

計畫編號：MOHW108-CDC-C-315-134514

衛生福利部疾病管制署 108 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

108 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：邱詩惠、許國騰

研究人員：李孟珊

執行期間：108 年 1 月 1 日至 108 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	4
二、材料與方法	7
三、結果	8
四、討論	13
五、結論與建議	14
六、參考文獻	15
七、圖、表	16

共 (25) 頁

計畫中文摘要：

鉤端螺旋體病為人畜共通的疾病，在熱帶地區因鼠患而常見，由於鉤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。

鉤端螺旋體有數個種別，本(108)年度以購置於 WHO 參考實驗室之鉤端螺旋體 *Leptospira interrogans* 種別進行鉤端螺旋體 MALDI-TOF 質譜資料庫建置，進行微調，找尋最精準之資料庫。以歷年來野外鼠類培養出之鉤端螺旋體，進行準確性測試，並以不同之螺旋體細菌，伯氏疏螺旋體，進行特異性測試，以確保資料庫正確。

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，建置完成鉤端螺旋體 *Leptospira interrogans* 種別質譜圖資料庫，本(108)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：鉤端螺旋體、MALDI-TOF

計畫英文摘要：

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.

There are several *Leptospira* species. This year, *Leptospira interrogans* isolates purchased from WHO references were used to establish the MALDI-TOF database for *Leptospira* spp. The database was fine-tuned by choosing different reference strains. The *Leptospira* spp. isolated from rodents were used to test the accuracy of the database and *Borrelia* spp. isolates were used to test the specificity.

In this project, we have established MALDI-TOF database for identification of *Leptospira interrogans*. This database will benefit for clinical laboratory use and further for outbreak investigation.

keywords : *Leptospira*, MALDI-TOF

本文

一、前言：

鉤端螺旋體病病源體為鉤端螺旋體菌屬 (*Leptospires*)，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¹⁻²。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³⁻⁴。

鉤端螺旋體病的的分離培養困難而且耗時⁵⁻⁶，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 content⁷，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⁸，鈎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⁹，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)並無鑑定鈎端螺旋體之資料庫，因此本計畫藉鈎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

研究材料及菌株取得要項

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) 測試購買自 WHO 參考實驗室各種鈎端螺旋體菌株的培養環境與純化萃取條件，以利後續 MALDI-TOF 質譜圖建置。
- (2) 歷年本署經通報及研究計畫中野外鼠類檢體培養之鈎端螺旋體菌株進行 MALDI-TOF 質譜圖分析，驗證質譜資料庫之準確性。
- (3) 選取更多不同型別之鈎端螺旋體菌株以及萊姆疏螺旋體菌株與資料庫比對，確定建立圖譜資料庫之專一性。

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並無內建之鈎端螺旋體菌株資料庫，因此，本年(108年)以建置鈎端螺旋體*Leptospira interrogans*種別之質譜資料庫(MALDI-TOF)之，完成鈎端螺旋體*Leptospira interrogans*之建置。

1. 購置 *Leptospira* 屬菌株進行質譜資料庫之建置：

購自WHO參考實驗室之鈎端螺旋體菌株共25株，包括6種鈎端螺旋體種別：*Leptospira interrogans* 12株 (I-1~I-12)，*Leptospira borgpetersenii* 5株 (B-1~B-5)，*Leptospira kirschneri* 3株 (K-1~K-3)，*Leptospira santarosai* (S-1~S-2) 及 *Leptospira weilii* (W-1~W-2) 各2株，以及*Leptospira noguchii* 1株 (N-1) (表一)。

2. 初步進行 25 株鈎端螺旋體菌株 cluster 之分析：

25 株鈎端螺旋體菌，以 PCA (Principal component analysis) 方式進行 clustering 分析，25 株菌株區分成 4 個 cluster (以顏色區分) (圖一)，10 株 *Leptospira interrogans* 與 *Leptospira kirschneri* 在同一 cluster (紅色)，2 株 *Leptospira interrogans* (藍色) 自成 1 個 cluster。

