O)、氯化鈉、磷酸二氫鉀(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)、磷酸氫二鉀(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)、結晶紫(crystal violet)、草酸鉍(ammonium oxalate)、碘化鉀、碘、沙黃O(safranin O)、對-二甲胺基苯甲醛(<i>p</i>-dimethylaminobenzaldehyde)、甲基紅(methyl red)、α-萘酚(α-naphthol)、無水乙醇、氫</p>	<p>2.2.15. 吸管(Pipette)：已滅菌，1 mL吸管應有0.01 mL之刻度；5及10 mL吸管應有0.1 mL刻度。</p> <p>2.2.16. 稀釋用容器：<u>無菌袋或有1000 mL、500 mL、99 mL及90 mL標記附蓋(栓)之可滅菌廣口瓶。</u></p> <p>2.2.17. 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。</p> <p>2.2.18. 接種針及接種環(直徑約3 mm)：鎳鉻合金，鉑鈹或鉻線材質，或可拋棄式者。</p> <p>2.2.19 試管：16 × 150 mm試管或其他適用者。</p> <p>2.2.20. 發 酵 管 (Durham fermentation tube)：<u>內徑7 × 20 mm或其他適當規格，使用時倒置於16 × 150 mm之試管內。</u></p> <p>2.2.21. 載玻片及蓋玻片：適用於染色及鏡檢用。</p> <p>2.2.22. 藥勺、剪刀、小刀及鑷子：可滅菌，或可拋棄式者。</p> <p>2.2.23. pH試紙：範圍6~8。</p> <p>2.2.24. 試藥：</p> <p>亞甲藍(methylene blue)、膽汁鹽3號(bile salts No.3)、葡萄糖(<u>dextrose</u>)、乳糖(lactose)、硫酸月桂酸鈉(sodium lauryl sulfate)、伊紅Y(eosin Y)、磷酸氫鉍鈉、硫酸鎂、檸檬酸鈉(sodium citrate·2H<sub>2</sub>O)、氯化鈉、磷酸二氫鉀(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)、磷酸氫二鉀(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)、結晶紫(crystal violet)、草酸鉍(ammonium oxalate)、碘化鉀、碘(<u>KI</u>)、沙黃O(safranin O)、對-二甲胺基苯甲醛(<i>p</i>-dimethylaminobenzaldehyde)、甲基紅(methyl red)、α-萘酚</p>	
---	---	--

<p>氧化鈉、氫氧化鉀、肌酸(creatine)、<u>95%乙醇</u>、<u>戊醇</u>(amyl alcohol)、<u>聚山梨醇酯80</u>(polysorbate 80, Tween 80)、<u>5-溴-4-氯-3-吡啶-β-葡萄糖醛酸環己基銨鹽</u>(5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-glucuronic acid, cyclohexylammonium salt)及鹽酸均採用試藥級。蛋白胨(peptone)、胰化蛋白胨(tryptose)、酵母抽出物(yeast extract)、胰化蛋白胨(tryptone)、<u>胰化酪蛋白</u>(trypticase)、<u>蛋白胨緩衝液粉末</u>(buffered peptone-water powder)及洋菜採用微生物級。</p> <p>2.2.26. 試劑</p> <p>2.2.26.1. 稀釋液</p> <p>2.2.26.1.1. 生理食鹽水：取氯化鈉8.5 g，溶於蒸餾水1000 mL，分裝於容器，經121°C滅菌15分鐘。</p> <p>2.2.26.1.2. 磷酸鹽緩衝液(Butterfield's phosphate-buffered dilution water, BPBW)：取磷酸二氫鉀34 g，溶於蒸餾水500 mL，以1 N氫氧化鈉溶液調整pH值為7.2，再加蒸餾水使成1000 mL，以121°C滅菌15分鐘，<u>冷藏備用</u>，作為原液。使用時，取原液1.25 mL，加入蒸餾水1000 mL，分裝於容器，以121°C滅菌15分鐘。</p> <p>2.2.26.1.3. 0.1%蛋白胨稀釋液(Peptone diluent, 0.1%)：取蛋白胨1 g溶於蒸餾水1000 mL，取適量分裝於容器，經121°C滅菌15分鐘，<u>最終pH值為7.0 ± 0.2</u>。</p> <p>2.2.26.2. 革蘭氏染色液(Gram stain solution)<sup>(註1)</sup></p> <p>2.2.26.2.1. 哈克氏(Hucker's)結晶紫液(初染劑)</p>	<p>(α-naphthol)、無水乙醇、氫氧化鈉、氫氧化鉀、肌酸(creatine)、乙醇、戊醇(amyl alcohol)及鹽酸均採用試藥級。蛋白胨(peptone)、胰化蛋白胨(tryptose)、酵母抽出物(yeast extract)、胰化蛋白胨(peptone)、<u>緩衝蛋白胨粉末</u>(buffered peptone-water powder)及洋菜採用微生物級。</p> <p>2.2.25. 試劑：</p> <p>2.2.25.1. 稀釋液</p> <p>2.2.25.1.1. 生理食鹽水：取氯化鈉8.5 g溶於蒸餾水1000 mL，分裝於<u>稀釋用容器中</u>，經121°C滅菌15分鐘。</p> <p>2.2.25.1.2. 磷酸鹽緩衝液(Butterfield's phosphate-buffered dilution water, BPBW)：取磷酸二氫鉀34 g，溶於蒸餾水500 mL，以1 N氫氧化鈉溶液調整pH值為7.2，再加蒸餾水使成1000 mL，以121°C滅菌15分鐘，<u>貯存於冰箱中</u>，作為原液。使用時，取原液1.25 mL，加入蒸餾水1000 mL，分裝於<u>稀釋用容器中</u>，以121°C滅菌15分鐘。</p> <p>2.2.25.1.3. 0.1%蛋白胨稀釋液(Peptone diluent, 0.1%)：取蛋白胨1 g溶於蒸餾水1000 mL，取適量分裝於<u>稀釋用容器中</u>，經121°C滅菌15分鐘，<u>最後pH值為7.0 ± 0.2</u>。</p> <p>2.2.25.2. 革蘭氏染色液(Gram stain solution)</p> <p>2.2.25.2.1. 哈克氏(Hucker's)結晶紫液(初染劑)</p> <p>溶液A：取結晶紫2 g溶於95%乙醇20 mL。</p> <p>溶液B：取草酸銨0.8 g溶於蒸餾水80 mL。</p> <p>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。</p>	
--	---	--

