

分類鑑定

細菌鑑定

2012 年台灣生技製藥產業產值高達近 900 億，其中微生物類保健食品產值超過 110 億，而在 2012 至 2016 年間食品所生資中心提供之菌種鑑定服務委託者類別中，36% 為生技應用領域，17% 為食品產業，16% 為醫藥研發，其次為生命科學教育和農林畜牧業，足見菌種鑑定技術可支撐生技、食品及醫藥產業之發展，具體影響產值達百億之上。在整體生技產業中，微生物是重要的生物資源，而使用正確的學名是評估微生物安全性和其產品價值的首要工作。確認微生物身分可協助了解其特性，對於醫療、環境維持、產品管控及菌種開發等皆具有直接的影響性，而分類鑑定技術是確認微生物身分的關鍵技術。

早期細菌是依靠形態學、生理學、生化學等觀點加以分類鑑定。隨著生物化學和分子生物學等科技方法的進步，傳統分類鑑定方法輔以化學分類法與分子生物分類法的應用，有助於釐清傳統分類方法無法判斷之菌種，以及種內（intraspecies）和種間（interspecies）菌株之間的關係，可使分類鑑定工作更加準確可靠，並賦予細菌分類上之正確地位。細菌最有系統且完整的分類鑑定方法是同時考慮其外觀形態、生長特性、生理特性、化學組成、生化反應等表現型特徵（phenotypic characteristics）以及分子生物分類法的基因型特徵（genotypic characteristics）等多相數據，即為多相分類學（polyphasic taxonomy）。使用最新、有效且經驗証過的鑑定方法，結合表現型試驗和基因型試驗等多相分類數據，審慎判斷，才能完整且正確的鑑定菌名，不能單就一種方法鑑定菌株，避免造成菌名誤判的可能性。

細菌需使用當前認可且經過驗證的學名。以最常使用於乳酸菌產品產生特殊風味和凝乳作用的保加利亞乳桿菌為例，保加利亞乳桿菌（*Lactobacillus bulgaricus*）是人類使用數百年以上的俗名，其當前且正式的學名為德氏乳桿菌保加利亞亞種（*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*）。細菌的分類學和命名法由 International Code of Nomenclature of Bacteria（於 1992 年成立）所規範。細菌學名需發表於國際分類期刊 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM) 才被視為有效，只要是發表於 IJSEM 的細菌學名（Validly published）會列在 IJSEM 的 Approved List of Bacterial Names 清單中，如果是發表在 IJSEM 以外之學術期刊的細菌學名 (Effectively published)，則需要經過 IJSEM 審核確認並公告於 IJSEM 的 Validation Lists 清單之後，才能成為有效學名。

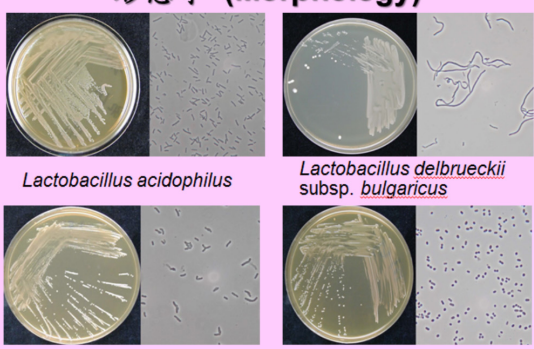
項目說明

細菌鑑定流程是先確認顧客提供之菌株的純度和生長狀況，再進行鑑定試驗，綜合多相分類鑑定學之數據結果進行菌株分類地位之研判，並給予菌種學名。由於細菌鑑定是複雜且需以多相分類學方法相互佐證才能達到正確鑑定出菌種學名的技術，而且分類地位也會隨著分析方法進步而隨時更動，學名之研判需定期更新，因此生資中心持續精進開拓和應用多相分類鑑定技術，以因應產學研各界對菌種分類鑑定的需求，協助委託者提昇產業效益，強化產品製程品保，符合國際法規要求，以利產業界擴展出口優勢，包括

