

食品微生物之檢驗方法－大腸桿菌之檢驗

Methods of Test for Food Microorganisms - Test of *Escherichia coli*

1. 適用範圍：本方法適用於食品中大腸桿菌之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經系列稀釋後，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。
 - 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。
 - 2.2. 器具及材料
 - 2.2.1. 乾熱滅菌器：能維持內部溫度在 $170 \pm 10^{\circ}\text{C}$ 者。
 - 2.2.2. 高壓滅菌釜：可達 121°C 以上者。
 - 2.2.3. 冰箱：能維持 $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 者。
 - 2.2.4. 培養箱：能維持內部溫度溫差 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 以內者。
 - 2.2.5. 水浴：能維持水溫溫差 $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 以內者。
 - 2.2.6. 攪拌均質器或鐵胃：能適用於無菌操作者。
 - 2.2.7. 顯微鏡：放大至1000倍之一般光學顯微鏡。
 - 2.2.8. 天平：可稱量到2000 g，靈敏度為0.1 g；可稱量到100 g者，靈敏度為1 mg。
 - 2.2.9. 攪拌器。
 - 2.2.10. 旋渦混合器。
 - 2.2.11. 酸鹼度測定儀。
 - 2.2.12. 加熱器。
 - 2.2.13. 振盪器。
 - 2.2.14. 吸管輔助器或微量吸管。
 - 2.2.15. 吸管或吸管尖：已滅菌，1 mL吸管應有0.01 mL刻度；5及10 mL吸管應有0.1 mL刻度。
 - 2.2.16. 容器：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。
 - 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。

- 2.2.18. 接種針及接種環(直徑約3 mm): 鎳鉻合金, 鉑銻或鉻線材質, 或可拋棄式者。
- 2.2.19. 試管: 16 × 150 mm試管或其他適用者。
- 2.2.20. 杜蘭發酵管(Durham fermentation tube): 外徑9 × 22 mm或其他適當者。
- 2.2.21. 載玻片及蓋玻片: 適用於染色及鏡檢用。
- 2.2.22. 藥勺、剪刀、小刀及鑷子: 可滅菌, 或可拋棄式者。
- 2.2.23. 濾紙及褐色試藥瓶。
- 2.2.24. 研鉢、杵: 研磨試藥用。
- 2.2.25. 試藥
亞甲藍(methylene blue)、膽鹽3號(bile salts No.3)、葡萄糖(glucose)、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·2H₂O)、氯化鈉、磷酸二氫鉀(KH₂PO₄)、磷酸氫二鉀(K₂HPO₄)、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(*p*-dimethylaminobenzaldehyde)、甲基紅(methyl red)、 α -萘酚(α -naphthol)、無水乙醇、氫氧化鈉、氫氧化鉀、肌酸(creatine)、95%乙醇、戊醇(amyl alcohol)、聚山梨醇酯80(polysorbate 80, Tween 80)、5-溴-4-氯-3-吲哚- β -葡萄糖醛酸環己基鉍鹽(5-bromo-4-chloro-3-indolyl- 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)、胰化酪蛋白(trypticase)、蛋白胨緩衝液粉末(buffered peptone-water powder)及洋菜採用微生物級。
- 2.2.26. 試劑
- 2.2.26.1. 稀釋液
- 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。
- 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, 冷藏備用, 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。

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，最終pH值為7.0 ± 0.2。

2.2.26.2. 革蘭氏染色液(Gram stain solution)^(註1)

2.2.26.2.1. 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。

2.2.26.2.2. 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-二甲氨基苯甲醛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α-萘酚5 g，溶於無水乙醇100 mL。

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胨培養液(Lauryl sulfate tryptose

broth, LST)

胰化蛋白胨 (tryptose)或胰化酪蛋白(trypticase)	20 g
乳糖(lactose)	5 g
磷酸二氫鉀(KH ₂ PO ₄)	2.75 g
磷酸氫二鉀(K ₂ HPO ₄)	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)

胰化蛋白胨 (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 ₂ PO ₄)	1.5 g
磷酸氫二鉀(K ₂ HPO ₄)	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)

蛋白胨(peptone)	10 g
乳糖(lactose)	10 g
磷酸氫二鉀(K ₂ HPO ₄)	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，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。