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。

#### 2.2.26.2.2. 革蘭氏碘液(媒染劑)

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

#### 2.2.26.2.3. 哈克氏(Hucker's)複染液(複染劑)

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

註1：革蘭氏染色液因放久可能失效，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。

#### 2.2.26.3. 柯瓦克氏試劑(Kovacs' reagent)

取對-二甲胺基苯甲醛5 g，溶於戊醇75 mL，再徐徐加入鹽酸25 mL，混合均勻後應呈黃色，冷藏備用。

#### 2.2.26.4. 甲基紅指示劑(Methyl red indicator)

取甲基紅0.1 g，溶於95%乙醇300 mL，再加蒸餾水使成500 mL。

#### 2.2.26.5. 歐普氏試劑(Voges-Proskauer reagents, VP reagents)

溶液A：取 $\alpha$ -萘酚5 g，溶於無水乙醇100 mL。

#### 2.2.25.2.2. 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，續加蒸餾水5 mL研磨，再加蒸餾水10 mL，研磨至碘化鉀和碘完全溶於蒸餾水中，將此溶液注入褐色瓶，以適量蒸餾水洗滌研鉢及杵後，以此洗液併入，使溶液達300 mL。

#### 2.2.25.2.3. 哈克氏(Hucker's)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加蒸餾水90 mL，作為複染液。

#### 2.2.25.3. 柯瓦克氏試劑(Kovacs' reagent)

取對-二甲胺基苯甲醛5 g溶於戊醇75 mL中，再徐徐加入濃鹽酸25 mL，混合均勻後應呈黃色，並保存於4°C冰箱中。

#### 2.2.25.4. 甲基紅指示劑(Methyl red indicator)

將甲基紅0.1 g溶於95%乙醇300 mL中，加蒸餾水至全量為500 mL。

#### 2.2.25.5. 歐普氏試劑(Voges-Proskauer reagents, VP reagents)

溶液A：取 $\alpha$ -萘酚5 g溶於無水乙醇100 mL中。

溶液B：取氫氧化鉀40 g溶於蒸餾水100 mL。

#### 2.2.26. 培養基

#### 2.2.26.1. 硫酸月桂酸胰化蛋白胨培養液(Lauryl sulfate tryptose broth, LST)

胰化蛋白胨(tryptose)	20 g
乳糖(lactose)	5 g
磷酸二氫鉀(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	2.75 g
磷酸氫二鉀(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2.75 g
氯化鈉(NaCl)	5 g

溶液B：取氫氧化鉀40 g，溶於蒸餾水100 mL。

2.2.27. 培養基

2.2.27.1. 硫酸月桂酸胰化蛋白脲培養液(Lauryl sulfate tryptose broth, LST)

胰化蛋白脲(tryptose) 或 胰化酪蛋白 (trypticase)	20 g
乳糖(lactose)	5 g
磷酸二氫鉀(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	2.75 g
磷酸氫二鉀(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2.75 g
氯化鈉(NaCl)	5 g
硫酸月桂酸鈉 (sodium lauryl sulfate)	0.1 g
蒸餾水	1000 mL

加熱溶解後，分取10 mL注入裝有發酵管之試管，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為6.8 ± 0.2。

2.2.27.2. EC培養液(EC Broth)

胰化蛋白脲(tryptose) 或 胰化酪蛋白 (trypticase)	20 g
乳糖(lactose)	5 g
膽鹽3號(bile salts No. 3)	1.5 g
磷酸二氫鉀(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1.5 g
磷酸氫二鉀(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	4 g
氯化鈉(NaCl)	5 g
蒸餾水	1000 mL

加熱溶解後，分取8 mL注入裝有發酵管之試管，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為6.9 ± 0.2。

2.2.27.3. 伊紅亞甲藍培養基(Levine's eosin methylene blue agar, L-EMB)

