

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-124517

衛生福利部疾病管制署 107 年署內科技研究計畫

計畫名稱：細菌鑑定質譜系統(MALDI-TOF)資料庫建置

107 年度/全程研究報告

執行單位：檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：慕蓉蓉

協同主持人：

研究人員：許國騰、邱詩惠

研究人員：李孟珊

執行期間：107 年 1 月 1 日至 107 年 12 月 31 日

目錄

	頁 碼
目錄	1
計畫中文摘要	2
計畫英文摘要	3
計畫內容	
一、前言	5
二、材料與方法	9
三、結果	12
四、討論	16
五、結論與建議	17
六、參考文獻	18
七、圖、表	20

共 (25) 頁

計畫中文摘要：

類鼻疽為一與環境因子十分密切相關之疾病，尤其近年常有豪大雨侵襲的地區更是需要注意，且類鼻疽伯克氏菌常有二次感染或是高的致死率，因此如何有效且快速的作出檢驗報告幫助臨床醫師證確的投藥便是一項很重要的工作。鈎端螺旋體病為人畜共通的疾病，在熱帶地區因鼠患而常見，由於鈎端螺旋體菌生長緩慢，細菌鑑定無法以傳統生化方式進行，一般需依賴 16S 核酸定序或分子生物學偵測。

本(107)年度購置與同屬不同種之 *Burkholderia* 屬菌株 15 株與 *Burkholderia* 之舊分類屬 *Pseudomonas* 屬菌株 2 株進行類鼻疽 MALDI-TOF 資料庫特異性與準確性之確認，並完成 16 株環境來源類鼻疽菌株之 MALDI-TOF 鑑定。

爰此，本計畫利用細菌鑑定質譜系統(MALDI-TOF)在細菌鑑定上的快速與專一性，建置完成類鼻疽菌株質譜圖資料庫，本(107)年期能提供更快速且有效的檢驗結果，並進一步提供及時的疫情分析及監測，以達到疾病防治的成果。

關鍵詞：類鼻疽、鈎端螺旋體、MALDI-TOF

計畫英文摘要：

Melioidosis is predominately a disease of tropical climates, especially in northern Australia and Southeast Asia where it is endemic. People who acquire melioidosis have usually inhaled or been in contact with environmental particles or dust that is contaminated with *B. pseudomallei*; human-to-human transmission is rare. Clinical manifestations of melioidosis are highly protean and range from systemic to local infections. Therefore, rapid and accurate identification of *B. pseudomallei* would provide medical help for correct medication. Leptospirosis is a common mammalian zoonosis occurring worldwide. The causative agents, *Leptospira* spp. can affect humans as well as a wide range of different mammals. The characterization of *Leptospira* spp. is still challenging and time-consuming. Because it takes months for leptospira spp to grow, therefore, it is not able to be identified by traditional biochemistry methods. Several molecular methods have been established to detect leptospiral DNA such as PCR, 16S etc. In the past years it has been shown that Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) is a reliable tool and use a fast, easily applied method for bacterial identification at the species level.

Bacterial isolates from Burkholderia and Pseudomonas genes were used to identify the specificity of the database. Environment Burkholderia pseudomallei were also applied for database correction.

In this project, we have established MALDI-TOF database for

Burkholderia pseudomallei identification. This database will benefit for clinical laboratory use and further for outbreak investigation.