Leptospira borgpetersenii、*Leptospira santarosai* 及 *Leptospira weilii* 集中於同一 cluster (綠色)。

3. 建置 *Leptospira interrogans* MALDI-TOF 圖譜資料庫:

25 株參考菌株之 cluster 分析，顯示 10 株 *Leptospira interrogans* 形成 1 個 cluster，但此 cluster 亦包含 *Leptospira kirschneri*。因 *Leptospira interrogans* 為數較多，較易建立準確 MALDI-TOF 圖譜資料庫，因此本年度先建立 *Leptospira interrogans* MALDI-TOF 圖譜資料庫。

資料庫分析以 identification score value ≥ 2.3 為確認菌種，identification score value 介於 2.0-2.299 為屬名正確，種名可能正確；identification score value 介於 1.7-1.999 為屬名可能正確，identification score value ≤ 1.699 則為無法鑑定。

首先將 12 株 *Leptospira interrogans* 菌株之 MALDI-TOF 圖譜，全部放在一起作成資料庫，並將 25 株 *Leptospira* 菌株以此資料庫分析。結果顯示 12 株 *Leptospira interrogans* 之 identification score value 均 ≥ 2.3 ，可確認為 *Leptospira interrogans*。*Leptospira borgpetersenii*、*Leptospira santarosai*、*Leptospira weilii* 及 *Leptospira noguchii* 之 identification score value 均 < 2 ，皆為可接受範圍，而

3 株 *Leptospira kirschneri* 之 identification score value 均 ≥ 2 ，甚至出現 ≥ 2.3 。可能因為 *Leptospira kirschneri* 與 *Leptospira interrogans* 畫分在同一 cluster，以全部 12 株 *Leptospira interrogans* 建立資料庫時，資料比對時造成干擾。必須選擇適合之 *Leptospira interrogans* 菌株做代表，避開與 *Leptospira kirschneri* 相近之菌株，因此 MALDI-TOF 圖譜資料庫需進行微調，以符合鑑定準確度標準。

4. 微調優化 *Leptospira interrogans* MALDI-TOF 圖譜資料庫：

將 12 株參考菌株分別取 8 株及 3 株作成兩個圖譜資料庫，其中 3 株之選擇避開與 *Leptospira kirschneri* 相近之菌株 I-7 與 I-8(圖)。將 25 株 *Leptospira* 菌株分別以 8 株及 3 株組成之圖譜資料庫鑑定，結果顯示 8 株組成之圖譜資料庫與 12 株的圖譜資料庫結果相似，無法區分 *Leptospira interrogans* 與 *Leptospira kirschneri* (圖)。以 3 株組成之圖譜資料庫鑑定，除 *Leptospira interrogans* 以外，其他 *Leptospira* 菌株鑑定之 identification score value 均 < 2 ，皆為可接受範圍，因此經微調優化後以 3 株組成之圖譜資料庫較 8 株組成之圖譜資料庫作為鑑定 *Leptospira interrogans* 之資料庫為佳。

5. *Leptospira interrogans* 資料庫準確性分析

為瞭解 *Leptospira interrogans* 資料庫之準確性，選取 52 株從野外捕捉鼠類腎臟培養之鈎端螺旋菌進行 *Leptospira interrogans* 資料庫準確性分析。以 16S 確認 52 株鈎端螺旋菌中有 15 株 *Leptospira interrogans* 及 37 株 *Leptospira borgpetersenii*，分別以 12 株及 3 株 *Leptospira interrogans* 組成之資料庫進行鑑定時，均能得到可接受之準確性。

