

計畫編號：MOHW107-CDC-C-114-123505

衛生福利部疾病管制署 107 年委託科技研究計畫

計畫名稱：
沙門氏菌之跨物種間感染、監測與管理機制之研究

年度研究報告

執行機構：林口長庚醫院 分子感染症醫學研究中心

計畫主持人：陳奇良

研究人員：邱政洵、郭貞嫻、莊智賢、趙舜卿、陳建彰、
賴明瑋

執行期間：107 年 1 月 1 日至 107 年 12 月 31 日

研究經費：新臺幣貳佰肆拾萬元整

*本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應
事先徵求本署同意*

沙門氏菌之跨物種間感染、監測與管理機制之研究

107 年度成果報告修正對照表

序號	審查意見	修正情形說明	修正處 頁碼
1	本計畫除了收集沙門氏菌感染者臨床菌株，並收集研究組與對照組之居家環境採樣與流行病學資料，推論上更具合理性。	謝謝委員的肯定。	-
2	研究亦參採 106 年研究成果，聚焦於感染熱點區域食材檢體採樣檢驗，進行病原親緣性分析評估，研究成果有助於了解沙門氏菌跨物種傳播機制。	謝謝委員的肯定。	-
3	研究結果顯示(表十)傳統市場豬、雞生肉沙門氏菌污染率高達 52.1% 至 87.5%，明顯高於超級市場產品，而超商雞肉污染率亦高達 33.3%。此結果指出市售生肉沙門氏菌污染相當普遍，也可能是人感染沙門氏菌的主要風險來源。	謝謝委員的肯定，我們根據 106 年度及 107 年度之市場採樣結果發現傳統市場的肉品汙染率非常高(尤其是豬肉及雞肉)，顯示民眾從傳統市場購買肉品有暴露在沙門氏菌感染的高度風險中，且根據市場樣品分離出之 <i>S. Anatum</i> 及 <i>S. Goldcoast</i> ，則大多具有多重抗藥型(MDR)，因此，值得政府單位注意及持續追蹤。	-
4	本署監測資料顯示， <i>S. Anatum</i> 感染在 2015 年開始急劇上升，至 2017 年已達 14.2% 占第三位(僅次於 <i>S. Enteritidis</i> 與 <i>S. Typhimurium</i>)，而其盛行率上升和多重抗藥株的出現有正相關(2017 年有 94% <i>S. Anatum</i> 為 MDR)。本研究數據證實豬、雞生肉產品有高的 <i>S. Anatum</i> 污染，與人的感染流行有高度相關性。	謝謝委員的肯定，目前也已針對市場分離之 MDR 菌株 <i>S. Anatum</i> 及 <i>S. Goldcoast</i> 進行 NGS 分析，將進一步與病患分離菌株做親緣性之比對。	-

5	血清分型指出豬、雞生肉都有複雜血清型別的沙門氏菌污染，這些菌株若能進行基因分型，再與本署人的分離株比對，分析人與豬/雞沙門氏菌間的親緣關係，將有助於評估人沙門氏菌症的風險來源與未來發生群聚感染時，溯源調查之參考。	謝謝委員之建議，從食物分離之複雜血清型菌株將會委請邱乾順博士進行 PFGE 分析，再和疾管署沙門氏菌基因資料庫比對，以利未來評估人類感染沙門氏菌之感染來源。	-
6	建立臨床菌株分子資訊與背景資料，可提供國內外比對，有助於研究與實務應用。	謝謝委員之肯定。	-
7	在經費有限的情況下，應縮小探討的範圍，以取得充份穩固的科學數據，做為防疫機關訂定防治作為的參考依據。	謝謝委員之意見。因此，在 108 之研究計畫中，我們將會縮小並集中範圍至豬肉的污染追蹤上。	p.20, 21
8	需注意報告內容之編排，以利閱讀；另內文及圖表名稱需一致。	謝謝委員之建議，已修正該問題。	p.14, 17, 37
9	本案檢出 2 例法傳個案(S. Typhi)，是否依法通報？	106 度林口長庚病患分離菌株有檢測出兩株 S. Typhi，均都已依法通報該個案。	-
10	有關沙門氏菌感染發生熱點里別有無地域上的特性或共通點？	針對沙門氏菌感染發生熱點里別的分析上，目前的軟體尚未有此項功能，但是從目測分析結果顯示，似乎仍未有明顯集中或群聚的現象發生在特定的里別中。顯示該感染症的發生仍以散發型為主。	-
11	居家採檢的部份，請修正表 6 之對照組個案數（表格總數僅 73 例）；另本研究之統計僅至 10 月份，流病資料之收集未達原計畫書所提之 200 份，建議於修正期末報告時補齊。	謝謝委員的建議，已修正表六。另因本研究之成果報告繳交時間為 11/15，考量醫院端作業流程無法拿到 11 月份之統計資料，而 11 月份之統計資料大約要到 12 月下旬才能整理完成。另外，在流病資料上，已完成病患組及對照組共 200 份之收案，但由於資料整理需要時間，完整之 200	p.38

		份統計資料將會於 108 年度第一季時才會整理完成。	
12	血清型與 MIC 關聯性，表 12 建議修正來源欄，以免混淆。	謝謝委員之建議。已修正表十二。	p.46
13	收集病人做病例對照研究 (Case-control Study) 的確不易。	謝謝委員之肯定。	-
14	於感染者食用之米精中檢測出 <i>S. Agona</i> ，初步證實可能為照顧者暫時性的局部污染，並提出阻斷建議。	謝謝委員之肯定。	-
15	本案利用新穎 WGS 技術，結合傳統分析檢驗與感染風險地圖等訊息，導入不同角度觀察研究結果。	謝謝委員之肯定。	-
16	患者與米精分離之 <i>S. Agona</i> 菌株，基因分型結果為何？有相關嗎？	目前正在進行米精檢出之 <i>S. Agona</i> 菌 NGS 分析。未來將和病患菌株做親緣性之比對。	-
17	熱點地圖(heat map)看到個案分布似乎和人口分布相同，是否有辦法做區分？	因沙門氏菌為食源性感染，以流行病學的角度來說病人攝入之食物不見得來自同一區域，且來源極為複雜，僅能就病人居住地做分析。且沙門氏菌廣泛存在於肉品、蛋類甚至蔬果中，並不是單一食物來源，因此人口較密集的地方感染患者較多是合理的，且僅能就林口長庚患者做分析，故能分析之熱點多集中於北北桃一帶。因此熱點地圖(heat map)僅能作患者所在區域分佈之分析，並不能排除就醫地緣性之差異。	-
18	因沒有針對特殊血清型做病例對照研究(Case-control Study)，可能是未能找到確定感染源/食物的原因(個案數太少)。	因林口長庚院內只能確認到血清群 (Serogroup) 別的分析，所以當我們到病房對患者進行收案時，並無法立即得知該患者所感染之血清型 (Serotype)，因此，法做選擇性的收案。因收案流程之關係，無法就特殊	-

		血清型做病例对照研究(Case-control Study)，且因患者從發病到收案大多已經過了一兩星期，所以剩餘食物檢體經常都已經不在了，況且食物來源複雜且種類繁多，且大部份的家屬不願意進行居家採檢。即便有進行居家採檢的案例，而其距離發病也大多超過兩星期以上，因此，在追溯及培養沙門氏菌之時間點和時效性上，要直接能找到感染源或原因本就存在較高的誤差和困難度。	
19	生活習慣上可能造成小孩生病的原因，可做進一步的分析。(如：食材購買來源)	謝謝委員的建議，預計修正明年之計畫內容，集中收案未滿1歲感染沙門氏菌之小小孩，並比照本年度之感染組及對照組，和增加針對食材購買來源及餵食習慣之問卷分析。	p.20
20	建議「阻斷方法」，僅以理論觀點提出，未有實證或測試，建議修正。	謝謝委員的建議，因本計畫人力及預算相當有限，僅能限縮在部份重點項目，因此需要另增一項新的研究計畫做更完整的設計實證或測試，以做為另一個更好的突破窗口。	-
21	已對2種品項進行抗藥性測試，血清型與MIC關聯性事屬不易，建議增加測試藥品品項，以增加資料庫資訊，提升研究成果可利用性及能見度。	謝謝委員的建議，因本計畫人力及預算有限，因此目前只針對Ceftriaxone、Ciprofloxacin及Imipenem這三種臨床最常使用且重要的抗生素做抗藥性檢測。如未來有其增加檢測種類的必要性，或其它計畫及經費支援下，則可再進行更多種抗藥性的分析。	-
22	菌株血清分群與血清分型部分，除了導入PCR與MLST分子技術建立關聯度，仍建議實際使用「血清」分型試驗，歸宗於微生物學試驗為佳。	謝謝委員的建議。目前我們導入PCR與MLST分子技術只是輔助使用，而最終仍會以鑑定到血清型別的判定上。	-
23	僅依據食材檢出率最高為S. Anatum，將其鎖定為食物檢體與臨床感染之沙門氏菌傳染關係菌株，證據仍	同意謝謝委員的建議。 目前我們只能設定S. Anatum及S. Goldcoast作為重點研究對象，因為這兩個血清型為在2017-2018年忽然竄	-

	嫌薄弱，建議增列多菌株與相關辨識技術，以加強延續研究可行性。	升 outbreak 之血清型菌株，而且是高度抗藥的 MDR 菌株，因此，格外重要。因本計畫人力及預算相當有限，僅能限縮在部份重點項目上。未來仍須仰賴更大的研究計畫來擴大及增列其它菌株的分析，以強化其證據及連結性。	
--	--------------------------------	---	--

目 錄

頁 碼

封面	
審查意見修正對照表	
目錄	
壹、中文摘要	(1)
貳、英文摘要	(2)
參、報告內容	
一、研究主旨	(3)
二、背景分析	(3)
三、實施方法及進行步驟	(5)
四、成果	(11)
五、總結	(18)
六、未來工作	(20)
七、致謝	(21)
八、參考資料	(21)
九、預定進度及 Milestone	(25)
十、107 年度期末報告繳交前應完成工作項目表	(27)
十一、107 年度全程應完成工作項目表	(28)
十二、附表、附圖	(30)
附錄一、受訪同意書	
附錄二、生活環境與接觸史問卷	
附錄三、部授食字第 1021951187 號附件(檢驗方法)	

衛生福利部疾病管制署研究報告書—107 年第一～四季

壹、中文摘要

關鍵詞：沙門氏菌、跨物種傳染、血清分型、序列分型、地理資訊系統

沙門氏菌(*Salmonella enterica*)是常見的人畜共通病原菌。為了探索台灣沙門氏菌跨物種感染人類的傳染途徑，從 106 年起，我們以林口長庚醫院為中心，彙整北台灣地區沙門氏菌感染病患的臨床資料，並以地理資訊系統(GIS)繪製感染熱點分佈地圖，以追蹤其可能之感染源。在第二年(107 年 1-10 月)北北桃中沙門氏菌感染(N=508)在全年齡的分佈上，臨床沙門氏菌主要分離來自<5 歲的病患(56.3%)，並且大多引起腹瀉的症狀；然而老人(≥ 60 歲)則主要發生菌血症(46.7%)。以血清分群劃分，主要是 D 群(31.5%)，依序是 B (26.2%)、E (18.5%)、C2 (13.2%) 和 C1 (9.3%)。B 群的發生率，以<5 歲病患最高(34.6%)；而 ≥ 18 歲病患主要感染 D 群 (41.6%)。其結果與 106 年的結果類似。GIS 沙門氏菌感染熱點區域主要分佈在林口區和龜山區交界處、台北市中山區、泰山區和新莊區交界、桃園區、中壢區等區域。檢測病患所提供和實地居家採檢可疑污染的食物及物品(N=109)，只有一件來自米精樣品呈現陽性反應，並且與病患感染的沙門氏菌都是 *S. Agona* (B 群)；而其問卷資料統計(病患 95 人以及健康 95 人)顯示”照顧的孩童或老人是否有腹瀉症狀”、”奶粉”和”照顧場所及住家的飲用水來源-山泉水”等危險因子較具有感染發生的可能性(OR>5.22)。檢測 GIS 感染熱點區域中傳統市場和超級市場所販賣食材的沙門氏菌帶菌率，發現傳統市場豬肉(74.6%，50/67)、豬大腸(87.5%，7/8)和雞肉(52.1%，25/48)的帶菌率最高，而且明顯高於來自超級市場的食材。依據食材沙門氏菌檢出率的多寡排序，血清型依序為 Anatum、Derby、Agona、Albany、Muenster、Typhimurium、Given、Kenducky、Enteritidis 等。其中值得注意的是大部分的 Anatum 和 Goldcoast 菌株，同時對 ceftriaxone 或 ciprofloxacin 抗生素具有高比例的抗藥性，尤其 Goldcoast 有最高濃度的 MIC₉₀，而且它們主要分離來自豬肉和雞肉。進一步以全基因組定序和遺傳親緣性圖譜分析來自食材(10 株)和臨床病患(42 株)的 Anatum 菌株，結果證實這些來自食材的 Anatum 菌株與來自臨床病患菌株全基因體之間有著極高的遺傳親緣相似度，顯示它們可能源自相同的原始菌株。未來我們應該加強追蹤肉品屠體的運輸、分切處理、市場肉舖販賣、以及居家衛生的設施等流程中可能遭受污染，並隨著不洽當處理過程的增加，而有沙門氏菌在食材中逐漸被放大的機會。因此，未來將加強此環節的檢測和提出可能的改善措施。

貳、英文摘要

Keywords: *Salmonella enterica*, cross-species transmission, serotyping, multilocus sequence typing, geographic information system

Salmonella enterica is a common zoonotic pathogen. To explore the route of *Salmonella* cross-species transmission barrier and to practice an appropriate regulation for eliminating the transmission, we have been prospectively tracing the patients with salmonellosis administered to Chang Gung Memorial Hospital (CGMH), Linkou branch, why and where to cause the diseases since 2017. In the second year of this study (Jan.-Oct., 2018), clinical *Salmonella* strains (N = 508) enrolled in CGMH in northern Taiwan were mainly isolated from the < 5-years-old patients (56.3%) who had mostly diarrhea, while those who were \geq 60-years-old patients mainly showed bacteremia. The predominant *Salmonella* serogroup was D (31.5%), and followed by B (26.2%), E (18.5%), C2 (13.2%) and C1 (9.3%), whereas serogroup B caused mostly infections to patients with age of < 5 years (34.6%), and serogroup D predominantly to patients with age of \geq 18 years (41.6%). The major Districts in *Salmonella*-infected heatmap illustrated by geographic information system (GIS) were junction of Linkou District and Guishan District, Zhongshan District of Taipei, junction of Taishan District and Xinzhuang District, Taoyuan District, Zhongmu District, in northern Taiwan. After detecting patient-provided food samples (N=109) which were suspected for *Salmonella* contamination, only one of them was *Salmonella*-positive from rice ground powder, and the serotype was coincident as same as Agona isolated from the same patient. The questionnaire statistics (95 patients and 95 healthy people) showed that "children or elderly who also have diarrhea", "milk powder" and "mountain spring water as the drinking water of regular or nursing home" were the likely risk factors to cause *Salmonella* infections (OR>5.22). With the detection of *Salmonella*-carriage rates in food stocks from traditional markets and supermarkets based on the hotspots of the *Salmonella*-infected GIS heatmap, we found that pork (74.6%, 50/67), pig large intestine (87.5%, 7/8) and chicken (52.1%, 25/ 48) purchased from traditional markets showed the highest rates, and is significantly higher than those food stocks from supermarkets. In terms of the serotype ranking of *Salmonella*-positive detection rate of food stocks, the major serotype was Anatum, and followed by Derby, Agona, Albany, Muenster, Typhimurium, Given, Kentucky, Enteritidis and so on. Notably, most of the Anatum and Goldcoast strains had a high proportion of resistance to antibiotics ceftriaxone and ciprofloxacin, especially Goldcoast has the highest concentration of MIC₉₀, and they are mainly isolated from pig and chicken. Furthermore, the Anatum strains isolated from the food stocks (10 strains) and the *Salmonella*-infected patients (42 strains) were analyzed by genome-wide sequencing and phylogenic tree analysis. It was confirmed that the whole genome sequences of the Anatum strains were highly similar. As a result of high genetic similarity between the food stock strains and the clinical strains, we proposed that they may be derived from the same original strain. It, however, is still unclear about how to cause or enlarge the *Salmonella* contamination on food stocks. Thus, we will reinforce tracing the processes of meat carcass transportation, slitting treatment, and sale on retail store, especially the public education related to sanitation, in order to propose possible improvement measures in next year project.

參、報告內容

一、研究主旨：

總目標： 研究沙門氏菌重要血清型於人類、寵物和畜養動物之地理分佈圖及細菌親緣性相關圖，並據此做為跨物種感染之證據，同時提出阻斷跨物種感染的方式，並評估三年的監控成效，以期能降低沙門氏菌的感染。

計畫之目的第二年(107 年)第一~四季：

1. 繼續完成 106 年度檢驗出沙門氏菌陽性之抗藥性及血清分型(multiplex PCR 及 MLST)統計分析 107 年 1~5 月臨床資料
2. 追蹤並統計 107 年度 1~10 月臨床資料
 - 臨床菌株的收集
 - 臨床菌株之血清分群及血清分型
3. 增加臨床流行病學調查之問卷(200 份)
 - 增加臨床收案患者之剩餘食物檢測
 - 依照 106 年度及 107 年度之臨床問卷評估感染沙門氏菌高風險食物
4. 增加沙門氏菌淡季、旺季之熱點市場採樣
 - 市場採樣檢出之沙門氏菌血清分群(Serogrouping)
 - 利用 multiplex PCR、MLST 血清分型(Serotyping)
 - 菌株抗藥性檢測
 - 重點菌株 WGS 序列檢測
 - 探討病患感染之沙門氏菌重要血清型與市場採樣陽性之地理分佈與基因序列親源關係
 - 提出並修正沙門氏菌重要血清型之風險圖像
5. 探討人類沙門氏菌感染病例可能的傳播途徑及其感染源頭
 - 查詢國內外文獻針對阻斷沙門氏菌各層面之傳染途徑
 - 初步建議改善民眾烹煮及飲食習慣以阻斷傳染途徑的措施

二、背景分析：

沙門氏菌(*Salmonella enterica*)是常見的人畜共通病原菌，至少有 2500 種不同的血清型，在全世界普遍造成動物和人的感染。其中以廣泛宿主特性的非傷寒沙門氏菌的感染，包括鼠傷寒沙門氏菌(*S. enterica* serovar Typhimurium; 簡稱 *S. Typhimurium*)和腸炎沙門氏菌(*S. Enteritidis*)，是近年來感染人類最常見的兩種血清型菌株，主要導致腹瀉和食物中毒事件。另外在嚴重的感染症上，豬霍亂沙門氏菌(*S. Choleraesuis*)也曾是常見的血清型，導致敗血症和非

腸道感染。沙門氏菌最常發生在 5 歲以下嬰幼兒，因食入受汙染的食物而感染。特別對小孩、老人、和免疫下降的人較易造成嚴重的感染，甚至對畜產動物牛和豬，引起腸炎、敗血症、關節炎、和流產等症狀。美國每年至少有 1 百萬沙門氏菌感染事件(salmonellosis)發生，其中 19,000 人住院和 400 人死亡，並分離 48,000 株沙門氏菌(<http://www.cdc.gov/salmonella/>)。台灣如以此比例來估算，每年至少有 10,000 株沙門氏菌被分離，所以至少有 26 萬人感染沙門氏菌(依台灣疾管局估計 2001-2003 年的流行病學資料)。

台灣只將傷寒(由 *S. Typhi* 所感染)和副傷寒(由 *S. Paratyphi A, B* 和 *C* 所感染)歸類在法定傳染病，其年平均感染人數分別只有 45 例和 12 例，其中 1/3 以上還是境外移入(台灣疾管局估計)。顯然主要的感染是以非傷寒沙門氏菌為主，尤其是 *S. Enteritidis* 和 *S. Typhimurium*。然而台灣尚未將非傷寒沙門氏菌的感染列入監控的目標，不像相當重視沙門氏菌感染的歐美國家，分別設有監控系統，如歐洲的 Salmnet 和美國的 National *Salmonella* Surveillance System 與美國疾病管制局的即時監測網 PulseNet [Swaminathan et al., *Emerg Infect Dis.* 2001; 7:382]。

目前檢測沙門氏菌，大多以 PFGE、傳統血清學、PCR (包括 PCR、qPCR、和 multiplex PCR)、MLST (multi-locus sequence type)、和 WGS (whole genome sequencing)的檢測方法為主[Hellberg et al., *J Microbiol Methods.* 2012 Dec;91(3):448; Scaria et al., *Mol Cell Probes.* 2008 Aug;22(4):238; Chiou et al., *Int J Food Microbiol.* 2015 Dec 2;214:1; Bell et al, *Microbial biotechnology.* 2016; 9:279-292]。其中一般認為 PFGE 和 WGS 的正確性最高(100%)，但較為耗時。相對上 PCR/qPCR 的方法是最簡易的，但其變異因子則較多。MLST 是結合 PCR 與 DNA 定序的方法，有高正確性、需時短、操作方便、和分析簡易等優點。通常利用 PCR/qPCR 方法，可檢測出的沙門氏菌數下限至少需要 2-4 CFU (colony formation unit)。另一方面，認為食品汙染所造成的沙門氏菌感染，如在乾乳酪上，只要 10 CFU 即可導致人類的感染(Blaser & Newman, *Rev Infect Dis.* 1982; 4: 1096-1106)。然而，美國曾經臨床試驗志願的受試者，結果發現需要 10^5 - 10^{10} CFU 才能導致感染。此研究顯示造成感染所需的菌數是因人而異[Bell et al, *Microbial biotechnology.* 2016; 9:279-292]。

近年台灣的研究發現，感染人類的 *S. Enteritidis* 臨床菌株與分離自畜養動物的沙門氏菌，有著相同的脈衝式電泳(pulse-field gel electrophoresis, PFGE)、抗藥圖譜(antibiogram)以及質體圖譜，推測沙門氏菌可能透過動物為媒介感染人類[Chu et al., *J Formos Med Assoc* (2009) 108:765; 邱乾順等人。疫情報導 (2015) 31:235]。世界各地爆發許多沙門氏菌群聚感染案例，研究指出

沙門氏菌可能來自雞蛋相關糕點、蔬果、畜產肉類等食品[Lee et al. *Taiwan Epidemiol Bullet.* (2018)34:147; Gautam et al. *PLoS One* (2014);9:e105248; Bottichio et al. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* (2016)65:1430-1433；蔡宜臻等人(2015)34:153; Marshall et al. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* (2018)67:443]，甚至來自居家寵物，如龜、爬蟲類、和狗等[Sato Y et al. *J Vet Med Sci* (2000) 62:767; Gambino-Shirley et al. *Zoonoses Public Health* (2018). doi: 10.1111/zph.12466]。推測感染途徑可能以直接或間接的途徑傳染給人；另一方面也可能經由農場飼料、生長環境、和從業人員等途徑引發動物及人的感染，或是經由受汙染的食物和水、以及動物排泄物所污染食材和生活環境，以致造成感染。

沙門氏菌造成眾多的感染病例，已增加許多醫療資源的花費。即便偶有大流行或群聚感染，仍以散發性的個案為主，所以非常不容易被偵測或追蹤其傳染途徑。因此，當務之急是需要一跨領域研究團隊，結合感染、微生物、及獸醫等專業，配合快速、正確的診斷方式，建立從農場到餐桌(from Farm to Table)、從農場到排泄(from Farm to Flush)、以及從寵物到飼主(from Pet to Human)的監測系統，來描繪沙門氏菌在人類、畜養動物和寵物上的分佈風險圖像與沙門氏菌親緣關係之地域圖譜，以及可能感染的關鍵點，以期能藉由本計畫所提出和施行的防治策略和阻斷方式，提供有效降低人類感染沙門氏菌的資訊。

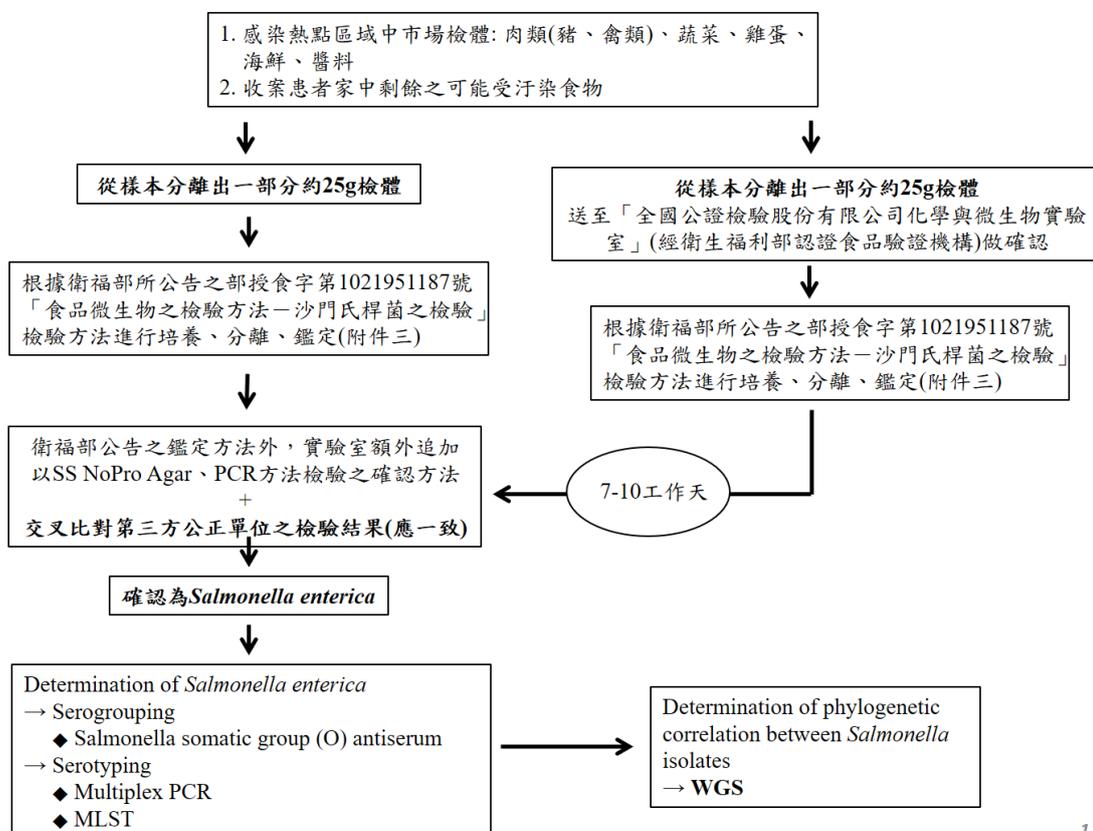
三、實施方法及進行步驟

I. 沙門氏菌感染的前瞻性臨床資料彙整與菌株收集

1. **臨床病例資料之調查:** 本年度我們前瞻性繼續彙整 2018 年長庚臨床病理檢驗中心有關沙門氏菌感染之病例報告與感染病人的居家地理位置等資料，並利用台灣地理資訊系統之相關軟體 GIS (Geographic Information System; <http://www.education.ntu.edu.tw/school/geog/news/gisroom/freegis.htm>)繪製感染熱點之分佈地圖。以及針對主要的兩種血清型菌株(*S. Anatum* 和 *S. Typhimurium*)感染的病患為研究對象，尤其特別注意那些曾經重複感染或復發的病人資料，並且收集該對象所分離的菌株。
2. **流行病學調查之問卷:** 依沙門氏菌感染病患自由意願，並選擇位於感染熱點中的族群，招募 100 位受訪者並簽署受訪同意書，願意提供流行病學問卷調查，和接受研究人員到家中做沙門氏菌篩檢。涵蓋菌株來源病患之代碼、年齡、發病日期、居住地點、發病天數、診斷日、旅遊史、性別、職業、國籍、有無寵物、飲食食材，以及連絡方式(如手機、電

話號碼、Line、或是 email)等基本資料。另外收案 100 名未感染沙門氏菌之對象做為對照，他們和沙門氏菌感染患者是同年齡層，且收案當下並未有任何腸胃道疾病或發燒等感染症狀之陪同病患就醫的健康兒童。

3. **保護隱私與機密性:** 依循長庚醫療財團法人林口院區長庚紀念醫院人體試驗委員會[IRB: 201601178B0C101]保護隱私與機密性之規範保護受訪者。
4. **居家菌株的收集:** 依據上述 IRB 規範，我們預計取得 100 位病人以及 100 位非感染沙門氏菌之對象(或其法定代理人)的同意，共 200 名，並透過流行病學問卷之調查結果來推測可能的感染來源。每位接受問卷調查者可獲 100 元台幣的調查訪問費。檢測對象以懷疑的剩餘食物為主，若檢測出剩餘食物為沙門氏菌陽性，則依照血清分群(serogroup)、血清分型(serotype)依序分析，若食物分離出之沙門氏菌血清分型(serotype)和病人感染之菌株吻合，則進行兩株菌株進行全基因體定序(WGS, whole genome sequencing)分析親緣性關係(圖一)。我們全程都將依循 IRB 保護隱私與機密性之規範保護受訪者。



1

圖一、107 年度市場採檢、病患家中剩餘食物之沙門氏菌培養、分離、鑑定與分析之流程圖。

5. **感染熱點的定義：**分析感染熱點病患與市場食材分離之沙門氏菌親緣性，我們定義感染熱點方式為地圖上直徑 3km 畫圓的距離中，淡季(11 月~4 月)出現 3 位以上、旺季(5 月~10 月)出現 5 位以上之沙門氏菌感染患者則視為感染熱點，離感染熱點最接近之傳統市場及超級市場則作為採檢之重點目標。

II. 沙門氏菌之培養、分離與鑑定

- (1) **食物沙門氏菌之培養與分離：**根據衛生福利部食品藥物管理署所公告之部授食字第 1021951187 號「食品微生物之檢驗方法—沙門氏桿菌之檢驗」檢驗方法進行培養及分離(<https://www.fda.gov.tw/TC/siteListContent.aspx?sid=103&id=8533>)。我們檢驗沙門氏桿菌之 sensitivity test，實驗結果顯示偵測靈敏值最低可被檢測菌數為 22 CFU / 25g 豬絞肉(表一)。

表一、檢驗沙門氏桿菌之靈敏度。

Sample	檢測結果
冷凍豬絞肉 25g (不添加菌液)	陰性
冷凍豬絞肉 25g + 22 CFU 菌液	陽性
冷凍豬絞肉 25g + 112 CFU 菌液	陽性
冷凍豬絞肉 25g + 225 CFU 菌液	陽性

- (2) **蛋類之沙門氏菌培養：**

2.3.2.1. 帶殼蛋：先以刷子清洗蛋表面並瀝乾。浸於含 0.1% 硫酸月 桂酸鈉之氯水溶液約 30 分鐘。以無菌操作取出蛋黃及蛋白，混合 均勻後稱取 25 g，置於已滅菌廣口瓶內。加含硫酸亞鐵胰化 酪蛋白大豆培養液 225 mL，混合均勻，在室溫靜置 60±5 分鐘。先以 pH 試紙測其 pH 值，必要時，以無菌之 1N 氫氧化鈉 溶液或 1N 鹽酸溶液將 pH 值調至 6.8±0.2。於 35°C 培養 24±2 小 時後，供作檢液。

2.3.2.2. 全蛋液(均質化者)：以無菌操作稱取檢體 25 g，置於已滅菌廣 口瓶內。加含硫酸亞鐵胰化酪蛋白大豆培養液 225 mL，混合 均勻後，續依 2.3.2.1. 節步驟進行檢液之調製。