keywords : pseudomallei, leptospira, MALTI-TOF

本文

一、前言：

類鼻疽(Melioidosis)主要流行於熱帶地區，如東南亞地區、澳洲北部等，台灣每年亦有零星個案出現，然民國 94 年因海棠颱風肆虐，造成大規模群聚感染(outbreak)並且人員死亡的案例^{1,2}，類鼻疽致病菌為類鼻疽伯克氏菌(*Burkholderia pseudomallei*)，為人畜共通之疾病，除感染人之外馬、豬、羊等亦會被感染，類鼻疽伯克氏菌存在環境的土壤與水中，人類經由攝取或吸入帶有病原體之土壤或水，或經皮膚傷口的接觸而感染，一般情形下，並不會由人直接傳染給人。而感染類鼻疽之病患臨床症狀呈現多樣性，從無症狀之感染、皮膚傷口潰瘍、肺部膿瘍、到致死性高的敗血症皆有可能，而其中敗血症的比例 60%，致死率高達 40%³⁻⁵。類鼻疽菌是細胞內寄生，容易復發，須選擇細胞內移行性高的抗生素，儘管抗生素長期療程仍然有 10% 復發病例⁶。類鼻疽菌本身對多種抗生素都有抗藥性，即使在實驗室細菌培養有效的抗生素使用在臨床上也不一定有效。目前一般認為急性期需要用針劑的第三代頭孢子素 (ceftazidime)，視臨床情況使用 2~4 週。急性期治療後還必須使用長期 20 週的維持療法

(maintenance treatment)，以避免疾病復發^{6,7}。

鉤端螺旋體病病源體為鉤端螺旋體菌屬 (Leptospire)，致病性鉤端螺旋菌屬於 *Leptospira interrogans* 菌種，現今已被鑑識出之血清型約有 277 種。此病易發生於野外經常接觸可能受感染動物排泄物污染之水源或屠體組織之工作者(農夫、衛生下水道工程人員或維修人員、礦工)，於人群中爆發流行原因，為接觸到受感染動物污染之水源(例：河流、湖水等)，洪水氾濫後常見爆發性流行。臺灣於 2006、2007 及 2008 年確定病例分別為 41、42 及 47 例(共 130 例)。2009 年因莫拉克颱風襲台，造成屏東縣萬丹鄉大淹水，造成鉤端螺旋體病群聚，該年確定病例為 203 例⁸⁻⁹。臨床症狀表現呈多樣性，從輕微到嚴重都有可能，診斷不易，常與其他各種感染症混淆，例如登革熱、恙蟲病、或是流行性感冒等，輕微者最初的症狀多半與感冒類似，包括發燒、頭痛、腸胃道不適、畏寒、紅眼、肌肉酸痛等症狀，有的還會以腦膜炎症狀表現，嚴重者會出現腎衰竭，黃疸與出血現象¹⁰⁻¹¹。

鉤端螺旋體病的的分離培養困難而且耗時¹²⁻¹⁴，現今完整的鉤端螺旋體鑑定方式，必須搭配血清型別鑑定與核酸鑑定後之綜合結果而判定。其中血清型別鑑定方法十分耗時費

工，鑑定之前必須把將未知的鈎端螺旋體免疫兔子，此免疫產生未知菌株之抗血清的期程至少需要 2 個月。實驗室另一方面需要準備有數量足夠、具代表性之標準型抗血清之外，與還要有能力維持一批批新鮮、具代表性之標準菌株，才能再以血清型確認試驗(cross agglutination absorption test, CAAT)將未知菌株與未知菌株抗血清各自細分成不同血清型，相似而具部份交叉反應的血清型再集成血清群(serogroup)。目前已知鈎端螺旋體血清型超過 300 種，分別隸屬於約 29 個血清群。因此完整的血清型別鑑定，只有 WHO/FAO/OIE 鈎端螺旋體參考實驗室有能力進行。

由於鈎端螺旋體生長速度緩慢，需要長時間培養，而且無法在一般培養基上形成菌落，傳統上僅能以液態培養液來增殖，且其鑑定之 DNA 雜交(DNA hybridization)法、16S rRNA 基因序列與 G+C content¹⁷，這些傳統核酸定序或分子生物學偵測方式，以及需搭配血清型別鑑定，這些在一般的醫學實驗室有執行上的困難度，以上這些原因，都是導致鈎端螺旋體鑑定上困難的原因。

