

分類鑑定

環境監控之微生物鑑定

台灣氣候高溫潮濕，容易滋生各類微生物。自然界中空氣微生物是以氣膠的形式存在於環境中，細菌易吸附在塵埃粒子表面，真菌則多以孢子型態存在空氣中。因為一般微生物具有微小、生長快速的特性，只需要一點基礎的營養即可存活，若在食品或產品生產製程中操作人員稍有疏漏並不易及時查覺，一旦汙染微生物大量增生，後續易造成產品腐敗或變質、環境汙染甚或人員受感染等負面影響，成為製造面或環境面的風險來源之一，因此在製程中必須對環境微生物進行有效的控管，才能確保產品之衛生安全與維持穩定的產品品質。依現行西藥藥品優良製造規範 (PIC/S GMP)、美國藥典 USP <1116> 章節 (無菌製程環境之微生物管制與監控) 與 ISO 14644 潔淨室規範等，對於環境微生物的監測與控制均有載明相關規範。因應生技藥廠於 103 年底全面適用 PIC/S GMP 國際規範，對於微生物污染管制有特別要求，凡於環境監測所分離之微生物必須加以鑑定，至少要到屬名的層級，以利判別其危害等級 (Risk Group)，進行趨勢分析及採取對應的風險控制等。目前菌種學名鑑定採用多相鑑定技術，包括傳統微生物形態、生理生化試驗與 DNA 定序分析等，試劑耗材與人工成本均大，一般案件處理時間長，花費也較貴，無法滿足產業界對菌種快速鑑別之需求。目前利用 MALDI-TOF 質譜儀分析微生物全細胞蛋白質體以作為菌株快速鑑別，已成為最新菌種鑑定趨勢，且廣為國際知名菌種中心所採用，食品所生資中心 BCRC 也新增此項技術平台，可應用於環境監控微生物之快速鑑別服務。

項目說明

BCRC 所提供的菌種委託鑑定服務，除了完整學名鑑定外，另有單獨針對菌種表現型特徵分析之服務，包括 API 鑑定套組分析，及 Biolog、Vitek 2 等微生物鑑定系統，提交報告中所載之菌種名稱是以各受測菌株樣品之生理生化反應結果與各鑑定套組分析內建資料庫所比對之最接近菌名。若未比對到該鑑定套組界定可接受的菌名，則於報告中註記為無法鑑定出菌名。由於 Biolog 及 Vitek 2 兩個鑑定套組系統依據菌種類別不同，各有適用之試驗卡片，顧客需於委託單註明顧客指定之試驗卡片類別。若顧客無指定使用試驗卡片，則由本中心依據顧客樣品之菌株形態及進行革蘭氏染色所得結果，再選擇適合的試驗卡片，進行試驗分析。此外，BCRC 也提供微生物脂肪酸組成分析，是採用氣相層析儀配合 MIDI 鑑定系統來執行。

而 MALDI-TOF 質譜儀，是藉由測定菌株全細胞的蛋白質指紋圖譜，與資料庫中已知菌種身分的質譜訊號比對，從而對未知菌種進行學名鑑定。比較其時效性，質譜儀遠快於上述鑑定套組及鑑定系統。API 鑑定套組以一個樣品為例，最快能鑑定出菌種名字的時間為 24 小時，大部分平均都需至少 48 小時。以鑑定系統來看，最快則為 6 小時 (Vitek 2 系統)，而 MIDI 系統雖然也可於 6 小時內鑑定出菌種，但樣品製備時間卻需近 4 小時才能完成。若以質譜儀進行分析，幾乎不需經過樣品製備，只要取正常生長的微生物單一菌落即可為分析樣品，將樣品塗抹於樣品盤，經過乙酸及與基質混合乾燥後即可上機分析。每個樣品盤一次上樣最多分析 94 個樣品，可於 2 小時內完成，很適合應用於樣品量較多的環境監控微生物之快

速鑑別，且分析成本較符合經濟效益。MALDI-TOF 可適用於多樣化菌種之檢測，不受限於特定培養基種類。儀器內建微生物資料庫含有超過 5000 多筆菌株標準圖譜可供比對，涵蓋大於 2000 多個不同菌種別，解析度佳。BCRC 曾於 2016 年執行某生技業者委託為期半年之環境監控微生物快速鑑別，總計分析近 1300 個樣品，以 MALDI-TOF 進行蛋白質質譜指紋分析，並配合自建資料庫比對，平均成功鑑別率可達 91.4%。目前 BCRC 提供針對環境監控微生物之快速鑑別屬於客製化服務，有相關需求者請另與本中心服務窗口依個案洽談。