2.3.2.3. 水煮蛋(雞蛋、鴨蛋及其他)：蛋殼完整者，依 2.3.2.1.節步驟處理，再以無菌操作取出蛋黃及蛋白，混合均勻後稱取 25 g，置於已滅菌廣口瓶內，加胰化酪蛋白大豆培養液 225 mL，振盪均勻後，續依 2.3.2.1.節步驟進行檢液之調製。

(3) 病患檢體之沙門氏菌培養：

3.1 檢體種類：stool、rectal swab、血液培養瓶

3.2 容器與添加劑：含緩衝甘油液(phosphate buffer glycerol saline solution)的容器

3.3 培養基：BP/EMB、XLD、GN Broth

3.4 培養步驟：Stool culture for *Salmonella*、*Shigella* 的分離時，PM4:00 時應將當天 PM2:00 以前已經接種的 GN Broth 取一滴到 XLD 上做次培養，PM2:00 以後以及小夜、大夜班接種之 GN Broth，由 AE bench 負責，接種過的培養基均置入 37°C CO₂ 溫箱培養。

3.5 判讀時間：(1) 初步判讀：18-24 小時後 (2) 最終判讀：48 小時

3.6 培養基判讀：

(1) EMB 有無 lactose nonfermenter bacteria，如：*Salmonella*、*Shigella* 均為 pink

(2) XLD：檢查培養基上是否具有粉紅或中心具有黑色點邊緣透明的菌落

(3) 疑似沙門氏菌菌落打質譜儀 → 報告發 *Salmonella* spp

→ *S. Typhi*、*S. Cholerasuis* 需再加做生化性質測試

3.7 serological test：

(1) TSI：K/A(G)、H₂S(+)，其中 *S. Typhi* 之 gas(-)、H₂S(w+)，*S. paratyphi A* 之 H₂S 為(-) [10%(+)]

(2) Citrate：一般為(+)，其中 *S. Typhi*、*S. Cholerasuis* 及 *S. paratyphi A* 為(-)

(3) Ornithine：一般為(+)，而 *S. Typhi* 為(-)

(4) 其他反應為 urease、indole、VP、IPA 皆為(-)，Motility(+)

3.8 serogroup 鑑定：利用 anitiserum test 判讀

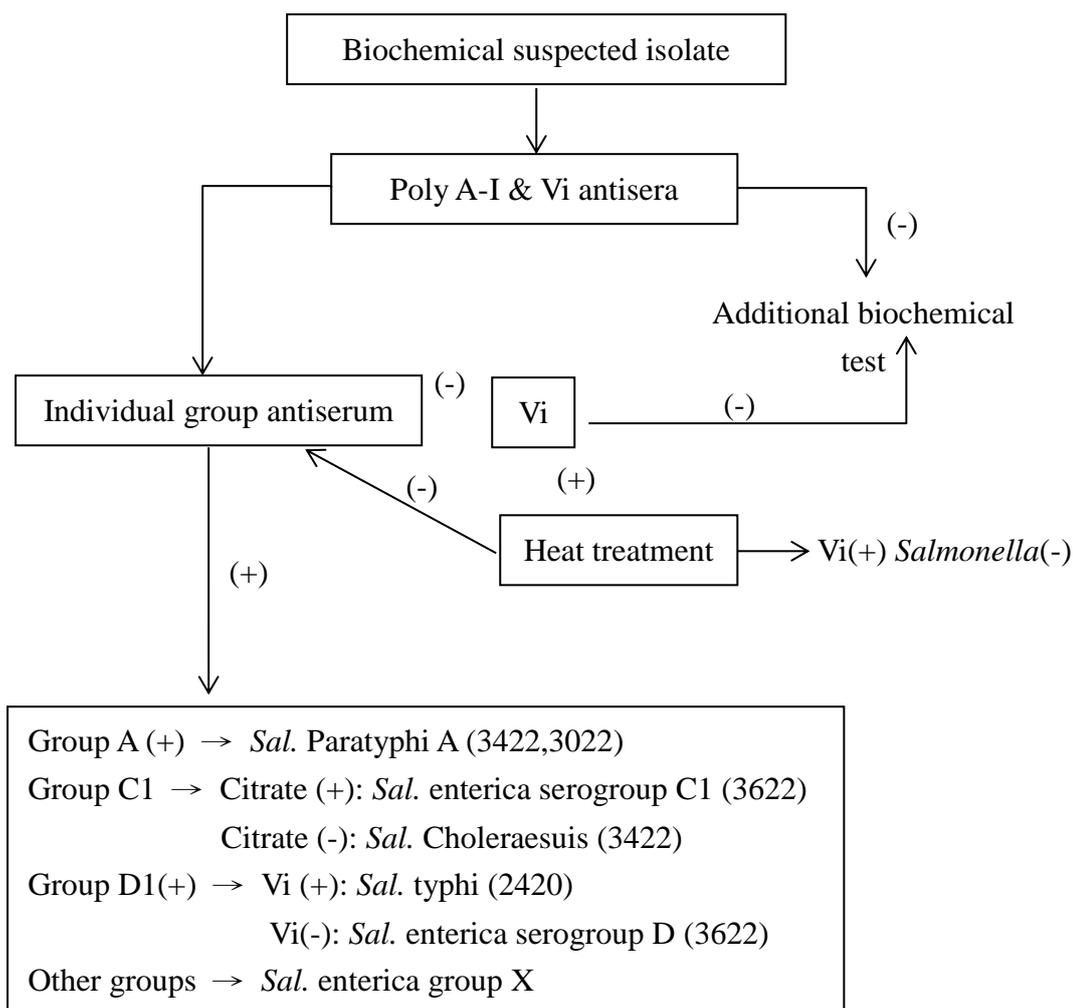
(1) 4+：100%凝集，背景清晰或稍微有點模糊

(2) 3+：75%凝集，背景有點模糊

(3) 2+：50%凝集，背景中等模糊

(4) 1+：25%凝集，背景模糊

(5) -：沒有凝集



圖二、林口長庚細菌室鑑定沙門氏菌血清群(serogroup)之流程圖。

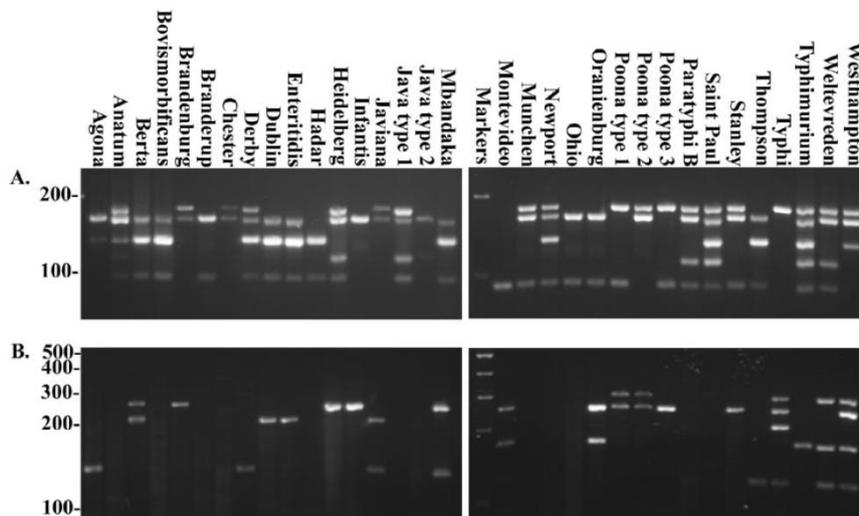
(4) 沙門氏菌之鑑定、血清分群(Serogrouping) 及血清分型(Serotyping):

- a. **血清分群鑑定:** 根據衛福部所公告之部授食字第 1021951187 號「食品微生物之檢驗方法－沙門氏桿菌之檢驗」檢驗方法進行鑑定及血清分群。
- b. **PCR 檢測:** 進一步再確認是否為沙門氏菌，可以使用 PCR 檢測方法，其中以所有血清型菌株普遍都有 *invA* 和 *rpoD* 兩基因為最主要檢測的對象(表二)。此雙基因檢測系統可以減少因只檢測單一基因所產生的偽陽性。並重複 PCR 之檢測，以確認結果具有再現性。

表二、通用型引子之序列。

Primer name	Primer sequence (5'->3')	Product size (bp)
<i>invA</i> -F	ACAGTGCTCGTTTACGACCTGAAT	244
<i>invA</i> -R	AGACGACTGGTACTGATCGATAAT	
<i>rpoD</i> -F	ATACCACCAGCACCGATGAAG	209
<i>rpoD</i> -R	GTATTTCGGCAACGGAGCATTG	

c. **Multiplex PCR 血清分型(Serotyping)法:** 依據 Kim 等人的方法(Kim et al., *J Clin Microbiol.* 2006;44:3608), 利用 Multiplex PCR 之兩組引子 STM 和 STY (表三), 檢測沙門氏菌的血清分型(serotyping), 其中 30 種臨床最常見的 serotypes 可被檢測出(圖三), 包括最常見的前兩種 *S. Enteritidis* 和 *S. Typhimurium*。使用 DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) 萃取全基因組 DNA。可以 Multiplex PCR 進一步確認此菌落之 Serotypes。我們將特別注意那些具有相同血清分型沙門氏菌的組合, 包含人與寵物、或人與畜養動物、或人與飲食食材之間, 或是具有地理感染熱點連結相關性的菌株組合。



圖三、以 Multiplex PCR 方法檢測沙門氏菌不同血清分型的圖譜。(A)使用 STM multiplex primers。(B)使用 STY multiplex primers。(節錄自 Kim et al., *J Clin Microbiol.* 2006;44:3608)

表三、Multiplex PCR 所使用的引子。依據 Typhimurium LT2, Typhi CT18, and Enteritidis (PT4) 染色體特定基因序列(NCBI accession no.)所設計的引子。

TABLE 2. Chromosomal regions of *S. enterica* serovars Typhimurium LT2, Typhi CT18, and Enteritidis (PT4) used to create primers for multiplex PCR^a

Assay	NCBI accession no.	Primer	Reaction concn (pM)	Primer sequence (5'→3')	Amplicon size (bp)
STM 1	AE008729	STM0716F	1	AACCGCTGCTTAATCCTGATGG	187
		STM0716R	1	TGGCCCTGAGCCAGCTTTT	
STM 2	AE008758	STM1350F	3	TCAAAATTACCGGGCGCA	171
		STM1350R	3	TTTTAAGACTACATACGCGCATGAA	
STM 3	AE008735	STM0839F	1	TCCAGTATGAAACAGGCAACGTGT	137
		STM0839R	1	GCGACGCATTGTTTCGATTGAT	
STM 4	AE008913	STM4525F	1	TGGCGGCAGAAGCGATG	114
		STM4525R	1	CTTCATTCAGCAACTGACGCTGAG	
STM 5	AE008913	STM4538F	2	TGGTCACCGCGCGTGAT	93
		STM4538R	2	CGAACGCCAGGTTTCATTGT	
STY 1	AL627266	STY0311F	0.8	TGGTATGGTTAAGCGGAGAATGG	301
		STY0312R	0.8	GAGAGTCATAGCCCACACCAAAG	
STY 2	AL627273	STY0346F	0.8	GGCTGGAGCAGCCTTACAAAA	262
		STY0347R	0.8	AAGAGTTGCTGGCTGGTAAAA	
STY 3	AL627273	STY2299F	3	AATCCCCCCCCCTCAAAAA	220
		STY2300R	3	GGTACACGTTTACTGTTTGCTGGA	
STM 6	AE008879	STM3845F	0.8	ATATCTCATCGTCTCCTTTTCGTGT	181
		STM3845R	0.8	GAAGGTCCGGATAGGCATTCT	
STY 4	AL627273	STY2349F	1	AATTACGGAGCAGCAGATCGAGG	124
		STY2349R	1	TGCGGCCAGCTGTTCAAAA	
PT4	AF370716	PT4 F	4	GGCGATATAAGTACGACCATCATGG	225
		PT4R	4	GCACGCGGCACAGTTAAAA	
STM 7	AE008795	STM2150F	4	CATAACCCGCCTCGACCTCAT	101
		STM2150R	4	AGATGTCGTGAGAAGCGGTGG	

^a The chromosomal regions of *S. enterica* serovars Typhimurium LT2 (STM), Typhi CT18 (STY), and Enteritidis (PT4) were used to create primers for multiplex PCR.

d. **MLST 序列分型(Serotyping):** 當上述之 multiplex PCR 方法無法分辨出菌株為何種血清型(Serotype)，則依據 MLST 網頁(<http://ppt.cc/f6c9sx>)所使用的七種沙門氏菌基因(*aroC*, *dnaN*, *hemD*, *hisD*, *purE*, *sucA*, *thrA*) 作為定序的目標，並依據其序列分型之 ST Type 查詢 EnterBase Salmonella Databases 網頁(<http://enterobase.warwick.ac.uk/species/index/senterica>)對照該 ST Type 為何種血清型(Serotype)。

四、成果：

1. 106 年全年度臨床沙門氏菌感染相關的分析

106 年全年度臨床沙門氏菌檢體來源之分析: 106 全年度(西元 2017 年)林口長庚沙門氏菌確診病患之臨床統計，共 700 株菌株 (表四和圖四 A~C)。在全年齡的分佈上，沙門氏菌主要分離來自 <5 歲(包括 <1 歲和 1-4 歲)的病患(58.1%，[64+343]/700)。在檢體來源的分佈上，沙門氏菌主要分離來自糞便(75.3%，527/700)，其次是血液(17.1%，120/700)和尿液(4.9%，34/700)，其餘是來自傷口、膿、腹水、膿瘍、深層組織、關節液、胸膜腔葉等部位。在糞便的沙門氏菌檢體中，則主要分離來自 <1 歲和 <5 歲的病患(70.6%，[57+315]/527)。在血液的檢體部分，沙門氏菌主要發生在 ≥60 歲的病患(42.5%，51/120)，其次是 18-59 歲(33.3%，

40/120)的族群。結果顯示沙門氏菌引起腹瀉的症狀主要發生在小孩，而菌血症則老人的發生率較高(表四)。

106 年全年度臨床沙門氏菌血清分群之分析：以血清分群劃分，主要的 serogroup 是 D (36.6%，256/700)，依序是 B (25.1%，176/700)、E (20.0%，140/700)、C1 (8.6%，60/700) 和 C2 (6.4%，45/700)。還有 *S. Typhi* (0.3%，2/700) 以及其它(3.0%，21/700)。Serogroup B 沙門氏菌感染的發生率，以<1 歲病患最高(45.3%，29/64)；而 Serogroup D 則是各年齡層中(除了<1 歲之外)，都是發生率最高的。在全年齡的分佈上，<5 歲病患則主要感染 serogroup B (33.4%，[29+107]/[64+343])，其次是 serogroup D (29.7%，[8+113]/[64+343])、serogroup E (17.0%，[12+57]/[64+343])。≥ 5 歲病患主要感染 serogroup D (46.2%，[19+58+58]/[44+117+131])，其次是 serogroup E (24.3%，[13+33+25]/[44+117+131])。結果顯示不同的 serogroup 沙門氏菌的感染與年齡有關(表四)。

106 年全年度臨床沙門氏菌依據月份和血清分群相關性之分析：以全年度各月份和臨床感染沙門氏菌 serogroup 分群之分佈顯示，發生率最高的是九月份，而最低則是四月份(圖四 A)。如以<5 歲和≥五歲劃分為兩大族群，則其發生率最高也都是九月，但最低則分別是一月份(<5 歲)和四月份(≥5 歲)(圖四 B 和 C)。以各個月份之血清分群比率劃分，serogroup D 除了在四月、九月、十月和十二月之外，在各個月分都是最盛行的；而取而代之的是 serogroup B (於四月、九月和十月) 和 serogroup E (於十二月)(圖四 A)。在<5 歲的族群中，serogroup B 盛行的月份是二月、四月、五月和十月，而 serogroup D 則只比較盛行於一月和三月份(圖四 B)。在≥5 歲的族群中，serogroup B 並沒有比較盛行月份的顯示；而 serogroup D 則比較盛行於一月、二月、三月、五月、十月和十一月；特別的是 serogroup E 則在六月、九月和 12 月份時比較於其它血清分群盛行(圖四 C)。

106 年全年度 Q1-Q4 各季中北北桃沙門氏菌之 GIS 感染熱點區域地圖：利用台灣地理資訊系統 GIS 依台灣北北桃縣市各行政市區繪製 106 年全年度林口長庚所收治沙門氏菌 (扣除那些地址資料不全之病患數後之總數 N=643)之感染熱點區域圖 (圖五)。如同圖五，圖六則是依據縣市別所畫製的沙門氏菌感染病患居家地理熱點。在熱點區域上，其顏色越深代

表此處感染沙門氏菌患者密集度高；相對地，在熱區以外的空白區域，代表此處患者密集度低。在第一季(1-3月，Q1)中的行政區熱點顏色很淡，顯示為感染淡季(圖五 A)。第二季 Q2 則行政區熱點顏色加深了，顯示感染人數增加了，如桃園區、龜山區和林口區(圖五 B)。第三季 Q3 則行政區熱點顏色更深了，顯示感染人數達到高峰了，其中龜山區的發生率最高，其次為桃園區、中壢區、蘆竹區和新莊區(圖五 C)。第四季 Q4 則行政區熱點顏色雖轉淡，但仍顯示桃園區為感染人數最高的行政熱點，其次為龜山區、蘆竹區和林口區，顯示感染人數已經下降了(圖五 D)。

106 年全年度北北桃中前五大沙門氏菌盛行的縣市行政區之 GIS 感染熱點區域地圖：另一方面綜合 106 年全年度 Q1-Q4 在各行政區域累積個案所呈現的熱點實際位置，顯示沙門氏菌感染症發生率較高的前五大行政市區分別是龜山區(n=73)、桃園區(n=73)、林口區(n=55)、中壢區(n=45)、和蘆竹區(n=43)(圖六 A-E)。此五大行政區再依照鄰里細部劃分其熱點分佈。圖六明顯指出實際沙門氏菌感染症發生的熱點，確實呈現地緣集中的關聯性。其中較為集中的鄰里包括龜山區的大華里、大湖里和樂善里；桃園區的文中里、同德里、忠義里和大有里；林口區的南勢里和仁愛里；中壢區的永光里和信義里；以及蘆竹區的五福里和中山里。

2. 107 年度 1-10 月臨床沙門氏菌感染相關的分析結果

107 年全年度臨床沙門氏菌檢體來源之分析：107 全年度(西元 2018 年)林口長庚沙門氏菌確診病患之臨床統計，共 508 株菌株(表五和圖七 A~C)。在全年齡的分佈上，沙門氏菌主要分離來自<5 歲(包括<1 歲和 1-4 歲)的病患(56.3%，[73+213]/508)。在檢體來源的分佈上，沙門氏菌主要分離來自糞便(72.1%，366/508)，其次是血液(20.7%，105/508)和尿液(3.5%，18/508)，其餘是來自傷口、膿、腹水、膿瘍、深層組織、關節液、胸膜腔葉等部位。在糞便的沙門氏菌檢體中，則主要分離來自<1 歲和 1-4 歲的病患(68.3%，[59+191]/366)。在血液的檢體部分，沙門氏菌主要發生在 ≥ 60 歲的病患(46.7%，49/105)，其次是 18-59 歲(23.8%，25/105)的族群。結果顯示沙門氏菌引起腹瀉的症狀主要發生在小孩，而菌血症則老人的發生率較高(表五)。

107 年全年度臨床沙門氏菌血清分群之分析: 以血清分群劃分, 主要的 serogroup 是 D (31.5% , 160/508), 依序是 B (26.2% , 133/508)、E (18.5% , 94/508)、C2 (13.2% , 67/508)和 C1 (9.3% , 47/508)。還有 *S. Choleraesuis* (0.2% , 1/508) 以及其它(1.1% , 6/508)。Serogroup B 沙門氏菌感染的發生率, 以<1 歲病患最高(39.7% , 18/73); 而 Serogroup D 則是在 18 歲以上年齡層發生率最高。在全年齡的分佈上, <5 歲病患則主要感染 serogroup B (34.6% , [29+70]/[73+213]), 其次是 serogroup D (25.5% , [11+62]/[73+213])、serogroup E (15.7% , [6+39]/[73+213])。≥18 歲病患主要感染 serogroup D (41.6% , [41+43]/[105+97]), 其次是 serogroup E (20.8% , [28+14]/[105+97])。結果顯示不同的 serogroup 沙門氏菌的感染與年齡有相關(表五)。

107 年度 1-10 月北北桃長庚臨床沙門氏菌之月份和血清分群之分析: 收集並分析 107 年度 1-10 月臨床沙門氏菌共 508 株菌株, 依月份區別各血清分群之間的分佈差異(圖七 A)。二月份沙門氏菌感染人數是最低的, 之後則逐月增加, 並於 8-9 月達到最高峰(圖七 A), 同樣在 <5 歲和 ≥5 歲的族群中也都呈現類似的趨勢(圖七 B 和 C), 結果顯示與 106 年度的趨勢相似, 並且感染率與氣溫呈現正相關。依據 serogroup 分群的結果顯示, 各個月份主要盛行的是 D 型, 其次是 B 型和 E 型, 但值得注意的是在 6 月和 9 月份時 B 型卻是最盛行的 serogroup, 而非 D 型(圖七 A)。尤其在 <5 歲的族群中, 在 1 月份時的 E 型感染率是最盛行的, 以及在 ≥5 歲的族群中, 在 7 月份時的 E 型感染率是最盛行的, 甚至超越 D 型和 B 型; 特別的是在 <5 歲的族群中, 於 5 月份時 C2 型卻突然超越了各種型別, 成為最盛行的 serogroup, 顯示有 E 型的 outbreaks 發生(圖七 B)。在 ≥5 歲的族群中, 從 1 月到 10 月份中, D 型都是最盛行的, 其次依序是 E 型而非 B 型和 C2 型 (圖七 C)。107 年度結果顯示與 106 年度的趨勢相似。

107 年度之臨床沙門氏菌感染病患問卷之收案以及居家之採檢項目及檢測結果: 107 年度 1-10 月的問卷收案個數是 190 例, 其中 95 位是沙門氏菌感染的病患和 95 位為非沙門氏菌感染住院病患的對照組(表六)。這些問卷收集的案例中, 病患提供以及研究人員實地居家採檢共 109 件可疑污染的食物及物品等來源, 其中最多的是奶粉的樣品, 但檢測沙門氏菌存在的結果, 只有 1 件呈現陽性(表七)。

居家檢體檢出率大多為零的可能原因是：

- (1) 沙門氏菌為食源性傳染菌，主要存在於食物和水源中，由於收案患者從發病到入院、收案中至少已經隔了 1-2 星期之時間，剩餘食材有取得上之困難。
- (2) 廚具、家中環境因每天清洗，要再從中培養出沙門氏菌實屬不易。
- (3) 沙門氏菌感染主要和食物相關，若收案對象並非三餐都於家中飲食，例如會到幼稚園上課、外出遊玩至餐廳吃飯，飲食的來源相當廣泛，這些可疑的食材在居家採檢中均無法取得，因此也無法推斷受汙染之食材主要是來自家中。

唯一 1 件陽性的案例 ASA8118 是一位 10 月大男嬰(表八)，相關的檢驗流程如下(圖八)：

- (1) 病患的糞便和血液均檢測帶有 *S. Agona* (serogroup B)。
- (2) 透過問卷調查，懷疑可能汙染的食材是米精。
- (3) 實驗室檢測病患所提供的剩餘米精，發現其中也含有與男嬰所感染相同之血清型 *S. Agona*。
- (4) 問題米精再經過第三方公證檢驗單位之檢測，確認也是分離出 *S. Agona* (圖九)。
- (5) 另一方面我們追查與該米精同廠牌且同一批號七罐未開封之米精，結果均未被檢出沙門氏菌。
- (6) 再一次實驗室檢測病患家中先前曾經檢出所剩餘的原罐米精，結果不再被檢出沙門氏菌了。因兩次檢驗間隔之時間病患仍持續食用同罐米精，顯示第一次被檢測出沙門氏菌感染的米精，可能只是大人在取用米精時暫時性地局部汙染，而不是全罐的米精被汙染。
- (7) 進一步的全基因體定序與親緣性比較，則目前仍在進行 NGS 分析中。

107 年全年度和 107 年 1-9 月林口長庚醫院沙門氏菌感染病患收案之問卷資料統計：107 年 1-10 月 190 例的問卷資料，其中 95 份為沙門氏菌感染病患，95 份為健康的人(無沙門氏菌感染)，並統計個案的接觸史、生活環境、飲食、以及食材購買來源等可能造成感染發生的危險因子，結果顯示在**接觸史**中”出入公共場所博覽會/展覽”和”出入公共場所遊樂場”；在**生活環境**中”照顧的孩童或老人是否有腹瀉症狀”和”照顧場所料理生食和熟食是否共用砧板”；在**飲食**中”羊奶粉”、”照顧場所及住家的飲用水來源-山泉水”、”芒果”、”麥精”和”歐

式自助餐 Buffet”等因子有較高交叉分析的信賴度，也就是較具有感染發生的高風險值(表九)，但部份因子 95% CI 並不夠集中，為增加問卷之 statistical significance and power 會修正明年之問卷收案個數。

107 年度 1-9 月北北桃沙門氏菌 GIS 感染區域的熱點分佈圖(heatmap): 在 107 年度 1-9 月的沙門氏菌感染 GIS 地理分佈系統(依縣市區域別和熱點密度別)的分析顯示，Q1 時期的感染區域的熱點分佈主要座落在桃園區和龜山區交界附近，其次在泰山區和新莊區交界附近(圖十 A)。而在 Q2 時期則主要發生在桃園區，其次在林口區和龜山區交界處(圖十 B)。而在 Q3 時期則主要發生在林口區和龜山區交界處，其次在台北市中山區(圖十 C)。其結果與 106 年的 Q1 (以中壢區為主)有些不同，而 Q2 和 Q3 則較相似之分佈。

106-107 年度北北桃沙門氏菌 GIS 感染熱區中採樣傳統市場及超級市場食材中沙門氏菌帶菌率的檢測: 為了進一步追蹤沙門氏菌可能的食媒性感染來源，因此我們依據圖十所繪製出的感染熱點地圖，挑選該區域中的傳統市場、黃昏市場、超級市場、大型量販店、麵包店、和火鍋店，採集其販賣或提供的食材，檢測是否帶有沙門氏菌。目前於 106-107 年度共檢測 301 件樣品，結果顯示豬肉、豬大腸、雞肉、海鮮和蔬菜被檢測出沙門氏菌，但是雞蛋和牛肉則都未被檢出，其中雞蛋可能因為已事先被 ClO_2 燻蒸消毒過、或水洗過後才出售。在比較來自傳統市場和超級市場食材之沙門氏菌檢出率上，以豬大腸[87.5% (7/8) vs. 0% (0/2); $P=0.016$]和豬肉為最高[74.6% (50/67) vs. 5.6% (1/18); $P<0.001$]，其次是雞肉[52.1% (25/48) vs. 33.3% (7/21); $P=0.151$]，而鴨肉[50.0% (1/2)，但無超市食材的比較]、海鮮[14.3% (1/7) vs. 0% (0/8); $P=0.268$]和蔬菜[9.1% (4/44) vs. 0% (0/20); $P=0.164$]也被檢測出帶有沙門氏菌(表十)。檢出率較高的檢體大多來自傳統市場，尤其豬肉之沙門氏菌帶菌率明顯高於其它來自超市的食材，因此推測傳統市場食材較容易被該環境所污染，而有較高的沙門氏菌帶原性(carriage)。

市場及病患提供食材之沙門氏菌依據其檢體來源、血清群別、血清型別與抗藥性分佈之分析: 進一步分析 106-107 年度食材來源之沙門氏菌的血清型和抗藥性，發現來自豬肉或豬大腸的 58 株沙門氏菌對臨床上最常使用的抗生素 ceftriaxone 和 ciprofloxacinrm 之抗藥性分

別是 12.1% 和 37.9%，而來自雞肉的 32 株沙門氏菌對 ceftriaxone 和 ciprofloxacin 之抗藥性分別是 12.5% 和 56.3%，以及相對於所有分離的菌株對 ceftriaxone 和 ciprofloxacin 之抗藥性分別是 11.2% 和 43.9% (表十一)。結果顯示不同血清型沙門氏菌之間的抗藥率是不同的，而且來自不同食材來源沙門氏菌之間的抗藥率也是不一樣。

來自雞肉和豬的沙門氏菌血清型 Goldcoast 對 ceftriaxone 和 ciprofloxacin 抗藥的菌株比率最高 [100% (2/2)]，而且其 MIC₅₀ [ceftriaxone (>256 µg/mL)；ciprofloxacin (1.0 µg/mL)] 和 MIC₉₀ [ceftriaxone (>256 µg/mL)；ciprofloxacin (1.5 µg/mL)] 也是最高 (表十二)。相對上，雖然血清型 Anatum 的抗藥菌株比率也很高，但其 MIC₅₀ [ceftriaxone (3 µg/mL)；ciprofloxacin (0.19 µg/mL)] 和 MIC₉₀ [ceftriaxone (8 µg/mL)；ciprofloxacin (0.25 µg/mL)] 則較低。另外來自於豬的沙門氏菌的 MIC₉₀ 則略大於來自雞肉的沙門氏菌 (表十二)。

在比較各個血清群沙門氏菌對 ceftriaxone 的抗藥率 (包括抗藥性和中度抗藥性) 上，發現以 serogroup E 為最高 [29.0% (9/31)]，其次是 serogroup C2 [10.5% (2/19)] (表十三)。比較各個血清群沙門氏菌對 ciprofloxacin 的抗藥率上，以 serogroup C2 為最高 [63.2% (12/19)]，其次依序為 serogroup E [61.3% (19/31)]、serogroup B [26.5% (9/34)]、和 serogroup C1 [25.0% (2/8)]。在比較各個血清型沙門氏菌對 ceftriaxone 的抗藥率 (包括抗藥性和中度抗藥性) 上，發現以 Goldcoast 為最高 [100% (2/2)]，其次是 Anatum [64.3% (9/14)]。在比較各個血清型沙門氏菌對 ciprofloxacin 的抗藥率上，以 Anatum 數量為最多 [71.4% 抗藥性 (10/14)]，其次依序 Albany [77.8% 抗藥性 (7/9)] 和 Derby [30.8% 抗藥性 (4/13)]。值得注意的是菌株數量不多，但對 ciprofloxacin 卻全都具有抗藥性 (100% 抗藥性) 之血清型，包括 Brancaster [3 株]、Stanley [2 株]、Goldcoast [2 株]、Give [5 株] 和 London [4 株] (表十三)。另外，發現 Agona 的菌株數雖然是第三多 (僅次於 Anatum 和 Derby)，但其對 ceftriaxone 和 ciprofloxacin 皆為敏感。

市場食材與臨床病人分離之沙門氏菌 Anatum 菌株親緣性之比較：為了進一步分析比較菌株間之親緣性，我們收集了來自 106-107 年度市場食材分離之 10 株 Anatum 菌株與 42 株臨床病人分離之 Anatum 菌株，並以 NGS 做全基因體定序 (圖十一)。全基因組親緣性圖譜顯示在這 52 株 Anatum 菌株中，可以劃分為三大族群 (clusters C1、C2 和 C3)。在 C2 族群中，遺傳變異的中位數 SNP 距離 (median single-nucleotide polymorphism distance) 是 10 SNP