細菌鑑定質譜系統(MALDI-TOF)為一能快速鑑定病原菌的系統，經由各不同病原菌所含蛋白質的不同，能精確且

專一的鑑定出不同的病原體甚至加以分型¹⁵，類鼻疽伯克氏菌(*Burkholderia pseudomallei*)為傳染病防治法所明訂之第四類法定傳染病，傳統上鑑定類鼻疽伯克氏菌皆用生化方式鑑定，藉由細菌生長所需不同的營養素或是代謝產物來作鑑別，例如：API system 或是 Vitek system 等¹⁶，然而此類的檢驗需要 2 到 3 日的培養才能對細菌作出鑑別，在檢驗時效上細菌鑑定質譜系統(MALDI-TOF)能大幅縮短檢驗時間。而鉤端螺旋體無法以傳統生化方式進行鑑定，若以聚合酶鏈鎖反應繼以核酸定序與比對分析，像這樣的分子鑑定檢驗亦需要 2 至 3 天。利用 MALDI-TOF 以各自的特殊蛋白，進而區分出菌種的特性¹⁸，可以輔助鑑定上的需求，同樣可大幅縮短檢驗時間。有鑑於台灣各個地區醫院與教學醫院的檢驗室逐漸以 MALDI-TOF 細菌菌種鑑定方式，取代傳統生化鑑定細菌系統，但因細菌鑑定質譜系統(MALDI-TOF)並無鑑定類鼻疽伯克氏菌與鉤端螺旋體之資料庫，因此本計畫藉類鼻疽伯克氏菌與鉤端螺旋體質譜圖資料庫的建立，可回饋應用於台灣各醫院檢驗室，強化各醫院鑑定量能。藉由細菌鑑定質譜系統準確及快速的特性能加快檢驗的時效，提供防疫單位正確且快速的資訊，提供早期疾病流行預測與流行病學的調查。

二、 材料與方法

菌株來源及資料蒐集方法

歷年由「法定及新興傳染病（含疑似病例）通報系統」與「新感染症症候群監視通報系統」之通報個案所分離鑑定為陽性菌株者，利用細菌鑑定質譜系統(MALDI-TOF)建立質譜圖資料庫，並將菌株資料與個案基本資料彙整後作統計分析。

研究材料及菌株取得要項

類鼻疽：

蒐集歷年本署經通報檢驗鑑定為類鼻疽陽性之臨床菌株與環境分離之類鼻疽菌株。

購買同屬不同種的類鼻疽菌株，例如：*Burkholderia cepacia*, *Burkholderia gladioli* 以及 *Pseudomonas aeruginosa* 等，確認資料庫之特異性與準確性

研究方法

細菌鑑定質譜系統(MALDI-TOF)

將培養 24-48 hr 之單一菌落菌株利用 Acetonitrile 與 70% Formic acid 進行萃取，萃取完塗抹於 MALDI 樣品盤上，加入 HCCA 基質

溶液，之後置入 MALDI TOF 質譜儀中進行分析採樣。

資料庫建置

利用 MALDI-TOF 所產出之質譜圖透過軟體 FlexAnalysis 及 MALDI Biotyper 3 先行繪出親緣性樹狀分析圖，再透過樹狀分析圖挑選數株具代表性之菌株質譜圖譜，最後利用軟體建立可供分析之資料庫。

進行步驟

1. 類鼻疽

106 年

蒐集相關研究文獻資料，確認菌株數量並持續上機建立質譜圖檔。蒐集質譜圖檔，蒐集一定數量後利用軟體畫出親緣樹狀圖，並利用樹狀圖挑出數株具代表性之菌株，再利用這些菌株建立可供比對分析之資料庫。

將歷年本署所有之臨床菌株與經「法定及新興傳染病（含疑似病例）通報系統」所送來之檢驗陽性之菌株放入資料庫比對，確定建立之資料庫可明確鑑定出陽性菌株。

107 年

以同屬但不同種與舊屬之菌株，確認建置之 MALDI-TOF 已建立之資料庫特異性與準確性，並確認環境類鼻疽菌株偵測之準確性。

2. 鈎端螺旋體病

108 年

蒐集相關文獻資料，並測試各種血清型之鈎端螺旋體的培養環境與純化萃取條件，以利後續 MALDI-TOF 質譜圖譜上的一致性，再依據質譜圖畫出個血清型之親緣樹狀圖。

109 年

依據親緣樹狀圖建立可供比對分析之資料庫，並反複驗證此資料庫的準確性。比對不同基因及血清型別菌株，確定已建立之資料庫的專一性。

三、 結果

細菌質譜鑑定系統(MALDI-TOF)為近年來發展之快速鑑定病原菌的系統，經由各病原菌所含之蛋白質，精確且專一的鑑定出不同的病原體。由於 MALDI-TOF 並無內建之類鼻疽菌株資料庫，因此，本年(107 年)以確認類鼻疽質譜資料庫(MALDI-TOF)之特異性與準確性為主，完成類鼻疽質譜資料庫之建置。

