



生物檢定常用菌種之製備

陳玉儀 張天馨

摘 要

為供應本局及國內生物檢定實驗用菌種，本局自民國 71 年起，即以冷凍乾燥法製備供試菌種，並以安甌 (Ampule) 代替小瓶 (Vial)，加以熔封來確保安甌內真空度。現已製備 42 種供試菌種，可供國內學術界及業者使用。

前 言

供試菌種與生物檢定 (bioassay) 之精確性有密不可分之關係。本局於民國 67 年改制成立後，業務年復一年的擴大，菌種需求亦隨之增加。兼之國內藥界實施 GMP 制度，業者為力求其品管檢驗與本局之檢驗方法及器材一致，亦陸續向本局索購菌種。復因本局遵奉衛生署貫徹國內藥物檢定方法齊一化之政策，亦力求使用之純菌菌種來源相同。由於這些因素促使本局必須迅速建立完善之純菌菌種保存制度，及改進大量製備冷凍乾燥菌種之方法。

自民國 71 年起，本局第二組以安甌取代原用之小瓶，並更改凍結乾燥機之作業程序，及以熔封方式，確保安甌內之真空度，經過兩年的測試，業已確定製備成功。

材料與方法

一、設備

- (一) 凍結乾燥機。
- (二) 真空度檢測器。
- (三) 火焰熔封器。
- (四) 自動滅菌釜。
- (五) 培養箱。
- (六) 無菌操作箱。

- (七) 烤箱：可達 70 °C 者。
- (八) 冷凍箱：可達 - 20 °C 者。
- (九) 空氣壓縮幫浦。

二、材料

- (一) 安甌。
- (二) 各菌種所需之培養基。
- (三) ATCC 標準菌種。
- (四) 玻璃器材：含三角錐瓶、試管、滴管等。
- (五) 棉花塞。
- (六) 注射管。
- (七) 真空油脂。
- (八) 熱交換油。
- (九) 真空油。

三、製備程序。

(一) 安甌 (Ampule) 之處理：

挑出完整無缺痕之安甌，用蒸餾水煮沸，洗淨數次，在 70 °C 烘箱中烘乾，乾燥後之安甌一一塞入棉花塞，然後包裹並以 160 °C 乾熱滅菌 2 小時。

(二) 菌種之凍結乾燥法：

由美國菌種貯存中心 (American Type Culture Collection; ATCC) 購得之凍結乾燥菌種，依 ATCC 之規定，接種細菌於特定之培養基中，連續接種 (transfer) 三次使之活化。以 10 % 脫脂乳 (skim milk) 或 7.5 % 葡萄糖——牛白蛋白 (Glucose - Bovine Albumin) 洗下活

生物檢定常用菌種之製備

化之細菌，分裝於安甌中，每支安甌約裝 0.2~0.3ml 菌液，放入凍結乾燥機內，凍結乾燥過夜。翌日取出接於凍結乾燥機上之連接管上，冷凍並抽真空，當真空度達到 50×10^{-3} Torr 以下時，即以火焰熔封器迅速熔封安甌之封口，每支熔封後之安甌均需經真空度檢測器檢定，檢測合格之安甌應貯藏於 -20°C 冷凍箱內保存。每半年並應測定，內含生菌數一次。

結果與討論

目前本局已製備 42 種供試菌種(表一)，可供國內部分需求。但是因使用之凍結乾燥機無法同時凍結大量的菌種，每批最多只能完成 36 支安甌。若考慮未來國內對供試菌種之需求，本局應更新現有之設備，以期提供更有效的服務。

英國國立工業用菌種中心 (NCIB)，國立海

洋菌種中心 (NCMB) 及國立菌種中心 (NCTC) 認為冷凍乾燥菌種所使用之菌液 (suspension fluid) 以 7.5% 葡萄糖—牛蛋白 (Glucose-Albumin) 為佳^{2,3}。本局使用 10% 脫脂乳亦有良好的效果，製備之乾燥菌種，保存二年活菌數仍超過 2×10^6 個/ml，惟菌種結晶塊較不美觀是其缺點。

參考文獻

1. American Type Culture Collection Catalogue of Strains I. 1978. 13th ed.
2. Joklik, Willet, Amos. 1980. *Zinsser Microbiology*, 17th ed.
3. Lapage, S.P., J.E. Shelton and T.G. Mitchell. 1982. *Methods in Microbiology*.

PREPARATION OF TEST STRAINS FOR BIOASSAY

YU-YI CHEN AND TIEN-HSIN CHANG

ABSTRACT

Forty-two prepared test strains are available for requesting from the Food and Drug Bureau now. The techniques to make lots of subcultures by freeze-drying method has been set up since

1982. The vials are replaced with ampules which are sealed at the mouths to make sure the vacuum inside.

藥物食品檢驗局調查研究年報 (Ann. Rept. FDB)

表一 本局現有菌種一覽表

Strain Name	ATCC No.	ATCC Suggested Medium	Culture Temperature
Bacillus cereus	ATCC 11778	3	30
Bacillus pumilus	NCTC 8241	3	37
Bacillus subtilis	ATCC 6633	3	30
Bordetella bronchiseptica	ATCC 4617	3	37
Candida albicans	*	200	25
Escherichia coli	ATCC 10536	3	37
Escherichia coli	ATCC 11229	3	37
Gluconobacter oxydans subsp. suboxydans	ATCC 621H	1	26
Klebsiella pneumoniae	ATCC 10031	3	37
Lactobacillus casei subsp. rhamnosus	ATCC 7469	416	37
Lactobacillus fermentum	ATCC 9338	416	37
Lactobacillus leichmannii	ATCC 7830	17	37
Lactobacillus leichmannii	ATCC 4797	17	37
Lactobacillus plantarum	ATCC E8014	416	37
Micrococcus luteus	ATCC 9341	3	30
Micrococcus luteus	ATCC 9341A	3	30
Micrococcus luteus	ATCC 10240	3	26
Micrococcus luteus	ATCC 10240A	3	26
Micrococcus luteus	ATCC 14452	34	26
Micrococcus luteus	ATCC 15957	180	37
Micrococcus luteus	ATCC 7468	3	30
Micrococcus luteus	ATCC 7468D	55	30
Micrococcus gypseum	ATCC 14683	28	26
Neurospora crassa	ATCC 9277	331	24
Neurospora intermedia	ATCC 9276	331	24
Pediococcus acidilactici	ATCC 8081	416	37
Pediococcus acidilactici	ATCC 8042	416	37
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 25619	3	37
Pseudomonas aeruginosa	*	3	37
Saccharomyces cerevisiae	ATCC 2601	200	26
Saccharomyces cerevisiae	ATCC E9763	200	24
Salmonella typhi	ATCC 6539	3	37
Staphylococcus aureus	ATCC 6538P	117	37
Staphylococcus aureus	ATCC 6538DR	117	37
Staphylococcus aureus	ATCC 12692	3	37
Staphylococcus aureus	ATCC 9144	117	37
Staphylococcus aureus	ATCC 29737	117	37
Staphylococcus epidermidis	ATCC 12228	3	37
Staphylococcus sp.	ATCC 12715	3	37
Streptococcus faecium	ATCC 8043	17	37
Streptococcus faecium	ATCC 10541	17	37
Vibrio parahaemolyticus K17	*	TSI+3% NaCl	37

※由別單位贈送，無法確知 ATCC No. 者。