和平均值(mean SNP distance)為 11.75 SNP，顯示在 C2 族群菌株遺傳的相似度和親緣度最高，其次是 C1 族群[遺傳變異的中位數距離是 31 SNP 和平均值為 25.53]。C1 與 C2 間則有平均值距離 80.52 SNP 的遺傳差異性，然而明顯與 C3 族群[遺傳變異的中位數距離是 102 SNP 和平均值為 119.3 SNP]具有更高的遺傳差異性。屬於 C2 族群中的 Anatum 菌株有著高度的親緣相似性(mean SNP: 11.75)，顯示這些來自市場食材與臨床檢體所分離的菌株很可能都來自相同的原始菌株。其次在 C1 族群中的 Anatum 菌株，也具有高度的親緣相似性(mean SNP: 25.53)，它們也包含了來自市場食材與臨床檢體所分離的菌株，顯示也很可能都來自相同的原始菌株。

五、總結

在 107 年度 1-10 月中，我們依據林口長庚醫院 508 位沙門氏菌感染病患臨床資料和居家地理位置所繪製的感染熱點地圖，檢測熱點區域中傳統市場和超級市場所販賣食材的沙門氏菌帶菌率，發現傳統市場豬肉(74.6%，50/67)、豬大腸(87.5%，7/8)和雞肉(52.1%，25/48)的帶菌率最高。然而，雞蛋的檢出率仍為零(0/36)，可能蛋在販賣前已有適當的前處理了，如薰蒸和泡藥水洗[鄭智翔。103 農科-2.1.5-畜-L1(2)]。在美國最近也有類似的發表，指出在全美的超市肉品的超級細菌的帶菌率可高達 80%，如火雞絞肉(79%)、豬排(71%)、以及雞胸、翅膀和大腿(36%) (Wachs D., 2018. <https://doctordaliah.wordpress.com/2018/06/29/superbugs-found-on-nearly-80-of-our-grocery-meat/>)。在台灣最近的研究也指出不同規模肉雞電宰隻肉雞屠體微生物品質的調查顯示沙門氏菌的檢出率為 28.1% (徐本立。2001 年 6 月)。對於肉品屠體的運輸、分切處理、市場肉舖販賣、以及居家衛生的設施等流程中可能遭受的汙染，可能來自於其過程中逐漸放大食材汙染沙門氏菌的機會，因此，應加強此環節的檢測和提出可能的改善措施。

另一方面，我們透過問卷調查，釐清可能造成感染沙門氏菌的危險因子，以及居家採檢和檢測病患提供的食材，但只發現一例嬰兒因為食用了暫時被 *S. Agona* 汙染的米精，可能因而導致感染 *S. Agona*。顯示居家衛生及如何避免食品汙染的保存及快速消毒措施等相關觀念應該加強(圖十二)。

因此，初步建議改善民眾烹煮及飲食習慣應注意以下阻斷沙門氏菌傳染途徑的措施 (根據 Silva & Gibbs. Food Research International. 2012; 45: 695):

1. 因為問卷內容由長輩/祖父母照顧感染沙門氏菌風險值(odds ratio)較高，且大部分飲食習慣為從傳統市場購入肉類進入家裡自煮，有可能嬰幼兒之感染是來自於料理習慣不良及環境汙染所造成。
2. 嬰幼兒是主要感染對象，由於他們大部分都還在喝奶粉、米精，大部分廠牌之奶粉及米精都有附勺匙，如餵食者泡奶粉時手部並未消毒完全，很有機會將沙門氏菌帶入粉末中。台灣氣候潮濕(相對溼度經常>60%，因此，有利於微生物的生長)，勺匙連把手部分都未入粉末中有可能繁殖沙門氏菌；又因泡奶粉時大部份的家長幾乎都使用 42 度左右之溫開水(奶瓶恆溫器一般設定之溫度)簡單泡開即餵嬰幼兒食用，如果奶粉中已遭受沙門氏菌汙染，此溫度及浸泡時間均不足以達到殺菌之效果，嬰幼兒免疫力又相較於大人低，因此攝入低菌數的沙門氏菌可能就會造成感染致病。

因此基於此理由欲阻斷沙門氏菌可能造成疾病發生，建議可由下列方法：

- (1) 奶粉勺匙應保持乾燥、乾淨。
 - (2) 奶粉勺匙不應置於奶粉罐中，應另外存放，並常清洗和乾燥處裡。
 - (3) 奶粉、米精等應保存於乾燥之環境中，並於開封後一個月內食用完畢，如仍未食用完應丟棄避免孳生細菌。
 - (4) 泡奶粉時的溫度應該至少達 65.6°C 以上，才有降低 1 個 log 以上的沙門氏菌數。
3. 於問卷訪問中仍有部分感染患者家中生熟食砧板共用，由於豬肉、雞肉生肉中含有沙門氏菌之可能性較高，因此生熟食共用砧板容易造成沙門氏菌交叉汙染。

在分子檢測沙門氏菌上，目前我們已檢測出分別來自市場食材和臨床檢體所分離之沙門氏菌菌株，如依據食材沙門氏菌檢出率的多寡排序，依序為 *S. Anatum* (serogroup E)、*S. Derby* (serogroup B)、*S. Agona* (serogroup B)、*S. Albany* (serogroup C2)、*S. Muenster* (serogroup E)、*S. Typhimurium* (serogroup B)、*S. Give* (serogroup E)、*S. Kentucky* (serogroup C2)、*S. Enteritidis* (serogroup D)等。這些血清型菌株有許多對 ceftriaxone 或 ciprofloxacin 具抗藥性，其中值得注意的是同時對此兩種抗生素具有高度抗藥性的血清型 *Anatum* 和 *Goldcoast*，而且它們主要分離來自豬肉、豬大腸和雞肉。我們更進一步以 WGS 和 phylogenetic tree 分析血清型 *Anatum* 遺傳親緣性的比對圖譜，證實這些來自食材的 10 株 *S. Anatum* 菌株與 42 株來自臨床病患所分離菌株的全基因體序列，發現有兩大族群(clusters C1 和 C2)有著極高的遺傳親緣相似度(平均值 <25.53 SNP)，顯示它們可能源自相同的原始菌株。

六、 未來工作

在 107 年度中，我們以分子檢測了分別來自市場食材和臨床檢體所分離之沙門氏菌菌株。在第二年中我們已擴大食材之檢測，並發現 *S. Anatum* 分離自豬肉檢體之比例是最高的(17.2%, 10/58)，又傳統市場的豬肉沙門氏菌帶菌率明顯高於來自超級市場的豬肉[74.6% (50/67) vs. 5.6% (1/18); $P < 0.001^{***}$]，具有顯著差異；由於人力及預算均有限，因此我們將於第三年的研究重點放在豬肉上，特別是屠體之運輸、分切處理、以及市場肉舖販賣等，並檢測沙門氏菌在運送和販賣的環境及流程中是否有交叉汙染、帶菌率逐漸放大的效應。採樣檢體經由 USDA 標準培養法分離篩選沙門氏菌株與 PCR 驗證之後，分別以多重核酸擴增技術(multiplex PCR)和多位點序列分型法(MLST)，決定菌株的血清分型。另一方面，也將利用次世代基因定序方法(NGS, next generation sequencing; ≈ 50 copies of coverage/genome; miSeq, Illumina™)，分析生產線流程、市場豬肉檢體與臨床病人感染間之沙門氏菌親緣性關係，以基因的角度做為可能是否為傳染來源之佐證。

此外基於前兩年問卷收案之基礎，以及 107 年度居家採檢曾從嬰幼兒病患食用之米精檢體中分離出與感染同血清型之沙門氏菌，由於未滿一歲嬰幼兒飲食較單純，推測嬰幼兒感染沙門氏菌可能和照顧者的照顧及餵食習慣有關。依照 107 年度 190 名未滿 5 歲兒童及嬰幼兒問卷之風險比(odds ratio)分析結果，其中「收案對象白天主要由何者照顧/祖父母或其它長輩」之 odds ratio 為 1.70 (患者 28%、健康對照組 19%)，及「照顧場所及住家的飲用水過濾加熱方法/濾水器+瓦斯爐煮沸」之 odds ratio 為 2.00 (患者 39%、健康對照組 24%)。我們推估未滿 1 歲嬰幼兒在成人照顧及餵食習慣的差異 odds ratio 會更明顯，以 107 年度之問卷結果來估算若需取得更高之 statistical significance and power，病患組及對照組之比例需為 1:4。Sample size 的評估方面，林口長庚 106 年度全年未滿 1 歲之沙門氏菌收治患者為 64 名、107 年度 1-10 月為 73 名，因部份患者只在急診或門診做 swab 採檢糞便培養並未住院難以追蹤並收案，且考量 108 年度經費及人力非常有限，因此預計於 108 年度集中收案 20 名未滿 1 歲感染沙門氏菌之嬰幼兒作為病患組，及收案 80 名並無腸胃道感染症狀之健康嬰幼兒作為對照組。問卷內容除了延續前年的內容之外，再針對食材購買來源及餵食習慣等做更進一步之分析，以釐清未滿 1 歲之嬰幼兒可能的沙門氏菌感染途徑。

因此，第三年主要的工作內容如下：

1. 利用全基因體序列分析(WGS) 持續分析進行沙門氏菌重要 MDR 血清型菌株於市場採樣陽性與病患分離菌株之基因親緣性評估。
2. 往市場端上游追溯，檢測豬隻屠體在轉運出屠宰場後之運輸流程中、分切處理及販售端之汙染比例，評估可能放大汙染及交叉汙染之節點。
3. 分析未滿一歲嬰幼兒之 Case-Control Study，評估未滿一歲感染沙門氏菌之嬰幼兒與對照組健康嬰幼兒之暴露風險比(Odds Ratio)，以作為未來防治及阻斷嬰幼兒感染沙門氏菌之參考。

藉此檢測系統的建立，將有助於繪製沙門氏菌在人類和食物之間跨物種傳染的地理分佈、風險圖像與細菌親緣相關聯之圖譜，以及分析從農場到餐桌(from Farm to Table)和從農場到排泄(from Farm to Flush)等可能感染的關鍵點，提出防治策略和施行實地調查與試驗，來阻斷可能跨物種傳染的途徑。希望透過我們這三年的監控計畫，能有具體的防治成效，和降低人類透過食物途徑感染沙門氏菌的機會，進而做為防治或阻斷沙門氏菌跨物種傳染相關公共政策制定之參考。

七、 致謝

感謝台中 CDC 邱乾順教授幫忙 PFGE 之分析。

八、 參考資料

- 1 Bottichio L, Medus C, Sorenson A, et al. Outbreak of *Salmonella* Oslo Infections Linked to Persian Cucumbers - United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:1430-1433.
- 2 Bell RL, Jarvis KG, Ottesen AR, McFarland MA, Brown EW. Recent and emerging innovations in *Salmonella* detection: a food and environmental perspective. *Microb Biotechnol.* 2016;9(3):279-92.
- 3 Bottichio L, Medus C, Sorenson A, Donovan D, Sharma R, Dowell N, Williams I, Wellman A, Jackson A, Tolar B, Griswold T, Basler C. Outbreak of *Salmonella* Oslo Infections Linked to Persian Cucumbers - United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65(5051):1430-1433.
- 4 Chiou CS, Torpdahl M, Liao YS, Liao CH, Tsao CS, Liang SY, Wang YW, Kuo JC, Liu YY. Usefulness of pulsed-field gel electrophoresis profiles for the determination of *Salmonella* serovars. *Int J Food Microbiol.* 2015;214:1-3.

- 5 Chiu LH, Chiu CH, Horn YM, Chiou CS, Lee CY, Yeh CM, Yu CY, Wu CP, Chang CC, Chu C. Characterization of 13 multi-drug resistant *Salmonella* serovars from different broiler chickens associated with those of human isolates. *BMC Microbiol.* 2010;10:86.
- 6 Chu C, Wong DW, Wang MH, Lin HH, Chen YS, Tien N, Shih MC, Chen TH, Chiu CH. Genotyping, plasmid analysis, and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates from humans and chickens in central Taiwan. *J Formos Med Assoc.* 2009;108(10):765-71.
- 7 Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 24th informational supplement. M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- 8 Deak E, Hindler JA, Skov R, Sjölund-Karlsson M, Sokovic A, Humphries RM. Performance of Etest and disk diffusion for detection of ciprofloxacin and levofloxacin resistance in *Salmonella enterica*. *J Clin Microbiol.* 2015;53(1):298-301.
- 9 Gambino-Shirley K, Stevenson L, Concepción-Acevedo J, et al. Flea market finds and global exports: Four multistate outbreaks of human *Salmonella* infections linked to small turtles, United States-2015. *Zoonoses Public Health.* 2018 Mar 25. doi: 10.1111/zph.12466.
- 10 Gautam D, Dobhal S, Payton ME, Fletcher J, Ma LM. Surface survival and internalization of *Salmonella* through natural cracks on developing cantaloupe fruits, alone or in the presence of the melon wilt pathogen *Erwinia tracheiphila*. *PLoS One.* 2014;9:e105248.
- 11 Hassan R, Rounds J, Sorenson A, Leos G, Concepción-Acevedo J, Griswold T, Tesfai A, Blessington T, Hardy C, Basler C. Multistate Outbreak of *Salmonella* Anatum Infections Linked to Imported Hot Peppers - United States, May-July 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2017;66(25):663-667.
- 12 Lee YI, Lin TY, Hsu SW, Huang LC, Huang WT, Liao YS, Chiou CS. *Salmonella* Enteritidis outbreak linked to a bakery in Kinmen, Taiwan, November 2016. *Taiwan Epidemiol Bullet.* 2018;34:147-152.
- 13 Jiang Y, Sokorai K, Pyrgiotakis G, Demokritou P, Li X, Mukhopadhyay S, Jin T, Fan X. Cold plasma-activated hydrogen peroxide aerosol inactivates *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria innocua* and maintains quality of grape tomato, spinach and cantaloupe. *Int J Food Microbiol.* 2017;249:53-60.
- 14 Kim S, Frye JG, Hu J, Fedorka-Cray PJ, Gautam R, Boyle DS. Multiplex PCR-based method for identification of common clinical serotypes of *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. *J Clin Microbiol.* 2006;44(10):3608-15.
- 15 Kumar R, Surendran PK, Thampuran N. Evaluation of culture media for selective enrichment and isolation of *Salmonella* in seafood. *J AOAC Int.* 2010;93(5):1468-71.
- 16 Lee HY, Su LH, Tsai MH, Kim SW, Chang HH, Jung SI, Park KH, Perera J, Carlos C, Tan BH, Kumarasinghe G, So T, Chongthaleong A, Hsueh PR, Liu JW, Song JH, Chiu CH. High rate of reduced susceptibility to ciprofloxacin and ceftriaxone among nontyphoid *Salmonella* clinical isolates in Asia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(6):2696-9.

- 17 Malorny B, Paccassoni E, Fach P, Bunge C, Martin A, Helmuth R. Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. *Appl Environ Microbiol*. 2004;70(12):7046-52.
- 18 Marshall KEH, Tewell M, Tecele S, et al. Protracted Outbreak of *Salmonella* Newport Infections Linked to Ground Beef: Possible Role of Dairy Cows - 21 States, 2016-2017. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2018;67:443-446.
- 19 Mermin J, Hoar B, Angulo FJ. Iguanas and *Salmonella marina* infection in children: a reflection of the increasing incidence of reptile-associated salmonellosis in the United States. *Pediatrics*. 1997;99(3):399-402.
- 20 Monfort S, Gayán E, Condón S, Raso J, Alvarez I. Design of a combined process for the inactivation of *Salmonella* Enteritidis in liquid whole egg at 55°C. *Int J Food Microbiol*. 2011;145(2-3):476-82.
- 21 Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. 2002. Enterobacteriaceae. *Vet Microbiol Microb Dis*. 2002; 106-123.
- 22 Sato Y, Mori T, Koyama T, Nagase H. *Salmonella* virchow infection in an infant transmitted by household dogs. *J Vet Med Sci*. 2000 Jul;62(7):767-9.
- 23 Silva FVM, Gibbs PA. Thermal pasteurization requirements for the inactivation of *Salmonella* in foods. *Food Research International*. 2012; 45: 695–699
- 24 Stephen J, Edward C. Textbook of Veterinary Internal Medicine Expert Consult, 7th Edition. 2010.
- 25 Su LH, Teng WS, Chen CL, Lee HY, Li HC, Wu TL, Chiu CH. Increasing ceftriaxone resistance in salmonellae, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2011;17:1086-1090.
- 26 Su LH, Wu TL, Chiu CH. Decline of *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis infections, Taiwan. *Emerg Infect Dis*. 2014;20:715-6.
- 27 Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, Tauxe RV; CDC PulseNet Task Force. PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States. *Emerg Infect Dis*. 2001;7(3):382-9.
- 28 Wachs D. Superbug's Found on Nearly 80% of Our Grocery Meat. 2018 June. <https://doctordaliah.wordpress.com/2018/06/29/superbugs-found-on-nearly-80-of-our-grocery-meat/>. Available on Nov. 15, 2018.
- 29 Yu CY, Chou SJ, Yeh CM, Chao MR, Huang KC, Chang YF, Chiou CS, Weill FX, Chiu CH, Chu CH, Chu C. Prevalence and characterization of multidrug-resistant (type ACSSuT) *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strains in isolates from four gosling farms and a hatchery farm. *J Clin Microbiol*. 2008;46(2):522-6.
- 30 Zheng Q, Mikš-Krajnik M, D'Souza C, Yang Y, Heo DJ, Kim SK, Lee SC, Yuk HG. Growth of healthy and sanitizer-injured *Salmonella* cells on mung bean sprouts in different commercial enrichment broths. *Food Microbiol*. 2015;52:159-68.
- 31 邱乾順。 *Salmonella* 與 *Listeria* 食媒性病原之分子分型監測與流行病學分析。台灣衛生福利部疾病管制署 102 年委託科技研究計畫研究報告。
- 32 周倩玉、陳珮甄、吳修儀、蔡玉芳、董曉萍、顏哲傑。2015 年 4 月至 2016 年 4 月臺北區六縣市

腹瀉群聚流行病學分析報告。疫情報導: 2017; 33: 31-37。

- 33 蔡宇馨；2009 年中部地區產蛋雞與帶殼蛋之沙門氏菌監測調查；
<http://hdl.handle.net/11455/66347>。
- 34 食品微生物之檢驗方法－沙門氏桿菌之檢驗。102 年 12 月 23 日部授食字第 1021951187 號公告修正。。
- 35 邱乾順、廖盈淑、廖春杏等：國內沙門氏菌感染症監測與流行現況。疫情報導 2015；31(10)：235-43。
- 36 蔡宜臻、陳婉青、廖盈淑、邱乾順、陳珮甄、簡玉潔、郭宏偉：2014 年新北市淡水區沙門氏菌群聚感染溯源調查。疫情報導 2015；34：153-158。
- 37 徐本立。台灣地區不同規模肉雞電宰場之屠體衛生品質調查。碩士論文。國立中興大學畜產學系。2001 年 6 月。
- 38 鄭智翔。種禽蛋消毒與孵化率提升技術及運送箱品質之研究。行政院農業委員會畜產試驗所 103 年度科技計畫研究報告。103 農科-2.1.5-畜-L1(2)。

九、預定進度及 Milestone

每月/季執行之目標 (milestone)

107 年	預定及實際執行項目
第一季 (1~3 月)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 繼續完成 106 全年度之臨床統計 2. 統計分析 107 年 1~2 月臨床資料 3. 製作感染風險地圖 4. 臨床沙門氏菌患者問卷收案
第二季 (4~6 月)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 繼續完成 106 全年度之臨床統計 2. 統計分析 107 年 1~5 月臨床資料 <ol style="list-style-type: none"> (1) 臨床菌株的收集 (2) 臨床菌株之血清分群或血清分型 3. 製作感染風險地圖 4. 臨床沙門氏菌患者問卷收案 5. 收案對象之居家可疑汙染食物培養 6. 沙門氏菌熱點市場採樣、培養及陽性檢體菌株鑑定(血清分群或血清分型) 7. 繳交期中報告及口頭報告
第三季 (7~9 月)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 統計分析 107 年 1~8 月臨床資料 <ol style="list-style-type: none"> (1) 臨床菌株的收集 (2) 臨床菌株之血清分群或血清分型 2. 製作感染風險地圖 3. 臨床沙門氏菌患者問卷收案 4. 收案對象之居家剩餘食物培養 5. 沙門氏菌熱點市場採樣、培養及陽性檢體菌株鑑定(血清分群或血清分型) 6. 市場陽性檢體之菌株抗藥性檢測
第四季 (10~12 月)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 統計分析 107 年 1~10 月臨床資料 2. 製作感染風險地圖 3. 依照 106 年度及 107 年度之臨床問卷評估感染沙門氏菌之高風險食物 4. 市場陽性檢體之菌株抗藥性檢測 5. 重點菌株 WGS 序列檢測 6. 探討病患感染之沙門氏菌重要血清型與市場採樣陽性菌株之地理分佈與基因序列親源關係

- | | |
|--|--|
| | <ol style="list-style-type: none">7. 查詢國內外文獻針對阻斷沙門氏菌各層面之傳染途徑以做為來年研究內容之設計及評估8. 初步建議改善民眾烹煮及飲食習慣以阻斷傳染途徑的措施 |
|--|--|

計畫主持人簽名：



日期： 107 年 11 月 22 日

十、107 年度期中報告繳交前應完成工作項目表

計畫編號：MOHW107-CDC-C-114-123505

計畫名稱：沙門氏菌之跨物種間感染、監測與管理機制之研究

計畫主持人：陳奇良

執行機構：長庚醫療財團法人林口長庚紀念醫院

依計畫書內容 107 年度期中報告繳交前應完成工作項目：

項次	項目	完成時間
1	A.繼續完成 106 全年度之臨床統計 B.製作感染風險地圖	第一季 (1~3 月)
2	臨床沙門氏菌患者問卷收案	第一季 (1~3 月)
3	A.臨床沙門氏菌患者問卷收案 B.統計分析 107 年度 1~5 月臨床資料 ■ 臨床菌株的收集 ■ 臨床菌株之血清分群或血清分型	第二季 (4~6 月)
4	熱點市場採檢及分析	第二季 (4~6 月)
3	繳交期中報告及口頭報告	第二季 (4~6 月)

(請依計畫目標自行調整項目數)

計畫主持人簽名：



日期：107 年 11 月 22 日

十一、107 年度全程應完成工作項目表

計畫編號：MOHW107-CDC-C-114-123505

計畫名稱：沙門氏菌之跨物種間感染、監測與管理機制之研究

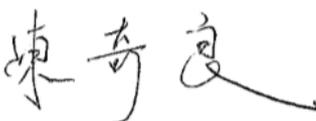
計畫主持人：陳奇良

執行機構：長庚醫療財團法人林口長庚紀念醫院依計畫書內容

107 年度全程應完成工作項目：

項次	項目	完成時間
1	繼續完成 106 全年度之臨床統計	第一季 (1~3 月)
2	繳交期中報告及口頭報告	第二季 (4~6 月)
3	收案對象之居家剩餘食物培養	第三季 (7~9 月)
4	熱點市場採檢及分析、培養	第三季 (7~9 月)
5	熱點市場陽性檢體分離出之菌株鑑定(血清分群或血清分型)、抗藥性檢測	第四季 (10~12 月)
6	重點菌株 WGS 序列檢測	第四季 (10~12 月)
7	臨床沙門氏菌及非沙門氏菌對照組患者問卷收案及分析整理	第四季 (10~12 月)
8	統計分析 107 年度 1~10 月臨床資料	第四季 (10~12 月)
9	製作感染風險地圖	第四季 (10~12 月)

10	探討病患感染之沙門氏菌重要血清型與市場採樣陽性菌株之地理分佈與基因序列親源關係	第四季 (10~12月)
11	查詢國內外文獻針對阻斷沙門氏菌各層面之傳染途徑以做為來年研究內容之設計及評估	第四季 (10~12月)
12	初步建議改善民眾烹煮及飲食習慣以阻斷傳染途徑的措施	第四季 (10~12月)

計畫主持人簽名： 

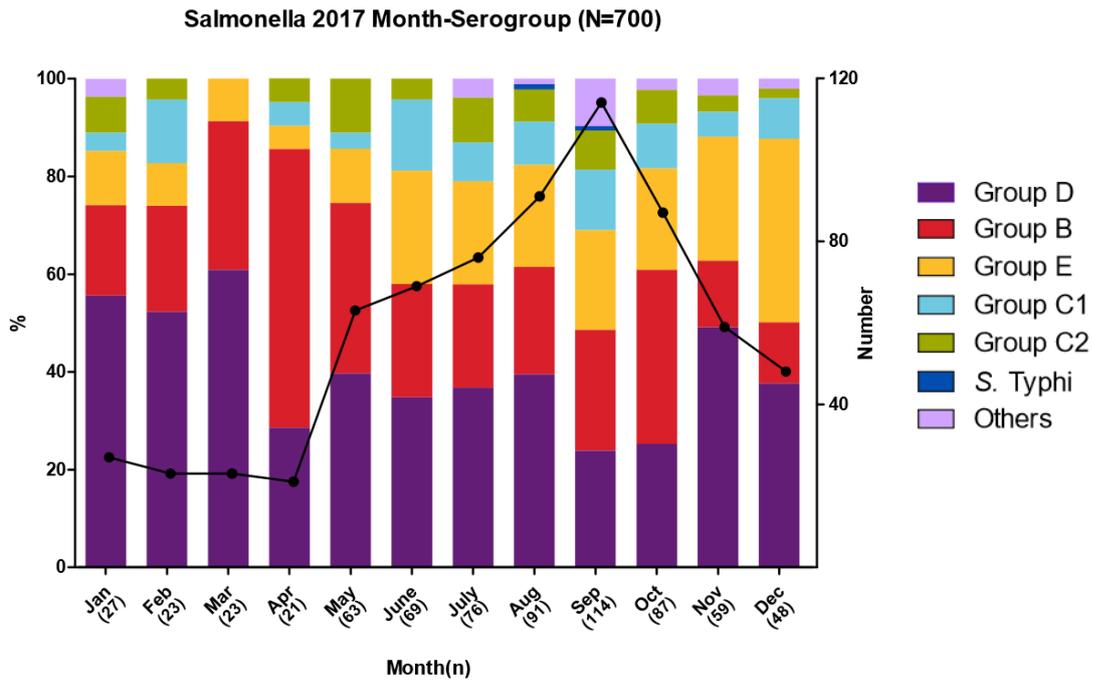
日期：107/11/22

表四、106 年度全年林口長庚臨床沙門氏菌感染之分析 (N=700)

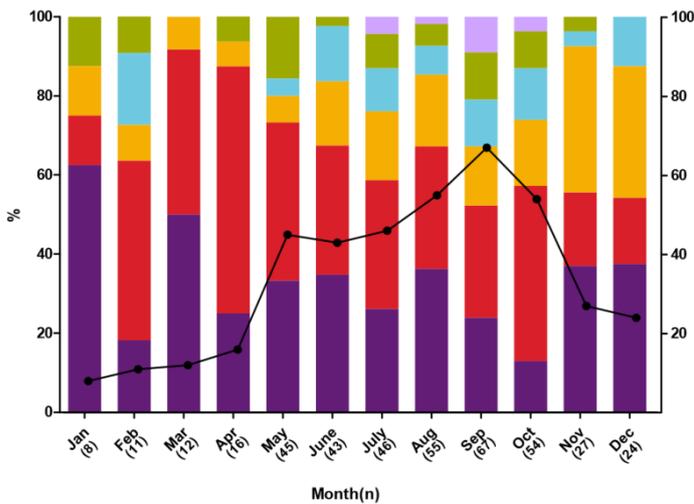
Age (year) N=700	No. (%)	臨床檢體來源				血清分群 (Serogroup)						
		SSS# 糞便	Blood 血液	Urine 尿液	Others [†] 其他	B	C1	C2	D	E	S. Typhi	Others
< 1	64 (9.1)	57 (89.1)	5 (7.8)	2 (3.1)	0 (0)	29 (45.3)	8 (12.5)	5 (7.8)	8 (12.5)	12 (18.8)	0 (0)	2 (3.1)
1-4	343 (49.0)	315 (91.9)	23 (6.7)	3 (0.8)	2 (0.6)	107 (31.3)	30 (8.7)	27 (7.9)	113 (32.9)	57 (16.6)	0 (0)	9 (2.6)
5-17	44 (6.3)	40 (90.9)	1 (2.3)	3 (6.8)	0 (0)	7 (15.9)	5 (11.4)	0 (0)	19 (43.2)	13 (29.5)	0 (0)	0 (0)
18-59	117 (16.7)	61 (52.1)	40 (34.2)	9 (7.7)	7 (6)	10 (8.5)	9 (7.7)	3 (2.6)	58 (49.6)	33 (28.2)	2 (1.7)	2 (1.7)
≥ 60	132 (18.9)	54 (40.9)	51 (38.6)	17 (12.9)	10 (7.6)	23 (17.4)	8 (6.1)	10 (7.6)	58 (43.9)	25 (18.9)	0 (0)	8 (6.1)
Total	700 (100)	527 (75.3)	120 (17.1)	34 (4.9)	19 (2.7)	176 (25.1)	60 (8.6)	45 (6.4)	256 (36.6)	140 (20.0)	2 (0.3)	21 (3.0)

#: SSS: 糞便; †: 傷口、膿、腹水、膿瘍、深層組織、關節液、胸膜腔液。Others: Serogroup G 及 *Salmonella* sp.。

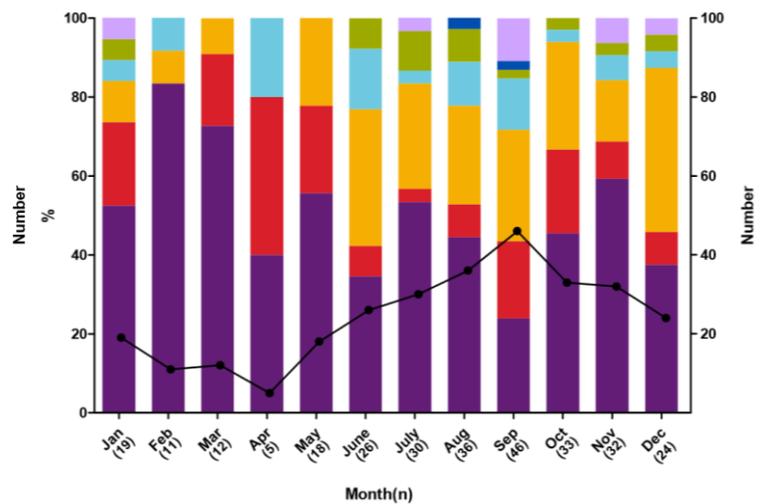
(A) 106 年度所有臨床沙門氏菌感染之分析 (N=700)



(B) < 5 y/o (N=408)