1. 購置 *Burkholderia* 屬及 *Pseudomonas* 屬菌株進行實驗對照：

因需確認 106 年建置之類鼻疽 MALDI-TOF 資料庫，需要其他種類菌株測試資料庫之特異性。今(107)年向食品工業發展研究所購置 17 株菌株進行 MALDI-TOF 資料庫特異性分析，15 株同屬不同種之 *Burkholderia* 屬菌株，2 株 *Pseudomonas* 屬菌株。*Burkholderia* 屬菌株中 8 株來源為 ATCC，5 株來源為 LMG，BCRC 及 JPY 來源各 1 株。由於 *Burkholderia* 曾歸類於 *Pseudomonas* 屬，因此購置 2 株 *Pseudomonas* 屬菌株，來源為 ATCC。(表一)

2. 選取 *Burkholderia* 屬及 *Pseudomonas* 屬菌株進行質譜特異性分析：

MALDI-TOF 菌種鑑定一般以直接塗抹方式將細菌塗抹於 Matrix 金屬盤上直接鑑定，而對黏稠不易塗抹均勻或 high Risk Group 細菌，可以萃取法方式改善或降低風險。本計畫主要執行之

類鼻疽菌株因屬高危險等級 RG3 菌屬，因此操作上均以萃取法進行。而本次採購之菌株屬 RG1 及 RG2，黏稠度不高，因此理論上可採直接塗抹方式進行鑑定。為與類鼻疽鑑定之萃取法亦能進行平行比對，因此本次實驗 *Burkholderia* 屬及 *Pseudomonas* 屬菌株均以兩種方法同時進行。

(1) 以直接塗抹進行質譜特異性分析:

17 株菌株以直接塗抹法進行 MALDI-TOF 鑑定，分別以兩種資料庫進行比對；(I)自行建置之類鼻疽質譜資料庫以及(II)原始 Bruker 提供之細菌質譜資料庫加上自行建置類鼻疽質譜資料庫合成之完整資料庫進行比對。細菌質譜鑑定以 identification score > 2 識別為正確結果(表二、綠色表示)，但 1.7-1.999 有可能 genus 正確，但 species 有誤，此類結果需再確認(表二、黃色表示)，小於 1.7 則比對結果是絕對不可信賴的 (表二、紅色表示)。17 株菌株比對自行建置之類鼻疽質譜資料庫(I)之鑑定結果均 < 2，由於此 17 株菌株皆非類鼻疽，因此類鼻疽資料庫無法確認，顯示此自建資料庫具特異性 (表三、第三 column，紅色表示)。另比對合成之完整細菌質譜資料庫(II，Bruker+自建 pseudomallei)，由於原始 Bruker 提供之

細菌質譜資料庫中有 10 株 ATCC 菌株之圖譜，因此，比對結果此 10 株 identification score 均>2，且菌名無誤（表三、第四 column，綠色表示）。由於原始 Bruker 提供之細菌質譜資料庫中並無剩餘 7 株非 ATCC 菌株之圖譜，且此 7 株亦非類鼻疽菌株，因此兩個資料庫均無合適圖譜可比對，無法確認菌名（表三、第四 column，紅色表示）。

(2) 以萃取法進行質譜特異性分析：

17 株菌株以萃取法進行 MALDI-TOF 鑑定，分別以 (I) 自行建置之類鼻疽質譜資料庫以及(II)原始 Bruker 提供之細菌質譜資料庫加上自行建置類鼻疽質譜資料庫合成之完整資料庫進行比對。結果與直接塗抹法相同(表四)，只有一株 MALDI-TOF 鑑定結果為 *Burkholderia fungotum*，identification score 為 1.932，結論為 genus 正確，但 species 有誤（表四，黃色)的鑑定，由於(II)之完整資料庫中並無該菌株之正確圖譜 (*Burkholderia fungotum*)，因此其結果仍是正確可接受的範圍。