6. *Leptospira interrogans* 資料庫特異性分析

為進行 *Leptospira interrogans* 資料庫特異性分析，選取與鈎端螺旋體分類上同目不同科之伯氏疏螺旋體，*Borrelia* spp. 進行特異性測試。4 株伯氏疏螺旋體分別為 1 株 *Borrelia burgdorferi*、2 株 *Borrelia garinii* 以及 1 株 *Borrelia afzelii*。原始 MALDI-TOF 圖譜資料庫內建菌種已包含 *Borrelia burgdorferi* 及 *Borrelia garinii*，因此以內建資料庫鑑定菌種時，*Borrelia burgdorferi* 及 *Borrelia garinii* 之 identification score value 均 > 2，鑑定無誤。而內建資料庫並無 *Borrelia garinii* 資料，因此以內建資料庫鑑定，其 identification score value < 1.7，無可信賴之鑑定產生。當使用 12 株及 3 株 *Leptospira interrogans* 組成之資料庫進行鑑定時，由於此兩種資料庫並無

Borrelia spp. 資料，因此 identification score value 均 < 1.7 ，無法鑑定。此結果顯示 *Leptospira interrogans* 資料庫之特異性測試正確。

四、討論

- 1、 本計畫 108-109 年目的在建立鈎端螺旋體之 MALDI-TOF 質譜鑑定資料庫，未來可提供快速準確之鈎端螺旋體鑑定。
本(108)年以菌株數較多之 *Leptospira interrogans* 進行鈎端螺旋體 MALDI-TOF 質譜鑑定資料庫之建立。
- 2、 本計畫經微調優化，以不同 *Leptospira interrogans* 菌株建立 3 個質譜鑑定資料庫，其中 12 株以及 8 株之質譜鑑定資料庫組成無法準確區分 *Leptospira kirschneri*，在準確度上不及 3 株組成之質譜鑑定資料庫，因此選取以 3 株組成之質譜鑑定資料庫為 *Leptospira interrogans* 代表。
- 3、 以野外鼠類培養之鈎端螺旋體菌以及同目不同科之伯氏疏螺旋體測試 3 株 *Leptospira interrogans* 組成之質譜資料庫，顯示準確度與特異性都能精準確認菌種。

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。但囿於鈎端螺旋體菌種並無資料庫賴以分析，因此建置鈎端螺旋體資料庫以協助快速正確之判斷
2. 本年計畫利用購買之參考菌株建置鈎端螺旋體資料庫，經微調優化後建置以3株*Leptospira interrogans*組成之質譜資料庫，其準確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。