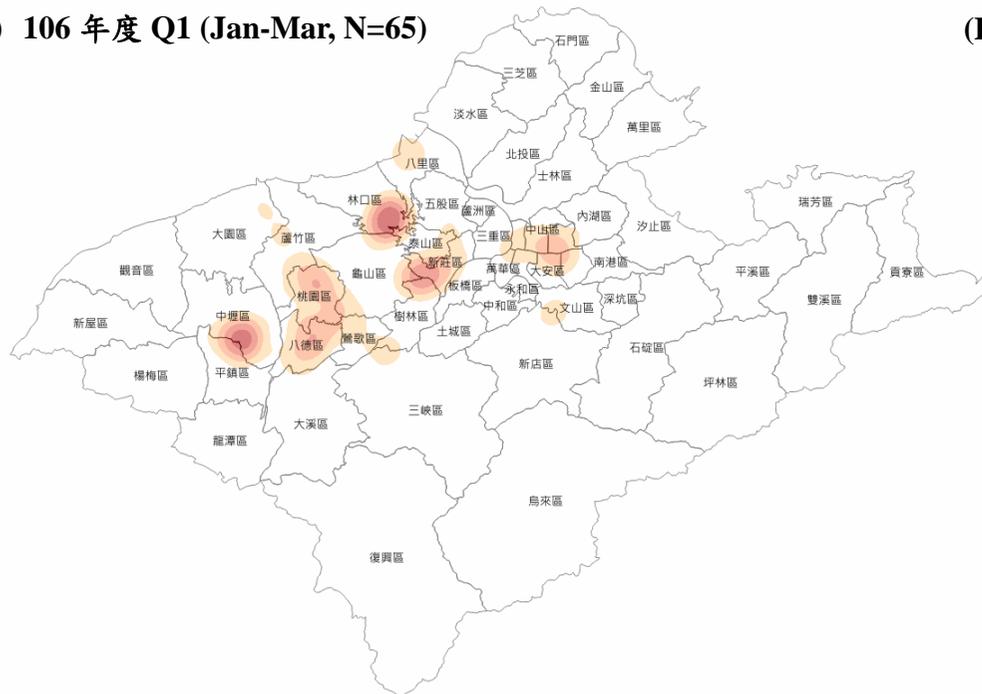


(C) ≥ 5 y/o (N=292)

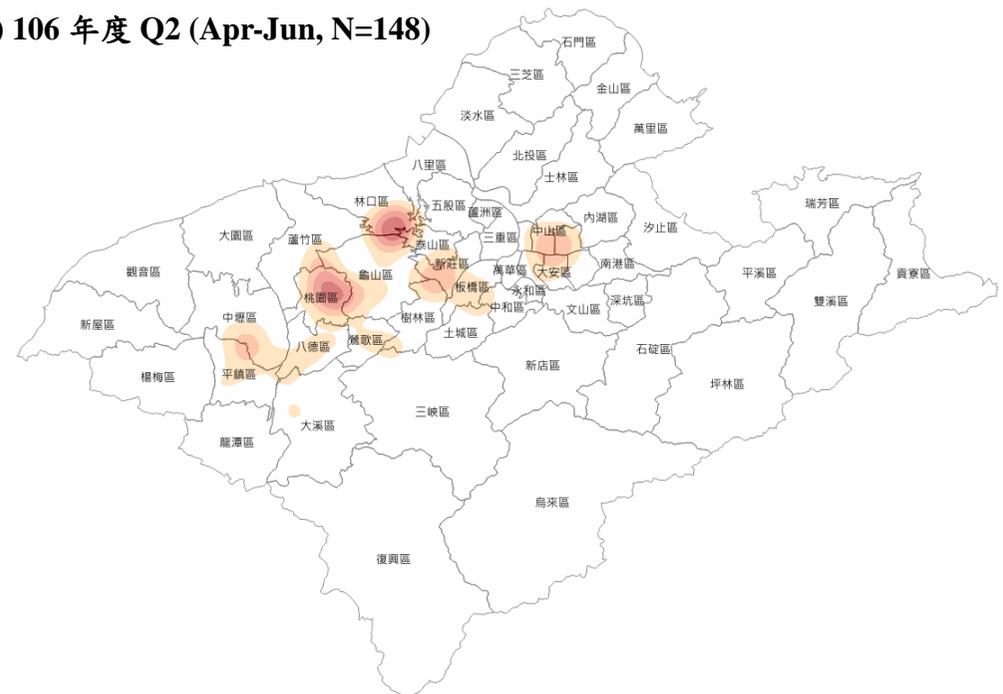


圖四、106 年全年度北北桃長庚臨床沙門氏菌感染之分析 (N=700)。(A)所有沙門氏菌感染依據月分和 serogroup 分群之分佈。(B) 小於五歲病患沙門氏菌感染依據月份和 serogroup 分群之分佈。(C) 大於等於五歲病患沙門氏菌感染依據月分和 serogroup 分群之分佈。

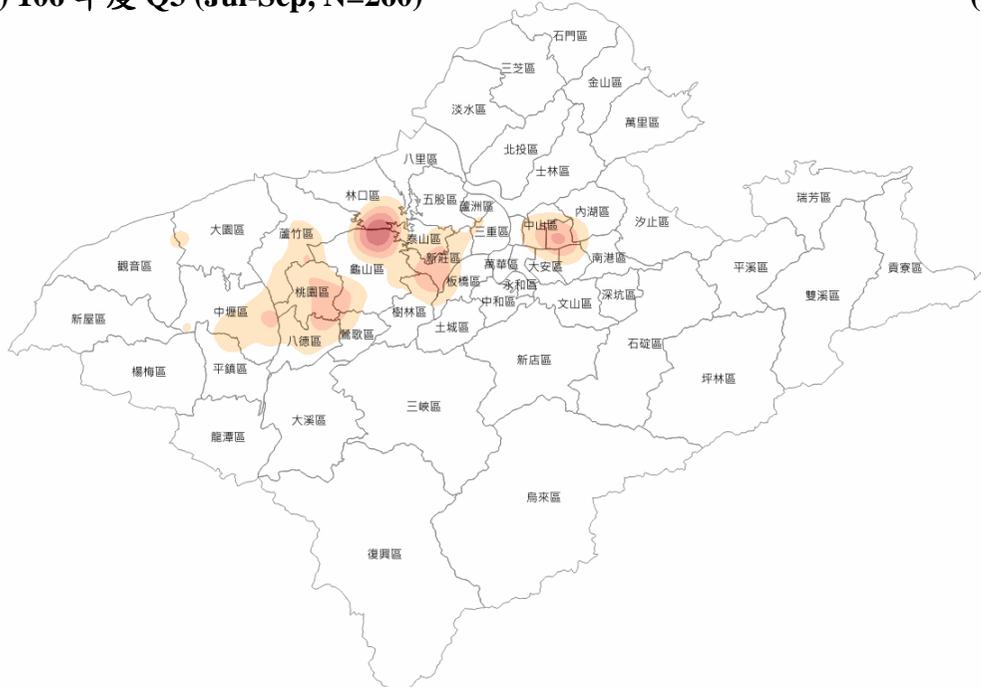
(A) 106 年度 Q1 (Jan-Mar, N=65)



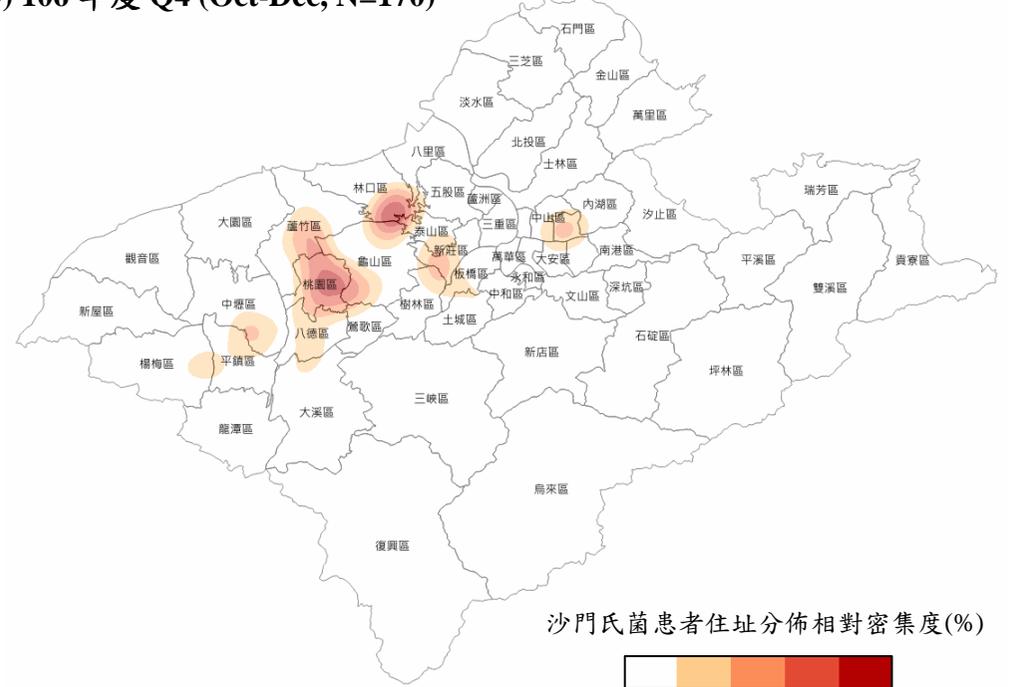
(B) 106 年度 Q2 (Apr-Jun, N=148)



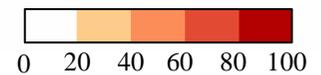
(C) 106 年度 Q3 (Jul-Sep, N=260)



(D) 106 年度 Q4 (Oct-Dec, N=170)

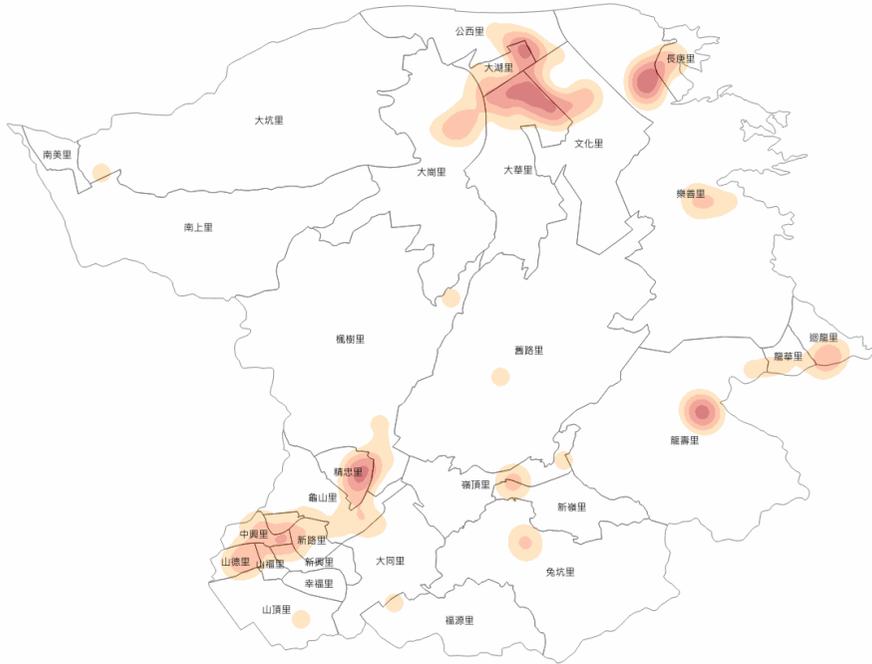


沙門氏菌患者住址分佈相對集中度(%)

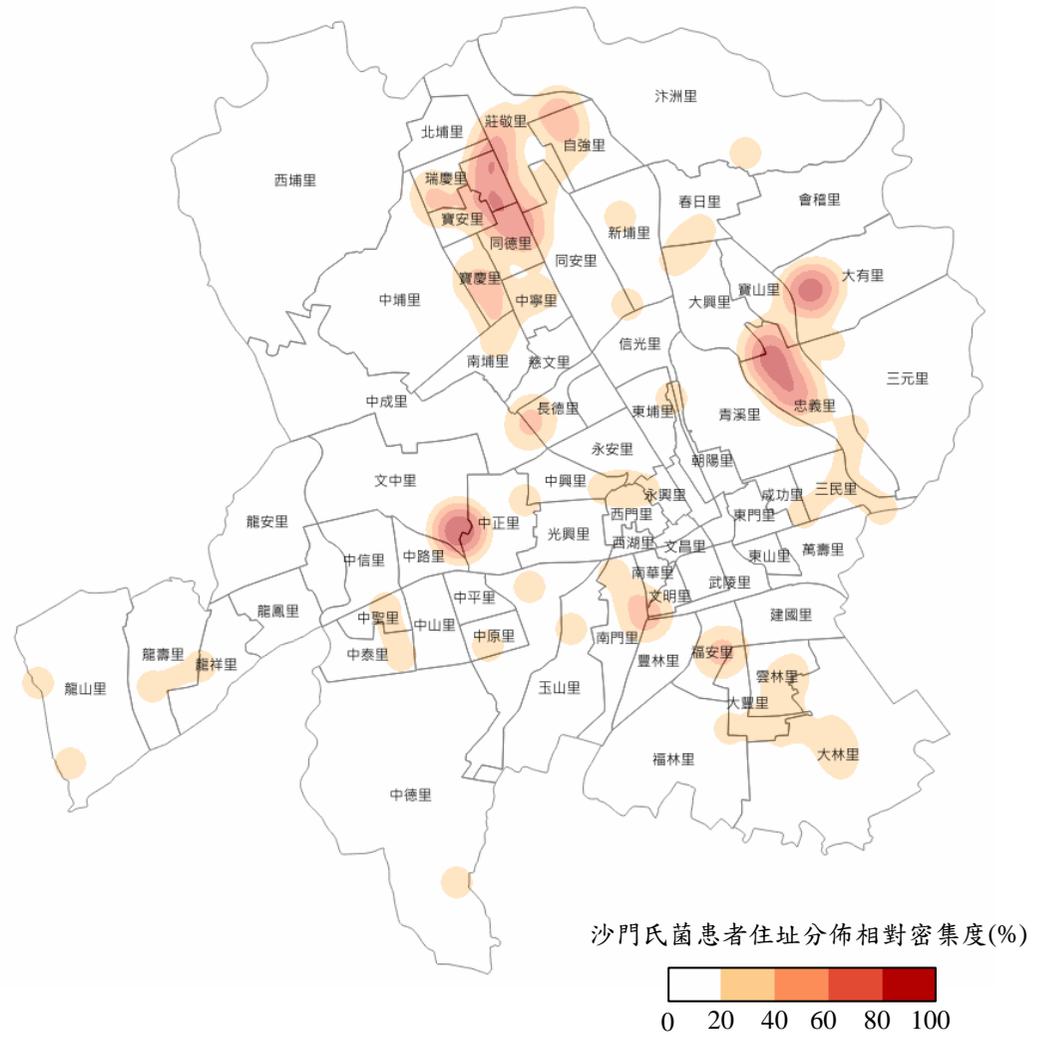


圖五、106 年度 Q1-Q4 各季北北桃沙門氏菌之 GIS 縣市區域之感染熱點地圖(heatmap)

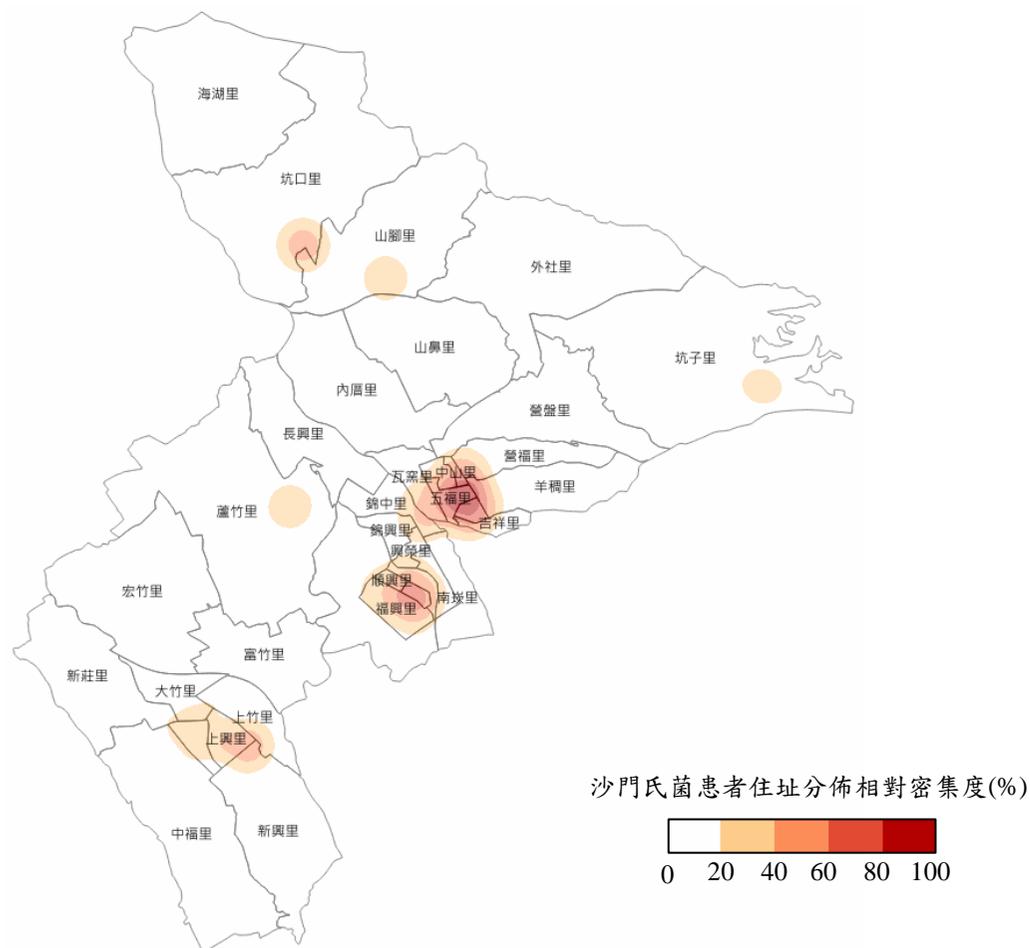
(A) 龜山區



(B) 桃園區



(E) 蘆竹區



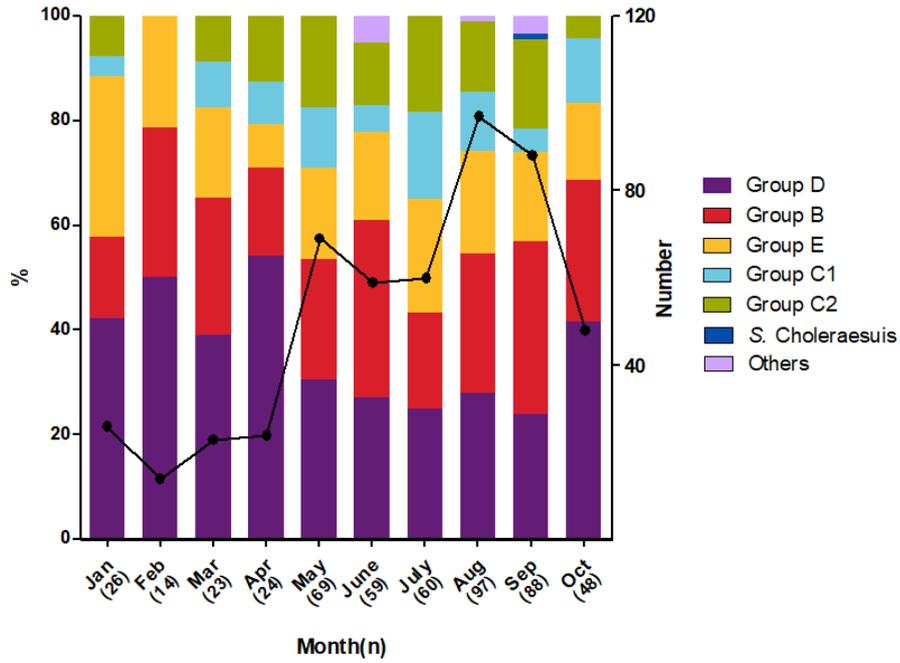
圖六、106 年全年度北北桃前五大單一行政區域沙門氏菌感染熱區圖。龜山區桃園區林口區中壢區蘆竹區。(A)龜山區(n=73)；(B)桃園區(n=73)；(C)林口區(n=55)；(D)中壢區(n=45)；和(E)蘆竹區(n=43)

表五、107 年度 1-10 月林口長庚臨床沙門氏菌感染之分析 (N=508)。

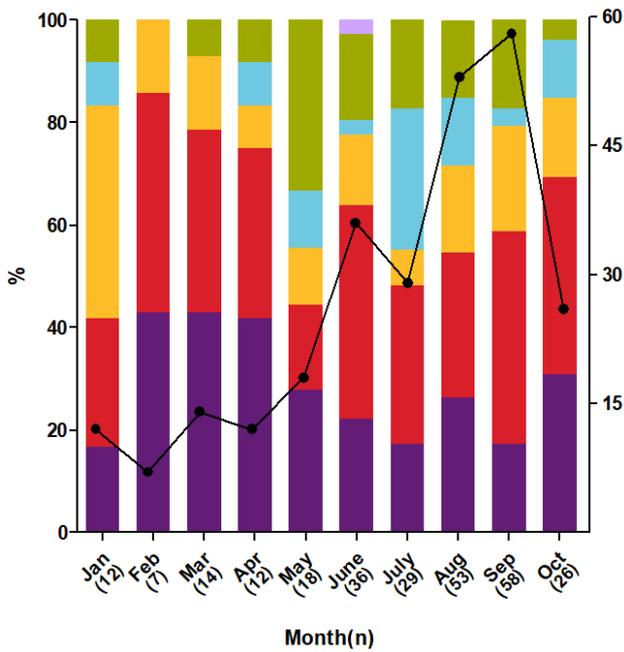
Age (year) N=508	No. (%)	臨床檢體來源				血清分群 (Serogroup)						
		SSS# 糞便	Blood 血液	Urine 尿液	Others [†] 其他	B	C1	C2	D	E	S. Choleraesuis	Others
< 1	73 (14.4)	59 (80.8)	11 (15.1)	2 (2.7)	1 (1.4)	29 (39.7)	9 (12.3)	18 (24.7)	11 (15.1)	6 (8.2)	0 (0)	0 (0)
1-4	213 (41.9)	191 (89.7)	20 (9.4)	2 (0.9)	0 (0)	70 (32.9)	19 (8.9)	22 (10.3)	62 (29.1)	39 (18.3)	0 (0)	1 (1.4)
5-17	20 (3.9)	19 (95.0)	0 (0)	1 (5.0)	0 (0)	4 (20.0)	5 (25.0)	1 (5.0)	3 (15.0)	7 (35.0)	0 (0)	0 (0)
18-59	105 (20.7)	62 (59.0)	25 (23.8)	7 (6.7)	11 (10.5)	14 (13.3)	6 (5.7)	16 (15.2)	41 (39.0)	28 (26.7)	0 (0)	0 (0)
≥ 60	97 (19.1)	35 (36.1)	49 (50.5)	6 (6.2)	7 (7.2)	16 (16.5)	8 (8.2)	10 (10.3)	43 (44.4)	14 (14.4)	1 (1.0)	5 (5.2)
Total	508 (100)	366 (72.1)	105 (20.7)	18 (3.5)	19 (3.7)	133 (26.2)	47 (9.3)	67 (13.2)	160 (31.5)	94 (18.5)	1 (0.2)	6 (1.1)

#: SSS: 糞便；†: 傷口、膿、腹水、膿瘍、深層組織、關節液、胸膜腔液。Others: Serogroup G 及 *Salmonella* sp.。

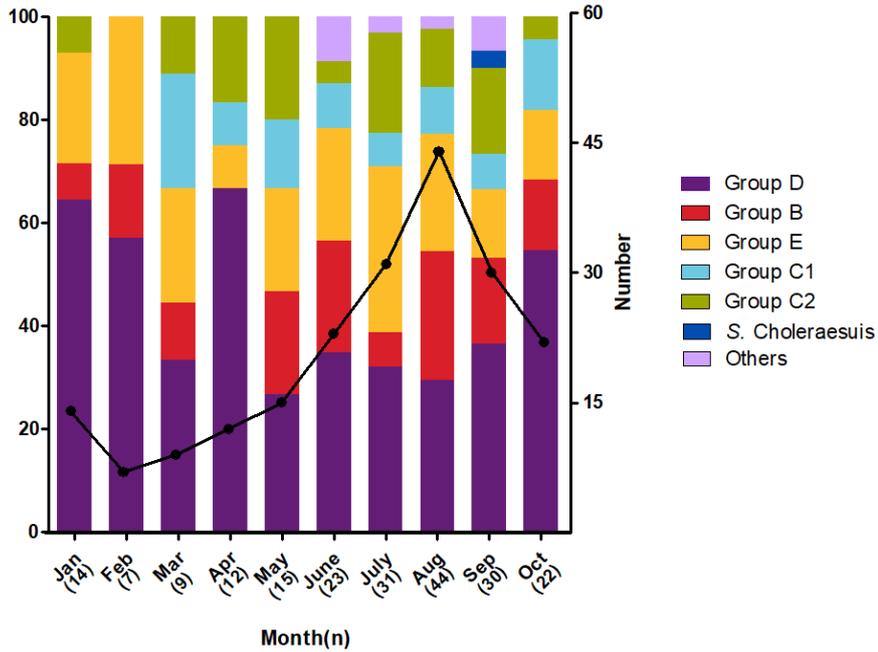
(A) 107 年度 1-10 月臨床沙門氏菌感染之分析 (N=508)



(B) < 5 y/o (N=286)



(C) ≥ 5 y/o (N=222)



圖七、107 年 1-10 月北北桃長庚臨床沙門氏菌感染之分析 (N=508)。(A)所有沙門氏菌感染依據月分和 serogroup 分群之分佈。(B) 小於五歲病患沙門氏菌感染依據月份和 serogroup 分群之分佈。(C) 大於等於五歲病患沙門氏菌感染依據月分和 serogroup 分群之分佈。

表六、107 年度之臨床沙門氏菌感染病患問卷收案個數 (截至 10/31, N=190)

Age Group (year)	問卷收案個數 (n)	
	病患	對照組
< 1	23	23
1 - < 2	33	33
2 - < 5	35	35
5+	4	4
Total	95	95

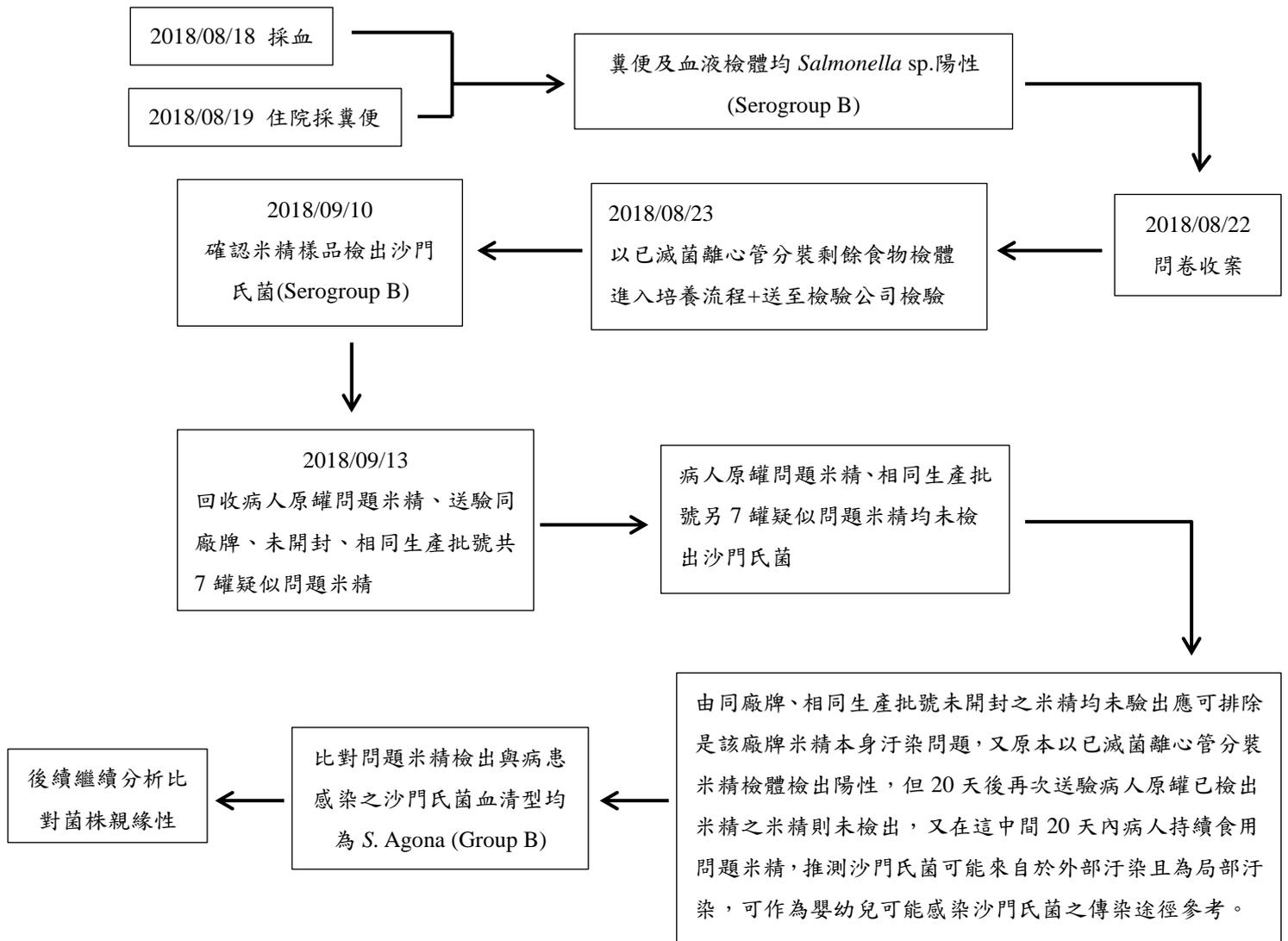
表七、107 年度臨床沙門氏菌感染病患居家採檢之項目及檢測結果 (N=109)

居家採檢項目 (n)	沙門氏菌培養結果 (n)	
	Positive	Negative
奶粉 (25)	0	25
米精 (3)	1	2
麥精 (2)	0	2
麵包店三明治 (2)	0	2
剩餘食物 (15)	0	15
米餅 (1)	0	1
肉鬆 (1)	0	1
雞蛋 (9)	0	9
寵物狗 (2)	0	2
寵物貓 (2)	0	2
貓飼料 (1)	0	1
家畜雞 (13)	0	13
雞糞便 (2)	0	2
副食品刷 (1)	0	1
刨絲器 (1)	0	1
食物調理機 (1)	0	1
砧板 (3)	0	3
菜刀 (2)	0	2
食物剪刀 (1)	0	1
電鍋 (1)	0	1
熱水瓶口 (3)	0	3
流理台 (1)	0	1
洗手槽 (2)	0	2

過濾器出口 (3)	0	3
水龍頭出口 (3)	0	3
過濾器水 (2)	0	2
水龍頭水 (2)	0	2
山泉水 (1)	0	1
山泉水出口 (1)	0	1
水溝 (1)	0	1
抹布 (1)	0	1
菜瓜布 (1)	0	1
Total (109)	1	108

表八、ASA8118 收案患者基本資料表

收案編號	ASA8118
性別	男
年齡	0Y10M
住院時間	2018/08/18 採血 2018/08/19 住院採糞便
收案時間	2018/08/22 問卷收案 2018/08/23 剩餘食物檢體進入培養流程 +送至檢驗公司檢驗
檢體類別	糞便及血液檢體均 <i>Salmonella</i> sp.陽性
病患分離出之血清型	<i>S. Agona</i> (Group B)
採樣之剩餘食物檢體	奶粉、米精
剩餘食物檢驗結果	奶粉無檢出 米精檢出沙門氏菌 <i>S. Agona</i> (Group B)



圖八、ASA8118 收案流程及問題米精檢驗流程圖



Total Quality. Assured.



Total Quality. Assured.