3. 選取環境中不同來源之 *Burkholderia pseudomallei* 分離株進行質譜特異性分析:

以高師大陳亞雷老師分離之 16 株環境類鼻疽分離株進行細菌質譜分析，來源分別為空氣 3 株、土壤 7 株以及水 6 株。因其為類鼻疽菌株，以萃取法進行質譜鑑定，選取原始 Bruker 提供之細菌質譜資料庫加上自行建置類鼻疽質譜資料庫合成之完整資料庫進行比對，結果 16 株均能比對出類鼻疽項目，identification score 均 >2 (表五、綠色表示)。

四、 討論

- 1、 本計畫 106-107 年目的在建立類鼻疽之 MALDI-TOF 質譜鑑定資料庫，未來可提供醫院端快速準確之類鼻疽鑑定。去(106) 年完成類鼻疽質譜圖之建置，並測試 119 株臨床株，鑑定結果均符合預期。本(107)年以同 genus 不同 species 之 *Burkholderia* spp.、*Pseudomallei* 屬菌株進行特異性測試，以及不同環境來源之類鼻疽分離株測試正確性。
- 2、 本計畫今年向食品工業發展研究所購置 17 株菌株進行 MALDI-TOF 資料庫特異性分析。由於此 17 株為非類鼻疽菌株，因此無論直接塗抹法或萃取法，自建之類鼻疽資料庫均不會給予菌名鑑定，代表自建之類鼻疽資料庫具特異性。
- 3、 *Burkholderia bryophilia* 以萃取法進行鑑定時，在 Bruker 提供之資料庫[(II)之完整資料庫中]並無該菌株之圖譜，MALDI-TOF 鑑定結果為 *Burkholderia fungotum*，呈現 1.932 之 identification score，雖然結論 genus 正確，species 有誤 (表三，黃色)的鑑定是可接受，但在臨床檢體鑑定上，遇到此種鑑定結果，則需以 16S 再次確認。

五、結論與建議

1. 質譜儀鑑定細菌之方式因其快速，正確率高，目前已成為臨床微生物鑑定之趨勢。但囿於廠商無法執行RG3與生恐細菌之操作，因此並無此類細菌資料庫可提供使用。由於類鼻疽為RG3等級細菌，並列為第四類法定傳染病通報之疾病，且台灣南部是類鼻疽盛行區，因此需建置類鼻疽資料庫以提供正確之判斷
2. 本計畫利用法傳通報之建置類鼻疽菌株資料庫，其靈敏度與特異性已測試完成，未來將提供有此儀器之醫療機構使用，以增加鑑定正確率。