蛋白脲(peptone)	10 g
乳糖(lactose)	10 g
磷酸氫二鉀(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2 g
洋菜(agar)	15 g
伊紅Y(eosin Y)	0.4 g
亞甲藍(methylene blue)	0.065 g

硫酸月桂酸鈉 (sodium lauryl sulfate)	0.1 g
-----------------------------------	-------

蒸餾水	1000 mL
-----	---------

加熱溶解後，分取10 mL注入裝有發酵管的試管內，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為6.8 ± 0.2。

2.2.26.2. EC培養液(EC Broth)

胰化蛋白脲(tryptose)	20 g
乳糖(lactose)	5 g
膽汁鹽3號(bile salts No. 3)	1.5 g
磷酸二氫鉀(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1.5 g
磷酸氫二鉀(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	4 g
氯化鈉(NaCl)	5 g
蒸餾水	1000 mL

加熱溶解後，分取8 mL注入裝有發酵管的試管內，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為6.9 ± 0.2。

2.2.26.3. 伊紅亞甲藍培養基(Levine's eosin methylene blue agar, L-EMB)

蛋白脲(peptone)	10 g
乳糖(lactose)	10 g
磷酸氫二鉀(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2 g
洋菜(agar)	15 g
伊紅Y(eosin Y)	0.4 g
亞甲藍(methylene blue)	0.065 g
蒸餾水	1000 mL

加熱溶解後，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為7.1 ± 0.2。培養基注入培養皿前應搖動混合，搖動時應避免氣泡產生。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。

2.2.26.4. 平板計數培養基(Plate count agar, PCA)

胰化蛋白脲(tryptone)	5 g
酵母抽出物(yeast extract)	2.5 g
葡萄糖(dextrose)	1 g
洋菜(agar)	15 g

蒸餾水	1000 mL	蒸餾水	1000 mL
<p>加熱溶解後，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為7.1 ± 0.2。培養基注入培養皿前，應搖動混合，使絮狀沈澱物分散均勻，搖動時應避免氣泡產生。培養皿倒入15~20 mL，凝固後打開皿蓋約1/2~1/4，使培養基表面乾燥。</p> <p>2.2.27.4. 平板計數培養基 (Plate count agar, PCA)</p>		<p>加熱溶解後，取12~15 mL分裝於試管，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為7.0 ± 0.2；滅菌後作成斜面培養基。</p> <p>2.2.26.5. 胰化蛋白胨或色胺酸培養液 (Tryptone or tryptophane broth)</p>	
胰化蛋白胨(tryptone)	5 g	胰化蛋白胨(tryptone)或胰化酪蛋白(trypticase)	10 g
酵母抽出物(yeast extract)	2.5 g	蒸餾水	1000 mL
葡萄糖(glucose)	1 g	<p>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。</p> <p>2.2.26.6. 甲基紅-歐普氏培養液(MR-VP broth)</p>	
洋菜(agar)	15 g	緩衝蛋白胨粉末(buffered peptone-water powder)	7 g
蒸餾水	1000 mL	葡萄糖(dextrose)	5 g
<p>加熱溶解後，分裝於試管或容器，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為7.0 ± 0.2。分裝於試管者，作成斜面培養基；容器者，分裝於培養皿，每一培養皿倒入12~15 mL，作成平板培養基，使用前培養基表面應保持乾燥。</p> <p>2.2.27.5. 胰化蛋白胨或色胺酸培養液 (Tryptone or tryptophane broth)</p>		磷酸氫二鉀(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	5 g
胰化蛋白胨(tryptone)或胰化酪蛋白(trypticase)	10 g	蒸餾水	1000 mL
蒸餾水	1000 mL	<p>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。</p> <p>2.2.26.7. 柯塞爾氏檸檬酸鹽培養液(Koser's citrate broth)</p>	
<p>加熱溶解後，分取5 mL注入試管，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為6.9 ± 0.2。</p> <p>2.2.27.6. MR-VP培養液(MR-VP broth)</p>		磷酸氫銨鈉(NaNH <sub>4</sub> HPO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O)	1.5 g
蛋白胨緩衝液粉末(buffered peptone-water powder)	7 g	磷酸二氫鉀(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , monobasic)	1 g
葡萄糖(glucose)	5 g	硫酸鎂(MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	0.2 g
磷酸氫二鉀(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	5 g	檸檬酸鈉(Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ·2H <sub>2</sub> O)	3 g
蒸餾水	1000 mL	蒸餾水	1000 mL
		<p>加熱溶解後，分取10 mL注入試管內，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為6.7 ± 0.2。</p> <p>2.3. 檢液之調製</p> <p>2.3.1. 檢體之處理</p> <p>2.3.1.1. 固態檢體</p> <p>先適當切碎，混合均勻後，稱取50 g加入稀釋液450 mL，</p>	

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

2.2.27.7. 柯塞爾氏檸檬酸鹽培養液(Koser's citrate broth)

磷酸氫銨鈉 ( $\text{NaNH}_4\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	1.5 g
磷酸二氫鉀 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	1 g
硫酸鎂 ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.2 g
檸檬酸鈉 ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	3 g
蒸餾水	1000 mL