全國公證測試報告

申請廠商：林口長庚分子感染症醫學研究中心
 桃園市龜山區復興街 5 號
 12L 分子感染症醫學研究中心

報告號碼：TWNC00723583
 報告日期：2018 年 09 月 10 日

報告號碼：TWNC00723583

樣品照片：

樣品敘述：

樣品名稱：米精

批號：--

製造日期 MFG：--

有效日期 EXP：--

樣品包裝狀態：散裝

備註：以上資料除樣品包裝狀態外，皆由申請廠商提供

收樣日期：2018 年 08 月 23 日

測試內容 (標記 * 者為經衛生福利部認證之測試項目)：
 沙門氏桿菌

檢驗方法：依據衛生福利部 102 年 12 月 23 日部授食字第 1021951187 號公告 - 食品微生物之檢驗方法 - 沙門氏桿菌之檢驗。

檢驗結果：

	檢出值
* 沙門氏桿菌 (取 25 g)	陽性*

*：血清型為 group B



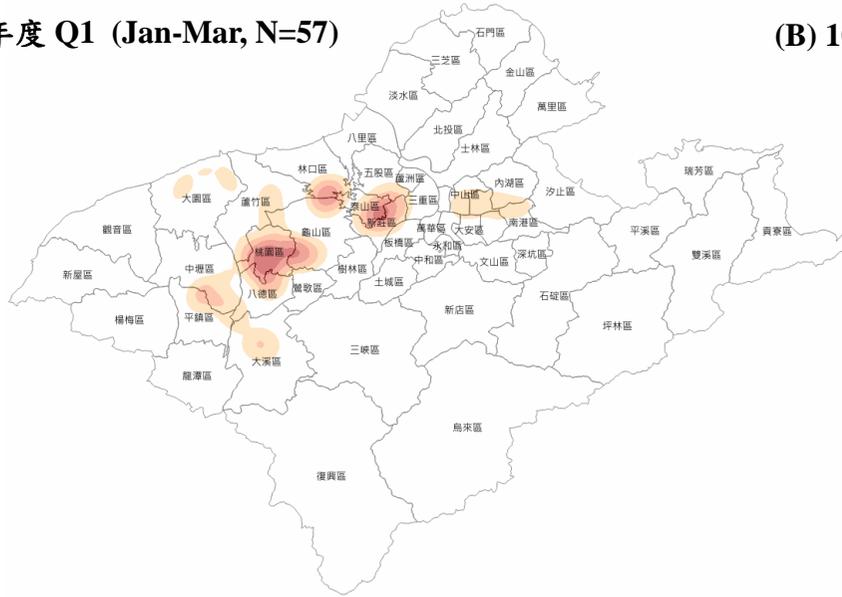
圖九、ASA8118 剩餘米精經由第三方公證檢驗單位二重複確認之檢驗結果。

表九、107 年度林口長庚醫院沙門氏菌感染病患收案之問卷資料 odds ratio 統計 (N=190)

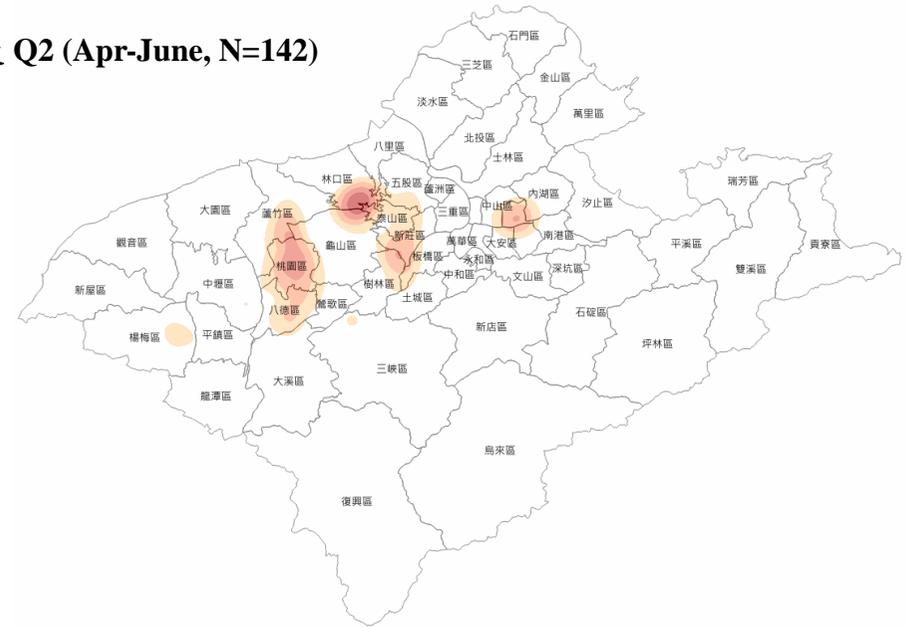
Items	Salmonella (n=95)		Healthy (n=95)		Odds Ratio	95% Low	95% High
	n	%	n	%			
接觸史							
出入公共場所博覽會/展覽	5	5%	2	2%	2.58	0.489	13.658
出入公共場所遊樂場	5	5%	2	2%	2.58	0.489	13.658
共用物品/餐具、奶瓶、奶嘴、茶杯、牙刷	20	21%	13	14%	1.68	0.783	3.616
共用物品/澡盆與馬桶	23	24%	16	17%	1.58	0.773	3.219
生活環境							
照顧的孩童或老人是否有腹瀉症狀	6	6%	1	1%	6.34	0.748	53.687
照顧場所料理生食和熟食是否共用砧板	9	9%	6	6%	2.85	1.577	5.165
家中飼養雞	5	5%	2	2%	2.58	0.489	13.658
收案對象全程需要大人餵食	40	42%	26	27%	1.93	1.051	3.544
收案對象白天主要由何者照顧/祖父母或其它長輩	27	28%	18	19%	1.70	0.861	3.352
您或照顧者職業的工作性質是否與農畜牧產品、加工食品有關/雞	1	1%	0	0%	-	-	-
您或照顧者職業的工作性質是否與農畜牧產品、加工食品有關/豬	0	0%	0	0%	-	-	-
您或照顧者職業的工作性質是否與農畜牧產品、加工食品有關/雞蛋	0	0%	0	0%	-	-	-
您或您的寶貝是否會飯前洗手	53	56%	74	78%	0.358	0.19	0.673
您或照顧者或同住者否養寵物、家禽或家畜/狗	22	23%	20	21%	1.13	0.569	2.244
您或照顧者或同住者否養寵物、家禽或家畜/貓	7	7%	6	6%	1.18	0.381	3.651
您或照顧者是否自行烹煮食物/雞	49	52%	59	62%	0.65	0.365	1.158
您或照顧者是否自行烹煮食物/豬	66	69%	67	71%	0.951	0.511	1.769
您或照顧者是否自行烹煮食物/雞蛋	61	64%	64	67%	0.869	0.477	1.583
飲食							
羊奶粉	6	6%	1	1%	6.34	0.748	53.687

照顧場所及住家的飲用水來源/山泉水	5	5%	1	1%	5.22	0.598	45.573
芒果	9	9%	2	2%	4.87	1.023	23.157
麥精	7	7%	2	2%	3.70	0.748	18.289
歐式自助餐(Buffer)	5	5%	2	2%	2.58	0.489	13.658
麵線	14	15%	6	6%	2.56	0.941	6.987
吐司	7	7%	3	3%	2.44	0.611	9.732
食用/接觸蔬菜類之購入來源/餐廳	11	12%	5	5%	2.36	0.786	7.068
照顧場所及住家的飲用水來源/瓶裝水	12	13%	6	6%	2.15	0.77	5.975
餐廳(非自助式)	30	32%	17	18%	2.12	1.073	4.18
櫻桃	6	6%	3	3%	2.07	0.502	8.521
照顧場所及住家的飲用水過濾加熱方法/濾水器+瓦斯爐煮沸	37	39%	23	24%	2.00	1.069	3.73
葡萄	17	18%	10	11%	1.85	0.8	4.289
A 菜(大陸妹)	12	13%	7	7%	1.82	0.683	4.839
哈密瓜	5	5%	3	3%	1.70	0.395	7.34
西瓜	17	18%	11	12%	1.66	0.734	3.774
飲食-奶類							
牛奶粉_0~1 歲(不含 1 歲)	20 (20/23)	87%	17 (17/23)	74%	2.35	0.51	10.859
食材購買來源							
傳統市場(早市、黃昏)	62	65%	60	63%	1.10	0.605	1.984

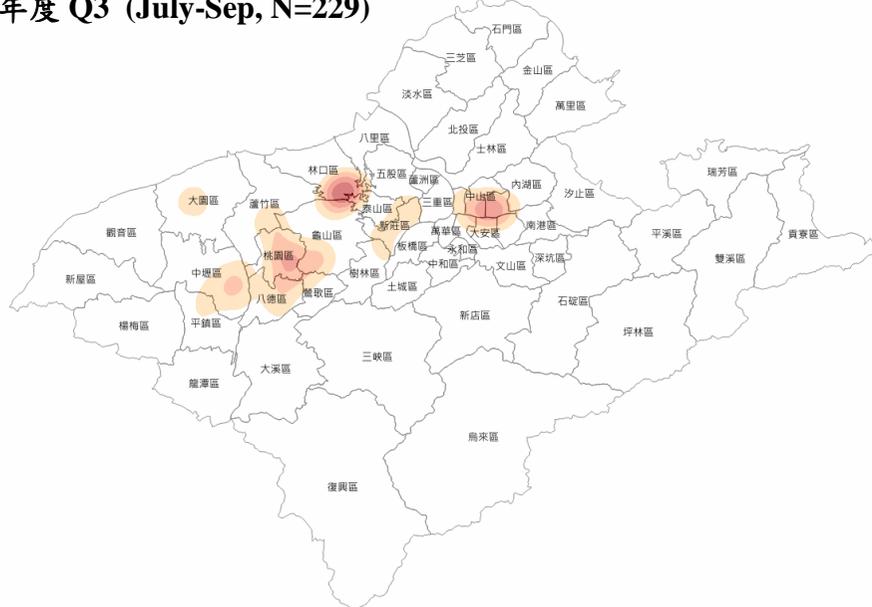
(A) 107 年度 Q1 (Jan-Mar, N=57)



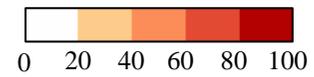
(B) 107 年度 Q2 (Apr-June, N=142)



(C) 107 年度 Q3 (July-Sep, N=229)



沙門氏菌患者住址分佈相對密集度(%)



圖十、107 年度 1-9 月北北桃沙門氏菌 GIS 感染熱區圖(heatmap)。

表十、106-107 年度北北桃沙門氏菌 GIS 感染熱區中採樣傳統市場及超級市場食材中沙門氏菌帶菌率的檢測分析(N=301)

Sample Source (n)		Positive (n)	Negative (n)	Positive Rate (%)	P-value
Pork (meat)	Supermarket (18)	1	17	5.6	< 0.001***
	Traditional Market (67)	50	17	74.6	
Pig (intestine)	Supermarket (2)	0	2	0	0.016*
	Traditional Market (8)	7	1	87.5	
Chicken	Supermarket (21)	7	14	33.3	0.151
	Traditional Market (48)	25	23	52.1	
Duck	Supermarket (0)	-	-	-	-
	Traditional Market (2)	1	1	50.0	
Beef	Supermarket (7)	0	7	0	-
	Traditional Market (13)	0	13	0	
Seafood	Supermarket (8)	0	8	0	0.268
	Traditional Market (7)	1	6	14.3	
Egg	Supermarket (11)	0	11	0	-
	Traditional Market (25)	0	25	0	
Vegetable	Supermarket (20)	0	20	0	0.164
	Traditional Market (44)	4	40	9.1	

表十一、市場及病患提供食材之沙門氏菌依據其檢體來源、血清型別與抗藥性分佈之分析 (N=98)

Serotype/Source	總計 N	Ceftriaxone (TX) (n)				Ciprofloxacin (CI) (n)			
		S	I	R	具抗藥 性比例 (%)	S	I	R	具抗藥 性比例 (%)
Serotype/豬肉和大腸	58	51	2	5	12.1	36	18	4	37.9
Agona*	10	10	0	0	0	10	0	0	0
Anatum	10	4	2	4	60.0	4	6	0	60.0
Corvallis*	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Derby	10	10	0	0	0	6	4	0	40.0
Give*	5	5	0	0	0	0	3	2	100
Goldcoast	1	0	0	1	100	0	0	1	100
Kentucky	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Livingstone	2	2	0	0	0	0	2	0	100
London*	4	4	0	0	0	0	3	1	100
Mbandaka*	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Muenster	4	4	0	0	0	4	0	0	0
Newport*	2	2	0	0	0	2	0	0	0
Potsdam*	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Rissen*	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Typhimurium	3	3	0	0	0	3	0	0	0
Weltevreden*	2	2	0	0	0	2	0	0	0
Serotype/雞肉	32	28	2	2	12.5	14	16	2	56.3
Albany	6	6	0	0	0	2	4	0	66.7
Anatum	4	1	2	1	75.0	0	4	0	100
Brancaster*	3	3	0	0	0	0	2	1	100
Derby	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Enteritidis*	4	4	0	0	0	3	1	0	25.0
Goldcoast	1	0	0	1	100	0	0	1	100
Kentucky	4	4	0	0	0	1	3	0	75.0
Livingstone	2	2	0	0	0	2	0	0	0
Muenster	2	2	0	0	0	2	0	0	0
Stanley*	2	2	0	0	0	0	2	0	100
Thompson*	1	1	0	0	0	1	0	0	100
Typhimurium	2	2	0	0	0	2	0	0	100
Serotype/鴨肉	1	1	0	0	0	0	1	0	100
Albany	1	1	0	0	0	0	1	0	100
Serotype/蔬菜	5	5	0	0	0	4	1	0	20.0
Albany	1	1	0	0	0	0	1	0	100

Derby	2	2	0	0	0	2	0	0	0
Unknown	2	2	0	0	0	2	0	0	0
Serotype/海鮮	1	1	0	0	0	0	1	0	100
Albany	1	1	0	0	0	0	1	0	100
Serotype/病患提供米 精檢體	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Agona	1	1	0	0	0	1	0	0	0
總計	98	87	4	7	11.2	55	37	6	43.9

*：標註之血清型只有在該來源分離出來

附註：抗藥性(R)、中度抗藥性(I)及敏感性(S)

Ceftriaxone [$S \leq 1 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL} < I < 4 \mu\text{g/mL}$, $R \geq 4 \mu\text{g/mL}$]

Ciprofloxacin [$S \leq 0.06 \mu\text{g/mL}$, $0.12 \mu\text{g/mL} < I < 0.5 \mu\text{g/mL}$, $R \geq 1 \mu\text{g/mL}$]

表十二、市場及病患提供食材之沙門氏菌依據其檢體來源及重點抗藥菌株之 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ (μg/mL)之分析

	Ceftriaxone		Ciprofloxacin	
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
分離來源 (n)				
豬肉和大腸 (58)	0.064	3	0.016	0.75
雞肉 (32)	0.094	1.5	0.125	0.38
重要 MDR 菌株 (n)				
<i>S. Anatum</i> (14)	3	8	0.19	0.25
<i>S. Goldcoast</i> (2)	>256	>256	1	1.5

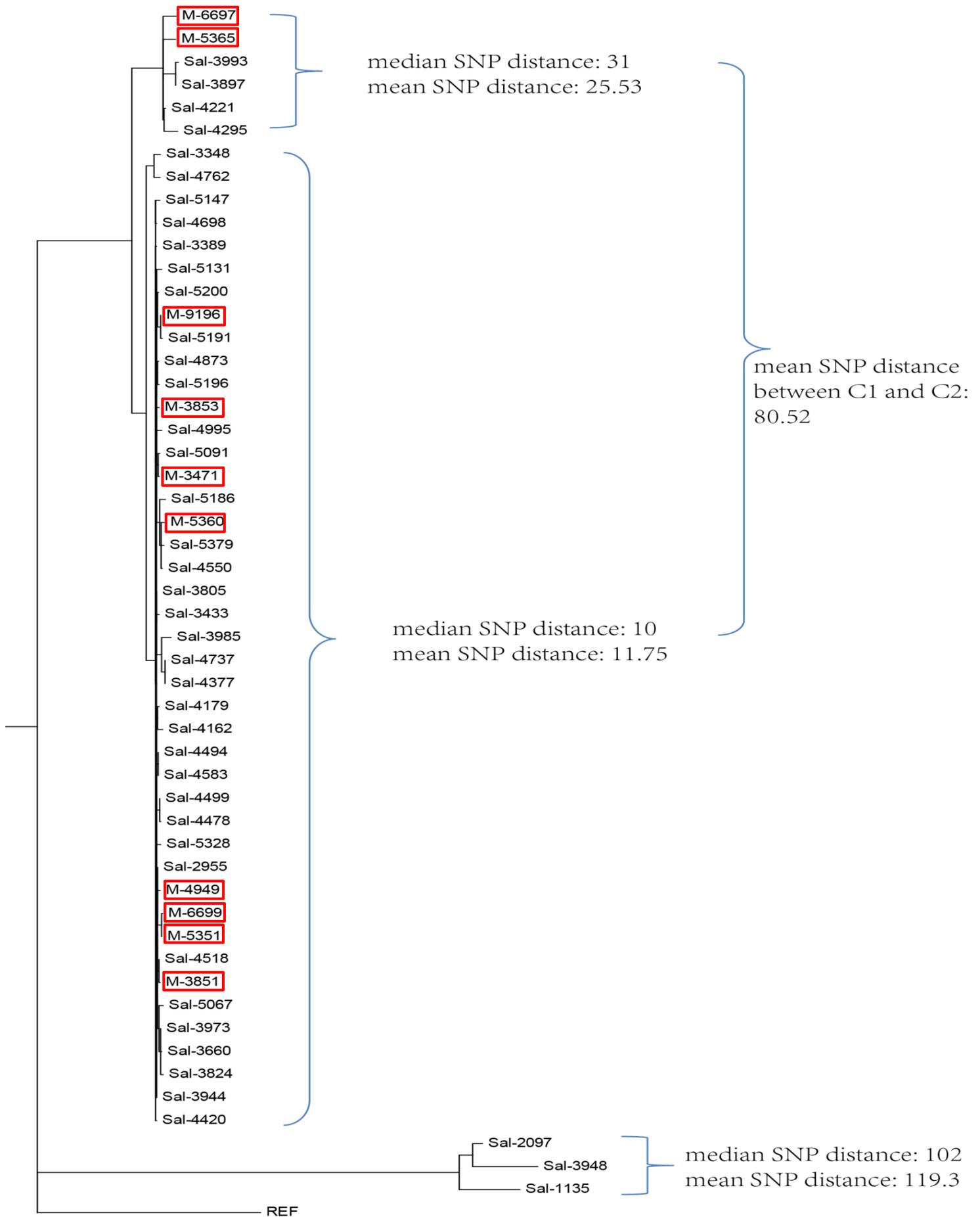
表十三、市場及病患提供食材之沙門氏菌依據其血清群、血清型與抗藥性分佈之分析 (N=98)

Serogroup/Serotype	總計 N	Ceftriaxone (n)				Ciprofloxacin (n)			
		S	I	R	具抗藥 性比例 (%)	S	I	R	具抗藥 性比例 (%)
<i>S. enterica</i> serogroup B	34	34	0	0	0	25	8	1	26.5
Agona	11	11	0	0	0	11	0	0	0
Brancaster	3	3	0	0	0	0	2	1	100
Derby	13	13	0	0	0	9	4	0	30.8
Stanley	2	2	0	0	0	0	2	0	100
Typhimurium	5	5	0	0	0	5	0	0	0
<i>S. enterica</i> serogroup C1	8	8	0	0	0	6	2	0	25.0
Livingstone	4	4	0	0	0	2	2	0	50.0
Mbandaka	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Potsdam	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Rissen	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Thompson	1	1	0	0	0	1	0	0	0
<i>S. enterica</i> serogroup C2	19	17	0	2	10.5	6	10	2	63.2
Albany	9	9	0	0	0	2	7	0	77.8
Corvallis	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Goldcoast	2	0	0	2	100	0	0	2	100
Kentucky	5	5	0	0	0	2	3	0	75.0
Newport	2	2	0	0	0	2	0	0	0
<i>S. enterica</i> serogroup C4	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Unknown	1	1	0	0	0	1	0	0	0
<i>S. enterica</i> serogroup D	4	4	0	0	0	3	1	0	25.0
Enteritidis	4	4	0	0	0	3	1	0	25.0
<i>S. enterica</i> serogroup E	31	22	4	5	29.0	12	16	3	61.3
Anatum	14	5	4	5	64.3	4	10	0	71.4
Give	5	5	0	0	0	0	3	2	100
London	4	4	0	0	0	0	3	1	100
Muenster	6	6	0	0	0	6	0	0	0
Weltevreden	2	2	0	0	0	2	0	0	0
<i>S. enterica</i> serogroup H	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Unknown	1	1	0	0	0	1	0	0	0
總計	98	87	4	7	11.2	55	37	6	43.9

附註：抗藥性(R)、中度抗藥性(I)及敏感性(S)

Ceftriaxone [$S \leq 1 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL} < I < 4 \mu\text{g/mL}$, $R \geq 4 \mu\text{g/mL}$]

Ciprofloxacin [$S \leq 0.06 \mu\text{g/mL}$, $0.12 \mu\text{g/mL} < I < 0.5 \mu\text{g/mL}$, $R \geq 1 \mu\text{g/mL}$]



圖十一、106-107 年度市場食材來源(紅框)與臨床病人分離之沙門氏菌 *Anatum* 菌株親緣性比較之圖譜。遺傳差異之距離單位: nucleotide (nt)。



New!

HAZARDOUS FOOD TEMPERATURE CHART

(Effective September 1, 2004)

MINIMUM REQUIRED INTERNAL FOOD TEMPERATURES

COLD HOLDING

Refrigerated Foods	4 °C / 40 °F or colder
Frozen Foods	- 18 °C / 0 °F or colder

COOKING

All temperatures to be maintained for a minimum of 15 seconds

Whole Poultry chicken, turkey, duck, etc. 	82 °C / 180 °F
Ground / Cut Poultry wings, breasts, legs, etc. 	74 °C / 165 °F
Food Mixtures (e.g. soups, stews, casseroles, gravies) 	74 °C / 165 °F
Pork / Pork Products 	71 °C / 160 °F
Ground Meat other than poultry (e.g. beef, lamb) 	71 °C / 160 °F
Fish 	70 °C / 158 °F
Other Hazardous Foods large cuts of e.g. beef, lamb or goat; rice, beans, etc.	70 °C / 158 °F

HOT HOLDING

After cooking, all hazardous foods must be held at a minimum 60 °C / 140 °F until service.

REHEATING

All temperatures to be maintained for a minimum of 15 seconds

All hazardous foods must be reheated, within a 2 hour period, to at least their specified minimum required internal cooking temperature. All poultry must be reheated to at least 74 °C / 165 °F.

DUHEV# 284 Feb 2006

圖十二、如何避免食品汙染的保存及快速消毒措施。(Wachs D., 2018.

<https://doctordaliah.wordpress.com/2018/06/29/superbugs-found-on-nearly-80-of-our-grocery-meat/>)

陳奇良

長庚醫療財團法人林口院區長庚紀念醫院
受訪同意書

一、研究主題：沙門氏菌之跨物種間感染、監測與管理機制之研究

二、研究基本資料

病歷號碼：_____

1.計畫編號：

IRB 案號/申請編號：201601178B0

2.試驗機構：林口長庚紀念醫院

執行單位：分子感染症醫學研究中心

3.委託單位/廠商：無

4.主持人：陳奇良

服務單位：分子感染症醫學研究中心

職稱：副研究員

電話：03-3281200 轉 8284

協同主持人：邱政洵

服務單位：兒童內科部

職稱：教授級主治醫師

電話：03-3281200 轉 8285

協同主持人：莊智賢

服務單位：沙爾德聖保祿修女會醫療財團法人聖保祿醫院小兒科

職稱：小兒科主任

電話：0975838847

協同主持人：趙舜卿

服務單位：兒童胃腸科

職稱：主治醫師

電話：0975365904

協同主持人：陳建彰

服務單位：兒童胃腸科

職稱：主治醫師

電話：0975365905

協同主持人：賴明璋

服務單位：兒童胃腸科

職稱：主治醫師

電話：0975365907

協同主持人：郭貞嫻

服務單位：兒童感染科

職稱：主治醫師

電話：0975365964

5.受試者姓名：

受試者研究編號：

性別：

出生日期：

通訊地址：

聯絡電話：

三、簡介

沙門氏菌是常見的人畜共通病原菌，其中具廣泛宿主特性的腸炎沙門氏菌和鼠傷寒沙門氏菌是近年來感染人類最常見的兩種非傷寒沙門氏菌之血清型菌株，主要導致腹瀉和食物中毒事件，甚至導致嚴重感染的敗血症和非腸道感染。台灣只將傷寒(由 *S. Typhi* 所感染)和副傷寒(由 *S. Paratyphi A, B* 和 *C* 所感染)歸類在法定傳染病，但其感染人數不多，相對地，如同歐美國家一樣主要的感染是以非傷寒沙門氏菌為主，尤其是 *S. Enteritidis* 和 *S. Typhimurium*。然而台灣尚未將非傷寒沙門氏菌的感染列入監控的目標，不像相當重視沙門氏菌感染的歐美國家，分別設有監控系統，如歐洲的 Salmnet 和美國的 National *Salmonella* Surveillance System 與美國疾病管制局的即時監測網 PulseNet。特別的是，即便偶有大流行或群聚感染發生，但仍以散發性的個案為主，顯然其傳染的途徑是一種非常不容易被偵測或追蹤的。因此，當務之急是需要一跨領域研究團隊，配合快速、正確的診斷方式，建立從農場到餐桌(from Farm to Table)、從農場到排泄(from Farm to Flush)、以及從寵物到飼主(from Pet to Human)的監測系統。

在此，我們敬邀您參加本流行病學研究，研究期間不會有任何介入性的治療行為。在您同意參加本研究之前，研究主持人/醫師會向您說明這份受試者同意書的內容、回答您的任

人體試驗倫理委員會
核准日期

107.9.11

長庚醫療財團法人

何疑問，並給予您充分的時間考慮，請您再次徹底閱讀這份受試者同意書，並且問清楚任何問題。此外，要不要參加此試驗，完全是自願性質，如果不同意參加試驗，並不會影響到您的正當權益。

四、研究目的

為了探索台灣沙門氏菌跨物種感染人類的傳染途徑，並提出和施行可行的阻斷跨物種感染的方式。我們前瞻性計畫將先依據林口長庚醫院的病例報告，刻劃出北北桃(台北市、新北市、和桃園市)地區感染沙門氏菌病患之地域圖譜，並依據此圖譜深入感染熱點地區或家庭中，追蹤其可能的感染源頭。並描繪沙門氏菌在人類、畜養動物和寵物上的分佈風險圖像與沙門氏菌親緣關係之地域圖譜，以及可能感染的關鍵點，以期能藉由本計畫所提出和施行的防治策略和阻斷方式，提供有效降低人類感染沙門氏菌的資訊。

五、研究方法與程序說明

1. 被選為受訪者的原因

主要被選擇的對象是曾經由林口長庚臨床病理檢驗中心檢測出沙門氏菌感染之病人。特別是沙門氏菌感染病患的所在地是位於北北桃(台北市、新北市、和桃園市)的感染熱點地區或家庭中之病患。

2. 納入/排除條件

納入條件:

- (a) 曾經是沙門氏菌感染之病人，並且以兩種血清型菌株(*S. Enteritidis* 和 *S. Typhimurium*) 感染為主要的研究對象，尤其是那些曾經重複感染或復發的病人。
- (b) 如為幼童，則其法定代理人必須已被告知研究相關內容，並簽屬受訪者同意書接受問卷調查。

排除條件: 無。

3. 收案人數及收案地點。

收案人數: 50 人/第一年; 200 人/第二年。

收案地點: 在門診或病房向受試者及家屬解說取得受訪同意。

4. 取得受訪者同意書的方法與程序。

- (a) 先依據病例資料上的聯絡方式，聯絡病人或其法定代理人，以取得受訪者同意書。
- (b) 另一方面，當病患回門診時，由主治醫師詢問病人或其法定代理人，以取得受訪者同意書。

5. 說明每組之分組方法。

無特定分組方法。只有依據感染沙門氏菌病患的所在地(台北市、新北市、和桃園市) 是否位於的感染熱點地區或家庭中。

6. 說明訪問或填寫問卷之次數及每次需花費的時間。

- (a) 問卷之次數: 基本上都是以首次訪問或填寫問卷為主，除非遇到重複感染或復發的病人。
- (b) 花費的時間: 基本上以不超過 10 分鐘為限。

7. 說明訪問或問卷發放與回收之方式。

- (a) 問卷之發放: 都由現場研究人員直接發放。
- (b) 回收方式: 現場由研究人員直接回收問卷。

8. 資料處理及統計分析方式(簡要說明)。

人體試驗倫理委員會
核准日期

107.9.11

長庚醫療財團法人

依據感染個數，繪製沙門氏菌重要血清型於人類、寵物和畜養動物之間跨物種感染之地理分佈圖及細菌親緣圖上之感染熱點；據此將提出與施行阻斷跨物種感染的方式，並比較是否因此措施而有降低沙門氏菌感染的趨勢。將以 t-Test 統計方式來評估其防治效益的差別。

六、可預期之風險、副作用、發生率及處理方法：

由於本研究僅為流行病學調查，並未有對人之任何介入性治療或用藥，因此不會發生治療或藥物相關副作用之問題。若您於研究觀察期間有任何不適，請告訴您的醫師或研究人員，他們將盡力協助處置以減緩您的不適。

七、預期研究效果

本研究計畫將以北北桃地區感染沙門氏菌病患為試驗的基地，繪製沙門氏菌重要血清型於人類、寵物和畜養動物之間跨物種感染之地理分佈圖及細菌親緣圖上之感染熱點；據此將提出與施行阻斷跨物種感染的方式，並監測是否因此措施而有降低沙門氏菌感染的趨勢。此計畫的成效，除了將可以發表國際論文期刊之外，還可做為日後制定防治沙門氏菌感染相關公共政策上的參考。

八、緊急狀況之處理

如果您於試驗期間有任何問題或緊急狀況，請不必客氣，可與在長庚紀念醫院 林口院區 分子感染症醫學研究中心 陳奇良 博士聯絡(24 小時聯繫電話:0919-133-902)

九、補助、費用負擔與損害賠償：

1.補助：參與本試驗不會補助您任何費用。

2.費用負擔：參加本試驗您不需要負擔任何費用。

3.損害賠償

(1) 如依本研究所訂臨床試驗/研究計畫，因而發生不良反應造成損害，由本院願意提供專業醫療照護及諮詢。但本受試者同意書上所記載之可預期不良反應，不予補償。

(2) 如依本研究所訂臨床試驗/研究計畫，因而發生不良反應或損害，本醫院願意提供專業醫療照顧及醫療諮詢。您不必負擔治療不良反應或傷害之必要醫療費用。

(3) 除前二項補償及醫療照顧外，本研究不提供其他形式之補償。若您不願意接受這樣的風險，請勿參加試驗/研究。

(4) 您不會因為簽署本同意書，而喪失在法律上的任何權利。

十、保護隱私與機密性

1.將會有一個研究代碼代表您的身分，此代碼不會顯示您的姓名、身分證字號、住址。

2.對於您訪查的結果及診斷，研究主持人將持保密的態度，小心維護您的隱私。如果發表研究結果，您的身分仍將保密。

3.請您亦瞭解若簽署同意書即同意您的訪查紀錄可直接受監測者、稽核者、研究倫理委員會及主管機關檢閱，以確保本研究過程與數據符合相關法律及法規要求。上述人員並承諾絕不違反您的身分之機密性。