六、參考文獻

1. Rode JW, Webling DD. Melioidosis in the Northern Territory of Australia. *Med J Aust.* Feb 21 1981;1(4):181-184
2. Pitt TL, Trakulsomboon S, Dance DA. Recurrent melioidosis: possible role of infection with multiple strains of *Burkholderia pseudomallei*. *J Clin Microbiol.* Feb 2007;45(2):680-681.
3. Cheng AC, Currie BJ. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *Clin Microbiol Rev.* Apr 2005;18(2):383-416
4. White NJ. Melioidosis. *Lancet.* May 17 2003;361(9370):1715-1722.
5. Inglis TJ, Merritt A, Chidlow G, Aravena-Roman M, Harnett G. Comparison of diagnostic laboratory methods for identification of *Burkholderia pseudomallei*. *J Clin Microbiol.* May 2005;43(5):2201-2206.
6. Maharjan B, Chantratita N, Vesaratchavest M, et al. Recurrent melioidosis in patients in northeast Thailand is frequently due to reinfection rather than relapse. *J Clin Microbiol.* Dec 2005;43(12):6032-6034.
7. Currie BJ, Fisher DA, Anstey NM, Jacups SP. Melioidosis: acute and chronic disease, relapse and re-activation. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* May-Jun 2000;94(3):301-304.
8. Watt G, Padre LP, Tuazon ML, Calubaquib C et al. Placebocontrolled trial of intravenous penicillin for severe leptospirosis. *Lancet* 1998 ; 1 : 433-435
9. Yang CW, Pan MJ, Wu MS et al. Leptospirosis : an ignored cause of acute renal failure in Taiwan. *Am J Kidney Dis* 1997 ; 30 : 840-845
10. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev.* Apr 2001;14(2):296-326.
11. Palaniappan RU, Ramanujam S, Chang YF. Leptospirosis: pathogenesis, immunity, and diagnosis. *Curr Opin Infect Dis.* Jun 2007;20(3):284-292.
12. Ko AI, Galvao Reis M, Ribeiro Dourado CM, Johnson WD, Jr., Riley LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. *Lancet.* Sep 4 1999;354(9181):820-825.
13. Kothari VM, Karnad DR, Bichile LS. Tropical infections in the ICU. *J Assoc Physicians India.* Apr 2006;54:291-298.
14. Suttinont C, Losuwanaluk K, Niwatayakul K, et al. Causes of acute, undifferentiated, febrile illness in rural Thailand: results of a prospective observational study. *Ann Trop Med Parasitol.* Jun 2006;100(4):363-370.
15. Niyompanich S, Jaresitthikunchai J, et al. Source-identifying biomarker ions between environmental and clinical *Burkholderia pseudomallei* using whole-cell matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *PLoS One.* 2014; 9(6): e99160.
16. Tolan, JS; Finn, RK (September 1987). "Fermentation of d-Xylose to Ethanol by

Genetically Modified *Klebsiella planticola*". *Applied and Environmental Microbiology*. **53** (9): 2039–44.

17. Ponce-Alonso M, Rodríguez-Rojas L, Del Campo R, Cantón R, Morosini MI. Comparison of different methods for identification of species of the genus *Raoultella*: report of 11 cases of *Raoultella* causing bacteraemia and literature review. *Clinical Microbiology and Infection*. 22(3), March 2016, Pages 252-257

七、圖、表

菌名	Collection No.
Burkholderia stabilis	ATCC BAA-67
Burkholderia vietnamiensis	ATCC BAA-248
Burkholderia multivorans	ATCC BAA-247
Burkholderia gladioli	ATCC 10248
Burkholderia pyrrocinia	ATCC 15958
Burkholderia plantarii	ATCC 43733
Burkholderia andropogonis	ATCC 19311
Burkholderia glathei	ATCC 29195
Burkholderia bryophila	LMG 23644
Burkholderia megapolitana	LMG 23650
Burkholderia sabiae	BCRC 17587
Burkholderia soli	LMG 24076
Burkholderia mimosarum	LMG 23256
Burkholderia nodosa	LMG 23741
Burkholderia symbiotica	JPY-345
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 15523
Pseudomonas mendocina	ATCC 10458

表一、購置之 *Burkholderia* 屬以及 *Pseudomonas* 屬菌株資訊

分數顏色一覽表：	
2.3-3.000	high probable species identification
2.0-2.299	secure genus identification, probable species identification
1.7-1.999	probable genus identification
0.0-1.699	Not reliable identification

表二、細菌質譜儀鑑定結果參考表

菌名	Collection No.	直接塗抹法	
		Pseudomallei database (I)	Bruker+Pseudomallei database (II)
<i>Burkholderia stabilis</i>	ATCC BAA-67	1.172	2.365
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	ATCC BAA-248	0.91	2.077
<i>Burkholderia multivorans</i>	ATCC BAA-247	1.06	2.268
<i>Burkholderia gladioli</i>	ATCC 10248	0.778	2.183
<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	ATCC 15958	1.009	2.333
<i>Burkholderia plantarii</i>	ATCC 43733	0.988	2.315
<i>Burkholderia andropogonis</i>	ATCC 19311	0.015	2.019
<i>Burkholderia glathei</i>	ATCC 29195	0.512	2.202
<i>Burkholderia bryophila</i>	LMG 23644	0.305	0.773
<i>Burkholderia megapolitana</i>	LMG 23650	0.975	1.428
<i>Burkholderia sabiae</i>	BCRC 17587	0.559	1.576
<i>Burkholderia soli</i>	LMG 24076	0.804	1.525
<i>Burkholderia mimosarum</i>	LMG 23256	0.68	1.499
<i>Burkholderia nodosa</i>	LMG 23741	0.632	1.633
<i>Burkholderia symbiotica</i>	JPY-345	0.85	1.415
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15523	0.246	2.255
<i>Pseudomonas mendocina</i>	ATCC 10458	1.172	2.433