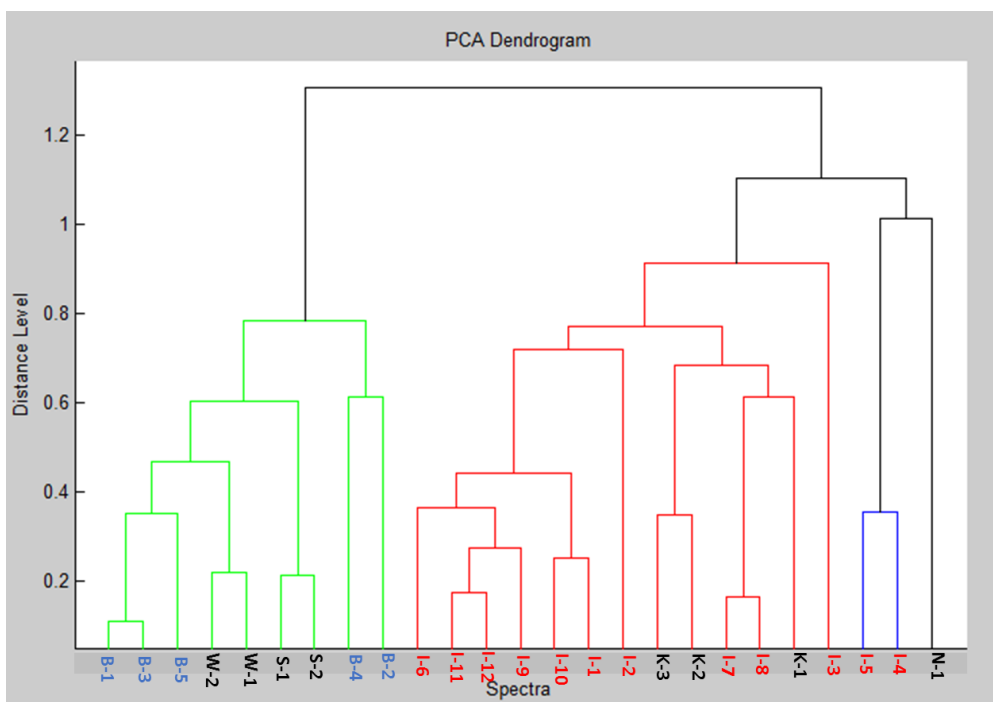
六、參考文獻

1. Watt G, Padre LP, Tuazon ML, Calubaquib C et al. Placebocontrolled trial of intravenous penicillin for severe leptospirosis. *Lancet* 1998 ; 1 : 433-435
2. 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
3. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev.* Apr 2001;14(2):296-326.
4. Palaniappan RU, Ramanujam S, Chang YF. Leptospirosis: pathogenesis, immunity, and diagnosis. *Curr Opin Infect Dis.* Jun 2007;20(3):284-292.
5. 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.
6. Kothari VM, Karnad DR, Bichile LS. Tropical infections in the ICU. *J Assoc Physicians India.* Apr 2006;54:291-298.
7. 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.
8. 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.
9. 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.

七、圖、表

流水號碼	菌株代號	Species	Serovar	流水號碼	菌株代號	Species	Serovar	流水號碼	菌株代號	Species	Serovar
I-1	Kit1	<i>L. interrogans</i>	Canicola	B-1	Kit4	<i>L. borgpetersenii</i>	Poi	K-1	Kit9	<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa
I-2	Kit2	<i>L. interrogans</i>	Bratislava	B-2	Kit5	<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	K-2	Au3	<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa
I-3	Kit6	<i>L. interrogans</i>	Pomona	B-3	Kit7	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	K-3	Au11	<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri
I-4	Kit8	<i>L. interrogans</i>	Bataviae	B-4	Kit14	<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe				
I-5	Kit10	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	B-5	Au12	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballumn	S-1	Kit15	<i>L. santarosai</i>	Shermani
I-6	Au1	<i>L. interrogans</i>	Pomona					S-2	Kit16	<i>L. santarosai</i>	Ruparupae
I-7	Au2	<i>L. interrogans</i>	Hardjo	N-1	Kit13	<i>L. noguchii</i>	Panama				
I-8	Au6	<i>L. interrogans</i>	Australis					W-1	Kit12	<i>L. weilii</i>	Celledoni
I-9	Au7	<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes					W-2	Au4	<i>L. weilii</i>	Celledoni
I-10	Au8	<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis								
I-11	Au10	<i>L. interrogans</i>	Autumnalis								
I-12	Au13	<i>L. interrogans</i>	Djasiman								