十一、研究之退出與中止

受訪者或立同意書人有權在無任何理由情況下，隨時要求終止參與研究，此將不會減損您的正當權益與法律權利。研究主持人或贊助廠商亦可能於必要時中止該研究之進行。

十二、受訪者權利

1.對於您個人資料之蒐集、處理及利用，試驗機構/試驗主持人將依受試者同意書、臨床試驗相關法規及個人資料保護法相關規定辦理。您可以依據個人資料保護法之規定，以書面連絡試驗機構/試驗主持人而行使下列權利：

(1)查詢或請求閱覽您的個人資料；

(2)請求提供您個人資料的影印本；

(3)請求補充或更正您的個人資料；

人體試驗倫理委員會
核准日期

107.9.11

長庚醫療財團法人

(4)請求停止蒐集、處理或利用您的個人資料；

(5)請求刪除您的個人資料。

2.研究過程中，凡可能影響您繼續接受臨床試驗意願的任何重大發現，都將及時提供給您。研究過程中如有任何的問題或狀況，請與主持人聯繫。

3.對身為受訪者之權利有意見或懷疑因參與研究而受害時，可與本院之人體試驗倫理委員會聯絡請求諮詢，其電話號碼為：(03)319-6200 轉 3703、3705~3709、3711~3714、3716~3717。

十三、試驗成果及權益歸屬

如本試驗計畫成果產生學術文獻發表、實質效益或衍生其他權益時，亦同意無償捐贈給本院作為疾病預防、診斷及治療等公益用途。

十四、聲明

1.本研究內容及同意書已經_____ (請填寫取得同意書人姓名)完整口頭告知及說明，受訪者本人或/及法定代理人已充分瞭解並同意，本同意書一式二份，已將受訪同意書之副本交給受訪者。

A.受試者：_____ (正楷姓名)

_____ (簽名)

日期：____年____月____日

B.取得同意書人：_____ (正楷姓名)

_____ (簽名)

日期：____年____月____日

C.共/協同主持人：_____ (正楷姓名)

_____ (簽名)

日期：____年____月____日

D.研究主持人：_____ (正楷姓名)

_____ (簽名)

日期：____年____月____日

****收案對象符合【同意書簽署說明】第(一)項時，此欄位必須簽名****

E.法定代理人/有同意權人/監護人/輔助人：_____ (正楷姓名)

_____ (簽名) 與受試者之關係：_____

日期：____年____月____日

****收案對象符合【同意書簽署說明】第(二)項時，此欄位必須簽名****

F.見證人：_____ (正楷姓名)

_____ (簽名)

日期：____年____月____日

人體試驗倫理委員會 核准日期
107.9.11
長庚醫療財團法人

【同意書簽署說明】

(一)法定代理人/有同意權人/監護人/輔助人使用時機：

*醫療法 第 79 條/人體研究法 第 12 條/藥品優良臨床試驗準則 第五條/研究用人體檢體採集注意事項 第 6 條：

- 1.受試者為無行為能力(未滿七歲之未成年人者或受監護宣告之人)，由法定代理人為之；受監護宣告之人，由監護人擔任其法定代理人。
- 2.受試者為限制行為能力者(滿七歲以上之未成年人或受輔助宣告之人)，應得其本人及法定代理人或輔助人之同意。
- 3.受試者雖非無行為能力或限制行為能力者，但因意識混亂或有精神與智能障礙，而無法進行有效溝通和判斷時，由有同意權之人為之。
- 4.採集胎兒之檢體，需經其母親同意。
- 5.屍體檢體之提供應得其最近親屬或本人生前之書面同意。

(二)見證人使用時機：

*藥品優良臨床試驗準則 第二十一條：

- 1.受試者、法定代理人或有同意權人皆無法閱讀時，應由見證人在場參與所有有關受試者同意書之討論。見證人應閱讀受試者同意書及提供受試者之任何其他書面資料，以見證研究主持人或其指定之人員已經確切地將其內容向受試者、法定代理人或有同意權之人解釋，並確定其充分了解所有資料之內容。
- 2.受試者、法定代理人或有同意權人，仍應於受試者同意書親筆簽名並載明日期。但得以指印代替簽名。
- 3.見證人於完成口述說明，並確定受試者、法定代理人或有同意權人之同意完全出於其自由意願後，應於受試者同意書簽名並載明日期。
- 4.研究相關人員不得為見證人。

(三)法定代理人簽署順序：

*依據醫療法第七十九條：醫療機構施行人體試驗時，應善盡醫療上必要之注意，並應先取得接受試驗者之書面同意；接受試驗者以有意思能力之成年人為限。但顯有益於特定人口群或特殊疾病罹患者健康權益之試驗，不在此限。

*依據人體試驗管理辦法 第五條：依據醫療法第七十九條第一項但書招募之成年或已結婚未成年之受試者，主持人應依下列順序取得其關係人至少一人之同意：

- 一、 配偶。
- 二、 父母。
- 三、 同居之成年子女。
- 四、 與受試者同居之祖父母。
- 五、 與受試者同居之兄弟姊妹。
- 六、 最近一年有同居事實之其他親屬。

前項第一款至第五款關係人之同意，以有同居事實者優先。

第一項關係人之同意，不得違反受試者曾表示之意思。

【長庚醫療財團法人長庚紀念醫院/長庚大學/長庚科技大學 研究參與者需知】

親愛的受試者、家屬、民眾，您好：

在您符合試驗或研究之納入條件時，您可能被邀請參與長庚醫院(長庚大學/長庚科技大學)的研究計畫，為了保障您參與研究的安全與權益，以下內容將向您說明長庚醫療財團法人人體試驗倫理委員會所做的努力與把關，包含：研究計畫如何審查、審查的重點為何以及受試者的權利。

● 什麼是研究？

「研究」和「治療」是不一樣的。「治療」是已經歷經研究過程，完全了解治療以後可能發生的結果及副作用的發生機率。但「研究」是為了解答我們原來所不知道的知識，並不完全清楚會發生怎樣的結果。因此，**研究不是一定要參加，且不參加不會影響您後續接受醫療照護的權益或者遭受任何不公平的待遇。**

● 什麼是人體試驗倫理委員會？

「人體試驗委員會(Institutional Review Board, 簡稱 IRB)」是為確保人體試驗或研究符合科學與倫理適當性，所設立的審查單位。由具專業知識的醫療人員，及法律專家、社會公正人士或民間團體代表等非醫學背景人士組成，協助研究人員了解受試者的處境，以確保受試者的安全與權益。**受試者對參與研究之相關權益有任何問題時，都可向長庚醫療財團法人人體試驗倫理委員會詢問。**

● 人體試驗倫理委員會如何審查臨床試驗/研究計畫？審查的重點為何？

- (1) 在長庚醫院(長庚大學/長庚科技大學)執行的研究，都需要經過長庚醫療財團法人人體試驗倫理委員會的審查，通過了才可執行。
- (2) 送到人體試驗倫理委員會的研究計畫，都會經過委員或者專家，以獨立、專業且謹慎的態度進行審查，審查的重點包含：是否有詳盡告知受試者試驗相關的事宜(包含：試驗目的、試驗進行程序等)、其他可能替代的治療方式、參與研究的副作用、風險及好處、如何退出研究、參加者的照護與隱私是否受到保護等。
- (3) 在進行臨床研究審查時，長庚醫療財團法人人體試驗倫理委員會將評估這些研究計畫對於參與研究者可能造成的風

人體試驗倫理委員會
核准日期

107.9.11

長庚醫療財團法人

險有哪些？有些風險是屬於身體上的疼痛、不適，有些則帶來心理上的不舒服，有些甚至對於您的社會及經濟方面造成影響，**長庚醫療財團法人人體試驗倫理委員會就是要去確保這些風險帶來的傷害已經盡力降到最小**。除了風險，我們也會去評估參與研究者從研究中預期得到的好處、這項研究可能會治癒疾病、可能不會痊癒疾病但可能改善受試者的生活品質、或對參加的人可能不會有好處，但對醫學研究的進步或對未來患有相同疾病的人發現新的治療方式而有所貢獻。長庚醫療財團法人人體試驗倫理委員會將**綜合評估每個研究計畫的風險相對於獲得的好處是不是合理，以決定是否通過該計畫**，風險大而對受試者或科學知識沒有任何好處的研究，將不會通過人體試驗倫理委員會的審查。

(4) 研究計畫通過後，長庚醫療財團法人人體試驗倫理委員會與執行機構(長庚醫院/長庚大學/長庚科技大學)，會針對通過的計畫持續監督，以確定研究團隊確實按照通過的計畫書妥善執行，為受試者的權益把關。

● **做為一位受試者您的權利是什麼？**

✓ **知的權利**

(1) **了解研究的目的是什麼？**

研究人員應該以通俗易懂的話，告訴您這個研究的目的是什麼。

(2) **研究過程將發生什麼事？**

也就是您需要知道這個研究的程序該如何進行，包含：研究過程要您身上做哪些事？該怎麼配合？(例如隔多久要回診一次？每次要抽多少血？做什麼檢查？)，會帶給生活多少不便？

(3) **不參加研究有沒有其他治療方法？**

研究不是一定要參加，因此您有權知道是否還有其他治療方法。

(4) **可能會發生什麼不良反應或風險？**

任何研究一定有風險，因此需知道參加此研究的危險性有多大？同時，也務必了解萬一發生危險或緊急狀況時，該怎麼辦？和誰聯絡？如何聯絡？以及誰會提供後續醫療救治？還有相關費用問題。在加入研究前，研究人員都應仔細向您說明。

(5) **參與研究可能帶來什麼好處與試驗預期的成果？**

研究人員有義務向您說明，這個研究可能對您帶來的好處，或者這個研究可能不會直接對您受益，但研究成果可能會發現新的治療方式對醫學進步、未來的人類有所貢獻，以便提供您考慮是否加入此研究。

(6) **如果您想退出研究計畫，改如何提出？**

研究人員應該告訴您，若您參加研究後中途想退出，應該向誰提出？退出後有無照護計畫？退出研究後，您在參與期間所提供的資料是否繼續分析或保存？

(7) **當您有任何疑慮時，隨時可以向研究人員詢問**

✓ **自由選擇參加研究的權利**

在研究人員向您充分解釋研究目的、研究進行程序、其他可能的替代治療、參加研究可能遭遇的風險與帶來的好處、研究的預期成果、退出試驗計畫的程序以及退出後的照護計畫後，經過您自主且有足夠時間的考慮是否參加此研究，並且簽署受試者同意書，您才算正式加入研究，成為受試者。

此外，如果您想要退出研究，您可以於任何時間點，不需要任何的理由，向研究的相關人員提出。而您退出的決定，也不會影響您後續接受醫療照護的權益或者遭受任何不公平的待遇。

✓ **被保護的權利**

(1) **隱私與機密的保護**

對於您於參與研究期間所提供的任何資訊，研究團隊人員有義務維護您的隱私，如果發表研究成果，或為確保研究過程與數據符合相關法律及法規要求，人體試驗倫理委員會或主管機關(例如：衛生福利部)將會檢閱研究之相關資訊，但您的身分仍將被保密。

(2) **保有您現在所擁有的合法權利**

參與臨床研究時，並不會放棄您的任何合法的權利。

人體試驗倫理委員會
核准日期

107.9.11

長庚醫療財團法人

收案編號：_____

主管機關計畫編號 MOHW106-CDC-C-114-113702

生活環境與接觸史問卷

基本資料

填表時間：民國_____年_____月_____日

出生日期：民國_____年_____月

性別：男 女 年齡：<2 歲 ≥2 歲

病史

1. 您的寶貝在最近一週內是否有下列症狀? (可複選) (0)否 (1)腹瀉或嘔吐(第一次嘔吐或腹瀉日期:民國_____年_____月_____日) (2)發燒(共____次) (3)肚子痛(共____次) (9)不知道	
2. 您自己本身在最近一週內是否有下列症狀? (可複選) (0)否 (1)腹瀉或嘔吐(第一次嘔吐或腹瀉日期:民國_____年_____月_____日) (2)發燒(共____次) (3)肚子痛(共____次) (9)不知道	
3. 最近一週與您的寶貝接觸的照顧者(或親友)是否曾經有下列症狀? (可複選) (0)否 (1)發燒 (2)嘔吐 (3)肚子痛 (9)不知道	
4. 您的寶貝最近一週是否曾就醫且醫師確診為腸胃炎? (0)否 (1)是 (9)不知道	
5. 最近一週和您的寶貝接觸過的照顧者(或親友)是否曾就醫且確診為腸胃炎? (0)否 (1)是 (9)不知道	

接觸史

6. 您的寶貝這一週是否到過下列公共場所? (可複選) (0)無 (1)公園 (2)農畜牧養殖場(養殖種類_____) (3)傳統市場 (4)夜市 (5)園遊會 (6)博覽會/展覽 (7)動物園 (8)遊樂場 (9)寺廟 (10)車站 (11)捷運 (12)公共廁所 (13)百貨公司 (14)大賣場 (15)超商 (16)托兒所/幼稚園/安親班/學校 (17)書店/圖書館 (18)速食店 (19)餐廳 (20)餐飲店 (21)診所/醫院/療養院 (90)其他_____ (99)不知道	
7. 您的寶貝這一週是否曾接觸動物? (可複選) (0)否 (1)狗 (2)貓 (3)鼠 (4)兔 (5)魚 (6)鳥 (7)雞 (8)鴨 (9)鵝 (10)牛 (11)羊 (12)馬 (13)豬 (14)烏龜 (15)青蛙 (16)蛇 (17)蜥蜴 (18)猴子 (19)昆蟲 (90)其他_____ (99)不知道	
8. 您的寶貝這一週是否曾與他人共用下列物品 (可複選) (0)無 (1)澡盆或馬桶 (2)玩具 (3)枕頭、棉被或床鋪 (4)餐具、奶瓶、奶嘴、茶杯或牙刷 (5)毛巾、衣物、鞋襪(共洗也算) (90)其他_____ (99)不知道	
9. 您或您的寶貝這一週是否曾經出國旅遊? (0)否 (1)是(國家_____) (9)不知道	
10. 您或您的寶貝這一週是否與剛回國之親友接觸過? (0)否 (1)是(國家_____) (9)不知道	

生活環境

11. 您的寶貝白天主要由下列何者照顧? (0)無 (1)父母 (2)祖父母或其他長輩 (3)親戚朋友 (4)褓母 (5)學校老師 (6)托兒所/幼稚園/安親班 (9)不知道	
---	--

12. 您或照顧者職業的工作性質是否與農畜牧產品有關、或利用該產品做成加工食品 (0)否 (1)奶 (2)蛋 (3)魚、海鮮 (4)雞 (5)鴨 (6)鵝 (7)牛 (8)羊 (9)豬 (10)蔬菜_____ (11)加工食品_____(90)其他_____(99)不知道	
13. 您的寶貝是否需由照顧者餵食? (0)不需要 (1)自己會,但需大人協助吃完 (3)全程需大人餵食 (9)不知道	
14. 您或您的寶貝是否會飯前洗手? (0)否 (1)是 (9)不知道	
15. 您或照顧者是否也須同時照顧其他孩童或成人之病人/老人?(若選是請回答第 15-1 題) (0)否 (1)是,照顧其他孩童 (2)是,照顧成人之病人或老人 (9)不知道	
15-1. 最近一週照顧者照顧的孩童或成人之病人/老人是否有腹瀉嘔吐症狀? (0)否 (1)是 (9)不知道	
16. 您或照顧者或同住者否養寵物、家禽或家畜? (0)否 (1)狗 (2)貓 (3)鼠 (4)兔 (5)魚 (6)鳥 (7)雞 (8)鴨 (9)鵝 (10)牛 (11)羊 (12)馬 (13)豬 (14)烏龜 (15)青蛙 (16)蛇 (17)蜥蜴 (18)猴子 (19)昆蟲 (90)其他_____(99)不知道	
17. 您或照顧者是否自行烹煮食物? (0)否 (1)奶 (2)蛋 (3)魚、海鮮 (4)雞 (5)鴨 (6)鵝 (7)牛 (8)羊 (9)豬 (10)蔬菜 (11)米食/麵食/其他澱粉類 (12)蛋糕/餅乾/其他點心 (90)其他_____(99)不知道	
18. 照顧場所料理生食和熟食是否共用砧板? (0)否 (1)是 (9)不知道	

飲食

19. 照顧場所及住家的飲用水來源?(可複選) ____/____、____/____、____/____ 代碼填寫：飲水來源(前兩碼)、過濾加熱(後兩碼) 例如：山泉水以瓦斯爐煮沸請填寫 0 2/0 3 A.飲水來源代碼：00.否 01.井水 02.山泉水 03.河水或湖水 04.加水站水 05.自來水 06.瓶裝水(廠牌_____) 90.其他_____ B.過濾加熱代碼：00.否 01.生飲 02.濾水器過濾 03.瓦斯爐煮沸 04.飲水機煮沸 05.濾水器過濾+瓦斯爐煮沸 06.濾水器過濾+飲水機煮沸 (90)其他_____(99)不知道	
20. 您的寶貝是否在最近一週到過下列地方用餐或食用外帶食物?(可複選) ____/____、____/____、____/____、____/____、____/____、____/____ 代碼填寫：用餐地點(前兩碼)、進食次數(後兩碼) 例如：一週在幼稚園吃了十次餐點請填寫 0 3/1 0 A.飲水來源代碼：00.否 01.園遊會/博覽會 02.美食街 03.幼稚園餐店 04.速食店 05.中式外燴(辦桌/流水席) 06.歐式自助餐(Buffet) 07.小吃店/麵館/自助餐 08.傳統市場/夜市/路邊攤 09.便利商店 10.大賣場 11.生鮮超市 12.日本料理店 13.餐廳(非自助式) 14.火鍋店 15.燒烤店 16.飲料店 17.咖啡/蛋糕複合餐飲店(例如:星巴克、85 度 C) 18.麵包店/糕餅店 19.試吃活動 20.外賣便當店 90.其他_____ 21. 您的寶貝有無以母乳餵食及哺乳月數? (0)否 (1)是(共____月)	

22. 您的寶貝是否在最近一週食用下列食物?(均可複選)

A. 隔餐(過期或腐敗)食物 ___ / ___ / ___、___ / ___ / ___、___ / ___ / ___、___ / ___ / ___

代碼填寫：隔餐食物種類(前兩碼)、冷藏方式(一碼)、加熱食用方式(後兩碼)

例如：吃了沒有冷藏壞掉的涼麵請填寫 02/甲/01

A. 隔餐種類代碼：00. 否 01. 飯類/五穀雜糧 02. 涼麵 03. 三明治 04. 漢堡 05. 堅果
06. 奶 07. 蛋 08. 魚或海鮮 09. 肉 10. 豆類 11. 生菜沙拉 12. 蔬菜(生)
13. 菜餚(熟) 14. 湯 15. 水果 16. 醬料 17. 餅乾零食 18. 飲料 19. 蛋糕甜點
90. 其他_____ 99. 不知道B. 冷藏方式代碼：00. 否 甲. 未知保存期限且未冷藏(凍) 乙. 保存期限內但未冷藏(凍)
丙. 過期未冷藏(凍) 丁. 冷藏 90. 其他_____ 99. 不知道

C. 加熱方式代碼：00. 否 01. 未加熱直接食用 02. 已加熱再食用 90. 其他_____ 99. 不知道

B. 奶類 ___、___、___、___、___、___

00. 否 01. 母乳 02. 鮮牛奶(廠牌_____) 03. 鮮羊奶(廠牌_____) 04. 牛奶粉(廠牌_____)
05. 羊奶粉(廠牌_____) 06. 保久乳(廠牌_____) 07. 優酪乳(廠牌_____) 08. 養樂多
09. 煉乳 10. 起司條 11. 起司片 12. 奶油起司醬 13. 乳酪醬 14. 優格醬 15. 蛋糕 16. 豆漿
17. 米漿 90. 其他_____ (99) 不知道

C. 蛋類 ___、___、___、___、___、___

00. 否 01. 生蛋(蛋蜜汁) 02. 半熟蛋(拌沙茶火鍋/加熱豆漿牛奶/溫泉蛋) 03. 加工蛋(皮蛋/鹹蛋/滷蛋)
04. 熟食(全蛋/蛋黃) 90. 其他_____ (99) 不知道

D. 冰品 ___、___、___、___、___、___

00. 否 01. 冰淇淋 02. 霜淇淋 03. 冰砂 04. 冷藏盒裝甜點(布丁/奶酪等) 05. 豆花 06. 愛玉 07.
仙草 08. 綠豆沙 09. 粉圓 10. 刨冰 90. 其他_____ (99) 不知道

E. 飲品 ___、___、___、___、___、___

00. 否 01. 現打果汁 02. 瓶/罐裝飲料(廠牌_____) 03. 封口杯茶類/珍珠奶茶 04. 豆漿 05. 米漿
90. 其他_____ (99) 不知道

F. 堅果類 ___、___、___、___、___、___

00. 否 01. 核桃 02. 腰果 03. 芝麻 04. 杏仁果 05. 杏仁粉 06. 帶殼花生 07. 無殼花生 08. 瓜子
09. 開心果 10. 葵瓜子 11. 夏威夷豆 90. 其他_____ (99) 不知道

G. 澱粉類 ___ / ___ / ___、___ / ___ / ___、___ / ___ / ___、___ / ___ / ___

代碼填寫：澱粉種類(前兩碼)、澱粉來源(一碼)、食用方式(後兩碼)

例如：從超市買生白米回家自己煮請填寫 01/甲/02

A. 澱粉種類代碼：00. 否 01. 白飯 02. 糙米飯 03. 胚芽米飯 04. 白米粥 05. 糙米粥
06. 燕麥 07. 白麵 08. 油麵 09. 麵線 10. 板條 11. 米粉 12. 冬粉 13. 蘿蔔糕
14. 米湯 15. 米麩 16. 米精 17. 麥精 18. 麥茶 19. 植物奶(米漿/豆漿)
90. 其他_____ 99. 不知道B. 澱粉來源代碼：00. 否 甲. 生鮮超市/便利商店 乙. 傳統市場/夜市 丙. 餐廳/小吃店
90. 其他_____ 99. 不知道C. 食用方式代碼：00. 否 01. 買煮好可直接食用的 02. 買原料/生食材自煮 03. 自己生產原料自煮
90. 其他_____ 99. 不知道

H. 蔬菜類 / / 、 / / 、 / / 、 / / 、 / / 、
 / / 、 / / 、 / / 、 / /

代碼填寫：蔬菜種類(前兩碼)、蔬菜來源(一碼)、食用方式(後兩碼)

例如：從超市買紅蘿蔔回家煮湯請填寫 06/甲/03

A. 蔬菜種類代碼：00.否 01.手捲壽司 02.苜蓿芽 03.高麗菜 04.美生菜 05.馬鈴薯
 06.紅蘿蔔 07.白蘿蔔 08.芹菜 09.小黃瓜 10.大黃瓜 11.山藥 12.蘆筍
 13.竹筍 14.玉米 15.薑 16.蔥 17.蒜 18.辣椒 19.洋蔥 20.香菜 21.九層塔
 22.地瓜 23.地瓜葉 24.空心菜 25.A菜(大陸妹) 26.萵苣 27.青椒 28.南瓜
 29.綠花椰菜 30.白花椰菜 31.絲瓜 32.皇宮菜 33.豆芽菜 34.甜椒 35.莧菜
 36.冬瓜 37.紅鳳菜 38.四季豆 39.甜豆 40.菇類
 90.其他 99.不知道

B. 澱粉來源代碼：00.否 甲.生鮮超市/便利商店 乙.傳統市場/夜市 丙.餐廳/小吃店
 90.其他 99.不知道

C. 食用方式代碼：00.否 01.常溫處理後直接生食/涼拌 02.冷藏後生食 03.自行煮/炒來吃(熟食)
 04.醃製泡菜 05.外面買已經煮好的熟食 90.其他 99.不知道

I. 水果類

水果 / 、 / 、 / 、 / 、 / 、 / 、 /
 果汁 / 、 / 、 / 罐頭 / 、 / 、 /
 果乾、蜜餞 / 、 / 、 / 果醬 / 、 / 、 /

代碼填寫：水果種類(前兩碼)、水果來源(後兩碼)

例如：吃了從傳統市場買回來的柳丁請填寫 14/01

A. 水果種類代碼：00.否 90.其他 99.不知道
 <果類> 01.蘋果 02.芒果 03.奇異果 04.百香果 05.火龍果 <桃> 06.桃子 07.水蜜桃 08.楊桃 09.櫻桃
 <梅李棗> 10.梅子 11.李子 12.棗 <柑橘> 13.橘子 14.柳丁 15.金桔
 <柚> 16.柚子 17.葡萄柚 <瓜> 18.哈密瓜 19.香瓜 20.西瓜 21.木瓜
 <柿> 22.紅柿 23.脆柿 <梨> 24.水梨 25.西洋梨 26.酪梨 27.鳳梨
 <莓> 28.草莓 29.覆盆子(莓) 30.蔓越莓 31.藍莓 32.黑莓 <帶皮> 33.番茄 34.芭樂 35.蓮霧
 <薄皮> 36.葡萄 37.枇杷 38.香蕉 39.桑葚 40.荔枝 <厚皮> 41.甘蔗 42.檸檬 43.釋迦
 <厚殼> 44.榴槤 45.椰子

B. 水果來源代碼：00.否 01.外面買的 02.自行種植 90.其他 99.不知道

J. 魚、海鮮類 / 、 / 、 / 、 / 、 / 、 / 、 /

代碼填寫：海鮮種類(前兩碼)、海鮮料理方式(後兩碼)

例如：吃了從外面買回來的生魚片請填寫 03/04

A. 海鮮種類代碼：00.否 90.其他 99.不知道
 <魚> 01.魚肉 02.魚卵 03.生魚片 04.河豚
 <貝類> 05.貝 06.干貝 07.蛤蠣 08.生蠔 09.蚵 10.螺類 11.鮑魚 12.海瓜子
 <八爪十足> 13.章魚 14.章魚燒 15.花枝(烏賊或墨魚) 16.透抽 17.小卷 18.魷魚
 <蝦> 19.蝦 20.蝦卵 <蟹> 21.蟹 22.蟹膏/蟹黃
 <棘皮動物> 23.海參 24.海膽 <水母> 25.海蜇皮 <兩棲類> 26.青蛙/田雞 27.鱉
 <加工海鮮> 28.鹹魚 29.烏魚子 30.魚丸 31.蝦丸 32.花枝丸 33.魚餃 34.蝦餃 35.魚翅 36.魚鬆
 37.魷魚絲

B. 料理方式代碼：00.否 01.常溫生食 02.冷藏/冷凍退冰後生食 03.冷藏/冷凍後加熱食用
 04.握壽司 05.外面買已經煮好的熟食 06.外買生食材自行烹煮 07.自養自煮
 90.其他 99.不知道

K. 肉類

L1 雞 ___/___、___/___、___/___ L4 牛 ___/___、___/___、___/___
 L2 鴨 ___/___、___/___、___/___ L5 豬 ___/___、___/___、___/___
 L3 鵝 ___/___、___/___、___/___ L6 羊 ___/___、___/___、___/___

代碼填寫：肉品種類(前兩碼)、肉品料理方式(後兩碼)

例如：吃了從傳統市場買回來自己煎的牛排請填寫 25/06

A. 肉類種類代碼：00.否 01.內臟 02.滷味 03.香腸 04.火腿 05.漢堡肉 06.火鍋肉片
 07.肉鬆 08.肉乾 09.排骨 10.肋排 11.大骨 12.罐頭 13.貢丸 14.肉丸
 15.餃子 16.肉包 17.湯包/燒賣 18.水煎包 19.餡餅 20.臘肉 21.割包 22.披薩
 23.肉捲 24.派 25.肉排 26.肉湯

B. 料理方式代碼：00.否 01.常溫生食 02.冷藏/冷凍退冰後生食 03.冷藏/冷凍後加熟食 04.握壽司
 05.外買熟食 06.外買生食材自行烹煮 07.自養自煮
 90.其他_____ 99.不知道

M. 醬料 ___/___、___/___、___/___、___/___、___/___、___/___

代碼填寫：醬料種類(前兩碼)、醬料保存方式(後兩碼)

例如：吃了從外面買回來的生魚片請填寫 03/03

A. 醬料種類代碼：00.否 90.其他_____ 99.不知道

<奶油> 01.植物性奶油 02.動物性奶油 03.乳瑪琳 04.起司醬 05.乳酪醬
 <沙拉醬> 06.千島醬 07.莎莎醬 08.美奶滋
 <堅果醬> 09.芝麻醬 10.花生醬 11.堅果
 <義式醬料> 12.白醬 13.青醬(羅勒) 14.紅醬 15.油醋
 <日式醬料> 16.味噌 17.海苔醬 18.芥末 19.日式和風醬
 <西式醬> 20.番茄醬 21.蘑菇醬 22.巧克力醬
 <傳統醬料> 23.紅麴 24.醬油/醬油膏 25.沙茶醬 26.豆腐乳 27.豆豉降 28.蠔油
 <辣味醬> 29.咖哩醬 30.蒜蓉醬 31.黑胡椒醬 32.甜辣醬 33.豆瓣醬
 <肉醬> 34.肉醬 35.魚子醬 36.干貝 XO 醬 37.烤肉醬
 <其他> 38.素食醬料 39.醬料包(_____)

B. 保存方式代碼：00.否 01.未密封冷藏 02.未冷藏 03.未密封 04.密封冷藏(少於半年)
 05.密封冷藏(半年以上) 06.外食 90.其他_____ 99.不知道

居家菌源的採檢

23. 上述食物或水可能是食物中毒的來源，您是否同意我們派研究人員前往您的住家採檢樣品? (0)否 (1)是 (9)不知道	
24. 如果上述第 24 條填寫 <u>(1)是</u> ，則請填寫受訪同意書，以及適合前往的時間：_____。	
25. 如果上述第 24 條填寫 <u>(0)否</u> 或 <u>(9)不知道</u> ，是否願意自行在居家採檢並於下次回診時繳交檢體?(採檢方法如附件檔 1 之居家採檢之圖示與說明) (0)願意 (1)不願意	

執行問卷者之簽名：_____ 日期:民國 _____ 年 _____ 月 _____ 日

計畫執行主持人之簽名：_____ 日期:民國 _____ 年 _____ 月 _____ 日

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。
 - 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. 生物安全操作櫃(Biological safety cabinet, BSC)：第二等級(class II)(含)以上者。
 - 2.2.2. 乾熱滅菌器。
 - 2.2.3. 高壓滅菌釜。
 - 2.2.4. 冰箱：能維持 $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 者。
 - 2.2.5. 冷凍櫃：保持 $-30\pm 3^{\circ}\text{C}$ 者。
 - 2.2.6. 培養箱：能維持內部溫度溫差在 $\pm 1.0^{\circ}\text{C}$ 以內者。
 - 2.2.7. 水浴：能維持水溫溫差在 $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 以內者。
 - 2.2.8. 攪拌均質器(Blender)或鐵胃(Stomacher)：能適用於無菌操作者。
 - 2.2.9. 增菌用容器：500 mL 含蓋之可滅菌廣口瓶，或無菌塑膠(鐵胃)袋。
 - 2.2.10. 三角瓶：500 mL。
 - 2.2.11. 燒杯：500 mL。
 - 2.2.12. 加熱板(Hot plate)：具有磁性攪拌功能。
 - 2.2.13. 天平：可稱量到2000 g者，靈敏度為0.1 g；可稱量到120 g者，靈敏度為1 mg。
 - 2.2.14. 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。
 - 2.2.15. 吸管輔助器(Pipette aid) 或微量分注器。
 - 2.2.16. 吸管或吸管尖：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。
 - 2.2.17. 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。
 - 2.2.18. 試管：16 × 150 mm、20 × 150 mm、10 × 75 mm 及 13 × 100 mm 或其它適用者。