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

胰化蛋白朊(tryptone)	5 g
酵母抽出物(yeast extract)	2.5 g
葡萄糖(glucose)	1 g
洋菜(agar)	15 g
蒸餾水	1000 mL

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。

2.2.27.5. 胰化蛋白朊或色胺酸培養液(Tryptone or tryptophane broth)

胰化蛋白朊(tryptone)或胰化酪蛋白(trypticase)	10 g
蒸餾水	1000 mL

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。

2.2.27.6. MR-VP培養液(MR-VP broth)

蛋白朊緩衝液粉末(buffered peptone-water powder)	7 g
葡萄糖(glucose)	5 g
磷酸氫二鉀(K ₂ HPO ₄)	5 g
蒸餾水	1000 mL

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(NaNH ₄ HPO ₄ ·4H ₂ O)	1.5 g
磷酸二氫鉀(KH ₂ PO ₄)	1 g
硫酸鎂(MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0.2 g
檸檬酸鈉(Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ ·2H ₂ 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)

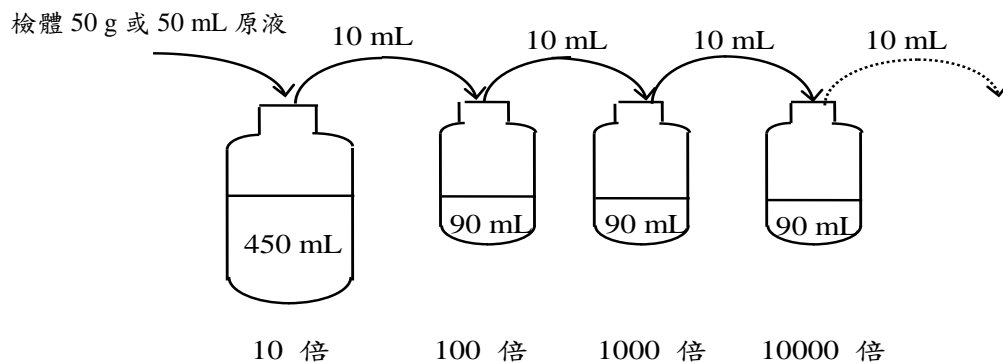
胰化蛋白朊(tryptone)	20 g
膽鹽3號(bile salts No.3)	1.5 g

5-溴-4-氯-3-吲哚-β-葡萄糖醛酸環己基銨鹽 (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-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-吲哚-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^(註2-4)

- 2.3.1. 固態檢體：將檢體適當切碎、混勻後，取50 g，加入稀釋液450 mL，混合均勻，作為10倍稀釋檢液。
- 2.3.2. 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、混勻後，取50 g，加入稀釋液450 mL，混合均勻，作為10倍稀釋檢液。
- 2.3.3. 液態檢體：將檢體混勻後，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)；亦可使用較高溫度快速解凍(如45°C以下之水浴，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。不須解凍者，如食用冰塊、冰棒、冰淇淋等冰類製品，應速先行使成適當小塊，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. 凝態及濃稠液態檢體：如布丁、煉乳等檢體，經適當攪拌混勻後，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。



註2：除肉製品使用0.1%蛋白腯稀釋液外，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^(註5)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。

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^(註6)，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。
- (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，桿狀或短桿狀。

2.4.1.3.2. 吲哚試驗(Indole test)

自PCA培養基鉤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培養基鉤菌接種於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)	—
吲哚試驗	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	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	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：

$$\text{最確數MPN/g (MPN/mL)} = \frac{\text{最確數表之最確數}}{\text{第一階試管含檢體量} \times 10}$$

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=

$$\frac{43}{1 \times 10} = 4.3 \text{ MPN/g (MPN/mL)}。$$

- (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=

$$\frac{43}{0.1 \times 10} = 43 \text{ MPN/g (MPN/mL)}。$$

- (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=

$$\frac{43}{0.01 \times 10} = 4.3 \times 10^2 \text{ MPN/g (MPN/mL)}。$$

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^(註7)。

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。

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

Σa ：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)

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

Σa ：A稀釋倍數之所有平板中典型菌落數總和

Σb ：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

附註：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。

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. International Organization for Standardization. 2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 2: Colony-count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide. ISO 16649-2.
3. International Organization for Standardization. 2018. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 1: Colony-count technique at 44°C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide. ISO 16649-1.

檢驗流程圖