溶解後，分取10 mL注入附有螺旋蓋之試管，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為6.7 ± 0.2。

2.2.27.8. 胰化蛋白朊-膽鹽-X-葡萄糖醛酸苷培養基 (tryptone-bile X-glucuronide agar (TBX))

胰化蛋白朊(tryptone)	20 g
膽鹽3號(bile salts No.3)	1.5 g
5-溴-4-氯-3-吡啶-β-葡萄糖醛酸環己基銨鹽 (5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-glucuronic acid, cyclohexylammonium salt)	0.075 g
洋菜(agar)	15 g
蒸餾水	1000 mL

取5-溴-4-氯-3-吡啶-β-葡萄糖醛酸環己基銨鹽0.075 g，溶於氫氧化鈉乙醇溶液3 mL (含95%乙醇2.5 mL及1 N氫氧化鈉溶液0.5 mL)，將其加入於培養基其他成分之中。加熱溶解後，以121°C滅菌15分鐘，最終pH值為7.2 ± 0.2。

2.3. 檢液之調製<sup>(註2-4)</sup>

2.3.1. 固態檢體：將檢體適當切碎，混合均勻後，取50 g，

以無菌之攪拌均質器攪拌。初以低速攪拌數秒鐘，再以高速攪拌，攪拌總時間不超過2分鐘，或將檢體置入無菌袋中，加入適量之稀釋液後，以鐵胃搓揉2分鐘，即為10倍稀釋檢液。

2.3.1.2. 粉狀、粒狀或其它易於粉碎之檢體

以已滅菌之藥勺或其他方便使用的器具加以粉碎並混合均勻。稱取50 g加入稀釋液450 mL，以下步驟同2.3.1.1.節之操作。

2.3.1.3. 液態檢體

搖勻後，取50 mL加入稀釋液450 mL，以下步驟同2.3.1.1.節之操作。

2.3.1.4. 需解凍之冷凍檢體，如冷凍魚、禽畜肉、蔬果、水餃

先置於冷藏之溫度下解凍(2~5°C，18小時以內)；此外亦可使用較高的溫度快速解凍(45°C以下水浴15分鐘)，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。稱取50 g加入稀釋液450 mL，以下步驟同2.3.1.1.節之操作。

2.3.1.5. 不需解凍之冷凍檢體，如食用冰塊、冰棒、冰淇淋等冰類製品

應速先行使其成適當小塊，稱取50 g加入稀釋液450 mL，以下步驟同2.3.1.1.節之操作。

2.3.1.6. 液態及濃稠液態檢體，如布丁、煉乳

經適當攪拌均勻後，稱取50 g加入稀釋液450 mL，以下步驟同2.3.1.1.節之操作。



加入稀釋液450 mL，混合均勻，作為10倍稀釋檢液。

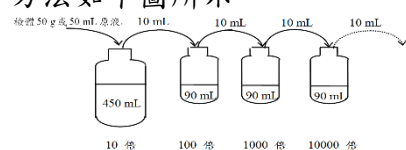
2.3.2. 粉狀、粒狀或其他易於粉碎之檢體：使用已滅菌之藥勺或其他用具將檢體粉碎，並混合均勻。取50 g，加入稀釋液450 mL，混合均勻，作為10倍稀釋檢液。

2.3.3. 液態檢體：將檢體振盪混合均勻，取50 mL，加入稀釋液450 mL，混合均勻，作為10倍稀釋檢液。

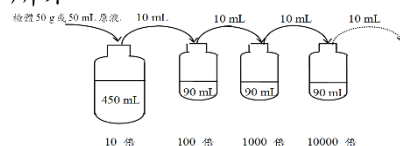
2.3.4. 冷凍檢體：須解凍者，如冷凍魚肉、禽畜肉、蔬果、水餃等，應在冷藏之溫度下解凍(如2~5°C，18小時內即可解凍完全)；亦可使用較高的溫度快速解凍(45°C以下之水浴，可於15分鐘內解凍者)，解凍時應經常搖動檢體，以加速解凍。俟檢體解凍後，再予以適當切碎並混合均勻。不解凍者，如食用冰塊、冰棒、冰淇淋等冰類製品，應速先行使其成適當小塊，取50 g，加入稀釋液450 mL，混合均勻，作為10倍稀釋檢液。

2.3.5. 液態及濃稠液態檢體：如布丁、煉乳等檢體，經適當攪拌均勻後，取50 g，加入稀釋液450 mL，混合均勻，作為10倍稀釋檢液。

2.3.6. 系列稀釋檢液：使用已滅菌之吸管，吸取上述之10倍稀釋檢液10 mL，加入稀釋液90 mL，依序作成一系列適當之100倍、1000倍、10000倍等稀釋檢液，其稀釋方法如下圖所示。



2.3.2. 系列稀釋檢液：使用已滅菌之吸管，吸取上述之10倍稀釋檢液10 mL，加入稀釋液90 mL中，依序作成100倍、1000倍、10000倍等一系列稀釋檢液，其稀釋方法如下圖所示。