- 2.2.19. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
- 2.2.20. 玻璃棒、剪刀、藥勺、小刀及鑷子：可滅菌。
- 2.2.21. 燈箱：一般日光燈源，30瓦。
- 2.2.22. pH 試紙：pH 值適用範圍為6~8。
- 2.2.23. 酸鹼度測定儀(pH meter)。
- 2.2.24. 振盪器(Shaker)。
- 2.2.25. 無菌濾膜：孔徑0.45 μm 或以下之親水性醋酸纖維膜。
- 2.2.26. 杜蘭發酵管(Durham fermentation tube)：外徑6 × 50 mm 或其他適用者。
- 2.2.27. 試藥：碘、碘化鉀、煌綠(brilliant green)、氯化鎂(MgCl₂)、孔雀綠草酸鹽(malachite green oxalate)、氰化鉀(potassium cyanide)、半乳糖醇(dulcitol)、乳糖(lactose)、蔗糖(sucrose)、葡萄糖(glucose)、甲基紅(methyl red)、肌酸(creatine)、溴甲酚紫(bromocresol purple)、酚紅(phenol red)、氫氧化鈉、氯化鈉、α-萘酚(α-naphthol)、對-二甲胺基苯甲醛(*p*-dimethyl aminobenzaldehyde)、氫氧化鉀、甲醛溶液(36-38%)、95%乙醇、硫酸月桂酸鈉(sodium lauryl sulfate)、漂白水(約5.25%次氯酸鈉溶液)、無水乙醇、正戊醇(normal amyl alcohol)、亞硫酸鉀(potassium sulfite)、鹽酸、磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄)、磷酸二氫鉀(KH₂PO₄)、磷酸氫二鉀(K₂HPO₄)、磷酸二氫銨(NH₄H₂PO₄)、亞硒酸氫鈉(NaHSeO₃)、硫酸銨[(NH₄)₂SO₄]、胱胺酸(L-cystine)、膽鹽(bile salts)、膽鹽 No.3 (bile salts No.3)、碳酸鈣(CaCO₃)、硫代硫酸鈉(Na₂S₂O₃ · 5H₂O)、無水硫代硫酸鈉(Na₂S₂O₃; anhydrous)、無水磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄; anhydrous)、L-離胺酸(L-lysine)、離胺酸鹽酸鹽(L-lysine hydrochloride)、木糖(xylose)、去氧膽酸鈉(sodium deoxycholate)、檸檬酸銨鐵(ferric ammonium citrate)、水楊苷(salicin)、溴麝香草藍(bromthymol blue)、酸性復紅(acid fuchsin)、無水硫酸亞鐵(FeSO₄; anhydrous)、硫酸亞鐵(FeSO₄)、檸檬酸鈉(Na₃C₆H₅O₇)、硫酸鎂(MgSO₄)、尿素(urea)、丙二酸鈉(sodium malonate)、中性紅(neutral red)、結晶紫(crystal violet)、丙酮酸鈉(sodium pyruvate)、亞硫酸銻[Bi₂(SO₃)₃]、Tergitol anionic 7及 Triton X-100界面活性劑均採用試藥級；牛肉抽出物(beef extract)、酵母抽出物(yeast extract)、蛋白胨(peptone)、月示蛋白胨(proteose peptone)、洋菜(agar)、植物蛋白胨(phytone peptone)、胰化酪蛋白胨(trypticase peptone)、胰化酪蛋白大豆培養液粉末(trypticase soy broth; dehydrated)、胰化蛋

白培養液粉末(tryptose broth; dehydrated)、聚蛋白胨(polypeptone)、胰化蛋白胨(tryptone)、蛋白胨緩衝液粉末(buffered peptone water powder)、無脂乳粉(nonfat dry milk)、小牛腦浸出物(calf brain infusion)、牛心浸出物(beef heart infusion)、胰蛋白胨 No.3 (proteose peptone No.3)、木瓜酶(papain)及纖維素酶(cellulase)均採用微生物級。

2.2.28. 試劑

- 2.2.28.1. 5%木瓜酶溶液：取木瓜酶5 g，溶於蒸餾水使成100 mL，以9500 rpm 離心10分鐘後，經無菌濾膜過濾，注入已滅菌之三角瓶內。需新鮮配製。
- 2.2.28.2. 1%纖維素酶溶液：取纖維素酶1 g，溶於蒸餾水使成100 mL，溶解後以無菌濾膜過濾後，於2~5°C貯存，並應於2週內使用。
- 2.2.28.3. 0.25%酚紅溶液：取酚紅0.25 g，溶於蒸餾水使成100 mL。
- 2.2.28.4. 1N 氫氧化鈉溶液：取氫氧化鈉40 g，溶於蒸餾水使成1000 mL。
- 2.2.28.5. 1N 鹽酸溶液：取鹽酸89 mL，溶於蒸餾水使成1000 mL。
- 2.2.28.6. 1%煌綠溶液：取煌綠1 g，溶於水使成100 mL，以無菌濾膜過濾。
- 2.2.28.7. 0.1%煌綠溶液：取煌綠0.1 g，溶於蒸餾水使成100 mL。
- 2.2.28.8. 0.002%煌綠溶液：取1%煌綠溶液2 mL，加入蒸餾水使成1000 mL。
- 2.2.28.9. 0.2%溴甲酚紫溶液：取溴甲酚紫0.2 g，溶於蒸餾水使成100 mL。
- 2.2.28.10. 0.85%無菌生理食鹽水(0.85% sterile physiological saline solution)：取氯化鈉8.5 g，溶於蒸餾水使成1000 mL分裝於試管，以121°C滅菌15分鐘。
- 2.2.28.11. 福馬林化生理食鹽水(Formalinized physiological saline solution)：取氯化鈉8.5 g，以蒸餾水溶解使成1000 mL，以121°C滅菌15分鐘，冷卻至室溫，再加甲醛溶液6 mL。
- 2.2.28.12. 柯瓦克氏試劑(Kovacs' reagent)：取對-二甲胺基苯甲醛5 g，溶於正戊醇75 mL，再徐徐加入鹽酸25 mL，混合均勻後應呈黃色，保存於4°C冰箱中。
- 2.2.28.13. 歐普氏試劑(Voges-Proskauer reagents, VP reagents)：
溶液 A：取 α -萘酚5 g，以無水乙醇溶解使成100 mL。
溶液 B：取氫氧化鉀40 g，以蒸餾水溶解使成100 mL。
- 2.2.28.14. 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。

- 2.2.28.15. 碘-碘化鉀溶液：取碘化鉀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。
- 2.2.28.16. 含0.1%硫酸月桂酸鈉氣水溶液：取硫酸月桂酸鈉1 g，溶於蒸餾水992 mL，再加入漂白水8 mL，臨用前配製。
- 2.2.28.17. 0.5%氰化鉀溶液：取氰化鉀0.5 g，溶於無菌蒸餾水使成100 mL。氰化鉀為劇毒物質，本操作務必在抽氣櫃內進行。
- 2.2.28.18. 氯化鎂溶液：取氯化鎂400 g，溶於蒸餾水使成1000 mL。
- 2.2.28.19. 孔雀綠草酸鹽溶液：取孔雀綠草酸鹽0.4 g，溶於蒸餾水使成100 mL。
- 2.2.29. 血清
- 2.2.29.1. 沙門氏桿菌多價本體(O)抗血清[*Salmonella* polyvalent somatic (O) antiserum]
- 2.2.29.2. 沙門氏桿菌多價鞭毛(H)抗血清[*Salmonella* polyvalent flagellar (H) antiserum]
- 2.2.29.3. 沙門氏桿菌單價本體族群(O)抗血清[*Salmonella* somatic group (O) antiserum]，包括 A、B、C₁、C₂、C₃、D₁、D₂、E₁、E₂、E₃、E₄、F、G、H、I 及 Vi。
- 2.2.30. 培養基
- 2.2.30.1. 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。
- 2.2.30.2. 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。
- 2.2.30.3. 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 ₂ HPO ₄) | 3.5 g |
| 磷酸二氫鉀(KH ₂ PO 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。

2.2.30.4. 亞硒酸胱胺酸培養液(Selenite cystine broth, SC)

聚蛋白朊(polypeptone).....	5 g
或胰化蛋白朊(tryptone)	
乳糖(lactose)	4 g
磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4).....	10 g
亞硒酸氫鈉(NaHSeO_3).....	4 g
胱胺酸(L-cystine).....	0.01 g
蒸餾水.....	1000 mL

加熱溶解後，取 10 mL 或 225 mL，分別注入試管或三角瓶內後，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。

2.2.30.5. 四硫代硫酸鹽培養液(Tetrathionate broth, TT)

TT 基礎培養液(TT broth base)

聚蛋白朊(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 。冷卻至 45°C 以下，分取 10 mL，注入試管中，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。

2.2.30.6. Rappaport - Vassiliadis 培養液(RV)

RV 基礎培養液(RV broth base)

胰化蛋白朊(tryptone).....	5 g
氯化鈉.....	8 g
磷酸二氫鉀(KH_2PO_4).....	1.6 g
蒸餾水.....	1000 mL

量取 RV 基礎培養液 1000 mL、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°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 5.5 ± 0.2 。RV 基礎培養液必須於配製當天與氯化鎂溶液及孔雀綠草酸鹽溶液混合成為 RV 培養液。氯化鎂溶液儲存於棕色瓶中，於室溫下可保存 1 年；孔雀綠草酸鹽溶液儲存於棕色瓶中，於室溫下可保存 6 個月。配製完成之 RV 培養液儲存於冰箱中勿超過 1 個月。不建議使用市售乾燥培養基配製本培養液。

2.2.30.7. 木糖離胺酸去氧膽酸鹽培養基(Xylose lysine deoxycholate

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(lactose).....	7.5 g
蔗糖(sucrose).....	7.5 g
去氧膽酸鈉(sodium deoxycholate).....	2.5 g
檸檬酸銨鐵(ferric ammonium citrate).....	0.8 g
硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).....	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

攪拌加熱至沸騰溶解，注意不可加熱過度。於50°C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。

2.2.30.8. 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(lactose).....	12 g
蔗糖(sucrose).....	12 g
水楊苷(salicin).....	2 g
氯化鈉.....	5 g
硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).....	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50°C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。

2.2.30.9. 亞硫酸鉍培養基(Bismuth sulfite agar, BS)

聚蛋白胨(polypeptone)或蛋白胨(peptone).....	10 g
-------------------------------------	------

牛肉抽出物(beef extract).....	5 g
葡萄糖(glucose).....	5 g
無水磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4 ; anhydrous).....	4 g
無水硫酸亞鐵(FeSO_4 ; anhydrous).....	0.3 g
亞硫酸鈹[$\text{Bi}_2(\text{SO}_3)_3$].....	8 g
煌綠(brilliant green).....	0.025 g
洋菜(agar).....	20 g
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°C，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。

2.2.30.10. 三糖鐵培養基(Triple sugar iron agar, TSI)

牛肉抽出物(beef extract).....	3 g
酵母抽出物(yeast extract).....	3 g
蛋白胨(peptone).....	15 g
胨蛋白胨(proteose peptone).....	5 g
葡萄糖(glucose).....	1 g
乳糖(lactose).....	10 g
蔗糖(sucrose).....	10 g
硫酸亞鐵(FeSO_4).....	0.2 g
氯化鈉.....	5 g
硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).....	0.3 g
酚紅(phenol red).....	0.024 g
洋菜(agar).....	12 g
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。

2.2.30.11. 胰化蛋白胨培養液(Tryptone broth)

胰化蛋白胨(tryptone).....	10 g
蒸餾水.....	1000 mL

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

2.2.30.12. 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(K₂HPO₄).....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。

2.2.30.13. 胰化酪蛋白大豆胰化蛋白培養液(Trypticase soy- tryptose broth)

胰化酪蛋白大豆培養液粉末
(trypticase soy broth; dehydrated).....15 g
胰化蛋白培養液粉末
(tryptose broth; dehydrated).....13.5 g
酵母抽出物(yeast extract).....3 g
蒸餾水.....1000 mL
加熱溶解後，分取約5 mL，注入試管內，以121°C滅菌15
分鐘，最終 pH 值為7.2±0.2。

2.2.30.14. 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。

2.2.30.15. MR-VP 培養液(MR-VP broth)

蛋白胨緩衝液粉末.....7 g
(buffered peptone-water powder)
葡萄糖(glucose).....5 g
磷酸氫二鉀(K₂HPO₄).....5 g
蒸餾水.....1000 mL
溶解後，分取約5 mL，注入試管中，以121°C滅菌12~15
分鐘，最終 pH 值為6.9±0.2。

2.2.30.16. 辛蒙斯檸檬酸鹽培養基(Simmons citrate agar)

氯化鈉.....5 g
檸檬酸鈉(Na₃C₆H₅O₇).....2 g
磷酸氫二鉀(K₂HPO₄).....1 g
磷酸二氫銨(NH₄H₂PO₄).....1 g
硫酸鎂(MgSO₄).....0.2 g

溴麝香草藍(bromthymol blue).....0.08 g
洋菜(agar).....15 g
蒸餾水.....1000 mL

加熱溶解後，分取約5 mL，注入試管中，以121°C滅菌15分鐘，最終 pH 值為6.8±0.2。滅菌後作成斜面培養基，此斜面長度約4~5 cm，斜面底部深度約2~3 cm。

2.2.30.17. 尿素培養液(Urea broth)

尿素(urea).....20 g
酵母抽出物(yeast extract).....0.1 g
磷酸氫二鉀(K₂HPO₄).....9.1 g
磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄).....9.5 g
酚紅(phenol red).....0.01 g
蒸餾水.....1000 mL

溶解後，以無菌濾膜過濾，分取1.5~3.0 mL 濾液，注入已滅菌之試管中，最終 pH 值為6.8±0.2。

2.2.30.18. 尿素培養液(Urea broth) (rapid)

尿素(urea).....20 g
酵母抽出物(yeast extract).....0.1 g
磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄).....0.095 g
磷酸二氫鉀(KH₂PO₄).....0.091 g
酚紅(phenol red).....0.01 g
蒸餾水.....1000 mL

溶解後，以無菌濾膜過濾，分取1.5~3.0 mL 濾液，注入已滅菌之試管中，最終 pH 值為6.8±0.2。

2.2.30.19. 丙二酸鹽培養液(Malonate broth)

酵母抽出物(yeast extract).....1 g
硫酸銨[(NH₄)₂SO₄].....2 g
磷酸氫二鉀(K₂HPO₄).....0.6 g
磷酸二氫鉀(KH₂PO₄).....0.4 g
氯化鈉.....2 g
丙二酸鈉(sodium malonate).....3 g
葡萄糖(glucose).....0.25 g
溴麝香草藍(bromthymol blue).....0.025 g
蒸餾水.....1000 mL

加熱溶解後，分取約3 mL，注入試管中，以121°C滅菌15分鐘，最終 pH 值為6.7±0.2。

2.2.30.20. 離胺酸鐵培養基(Lysine iron agar, LIA)

蛋白朊(peptone).....	5 g
酵母抽出物(yeast extract).....	3 g
葡萄糖(glucose).....	1 g
離胺酸鹽酸鹽(L-lysine hydrochloride).....	10 g
檸檬酸銨鐵(ferric ammonium citrate).....	0.5 g
無水硫代硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; anhydrous).....	0.04 g
溴甲酚紫(bromcresol purple).....	0.02 g
洋菜(agar).....	15 g
蒸餾水.....	1000 mL

加熱溶解後，分取約 4 mL，注入試管中，以 121°C 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。

2.2.30.21. 離胺酸脫羧酶培養液(Lysine decarboxylase broth)

蛋白朊(peptone).....	5 g
酵母抽出物(yeast extract).....	3 g
葡萄糖(glucose).....	1 g
離胺酸(L-lysine).....	5 g
溴甲酚紫(bromcresol purple).....	0.02 g
蒸餾水.....	1000 mL

加熱溶解後，分取約 5 mL，注入附有螺旋蓋試管中，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 6.5~6.8。

2.2.30.22. 氰化鉀培養液[Potassium cyanide (KCN) broth]

聚蛋白朊(polypeptone).....	3 g
氯化鈉.....	5 g
磷酸二氫鉀(KH_2PO_4).....	0.225 g
磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4).....	5.64 g
蒸餾水.....	1000 mL

加熱溶解後，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.6±0.2。冷卻後於抽氣櫃內以吸管輔助器配合無菌操作，加入 0.5% 氰化鉀溶液 15 mL，混合均勻，分取 1~1.5 mL，注入已滅菌之試管，貯存於冰箱備用，貯存期限不超過兩週。

2.2.30.23. 酚紅碳水化合物培養液(Phenol red carbohydrate broth)

豚蛋白朊 No.3 (proteose peptone No.3).....	10 g
氯化鈉.....	5 g
牛肉抽出物(beef extract).....	1 g
酚紅(phenol red).....	0.018 g
(或 0.25% 酚紅溶液 7.2 mL)	

蒸餾水.....1000 mL

取半乳糖醇 5 g，溶解於上述之培養液後，分取約 2.5 mL，注入裝有發酵管之試管內，以 118°C 滅菌 10 分鐘，最終 pH 值為 7.4±0.2。含乳糖或蔗糖 10 g 之酚紅碳水化合物培養液配製方法亦同。

2.2.30.24. 紫色碳水化合物培養液(Purple carbohydrate broth)

胨蛋白胨 No.3 (proteose peptone No.3).....10 g
牛肉抽出物(beef extract).....1 g
氯化鈉.....5 g
溴甲酚紫(bromcresol purple).....0.02 g
蒸餾水.....1000 mL
操作步驟與 2.2.28.23 相同，最終 pH 值為 6.8±0.2。

2.2.30.25. 麥康奇培養基(MacConkey agar)

胨蛋白胨(proteose peptone).....3 g
蛋白胨(peptone).....17 g
乳糖(lactose).....10 g
膽鹽 No.3 (bile salts No.3).....1.5 g
氯化鈉.....5 g
中性紅(neutral red).....0.03 g
結晶紫(crystal violet).....0.001 g
洋菜(agar).....13.5 g
蒸餾水.....1000 mL
加熱溶解後，分裝於試管或三角瓶內，以 121°C 滅菌 15 分鐘，最終 pH 值為 7.1±0.2。

2.2.30.26. 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。

2.2.30.27. 腦心浸出物培養液(Brain heart infusion broth, BHI)

小牛腦浸出物(calf brain infusion).....200 g
牛心浸出物(beef heart infusion).....250 g
胨蛋白胨(proteose peptone).....10 g
氯化鈉.....5 g
磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄).....2.5 g
葡萄糖(glucose).....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7.4±0.2。

2.2.30.28. 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(FeSO₄).....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。

2.2.30.29. 預增菌培養液(Universal preenrichment broth)

胰化蛋白胍(tryptone).....5 g

胍蛋白胍(proteose peptone).....5 g

磷酸二氫鉀(KH₂PO₄).....15 g

磷酸氫二鈉(Na₂HPO₄).....7 g

氯化鈉.....5 g

葡萄糖(glucose).....0.5 g

硫酸鎂(MgSO₄).....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。

2.3. 檢液之調製與增菌培養

2.3.1. 脫水蛋黃、蛋白及全蛋，液狀乳(脫脂乳、含2%脂肪乳，全脂乳及白脫乳)，粉末配方混合物(蛋糕、餅乾、甜甜圈及麵包)，嬰兒配方食品(infant formula)及其他含蛋之口服或管灌食品：冷凍檢體分析前不須解凍。如冷凍檢體須回溫方可切割取樣時，儘速解凍以免傷及沙門氏桿菌或造成競爭性微生物之增殖。樣品可置於45°C以下水浴中，持續搖動，解凍時間不超過15分鐘，或在2~5°C，解凍時間不超過18小時。在無菌操作下稱取檢體25 g，置於已滅菌含蓋廣口瓶內。檢體為非粉末類，則加乳糖培養液225 mL。檢體為粉末狀，則先加乳糖培養液15 mL，以已滅菌玻璃棒攪拌均勻，再依續加入乳糖培養液10、10及190 mL，使總添加量為225 mL。攪拌均勻後，將瓶蓋旋緊並在室溫放置60±5分鐘。必要時，以1N 氫氧化鈉溶液或1N 鹽酸溶液將 pH 值調至6.8±0.2。將瓶蓋略旋鬆，於35°C培養24±2小時後供作檢液。

2.3.2. 蛋品

- 2.3.2.1. 帶殼蛋：先以刷子清洗蛋表面並瀝乾。浸於含0.1%硫酸月桂酸鈉之氯水溶液約30分鐘。以無菌操作取出蛋黃及蛋白，混合均勻後稱取25 g，置於已滅菌廣口瓶內。加含硫酸亞鐵胰化酪蛋白大豆培養液225 mL，混合均勻，在室溫靜置 60 ± 5 分鐘。先以pH試紙測其pH值，必要時，以無菌之1N氫氧化鈉溶液或1N鹽酸溶液將pH值調至 6.8 ± 0.2 。於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.2.2. 全蛋液(均質化者)：以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌廣口瓶內。加含硫酸亞鐵胰化酪蛋白大豆培養液225 mL，混合均勻後，續依2.3.2.1.節步驟進行檢液之調製。
- 2.3.2.3. 水煮蛋(雞蛋、鴨蛋及其他)：蛋殼完整者，依2.3.2.1.節步驟處理，再以無菌操作取出蛋黃及蛋白，混合均勻後稱取25 g，置於已滅菌廣口瓶內，加胰化酪蛋白大豆培養液225 mL，振盪均勻後，續依2.3.2.1.節步驟進行檢液之調製。
- 2.3.3. 脫脂乳粉
- 2.3.3.1. 即溶脫脂乳粉：以無菌操作稱取檢體25 g，徐徐加至盛有0.002%煌綠溶液225 mL之廣口瓶中，使其佈滿於表面。必要時，檢體量可倍增，並依上述步驟加至盛有等比例0.002%煌綠溶液之廣口瓶中。勿混合或調整pH值，靜置 60 ± 5 分鐘後，將瓶蓋旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時，供作檢液。
- 2.3.3.2. 非即溶脫脂乳粉：依2.3.3.1.節步驟進行檢液之調製，但不建議倍增檢體量。
- 2.3.4. 全脂乳粉：依2.3.3.1.步驟進行檢液之調製，但不建議倍增檢體量。
- 2.3.5. 酪蛋白
- 2.3.5.1. 乳酸酪蛋白(Lactic casein)：以無菌操作稱取檢體25 g，徐徐加至盛有預增菌培養液225 mL之廣口瓶中，使其佈滿於表面。必要時，檢體量可倍增，並依上述步驟加至盛有等比例預增菌培養液之廣口瓶中。勿混合或調整pH值，靜置 60 ± 5 分鐘後，將瓶蓋旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時，供作檢液。
- 2.3.5.2. 酶凝酪蛋白(Rennet casein)：以無菌操作稱取檢體25 g，徐徐加至盛有乳糖培養液225 mL之廣口瓶中，使其佈滿於表面。必要時，檢體量可倍增，並依上述步驟加至盛有等比例乳糖培養液之廣口瓶中。勿混合或調整pH值，靜置 60 ± 5 分鐘後，將瓶蓋旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時，供作檢液。
- 2.3.5.3. 酪蛋白鈉(Sodium caseinate)：以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌均質杯內，加乳糖培養液225 mL，混合均勻。必要時，檢體量可倍增，並依上述步驟加至盛有等比例乳糖培養液之

廣口瓶中，混合均勻。將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後，混勻並測 pH 值。必要時，調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋略旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。

- 2.3.6. 黃豆粉：依2.3.5.2.步驟進行檢液之調製，但不建議倍增檢體量。
- 2.3.7. 含蛋製品(麵條、蛋捲、通心麵、義大利麵條)、乾酪、生麵糰、沙拉(含火腿、蛋、雞肉、鮭魚、火雞肉)、生鮮、冷凍、或乾燥水果及蔬菜、堅果核仁、甲殼類(蝦、螃蟹、小龍蝦、龍蝦)及魚類：檢驗分析前，冷凍檢體最好不要解凍。需回溫再切取檢體時，可在 45°C 以下之水浴，持續搖動，解凍不超過15分鐘，或在 $2\sim 5^{\circ}\text{C}$ ，解凍時間不超過18小時。以無菌操作稱取檢體25 g，置入已滅菌之均質杯內。加乳糖培養液225 mL，均質2分鐘。將已均質化之檢體與培養液混合物倒入已滅菌廣口瓶內，將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後，混勻並調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋略旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.8. 乾酵母：以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌含蓋廣口瓶內。加胰化酪蛋白大豆培養液225 mL。混合均勻，將瓶蓋旋緊，在室溫靜置 60 ± 5 分鐘後，混勻並調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋略旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.9. 糖霜及甜點加覆料(Frosting and topping mixes)：以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌含蓋之廣口瓶內。加營養培養液225 mL，混合均勻。將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後，混勻並調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋略旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後供作檢液。
- 2.3.10. 香辛料
- 2.3.10.1. 黑胡椒、白胡椒、芹菜片及種子、辣椒粉、小茴香、紅椒、香芹碎片、迷迭香、芝麻、麝香草及蔬菜片等：以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌含蓋之廣口瓶內，加胰化酪蛋白大豆培養液225 mL，混合均勻。將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘。調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋略旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.10.2. 洋蔥片、洋蔥粉、大蒜片：以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌含蓋之廣口瓶內。加含亞硫酸鉀胰化酪蛋白大豆培養液225 mL 後，依2.3.10.1.節步驟調製檢液。
- 2.3.10.3. 眾香子、肉桂、丁香及牛至草香辛料：眾香子、肉桂及牛至草香辛料以檢體與胰化酪蛋白大豆培養液為1：100的比例、丁香以1：1000，其它葉狀調味料則至少以1：10的比例予以混合，續依2.3.10.1.節步驟製備檢液。

- 2.3.11. 糖果及糖衣(包括巧克力)：以無菌操作稱取檢體25 g，置入已滅菌均質杯內，加無脂乳粉培養液225 mL，均質2分鐘。將此溶液倒入已滅菌含蓋廣口瓶內，將瓶蓋旋緊後於室溫靜置 60 ± 5 分鐘。必要時，調整pH值至 6.8 ± 0.2 後，加1%煌綠溶液0.45 mL，混合均勻，並將瓶蓋旋鬆後，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.12. 椰子：以無菌操作稱取檢體25 g，置入已滅菌之含蓋廣口瓶內。加乳糖培養液225 mL，將瓶蓋旋緊並混合均勻，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後，混勻並測pH值。必要時，將pH值調至 6.8 ± 0.2 。加業經蒸氣加熱15分鐘之Tergitol anionic 7 2.25 mL，混合均勻。或加經蒸氣加熱15分鐘之Triton X-100 2至3滴。將瓶蓋旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.13. 食品染料及食品著色劑：當染料之pH值 ≥ 6.0 時，使用2.3.1.節之方法製備檢液。染料之pH值 < 6.0 時，以無菌操作稱取檢體25 g，置入已滅菌含蓋廣口瓶，加不含煌綠之TT培養液225 mL。將瓶蓋旋緊，混合均勻，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘，調整pH值至 6.8 ± 0.2 。加0.1%煌綠溶液2.25 mL，混合均勻。將瓶蓋旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，依2.4.3.直接劃線於選擇性培養基。
- 2.3.14. 明膠：以無菌操作稱取檢體25 g，置入無菌含蓋廣口瓶內。加乳糖培養液225 mL及5%木瓜酶溶液5 mL，混合均勻。將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘。混合均勻，以試紙測pH值。必要時，將pH值調至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.15. 肉、肉類代用品(如素雞等)、肉類副產品、動物成分(如膠原蛋白等)、魚粉、肉粉及骨粉：以無菌操作稱取檢體25 g，置入已滅菌之均質杯內。加乳糖培養液225 mL，均質2分鐘。將已均質化之檢體與培養液混合物倒入已滅菌廣口瓶內，將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘。檢體為粉狀或磨碎狀不需均質時，加乳糖培養液並充分混合均勻後，將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘。以試紙測pH值，必要時，將pH值調至 6.8 ± 0.2 。加以蒸氣加熱15分鐘之Tergitol Anionic 7或Triton X-100，儘量減少用量，加至會產生泡沫即可，最多加至2.25 mL，實際用量視檢體成分而定。粉狀肝臟及腎臟類製品等，不需加界面活性劑。將瓶蓋旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.16. 蛙腿：將15對蛙腿或分別來自15對之蛙腿15隻(平均每支重量在25 g以上時)置於無菌塑膠袋內，上覆乳糖培養液，檢體與培養液之比例為1：9 (g/mL)。混合均勻，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後

- ，以試紙測試 pH 值，必要時，將 pH 值調至 6.8 ± 0.2 。於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.17. 兔檢體：將兔檢體置入無菌塑膠袋內，上覆乳糖培養液，檢體與培養液之比例為1：9。混合均勻，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後，以試紙測試 pH 值，必要時，將 pH 值調至 6.8 ± 0.2 。於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.18. 關華豆膠(Guar gum)：取乳糖培養液225 mL 及已除菌之1% 纖維素酶溶液2.25 mL 至已滅菌含蓋之廣口瓶中。在以磁鐵攪拌混合之過程中，迅速加入檢體25 g，充分攪拌後，將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後(無需調整 pH 值)，將瓶蓋旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.19. 柳橙汁(已滅菌及未滅菌)、未過濾之蘋果汁(已滅菌及未滅菌)、已過濾之蘋果汁(已滅菌)：以無菌操作量取檢體25 mL，置於已滅菌且盛有預增菌培養液225 mL 之含蓋廣口瓶中，混合均勻。將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘(無需調整 pH 值)，續將廣口瓶之蓋子旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。
- 2.3.20. 網紋甜瓜(Cantaloupe)：檢驗分析前，冷凍檢體最好不要解凍。需回溫再切取檢體時，可在 45°C 以下之水浴，持續搖動，解凍不超過15分鐘，或在 $2\sim 5^{\circ}\text{C}$ ，解凍時間不超過18小時。檢體為塊狀或丁狀時，以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌之均質杯內。加預增菌培養液225 mL，均質2分鐘。將已均質化之檢體與培養液混合物倒入已滅菌廣口瓶內，將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘(無需調整 pH 值)，續將廣口瓶之蓋子略旋鬆，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。檢體為完整網紋甜瓜時，將檢體置於無菌塑膠袋內，加足夠之預增菌培養液，使檢體浮起。添加培養液之體積可能為檢體重量之1.5倍，例如檢體1500 g 可能需要培養液約2250 mL。必要時，再加更多培養液。將盛有檢體及培養液之塑膠袋置於適當之容器內，將袋口摺下以防止污染，但不密封。於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後(無需調整 pH 值)，於 35°C 培養 24 ± 2 小時，供作檢液。
- 2.3.21. 芒果(Mango)：檢驗分析前，冷凍檢體最好不要解凍。需回溫再切取檢體時，可在 45°C 以下之水浴，持續搖動，解凍不超過15分鐘，或在 $2\sim 5^{\circ}\text{C}$ ，解凍時間不超過18小時。檢體為塊狀或丁狀時，以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌之均質杯內。加蛋白胰緩衝液225 mL，均質2分鐘。將已均質化之檢體與培養液混合物倒入已滅菌廣口瓶內，將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘

後，混勻並調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋略旋鬆，並於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。檢體為完整芒果時，將檢體置於無菌塑膠袋內，加足夠之蛋白胨緩衝液，使檢體浮起。添加培養液之體積可能為檢體重量之1.5倍，例如檢體500 g 可能需要培養液約750 mL。必要時，再加更多培養液。將盛有檢體及培養液之塑膠袋置於適當之容器內，將袋口摺下以防止污染，但不密封，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘。必要時，調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。