顧客潛力菌株之正確學名判定、專利菌株的申請或保護、衛福部健康食品查驗登記或申請、產品之行銷（國內和國外）以及協助藥廠環境微生物之監控與清潔確效，以符合國際 PIC/S GMP 查驗要求等。

生資中心提供的細菌鑑定服務項目有菌種學名鑑定、DNA G+C 含量分析、DNA-DNA 雜交分析、16S rDNA 序列分析、持家基因序列分析、脂肪酸組成分析、微生物鑑定套組分析（API、Biolog、Vitek、MIDI）、微生物快速鑑別（MALDI - TOF 質譜分析）等。另有因應顧客不同需求的客製化鑑定服務，如混合菌株產品中已知標的菌株之分離純化和菌種學名鑑定、菌株品系之分型鑑別（strain typing）、混合菌株產品之細菌快速鑑別等，可依服務內容另行洽談。相關服務資訊可至生資中心菌種鑑定服務網頁查詢（http://www.bcrc.firdi.org.tw/www/bcrc/c04_profile.do）。

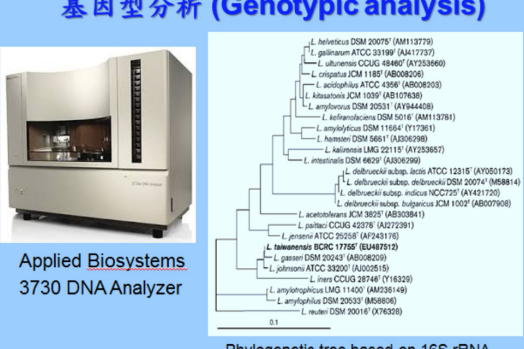
形態學 (Morphology)



Lactobacillus acidophilus *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* *Enterococcus faecium* subsp. *faecium*

基因型分析 (Genotypic analysis)



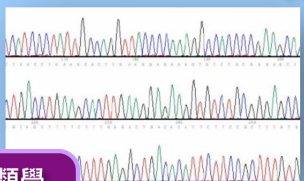
Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer

Phylogenetic tree based on 16S rRNA genes of *Lactobacillus* strains

形態學 Morphology

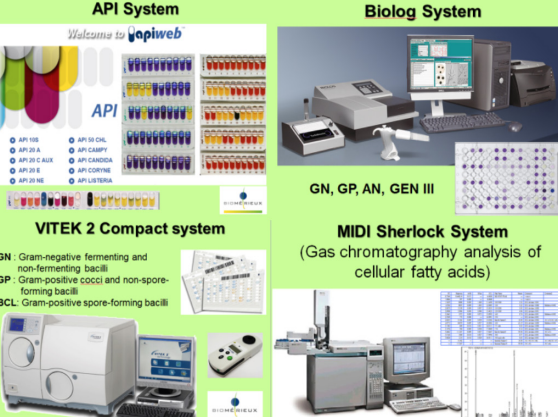


基因型 Genotype



多相分類學 Polyphasic taxonomy

表現型 Phenotype



API System

Welcome to apiweb

API

- API 100
- API 100 CHL
- API 20 A
- API 20 C AUX
- API 20 E
- API 20 H
- API 20 NE
- API 50 CHL
- API CAMPY
- API CANDA
- API CORNE
- API LISTERIA

VITEK 2 Compact system

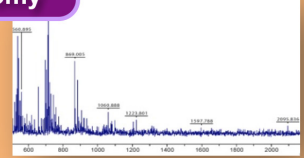
GN: Gram-negative fermenting and non-fermenting bacilli
GP: Gram-positive cocci and non-spore-forming bacilli
BCL: Gram-positive spore-forming bacilli

Biolog System

GN, GP, AN, GEN III

MIDI Sherlock System
(Gas chromatography analysis of cellular fatty acids)

質譜指紋 Mass fingerprinting



Whole-cell Protein Profiling by MALDI-TOF MS