註：1. 除肉製品使用0.1%蛋白胨稀釋液外，其他檢體以磷酸鹽緩衝液作為稀釋液，其次為生理食鹽水。

2. 檢體總量不足50 g (mL)時，應依檢體量，添加適量之稀釋液，作成10倍稀釋檢液。

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

## 2.4. 鑑別試驗：

### 2.4.1. 推定試驗

將2.3.節之檢體原液或稀釋檢液充分振搖，混合均勻後，分別自原液或10倍稀釋檢液起之三個連續稀釋倍數檢液中吸取1 mL接種於裝有LST培養液10 mL的試管中，每一稀釋倍數接種3支(3階3支)，自檢液之調製至此步驟應於15分鐘內完成，於35°C培養24 ± 2小時，觀察是否產氣；未產生氣體者繼續培養24小時。仍無氣體產生者，即為大腸桿菌陰性；產生氣體者則疑為大腸桿菌陽性。

### 2.4.2. 鑑別試驗

2.4.2.1. 由2.4.1.節產生氣體<sup>(註)</sup>之每一試管中取一接種環量之培養菌液接種於EC培養液

註2：除肉製品使用0.1%蛋白胨稀釋液外，其他檢體以磷酸鹽緩衝液作為稀釋液，其次為生理食鹽水。

註3：檢體總量不足50 g (mL)時，應依檢體量，添加適量之稀釋液，作成10倍稀釋檢液。

註4：處理含油脂量多，不易勻散及易起泡沫之檢體時，應加入適量已滅菌之乳化劑(如Tween 80，使其於檢液中濃度為1%)，並充分振搖，使之乳化。

#### 2.4. 鑑別試驗

##### 2.4.1. 最確數(Most Probable Number, 簡稱MPN)計數法

###### 2.4.1.1. 推定試驗

2.4.1.1.1. 將2.3.節之檢體原液或稀釋檢液充分振搖，混合均勻後，分別自原液或10倍稀釋檢液起之三個連續稀釋倍數檢液吸取1 mL，接種於裝有LST培養液10 mL之試管，每一稀釋倍數接種3支(3階3支)，自檢液之調製至此步驟應於15分鐘內完成，於35°C培養24 ± 2小時，觀察是否產氣；未產生氣體者繼續培養24小時。仍無氣體產生者，即為大腸桿菌陰性；產生氣體者則疑為大腸桿菌陽性。

2.4.1.1.2. 由2.4.1.1.1.節產生氣體<sup>(註5)</sup>之每一試管，取一接種環量之培養菌液，接種於EC培養液，於44.5°C有蓋水浴箱中培養24 ± 2小時，觀察是否產生氣體，未產生氣體者繼續培養24 ± 2小時。仍無氣體產生即為大腸桿菌陰性，產生氣體者疑似大腸桿菌陽性。

中，於45.5°C有蓋水浴箱中培養24 ± 2小時，觀察是否產生氣體，未產生氣體者繼續培養24 ± 2小時。仍無氣體產生即為大腸桿菌陰性，產生氣體者疑似大腸桿菌陽性。

2.4.2.2. 由2.4.1.節產生氣體之每一試管中取一接種環量之培養菌液，在L-EMB培養基表面劃線後，於35°C培養18 ~ 24小時，觀察所形成菌落之形態，典型大腸桿菌菌落中央呈黑色，扁平，帶有或不帶有金屬光澤。自每一片L-EMB培養基上取2個可疑菌落移殖於PCA培養基斜面上，35°C培養18 ~ 24小時，以進行形態確認及生化試驗；若未出現典型菌落，則再自每一片L-EMB培養基上鈎取比較可疑之菌落，接種至PCA培養基斜面上，並於35°C培養18 ~ 24小時，以備生化試驗。

註：輕搖試管後，若發酵管內之培養液可為氣泡所取代，則判為產氣。

##### 2.4.3. 確定試驗：

###### 2.4.3.1. 革蘭氏染色

(1) 取18 ~ 24小時培養之菌株，於載玻片上製作薄抹片，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分鐘後，水洗。

(3) 媒染：加革蘭氏碘液作用1分鐘後，水洗。

(4) 脫色：用95%乙醇洗至不再有藍紫色褪出時(約30秒鐘)，再以水沖洗。

(5) 複染：用哈克氏複染液複染30秒鐘，水洗。

(6) 自然風乾。

註5：輕搖試管後，若發酵管內之培養液可為氣泡所取代，則判為產氣。

#### 2.4.1.2. 菌株分離培養

由2.4.1.1.2.節產生氣體之每一試管，取一接種環量之培養菌液，在L-EMB培養基表面劃線後，於35°C培養18~24小時，觀察所形成菌落之形態，典型大腸桿菌菌落中央呈暗紫色，扁平，帶有或不帶有金屬光澤。自每一片L-EMB培養基鉤取5個可疑菌落<sup>(註6)</sup>，接種於非選擇性培養基(如PCA培養基)，於35°C培養18~24小時，供作後續確定試驗使用。

註6：若可疑菌落少於5個時，則鉤取所有的可疑菌落。另，鉤取之可疑菌落之中，只要其中1個菌落經確定試驗判定為大腸桿菌陽性，即足以認定該EC培養液試管為正反應，得終止其餘可疑菌落之確定試驗。