圖一、購置之 *Leptospira* spp. 菌株資訊



圖二、選殖代表菌株

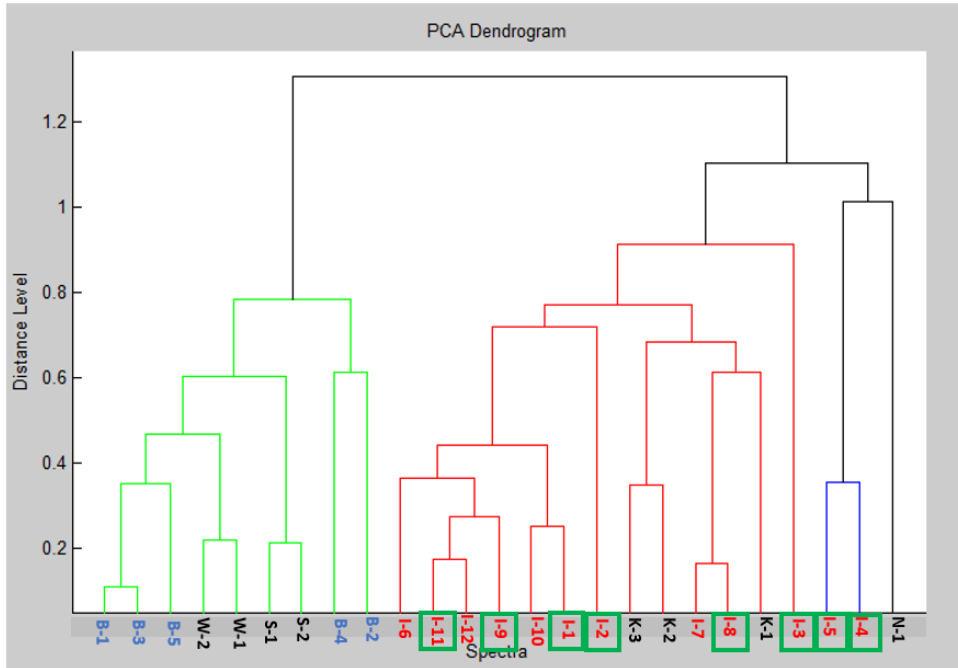
分數顏色一覽表：

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

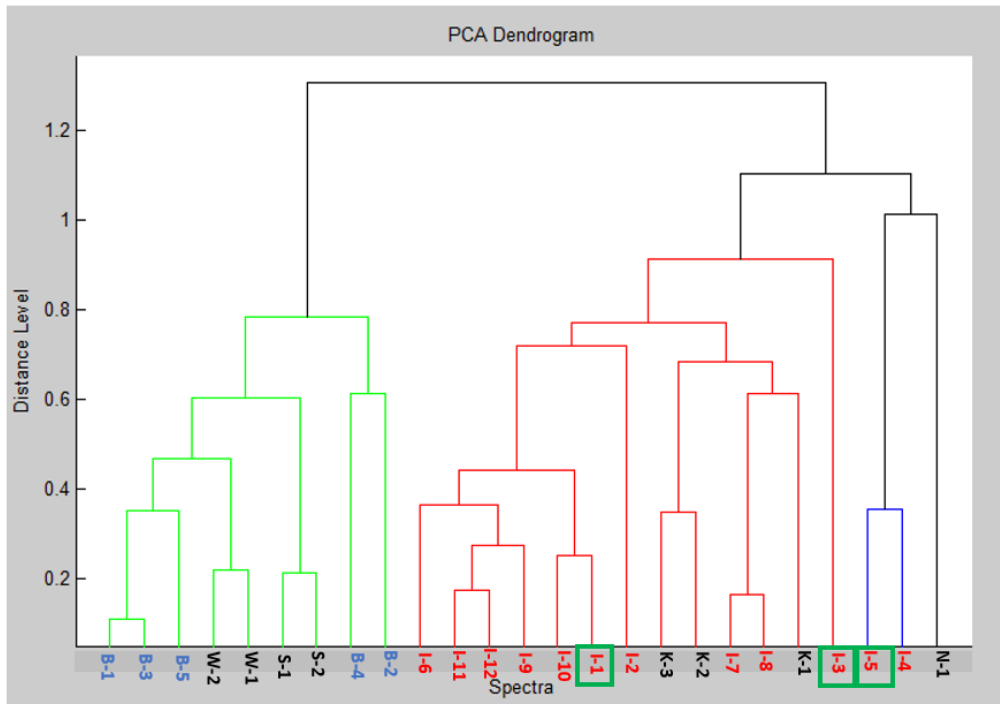
圖三、細菌質譜儀鑑定結果參考表

流水號碼	菌株代號	Species	Serovar	鑑定結果
I-1	Kit1	<i>L. interrogans</i>	Canicola	2.564
I-2	Kit2	<i>L. interrogans</i>	Bratislava	2.388
I-3	Kit6	<i>L. interrogans</i>	Pomona	2.596
I-4	Kit8	<i>L. interrogans</i>	Bataviae	2.474
I-5	Kit10	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	2.777
I-6	Au1	<i>L. interrogans</i>	Pomona	2.477
I-7	Au2	<i>L. interrogans</i>	Hardjo	2.641
I-8	Au6	<i>L. interrogans</i>	Australis	2.663
I-9	Au7	<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	2.629
I-10	Au8	<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	2.408
I-11	Au10	<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	2.635
I-12	Au13	<i>L. interrogans</i>	Djasiman	2.647
B-1	Kit4	<i>L. borgpetersenii</i>	Poi	1.595
B-2	Kit5	<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	1.515
B-3	Kit7	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	1.583
B-4	Kit14	<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	1.685
B-5	Au12	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballumn	1.443
K-1	Kit9	<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	2.160
K-2	Au3	<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	2.287
K-3	Au11	<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	2.380
S-1	Kit15	<i>L. santarosai</i>	Shermani	1.261
S-2	Kit16	<i>L. santarosai</i>	Ruparupae	1.209
W-1	Kit12	<i>L. weilii</i>	Celledoni	1.328
W-2	Au4	<i>L. weilii</i>	Celledoni	0.994
N-1	Kit13	<i>L. noguchii</i>	Panama	1.960

圖四、測試以 12 株 *Leptospira interrogans* 參考菌株初步建置 *Leptospira interrogans* 之圖譜資料庫。



圖五、選殖 8 株 *Leptospira interrogans* 代表菌株建置圖譜