2.3.22. 蕃茄(Tomato)：檢體為塊狀或丁狀時，以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌之均質杯內。加蛋白胨緩衝液225 mL，均質2分鐘。將已均質化之檢體與培養液混合物倒入已滅菌廣口瓶內，將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後，混勻並調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋略旋鬆，並於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。檢體為完整蕃茄時，將檢體置於無菌塑膠袋內，加足夠之預增菌培養液，使檢體浮起。加培養液之體積可能為檢體重量之1.5倍，例如檢體300 g 可能需要培養液約450 mL。必要時，再加更多培養液。將盛有檢體及培養液之塑膠袋置於適當之容器內，將袋口摺下以防止污染，但不密封。於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後(無需調整 pH 值)，於 35°C 培養 24 ± 2 小時，供作檢液。

2.3.23. 塗抹物(Swab)檢體：以無菌操作折斷塗抹物木柄或以無菌剪刀或其他無菌器具將塗抹棒之頭部置於無菌含蓋試管內，加蛋白胨緩衝液5 mL，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，置於已盛裝蛋白胨緩衝液9 mL 之已滅菌含蓋之試管內，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。或以無菌操作折斷塗抹物木柄、或以無菌剪刀或其他無菌器具將塗抹物之頭部置於已盛裝蛋白胨緩衝液10 mL 之已滅菌含蓋試管內，於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。

2.3.24. 其他檢體：以無菌操作稱取檢體25 g，置於已滅菌均質杯內，加蛋白胨緩衝液225 mL，均質攪拌2分鐘。將已均質化之檢體與培養液混合物倒入已滅菌含蓋之廣口瓶內。將瓶蓋旋緊，於室溫靜置 60 ± 5 分鐘後混合均勻。當檢體中細菌因長期冰凍或其他原因受損，則可使用乳糖培養液代替蛋白胨緩衝液。必要時，調整 pH 值至 6.8 ± 0.2 。將瓶蓋旋鬆於 35°C 培養 24 ± 2 小時後，供作檢液。

2.4. 選擇性增菌培養與分離

2.4.1. 檢液接種至選擇性增菌培養液：將2.3.節檢液混合均勻，依下列

操作：

- 2.4.1.1. 檢體為關華豆膠：各吸取檢液1 mL至SC及TT培養液各10 mL中，混合均勻。
- 2.4.1.2. 檢體為其他食品：吸取檢液0.1 mL至RV培養液10 mL中，另吸取檢液1 mL至TT培養液10 mL中，混合均勻。
- 2.4.2. 選擇性增菌培養：
 - 2.4.2.1. 檢體為高度污染食品：將RV培養液置於42°C水浴培養24±2小時。另將TT培養液置於43°C水浴培養24±2小時。
 - 2.4.2.2. 檢體為低度污染食品(關華豆膠除外)：將RV培養液置於42°C水浴培養24±2小時。另將TT培養液置於35°C培養24±2小時。
 - 2.4.2.3. 檢體為關華豆膠：將SC及TT培養液置於35°C培養24±2小時。
- 2.4.3. 分離培養：分別自2.4.2.節之RV、SC及TT增菌培養液中取一接種環量，在HE、XLD及BS培養基表面作劃線後，於35°C培養24±2小時，觀察所形成菌落型態。
- 2.4.4. 在各培養基中，典型沙門氏桿菌菌落之性狀如下：
 - 2.4.4.1. HE培養基：呈藍綠或藍色菌落，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。部分非典型菌落會形成黃色菌落，有(或無)黑色中心。
 - 2.4.4.2. XLD培養基：呈粉紅色菌落，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。部分非典型菌落會形成黃色菌落，有(或無)黑色中心。
 - 2.4.4.3. BS培養基：典型菌落為褐色、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。部份非典型菌落會形成綠色菌落，周圍培養基色澤稍微變深或不變色。於BS培養基上未發現典型菌落，須再於35°C培養24±2小時。
- 2.4.5. 自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，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。以無菌接種針輕觸菌落的中心並接種於TSI斜面及底部，穿刺於LIA底部兩次並於斜面劃線〔離胺酸脫羧反應為專性厭氧性(strictly anaerobic)，故LIA培養基斜面底部之深度約4 cm〕。
- 2.4.6. 將已接種菌之TSI及LIA斜面培養基於35°C培養24±2小時，培養時，將試管蓋旋鬆。典型沙門氏桿菌在TSI培養基斜面呈紅色反應(鹼性)，底部呈黃色(或無色)反應(酸性)，有培養基顏色變黑或無硫化氫產生；在LIA培養基之底部呈紫色反應(鹼性)，大多

數沙門氏桿菌在 LIA 培養基會產生硫化氫而呈黑色。凡是在 LIA 斜面培養基底部產生鹼性的菌株須保留作生化及血清學試驗；在 LIA 培養基底部產生酸性且在 TSI 斜面培養基產生鹼性斜面及酸性底部者亦須保留菌株作生化及血清學試驗。在 LIA 斜面培養基底部產生酸性且在 TSI 斜面培養基產生酸性斜面及酸性底部之菌株則可以丟棄。如 TSI 斜面培養基上菌株呈非沙門氏桿菌典型反應，則重複2.4.5.節之步驟，鉤取更多可疑菌落接種於 TSI 及 LIA 培養基。

2.4.7. 針對以下疑似沙門氏桿菌菌株，進行生化及血清學試驗。

2.4.7.1. SC 或 RV 增菌培養液經由劃線培養及穿刺培養步驟，於 TSI 斜面培養基中呈現疑似沙門氏桿菌反應之菌株，至少取3株；以及 TT 增菌培養液經由劃線培養及穿刺培養步驟，於 TSI 斜面培養基中呈現疑似沙門氏桿菌反應之菌株，至少取3株。

2.4.7.2. 當 TSI 斜面培養基中呈現疑似沙門氏桿菌反應之3株菌株，並非來自同一組分離培養基時，則必須再檢測其它於 TSI 斜面培養基中呈現疑似沙門氏桿菌反應之菌株。每25 g 檢體至少須檢測於 TSI 斜面培養基呈現疑似沙門氏桿菌反應之菌株6株。

2.5. 鑑定試驗

2.5.1. 混合菌株(Mixed culture)之純化：將 TSI 斜面培養基上未純化菌株劃線培養於麥康奇、HE 或 XLD 培養基，於35°C培養24±2小時。觀察是否有疑似沙門氏桿菌菌落：

2.5.1.1. 麥康奇培養基：典型菌落為透明無色，有時會有黑色中心。

2.5.1.2. HE 培養基：如2.4.4.1.節。

2.5.1.3. XLD 培養基：如2.4.4.2.節。

至少接種2株疑似沙門氏桿菌菌落於 TSI 及 LIA 斜面培養基，步驟如2.4.5.節及2.4.6.節。

2.5.2. 純菌株(Pure culture)

2.5.2.1. 尿素酶試驗(傳統方法)：以無菌接種針挑取 TSI 斜面培養基上可疑菌株，接種於尿素培養液內，於35°C培養24±2小時。由於未接種之尿素培養液偶爾會轉變為紫紅色，故試驗時應包括未接種之培養液作為對照用。培養液由橘紅色轉變為紫紅色者為正反應，顏色不變者為負反應，沙門氏桿菌為負反應。

2.5.2.2. 尿素酶試驗(快速法)：自含可疑菌株之 TSI 斜面培養基上鉤取二接種環量菌種至供快速測試用之尿素培養液內，於37±0.5°C水浴培養2小時。培養液由橘紅色轉變為紫紅色者

為正反應，顏色不變者為負反應，沙門氏桿菌為負反應。
尿素酶試驗為負反應者，應自其 TSI 培養基中鉤菌，作以下之血清及生化試驗。

2.5.3. 本體抗血清試驗(Serological somatic test)

2.5.3.1. 多價本體(O)抗血清試驗[Polyvalent somatic (O) test]

將玻片或塑膠培養皿劃出約 1×2 cm 之二區。自經培養 24~48 小時之 TSI 培養基斜面鉤取一接種環菌量至 0.85% 生理食鹽水 2 mL，混合均勻。分別取菌株懸浮液各 1 滴，滴入玻片上二區部位。滴 1 滴生理食鹽水在玻片之一區，滴 1 滴多價本體抗血清在玻片另一區。以無菌接種環或接種針將玻片上菌液與 0.85% 生理食鹽水(或本體抗血清)混合均勻。將玻片前後搖動約 1 分鐘後在光源上觀察結果：

正反應：菌液與本體抗血清產生凝集，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。

非特異型反應：兩者均產生凝集。

2.5.3.2. 單價本體族群(O)抗血清試驗[Monovalent somatic(O)group test]

如 2.5.3.1. 節，取菌株懸浮液，利用單價本體族群(O)抗血清(包括 Vi 抗血清)進行試驗。正反應者應產生凝集現象，負反應者則無。將與 Vi 抗血清凝集之菌株，配製成濃稠菌株懸浮液，於沸水中加熱 20~30 分鐘後，冷卻。將經加熱、冷卻處理之濃稠菌株懸浮液再與本體族群抗血清 C₁、D、Vi 作用。菌株懸浮液於加熱處理前與 Vi 抗血清呈凝集反應，且加熱後不與 Vi 抗血清呈凝集但與族群抗血清 D 凝集者可能為 *Salmonella typhi*；加熱前與 Vi 抗血清呈凝集，且加熱後不與 Vi 抗血清呈凝集但與族群抗血清 C₁凝集者可能為 *Salmonella paratyphi C*；經加熱處理之菌株懸浮液仍與 Vi 抗血清呈凝集反應，而不與其它單價本體族群抗血清凝集之菌株可能不是沙門氏桿菌。能與任何單價本體族群抗血清凝集之菌株為單價本體族群(O)抗血清正反應；不能與任何單價本體族群(O)抗血清凝集者為單價本體族群(O)抗血清負反應。

2.5.4. 多價鞭毛(H)血清試驗[Serological polyvalent flagellar (H) test]

將尿素酶負反應之可疑沙門氏桿菌菌株自 TSI 斜面培養基中接種至 BHI 培養液中，於 35°C 培養 4~6 小時，或於胰化酪蛋白大豆胰化蛋白胨培養液中培養 24±2 小時。取上述培養液 5 mL，加

入福馬林化生理食鹽水2.5 mL，混合均勻。將多價鞭毛抗血清0.5 mL置於試管(13×100 mm或10×75 mm)內，添加上述福馬林化菌株培養液0.5 mL。以福馬林化生理食鹽水0.5 mL與福馬林化菌株培養液0.5 mL混合，作為對照組。將上述混合液放入水浴(48~50°C)培養，每隔15分鐘觀察一次至1小時後，判讀最後結果。正反應為測試組呈凝集而對照組無凝集；負反應為測試組及對照組均無凝集；非特異型反應為測試組及對照組均有凝集。

2.5.5. 生化試驗：自尿素酶負反應之 TSI 培養基鈎菌，作以下試驗。

2.5.5.1. 離胺酸脫羧酶試驗(Lysine decarboxylase test)

於 LIA 培養基之試驗結果符合典型沙門氏桿菌之反應者，不需重複此試驗。鈎菌接種於離胺酸脫羧酶培養液，旋緊試管蓋後，於35°C培養48±2小時，每隔24小時觀察一次。培養液維持紫色者為正反應，由紫色變為黃色者為負反應，沙門氏桿菌應為正反應。培養液變為非紫非黃色時，則加數滴0.2%溴甲酚紫溶液後再行觀察。

2.5.5.2. 半乳糖醇利用試驗(Dulcitol utilization test)

鈎菌接種於酚紅半乳糖醇培養液或紫色半乳糖醇培養液並將試管旋鬆，於35°C培養24小時後開始觀察，直至48±2小時。培養液變為黃色並(或)產生氣體者為正反應，否則為負反應，大部分沙門氏桿菌為正反應。

2.5.5.3. 胰化蛋白胨培養液(Tryptone broth):鈎菌接種於胰化蛋白胨培養液，於35°C培養24±2小時後，進行下列試驗：

2.5.5.3.1. 氰化鉀試驗(KCN test):鈎菌接種於氰化鉀培養液中，以橡皮塞封緊試管口，於35°C培養24小時後開始觀察直至48±2小時。培養液由清澈變為混濁者為正反應，否則為負反應。大部分沙門氏桿菌為負反應。氰化鉀為劇毒物質，操作時須小心。

2.5.5.3.2. 丙二酸鹽試驗(Malonate test):鈎菌接種於丙二酸鹽培養液，於35°C培養24小時後開始觀察直至48±2小時。培養液由綠色變為藍色者為正反應，維持綠色者為負反應，大部分沙門氏桿菌為負反應。

2.5.5.3.3. 吲哚試驗(Indole test):取胰化蛋白胨培養液5 mL置入空試管，加柯瓦克氏試劑0.2~0.3 mL，上層呈深紅色或紫色者為正反應。大部分沙門氏桿菌為負反應。將中間色如橘色或粉紅色者記錄為±。

2.5.5.3.4. 沙門氏桿菌之鞭毛抗血清試驗：如尚未進行鞭毛抗血清試驗者可在這補作。

- 2.5.5.3.5. 將吡哌試驗為正反應，鞭毛抗血清試驗為負反應，或氰化鉀試驗為正反應，離胺酸脫羧酶試驗為負反應之菌株判定為非沙門氏桿菌。
- 2.5.6. 其它生化反應：菌株與表一中試驗1至10反應結果相符者為“沙門氏桿菌”；菌株具鞭毛抗血清凝集反應，但與沙門氏桿菌生化反應不符者，需依2.5.1.節先行純化，再自2.5.2.節重新測試。菌株與表一列試驗1至10之沙門氏桿菌典型反應結果不符者，繼續進行下列生化反應：
- 2.5.6.1. 乳糖發酵試驗 (Lactose fermentation test)：將菌株接種於酚紅乳糖培養液或紫色乳糖培養液，於35°C培養24小時後開始觀察直至48±2小時，產酸(顏色變黃)並有氣體產生者為正反應；只有產酸者亦視為正反應。大部份的沙門氏桿菌為負反應。將乳糖試驗為正反應之非沙門氏桿菌菌株丟棄，惟在 TSI 培養基上呈酸性反應，並在 LIA 培養基上呈正反應，或丙二酸鹽培養基上呈正反應之菌株保留，進行下列試驗，以判定是否為 *S. arizonae*。
- 2.5.6.2. 蔗糖發酵試驗(Sucrose fermentation test)：將菌株接種於酚紅蔗糖培養液或紫色蔗糖培養液，再依2.5.6.1.節之步驟培養及觀察。將正反應之菌株丟棄；惟在 TSI 培養基上呈酸性反應，且在 LIA 培養基上呈正反應之菌株則保留。
- 2.5.6.3. MR-VP 試驗：鈎菌接種於 MR-VP 培養液，於35°C培養48±2小時。
- 2.5.6.3.1. 歐普氏試驗(VP test)：取培養48小時菌液1 mL 至另一試管中(剩餘之 MR-VP 培養液於35°C再培養48±2小時)，加入歐普氏試劑之溶液 A 約0.6 mL 振搖均勻。再加歐普氏試劑之溶液 B 約0.2 mL，振搖均勻，加入少許肌酸以加速反應。4小時後觀察結果，呈現粉紅至鮮紅色者為正反應，大部份沙門氏桿菌為負反應。
- 2.5.6.3.2. 甲基紅試驗(MR test)：取已培養96小時菌液5 mL 至試管中，加入甲基紅指示劑5至6滴，立即觀察反應結果，培養液呈紅色者為正反應，呈黃色者為負反應。大部份沙門氏桿菌為正反應。
將氰化鉀試驗呈正反應，歐普氏試驗呈正反應，甲基紅試驗呈負反應之非沙門氏桿菌丟棄。
- 2.5.6.4. 檸檬酸鹽利用試驗(Citrate utilization test)：鈎菌接種於辛蒙斯檸檬酸鹽培養基，須在斜面上作劃線及穿刺培養，於35°C培養96±2小時。斜面上有菌體生長且培養基顏色由綠色變為藍

色者為正反應，大部份沙門氏桿菌為正反應。

- 2.6. 判定：沙門氏桿菌陽性者，應符合表一所列之結果。與表二之結果相同者，則被歸類為非沙門氏桿菌。菌株不是以上二類者，則須進行其他試驗^(註)。

註：可依參考文獻(Ewing, W.H. 1986. *Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier, New York.) 進行其他試驗。

表一、沙門氏桿菌之生化及血清反應

試驗或基質	正反應(+)	負反應(-)	沙門氏桿菌之反應 ^a
1. 葡萄糖(TSI)	黃色底部	紅色底部	+
2. 離胺酸脫羧酶試驗(LIA)	紫色底部	黃色底部	+
3. 硫化氫(TSI 和 LIA)	變黑	無變黑	+
4. 尿素酶試驗	紫紅色	顏色不變	-
5. 離胺酸脫羧酶培養液	紫色	黃色	+
6. 酚紅(或紫色)半乳糖醇培養液	黃色，產氣	顏色不變 不產氣	+ ^b
7. 氰化鉀培養液	混濁 (生長)	澄清 (不生長)	-
8. 丙二酸鹽培養液	藍色	顏色不變	- ^c
9. 吡哌試驗	表面呈深紅色 或紫色	表面呈黃色	-
10. 多價本體及鞭毛血清試驗	凝集	無凝集	+
11. 酚紅(或紫色)乳糖及蔗糖培養液	黃色，產氣	不產氣 顏色不變	- ^c
12. 酚紅(或紫色)蔗糖培養液	黃色，產氣	不產氣 顏色不變	-
13. 歐普氏試驗	粉紅或紅色	顏色不變	-
14. 甲基紅試驗	紅色	黃色	+
15. 辛蒙斯檸檬酸鹽培養基	生長，藍色	不生長 顏色不變	V

a. “+”表示90%以上在1~2天內均為正反應，“-”表示90%以上在1~2天內均為負反應；“V”表示不一定。

b. 大部分的 *S. arizonae* 為負反應。

c. 大部分的 *S. arizonae* 為正反應。

表二、非沙門氏桿菌菌株之判定標準

試驗或基質	結果
1. 尿素酶	正反應(紫紅色~紅色)
2. 吡啶試驗及 多價鞭毛抗血清試驗	正反應(表面呈深紅色或紫色) 負反應(無凝集)
3. 離胺酸脫羧酶及 氰化鉀培養液	負反應(黃色) 正反應(混濁)
4. 酚紅(或紫色)乳糖培養液	正反應(黃色, 產氣) ^{a,b}
5. 酚紅(或紫色)蔗糖培養液	正反應(黃色, 產氣) ^b
6. 氰化鉀培養液 歐普試驗及 甲基紅試驗	正反應(混濁) 正反應(粉紅至紅色) 負反應(黃色)

a. 測試丙二酸鹽試驗為陽性之菌株需再試驗是否為 *S. arizonae*
b. 如 LIA 為正反應之菌株不應丟棄, 應繼續測試看是否為沙門氏桿菌。

2.7. 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。菌株經商業生化套組鑑定為疑似沙門氏桿菌, 仍須進行本體族群(O)抗血清試驗及鞭毛血清試驗, 如二者均為正反應, 則判定為沙門氏桿菌陽性。

第二部：沙門氏桿菌之 real-time PCR 檢測

1. 適用範圍：本方法適用於沙門氏桿菌之鑑別。
2. 檢驗方法：檢體之增菌液或經分離純化後之菌株，經 DNA 萃取後，以即時聚合酶鏈反應(real-time polymerase chain reaction, real-time PCR) 進行鑑別之方法。
 - 2.1. 工作環境：工作平台需寬敞、潔淨、光線良好。檢體前處理、檢體 DNA 抽取、real-time PCR 試劑配製及 real-time PCR 等檢驗過程皆需有區隔空間，避免交叉污染。Real-time PCR 試劑之配製應於生物安全操作櫃內進行。
 - 2.2. 裝置^(註 1)
 - 2.2.1. 即時聚合酶鏈反應器：Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System，或同級品。
 - 2.2.2. 高壓滅菌釜。
 - 2.2.3. 生物安全操作櫃(Biological safety cabinet, BSC)：第二等級(class II)(含)以上者。
 - 2.2.4. 加熱振盪器：具溫控及振盪功能。
 - 2.2.5. 微量冷凍離心機(Micro refrigerated centrifuge)：可達 20000 × g，並具 4°C 溫控功能。
 - 2.2.6. 離心機：供各式微量離心管離心用。
 - 2.2.7. 分光光度計：具波長 260 nm、280 nm。
 - 2.2.8. 冷凍設備：具冷藏及凍結(-20°C)功能。
 - 2.2.9. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.2.10. 酸鹼度測定儀(pH meter)。
 - 2.2.11. 天平：最大稱重量為 2000 g，靈敏度為 0.1 g；最大稱重量為 100 g，靈敏度為 1 mg。
- 註 1：本方法所使用或提及之產品品牌不代表為同類產品中最好者；反之，未使用或未提及之產品品牌亦不代表為同類產品中較差者。
- 2.3. 試藥
 - 2.3.1. DNA 抽取用：適用於革蘭氏陰性細菌 DNA 抽取之市售套組。
 - 2.3.2. Real-time PCR 用^(註 2)
 - 2.3.2.1. 鑑別試驗用引子及探針

2.3.2.1.1. 沙門氏桿菌鑑別基因(標的基因：*invA*)

引子 F：5'- CAA CGT TTC CTG CGG TAC TGT -3'

引子 R：5'- CCC GAA CGT GGC GAT AAT T - 3'

探針 P：

5'-(FAM)- CTC TTT CGT CTG GCA TTA TCG ATC
AGT ACC A -(BHQ1)-3'

PCR 增幅產物大小 116 bp

註 2：合成之引子及探針，拆封後，以無菌去離子水稀釋成適當濃度，分裝後置於-20°C 貯存備用，另探針需避光保存，探針 5'端採用 6-carboxy-fluorescein (FAM)標記，3'端採用 Black Hole Quencher-1 (BHQ1)標記。

2.3.2.2. TaqMan® Fast Reagents Starter Kit (適用於 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System)

本試劑內含 real-time PCR 所需去氧核糖核苷三磷酸、聚合酶等，使用時添加引子、探針及待測檢體 DNA。

2.3.3. 對照用物質：沙門氏桿菌標準菌株或其 DNA。

2.4. 器具及材料^(註 3)

2.4.1. 微量吸管(Micropipette)：2μL、10 μL、20 μL、100μL、200 μL 及 1000 μL。

2.4.2. 吸管尖頭(Pipette tip)：可滅菌。10 μL、20 μL、200 μL 及 1000 μL。

2.4.3. 離心管：200 μL、600 μL、1.5 mL 及 2 mL。

2.4.4. Real-time PCR 反應管：100 μL。

2.4.5. Real-time PCR 反應盤：具 96 個反應孔，適用於 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System。

2.4.6. 玻璃或塑膠瓶：50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL 及 2000 mL。

註 3：使用之塑膠或玻璃器皿均為無 DNase 污染。

2.5. Real-time PCR 溶液^(註 4)

Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System 鑑別試驗用

5 μM 引子 F 2.0 μL

5 μM 引子 R..... 2.0 μL

10 μM 探針..... 0.5 μL

TaqMan® Fast Reagents Starter Kit..... 13.0 μL

檢體 DNA 溶液.....	2.0 μ L
無菌去離子水	5.5 μ L
總體積	25.0 μ L

註 4：Real-time PCR 溶液應置於冰浴中配製。

2.6. 檢體 DNA 溶液之製備

2.6.1. 檢體增菌液之 DNA 溶液製備

自第一部 2.4.1.節、2.4.2.節增菌液中吸取菌液 1 mL 或分離菌株，取一接種環量，加入無菌去離子水 1 mL，置入已滅菌之 1.5 mL 離心管中，以 $15000 \times g$ 離心 3 分鐘，去除上清液。

2.6.1.1. 直接煮沸法

將沉澱物加入無菌去離子水 1 mL，振盪混合均勻，以 $15000 \times g$ 離心 3 分鐘，去除上清液，重複操作一次。續將沉澱物加入無菌去離子水 1 mL，振盪混合均勻，置入加熱振盪器中煮沸 10 分鐘，取出離心管，作為檢體 DNA 原液，置於 -20°C 冷凍保存。

2.6.1.2. 抽取 DNA 法

採用適用於革蘭氏陰性細菌 DNA 抽取之市售套組，依套組操作說明步驟抽取 DNA。抽取之 DNA 溶液收集至已滅菌之 1.5 mL 離心管，作為檢體 DNA 原液，置於 -20°C 冷凍保存。

2.6.2. 分離菌株之 DNA 溶液製備

取一接種環之分離菌株，置入含有無菌去離子水 1 mL 之已滅菌 1.5 mL 離心管中，振盪混合均勻，煮沸 10 分鐘，取出離心管，待冷卻後以 $15000 \times g$ 離心 3 分鐘，吸取上清液至另一已滅菌 1.5 mL 離心管，作為檢體 DNA 原液，置於 -20°C 冷凍保存。亦可依 2.6.1.2.節進行檢體 DNA 原液之製備。

2.6.3. DNA 濃度測定及純度判斷

取適量之檢體 DNA 原液，以無菌去離子水做適當倍數之稀釋，分別測定 260 nm 及 280 nm 之吸光值(O.D.)。以波長 260 nm 吸光值乘 50 ng/ μ L 及稀釋倍數，即為檢體 DNA 原液濃度。DNA 溶液純度則以 $\text{O.D.}_{260}/\text{O.D.}_{280}$ 比值作判斷，其比值應介於 1.7 ~2.0。

2.7. 鑑別試驗^(註 5)

2.7.1. Real-time PCR 操作步驟

以無菌去離子水適當稀釋檢體 DNA 原液、引子及探針備用。取已滅菌之 1.5 mL 離心管，依照 2.5.節配製 real-time PCR 溶液，依序加入 TaqMan® Fast Reagents Starter Kit、稀釋過之引子及探針，混合均勻後，分裝 20 μ L 入 real-time PCR 反應盤的反應孔中，各別加入檢體 DNA 溶液 5 μ L，再將 real-time PCR 反應盤置於離心機中，以 200 \times g 瞬間離心，移入 real-time PCR 反應器，依下列條件進行反應。同時另製作正反應及負反應對照組。

2.7.1.1. 沙門氏桿菌菌屬鑑別基因反應條件

步驟	溫度	時間
1. 熱活化	95°C	20 sec
2. 最初變性	95°C	15 sec
3. 黏接、延展	60°C	30 sec

步驟 2 至步驟 3，共進行 40 個循環反應。

2.7.2. Real-time PCR 螢光分析

檢體 DNA 經 real-time PCR 反應後，直接從 real-time PCR 反應器上之螢幕觀察探針所產生之螢光增幅曲線，即可判讀反應結果。同時另測試正反應及負反應對照組。

2.7.3. 確認

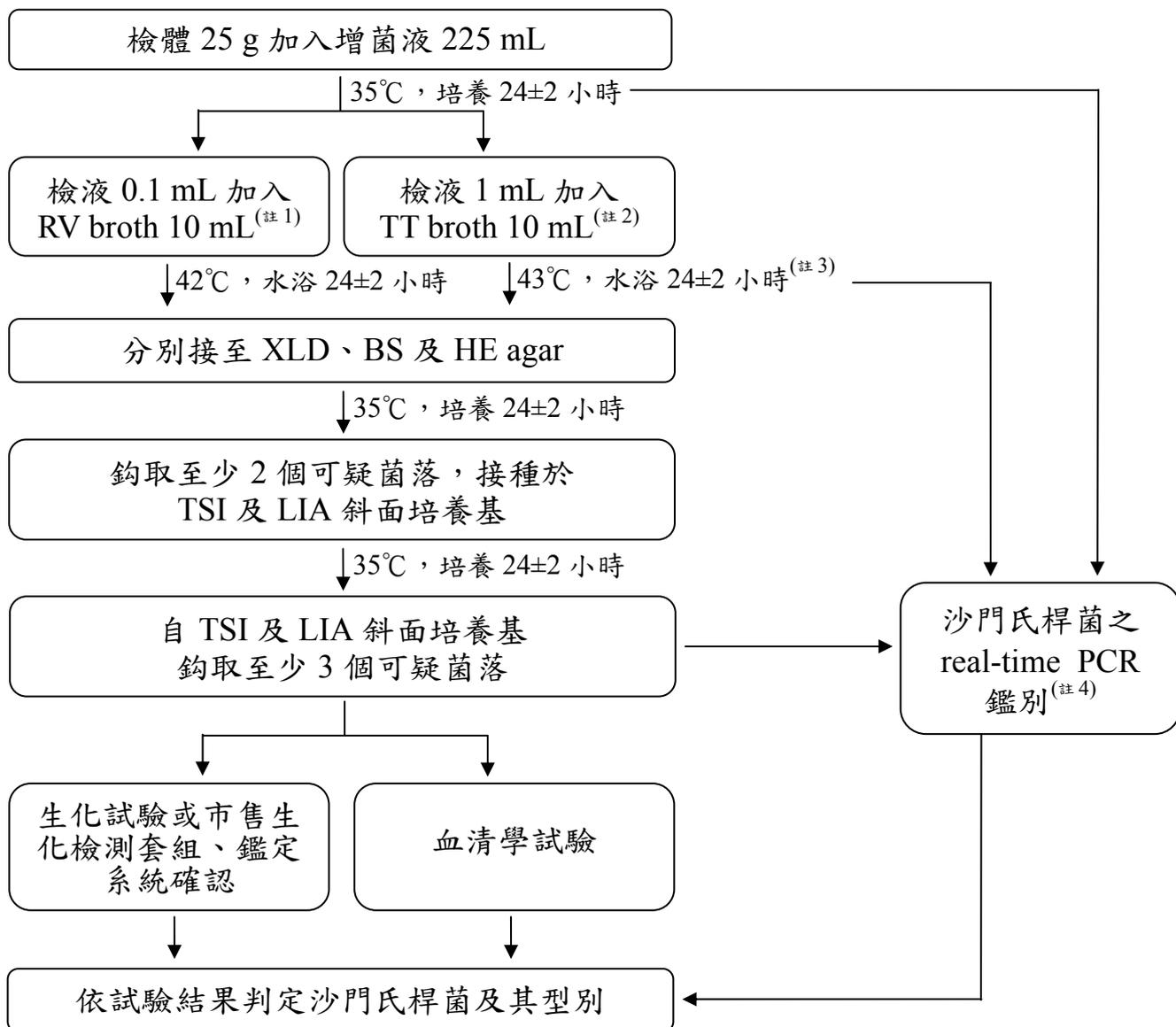
檢體 DNA 之 real-time PCR 增幅產物螢光分析圖與正反應對照組螢光分析圖進行相互比對，當檢體 DNA 與正反應對照組之 real-time PCR 螢光分析圖均出現經由探針所產生之螢光增幅曲線，即確認該 real-time PCR 增幅產物為沙門氏桿菌之 DNA 片段，可確認該檢體中含有沙門氏桿菌之基因。

註 5：本 Real-time PCR 反應條件係採 Applied Biosystems 7500

Real-Time PCR System 設定之，當使用其他機型時，應自行探討反應條件。

附註：第二部沙門氏桿菌之 real-time PCR 檢測可視需要執行。

檢驗流程圖



註 1：檢體為關華豆膠，使用 SC 培養液。

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

註 3：檢體為低度污染食品(關華豆膠除外)，將 TT 培養液置於 35°C 培養 24±2 小時；檢體為關華豆膠，將 SC 及 TT 培養液置於 35°C 培養 24±2 小時。

註 4：可依檢體含菌量情況自行探討接續 real-time PCR 之步驟及增菌時間，以達快速鑑別目的。