#### 2.4.1.3. 確定試驗

##### 2.4.1.3.1. 革蘭氏染色

(1) 加適量0.85%生理食鹽水於載玻片上，以接種針(或環)鉤取適量菌株，均勻塗抹成薄抹片，風乾後迅速通過火焰3~4次微熱固定，勿直接火烤。

(2) 初染：將已固定之抹片，用哈克氏結晶紫液染1分鐘，水洗。

(3) 媒染：加革蘭氏碘液作用1分鐘，水洗。

(4) 脫色：用95%乙醇洗至不再有紫色褪出時，再水洗，此步驟僅約30秒，惟視抹片之厚薄而定。

(5) 複染：用哈克氏複染液複染30秒，水洗。

(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。大腸桿菌為革蘭氏陰性，無芽胞，球狀或短桿狀。

##### 2.4.3.2. 吲哚試驗(Indole test)

自PCA培養基斜面上鉤菌接種於胰化蛋白胨培養液中，於35°C培養24±2小時後加入柯瓦克氏試劑0.2~0.3 mL，輕輕搖動後靜置10分鐘，上層呈現紅色者，為正反應(+)，否則為負反應(-)。大腸桿菌通常為正反應，有時亦呈負反應。

##### 2.4.3.3. 歐普氏試驗(VP test)

自PCA培養基斜面上鉤菌接種於MR-VP培養液中，於35°C培養48±2小時後，取1 mL培養液至另一已滅菌之試管中，加入歐普氏試劑溶液A 0.6 mL及歐普氏試劑溶液B 0.2 mL後，再加入少許肌酸，輕輕搖勻，靜置2小時後觀察結果，呈現粉紅色者，為正反應(+)；否則為負反應(-)。大腸桿菌為負反應。

##### 2.4.3.4. 甲基紅試驗(MR test)

將2.4.3.3.節剩餘之MR-VP培養液於35°C再培養48±2小時後，加入甲基紅指示劑5滴，輕輕搖勻，培養液呈紅色，則為正反應(+)；否則為負反應(-)。大腸桿菌為正反應。

##### 2.4.3.5. 檸檬酸鹽利用試驗(Citrate utilization test)

自PCA培養基斜面上鉤菌接種於柯塞爾氏檸檬酸鹽培養液中，於35°C培養96小時後，呈現混濁狀者，為正反應(+)；維持原澄清狀者，則為負反應(-)。大腸桿菌為負反應。

##### 2.4.3.6. 乳糖產氣試驗(Gas production from lactose)

(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。大腸桿菌為革蘭氏陰性，無芽胞，球狀或短桿狀。

#### 2.4.1.3.2. 吡哞試驗 (Indole test)

自PCA培養基鈎菌接種於胰化蛋白胨培養液，於35°C培養24 ± 2小時後加入柯瓦克氏試劑0.2~0.3 mL，輕輕搖動後靜置10分鐘，上層呈現紅色者，為正反應，否則為負反應。大腸桿菌通常為正反應，有時亦呈負反應。

#### 2.4.1.3.3. 歐普氏試驗 (VP test)

自PCA培養基鈎菌接種於MR-VP培養液，於35°C培養48 ± 2小時後，取1 mL培養液至另一已滅菌之試管，加入歐普氏試劑溶液A 0.6 mL及歐普氏試劑溶液B 0.2 mL後，再加入少許肌酸，輕輕搖勻，靜置2小時後觀察結果，呈現粉紅色者，為正反應；否則為負反應。大腸桿菌為負反應。

#### 2.4.1.3.4. 甲基紅試驗 (MR test)

將2.4.1.3.3.節剩餘之MR-VP培養液於35°C再培養48 ± 2小時後，加入甲基紅指示劑5滴，輕輕搖勻，培養液呈紅色，則為正反應；否則為負反應。大腸桿菌為正反應。

#### 2.4.1.3.5. 檸檬酸鹽利用試驗 (Citrate utilization test)

自PCA培養基鈎菌接種於柯塞爾氏檸檬酸鹽培養液，於35°C培養96小時後，呈現混濁狀者，為正反應；維持原澄清狀者，則為負反應。大腸桿菌為負反應。

#### 2.4.1.3.6. 乳糖產氣試驗 (Gas production from lactose)

自PCA培養基斜面上鈎菌接種於LST培養液中，於35°C培養48 ± 2小時，產生氣體者為正反應(+)；未產生氣體者為負反應(-)。大腸桿菌為正反應。

### 2.5. 判定

2.5.1. 大腸桿菌陽性者，應符合下表所列之結果：

試驗或基質	正反應	負反應	大腸桿菌之反應
革蘭氏染色	陽性(深紫色)	陰性(粉紅色)	-
吡哞試驗	紅色	原色	+/-
甲基紅試驗	紅色	黃色	+
歐普氏試驗	粉紅色	原色	-
檸檬酸鹽利用試驗	混濁狀	澄清	-
乳糖產氣試驗	氣體產生	無氣體產生	+

2.5.2. 最確數 (Most probable number, MPN)：

由2.5.1.節判定為大腸桿菌陽性菌落，反推回確實產氣且含大腸桿菌之EC培養液產氣試管數，利用最確數表(如附表)，推算出大腸桿菌之最確數(MPN/g或MPN/mL)。