圖六、選殖 3 株 *Leptospira interrogans* 代表菌株建置圖譜

流水號碼	菌株代號	Species	Serovar	project (8 interrogans)	project (3 interrogans)
I-1	Kit1	<i>L. interrogans</i>	Canicola	2.536	2.536
I-2	Kit2	<i>L. interrogans</i>	Bratislava	2.388	2.163
I-3	Kit6	<i>L. interrogans</i>	Pomona	2.596	2.596
I-4	Kit8	<i>L. interrogans</i>	Bataviae	2.474	2.264
I-5	Kit10	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	2.777	2.777
I-6	Au1	<i>L. interrogans</i>	Pomona	2.447	2.477
I-7	Au2	<i>L. interrogans</i>	Hardjo	2.617	2.502
I-8	Au6	<i>L. interrogans</i>	Australis	2.663	2.308
I-9	Au7	<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	2.629	2.363
I-10	Au8	<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	2.092	2.092
I-11	Au10	<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	2.635	2.272
I-12	Au13	<i>L. interrogans</i>	Djasiman	2.524	2.403
B-1	Kit4	<i>L. borgpetersenii</i>	Poi	1.322	1.317
B-2	Kit5	<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	1.447	1.337
B-3	Kit7	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	1.411	1.325
B-4	Kit14	<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	1.685	1.481
B-5	Au12	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballumn	1.443	1.421
K-1	Kit9	<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	2.160	1.627
K-2	Au3	<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	2.287	1.947
K-3	Au11	<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	2.380	1.999
S-1	Kit15	<i>L. santarosai</i>	Shermani	0.947	0.947
S-2	Kit16	<i>L. santarosai</i>	Ruparupae	1.209	1.961
W-1	Kit12	<i>L. weilii</i>	Celledoni	1.328	1.328
W-2	Au4	<i>L. weilii</i>	Celledoni	0.998	1.941
N-1	Kit13	<i>L. noguchii</i>	Panama	1.946	1.782

圖七、測試以 8 株及 3 株 *Leptospira interrogans* 參考菌株組成之 *Leptospira interrogans* 之圖譜資料庫。