表三、以直接塗抹法進行菌株特異性圖譜測試

菌名	Collection No.	萃取法	
		Pseudomallei database (I)	Bruker+Pseudomallei database (II)
<i>Burkholderia stabilis</i>	ATCC BAA-67	1.102	2.47
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	ATCC BAA-248	1.121	2.482
<i>Burkholderia multivorans</i>	ATCC BAA-247	1.351	2.252
<i>Burkholderia gladioli</i>	ATCC 10248	0.982	2.129
<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	ATCC 15958	0.977	2.564
<i>Burkholderia plantarii</i>	ATCC 43733	0.761	2.386
<i>Burkholderia andropogonis</i>	ATCC 19311	0.564	2.12
<i>Burkholderia glathei</i>	ATCC 29195	0.73	2.414
<i>Burkholderia bryophila</i>	LMG 23644	0.753	1.932*
<i>Burkholderia megapolitana</i>	LMG 23650	1.086	1.602
<i>Burkholderia sabiae</i>	BCRC 17587	1.154	1.69
<i>Burkholderia soli</i>	LMG 24076	0.332	1.531
<i>Burkholderia mimosarum</i>	LMG 23256	0.379	1.474
<i>Burkholderia nodosa</i>	LMG 23741	0.634	1.271
<i>Burkholderia symbiotica</i>	JPY-345	0.534	1.471
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15523	0.607	2.464
<i>Pseudomonas mendocina</i>	ATCC 10458	0.34	2.521

表四、以萃取法進行菌株特異性圖譜測試

菌名	來源	萃取法
		Bruker+ Pseudomallei database
Burkholderia pseudomallei	Air	2.73
Burkholderia pseudomallei	Air	2.654
Burkholderia pseudomallei	Air	2.482
Burkholderia pseudomallei	Soil	2.563
Burkholderia pseudomallei	Soil	2.432
Burkholderia pseudomallei	Soil	2.553
Burkholderia pseudomallei	Soil	2.47
Burkholderia pseudomallei	Soil	2.605
Burkholderia pseudomallei	Soil	2.682
Burkholderia pseudomallei	Soil	2.527
Burkholderia pseudomallei	water	2.333
Burkholderia pseudomallei	water	2.379
Burkholderia pseudomallei	water	2.422
Burkholderia pseudomallei	water	2.588
Burkholderia pseudomallei	water	2.412
Burkholderia pseudomallei	water	2.397

表五、以不同來源之環境類鼻疽菌株作比對進行圖譜測試

衛生福利部疾病管制署 107 年科技研究計畫

期末審查意見回復

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-124517

計畫名稱：細菌鑑定質譜系統(MALDI-TOF)資料庫建置

計畫主持人：慕蓉蓉

*修正處在報告中加底線標示

序號	審查意見	主持人回復說明	修正處頁碼
1	以人類環境來源之各式 burkholderia 屬菌株進行圖譜測試，MALDI-TOF 之特异性佳。	謝謝委員	
2	測試完成之資料庫可供臨床實驗室使用。	謝謝委員	
3	類鼻疽是重要傳染病也是生物戰劑的一種，臨床實驗室可透過 MALDI-TOF 建立鑑定系統值得肯定。	謝謝委員	
4	自建的資料庫加上 Bruker 的資料庫，仍有些區分不出來如何排除？	若資料庫無法判定，需以 16S 定序比對。	
5	建議相關成果提供業務單位參考，及供國內其他學者使用。	謝謝委員建議。	