附表：最確數表

正反應試管數			MPN/mL (估計)	95% 信賴界限		正反應試管數			MPN/mL (估計)	95% 信賴界限	
0.10 mL	0.01 mL	0.001 mL		下限	上限	0.10 mL	0.01 mL	0.001 mL		下限	上限
0	0	0	< 3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	--

說明：

(1) 若稀釋倍數為10、100、1000倍【即每管LST培養液中含0.1、0.01、0.001 mL (g)之檢體】，且LST培養液均產氣(正反應試管數3-3-3)，經接種至EC培養液、劃線培養於L-

自PCA培養基鈎菌接種於LST培養液，於35°C培養48 ± 2小時，產生氣體者為正反應；未產生氣體者為負反應。大腸桿菌為正反應。

2.4.1.4. 判定

大腸桿菌陽性者，應符合下表所列之結果。

試驗或基質	正反應 (+)	負反應 (-)	大腸桿菌之反應
革蘭氏染色	陽性(深紫色)	陰性(粉紅色)	-
吡啶試驗	紅色	原色	+/-
甲基紅試驗	紅色	黃色	+
歐普氏試驗	粉紅色	原色	-
檸檬酸鹽利用試驗	混濁狀	澄清	-
乳糖產氣試驗	氣體產生	無氣體產生	+

2.4.1.5. 最確數計算

由2.4.1.4.節判定為大腸桿菌之各階試管數，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(如下表)，推算出大腸桿菌之最確數(MPN/g或MPN/mL)。

最確數表

正反應試管數			MPN/g (mL)	95% 信賴界限		正反應試管數			MPN/g (mL)	95% 信賴界限	
0.1*	0.01	0.001		下限	上限	0.1*	0.01	0.001		下限	上限
0	0	0	< 3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1,100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1,100	420	--

\*：各階試管中所含檢體量(g或mL)

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

EMB培養基及鑑別試驗後，確認含大腸桿菌之產氣EC培養液試管數為3-1-0，對照MPN數應為43，即該檢體大腸桿菌數為43 MPN/mL (g)。

(2)若為原液及稀釋倍數10、100倍【即每管 LST培養液中 含1、0.1、0.01 mL (g)之檢體】，而EC培養液之正反應試管數經鑑別試驗，含有大腸桿菌之試管數為3-1-0，則該檢體大腸桿菌數為43 ÷ 10 = 4.3 MPN/mL (g)。

(3)若稀釋倍數為100、1000、10000倍，而結果同上時，則該檢體大腸桿菌數為43 × 10 = 4.3 × 10<sup>2</sup> MPN/mL (g)，其餘類推。

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

最確數 MPN/g (MPN/mL) =  
最確數表之最確數

第一階試管含檢體量 × 10

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

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

出測試菌之最確數 =  $\frac{43}{1 \times 10}$  =

4.3 MPN/g (MPN/mL)。

(2) 當接種量為各階試管含檢  
體0.1, 0.01, 0.001 (g或mL)，推  
算出測試菌之最確數

=  $\frac{43}{0.1 \times 10}$  = 43 MPN/g

(MPN/mL)。

(3) 當接種量為各階試管含檢  
體 0.01, 0.001, 0.0001 (g 或  
mL)，推算出測試菌之最確數

=  $\frac{43}{0.01 \times 10}$  =  $4.3 \times 10^2$  MPN/g

(MPN/mL)。

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

2.4.2.1. 將2.3.節之稀釋檢液  
及(或)原液充分搖動，混合均  
勻。

2.4.2.2. 各吸取每一稀釋檢液  
及(或)原液1 mL，分別置入培  
養皿，各檢液至少做二重  
複。

2.4.2.3. 各培養皿中倒入冷卻  
至47~50°C之TBX培養基15  
mL，搖動混合均勻，靜置待  
培養基凝固後倒置，先於  
37°C培養4小時，再於44°C培  
養20~24小時。

2.4.2.4. 選取含15~150個典  
型(藍色或藍綠色)菌落之平板  
培養基予以計數<sup>(註7)</sup>。

註7：各稀釋倍數之典型菌落  
數小於15個或大於150個時，  
則以最低或最高稀釋倍數之  
平板培養基予以計數。

#### 2.4.2.5. 計數

2.4.2.5.1. 各稀釋倍數中僅有一稀釋倍數平板之菌落數為15~150時，應計數該稀釋倍數之所有平板中典型菌落數總和並依下列公式計算。其菌數之表示方式為CFU/g或CFU/mL，記錄菌數時應將第三位數字四捨六入(當第三位數字為五時，遇第二位數字為奇數時進位，偶數時捨去)，使其有效數字為兩位。

大腸桿菌菌數 (CFU/g 或 CFU/mL) =  $(\sum a) \times \frac{A}{V_A}$

$\sum a$ ：A稀釋倍數之所有平板中典型菌落數總和

$V_A$ ：A稀釋倍數之所有平板中檢液總體積

A：稀釋倍數

2.4.2.5.2. 當有兩種稀釋倍數平板之菌落數在15~150之間時，先個別計算出各稀釋倍數之大腸桿菌菌數，再取其平均值，依下列公式計算。

大腸桿菌菌數 (CFU/g 或 CFU/mL) =

$$\left[ (\sum a) \times \frac{A}{V_A} + (\sum b) \times \frac{B}{V_B} \right] \times \frac{1}{2}$$