菌株種類	project (12 interrogans)	project (3 interrogans)	菌株種類	project (12 interrogans)	project (3 interrogans)
<i>L. interrogans</i>	2.397	2.287	<i>L. borgpetersenii</i>	1.441	1.256
<i>L. interrogans</i>	2.362	2.170	<i>L. borgpetersenii</i>	1.524	1.312
<i>L. interrogans</i>	2.486	2.231	<i>L. borgpetersenii</i>	1.577	1.459
<i>L. interrogans</i>	2.383	2.276	<i>L. borgpetersenii</i>	0.918	1.271
<i>L. interrogans</i>	2.575	2.372	<i>L. borgpetersenii</i>	1.548	1.251
<i>L. interrogans</i>	2.557	2.368	<i>L. borgpetersenii</i>	1.630	1.409
<i>L. interrogans</i>	2.476	2.196	<i>L. borgpetersenii</i>	1.197	1.407
<i>L. interrogans</i>	2.510	2.437	<i>L. borgpetersenii</i>	1.446	1.222
<i>L. interrogans</i>	2.588	2.464	<i>L. borgpetersenii</i>	1.458	1.417
<i>L. interrogans</i>	2.336	2.327	<i>L. borgpetersenii</i>	1.534	1.364
<i>L. interrogans</i>	2.578	2.348	<i>L. borgpetersenii</i>	1.447	1.255
<i>L. interrogans</i>	2.580	2.393	<i>L. borgpetersenii</i>	1.447	1.360
<i>L. interrogans</i>	2.403	2.210	<i>L. borgpetersenii</i>	1.590	1.524
<i>L. interrogans</i>	2.359	2.229	<i>L. borgpetersenii</i>	1.485	1.291
<i>L. interrogans</i>	2.354	2.118	<i>L. borgpetersenii</i>	1.360	1.299
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.474	1.330
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.334	1.334
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.279	0.896
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.556	1.422
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.139	1.139
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.378	1.345
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.688	1.542
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.160	1.074
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.297	1.227
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.268	1.242
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.411	1.348
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.771	1.611
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.489	1.388
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.400	1.400
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.417	1.417
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.475	1.181
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.307	1.307
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.326	1.086
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.386	1.164
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.578	1.387
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.450	1.374
			<i>L. borgpetersenii</i>	1.546	1.253

圖八、以鼠類培養鈎端螺旋體菌株進行 *Leptospira interrogans*

圖譜資料庫準確性測試

菌株代號	Species	Strain	MALDI TOF內建 資料庫比對菌種	MALDI TOF內建 資料庫比對分數	project (12 interrogans)	project (3 interrogans)
35210	<i>Borrelia burgdorferi</i>	ATCC 35210	<i>Borrelia burgdorferi</i>	2.118	0.679	0.470
51383	<i>Borrelia garinii</i>	ATCC 51383	<i>Borrelia garinii</i>	2.033	0.668	0.668
51991	<i>Borrelia garinii</i>	ATCC 51591	<i>Borrelia garinii</i>	2.101	0.660	0.660
51567	<i>Borrelia afzelii</i>	ATCC 51567	-	1.349	0.635	0.559

圖九、以伯氏疏螺旋體菌株進行 *Leptospira interrogans* 圖譜資料庫特異性測試

衛生福利部疾病管制署 108 年科技研究計畫

期末審查意見回復

計畫編號：MOHW108-CDC-C-315-134514

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	基礎方法之建立有應用性無創新性。	謝謝委員建議，未來努力朝向更創新之研究。	
2	資料希望能夠全台灣各機構整合。	謝謝委員建議，未來將提供成果供各醫療單位使用。	
3	很優秀的報告。	謝謝委員鼓勵。	

備註：請將此表單附在期末報告後方，如有修正期末報告內容請註明頁碼，並務必至 GRB 系統完成資料抽換。