$\sum a$ ：A稀釋倍數之所有平板中典型菌落數總和

$\sum b$ ：B稀釋倍數之所有平板中典型菌落數總和

$V_A$ ：A稀釋倍數之所有平板中檢液總體積

$V_B$ ：B稀釋倍數之所有平板中檢液總體積

A、B：稀釋倍數

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

參考文獻：

1. Feng, P., Weagant, S. D.,

Grant M. A. and Burkhardt W.

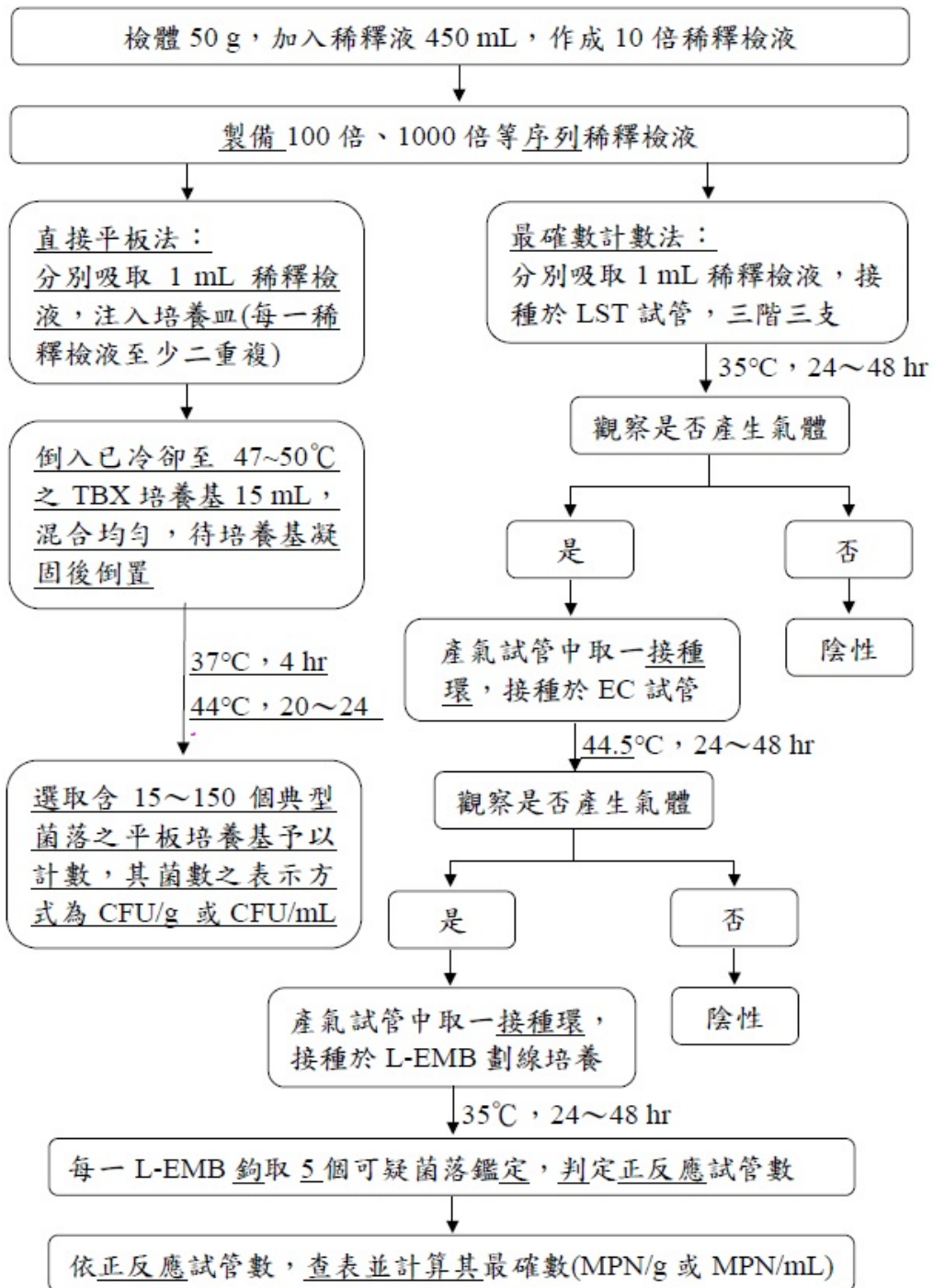
2017. Chapter 4 Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological Analytical Manual.  
[<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>].

2. ISO. 2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of  $\beta$ -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 1: Colony-count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl  $\beta$ -D-glucuronide. ISO 16649-2.

3. ISO. 2018. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of  $\beta$ -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 2: Colony-count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl  $\beta$ -D-glucuronide. ISO 16649-1.



修正規定  
檢驗流程圖



現有規定  
檢驗流程圖

