



微生物的分離與檢測 烏村正基

## 1.前言

簡易迅速低成本的細菌檢查法的技術日新月異。

## 2.微生物的檢查現狀

### 2.1 病原細菌

首要考慮的是食物中毒菌與病原性細菌。

### 2.2 最新的公定法

以美國的 AOAC 的微生物檢查法為標準。

### 2.3 培養法

最典型的是分離培養法。使被檢測的微生物物迅速增殖，技術的進步使培養基地，時間都改善，但是仍然有不完全之處。例如雖然能找出病原菌的種類，但是無法考察出感染的來源。

### 2.4 前處理技術

在檢查前必須依據使用的方法先進行前處理。例如採用培養法會先使用遠心分離法抽出微生物。另外還有過濾被檢水的過濾法，適用於菌體濃度低的水質調查。如果被檢的微生物是依附在擔體上則需要作特別的抽出。

### 2.5 微生物活性測定

微生物的評價方式，有測定代謝活性的間接評價法與微生物菌體或是細胞內特定成份的直接測定法。活性測定的對象例如 ATP，呼吸，特定酵素的活性。

## 3.新的分離，檢測技術

### 3.1 flow cytometry 法

將試料的溶液形成細流，流動中照射雷射光，測定從粒子或細胞中散發的散亂光或是螢光，連續測定細胞或是粒子的大小以及細胞數。對於從製造加工到出貨為止需要短時間完成的产品非常有效。

### 3.2 分子生物學手法

#### 3.2.1 PCR

PCR(Polymerase chain reaction)手法是疫病學的調查以遺傳基因的層次解析的方法。對於比較困難檢測或是需要更多時間檢測的細菌是一不錯的方法。

另外還有定溫核酸增幅法 NASBA(Nucleic Acid Sequence-Based Amplification),以及等溫核酸增幅法 LAMP(Loop-Mediated Isothermal Amplification)的開發。

#### 3.2.2 Finger print 或是 fish

方式是利用細菌的核糖 RNA 基因的週邊的多型性，遺傳基因以 finger print 解析，目前已經開發自動化檢測機器，收集有 180 屬，1200 的細菌種的 5700 種以上的 核糖體 print pattern。另外還有 FISH(Fluorescent In Situ Hybridisation)的方法用於特定微生物的檢測。

#### 3.2.3 熱 shock 蛋白質 code mRNA

一般生物學的手法活菌與死菌的識別比較困難。例如大腸菌熱 shock 蛋白質用



code mRNA 為目標的 NASBA 方法，可以選擇性的檢測出活的大腸菌。

### 3.2.4 污染源的查明

能夠迅速找出污染源與路徑是非常重要的。查出污染源的病菌，如果能更精確的識別細菌株，可以更有效防止污染，而 PCR 是一主流方式。

### 3.2.5 DNA Chip

DNA Chip 的開發使檢測的時間縮短，不同的微生物種類檢色的條件或是方法不同，以現有的檢出 kit 幾乎是只能檢測出一種菌，同時可以檢測出多種菌應該是可以努力達成的。

## 3.3 電力泳動技術

### 3.3.1 Capillary Electrophoresis

Capillary Electrophoresis 的方式是目前的嘗試，微生物通常細胞的表面有多糖或蛋白質的荷電分子存在，在生理條件下是負電，導入電壓，細胞會往正電子方向移動。細胞的泳動速度因負電狀態而不同，在設定分析的條件下，具有不同的泳動速度的微生物細胞之間會分離。近年在這一領域中，藉著微細加工技術，從樣本的前處理到檢測，在一片基板上組合的 Micro Chip 電力泳動技術的開發盛行。Micro Chip 與電力泳動技術的結合使細胞的處理更先進化。

### 3.3.2 等電點 Capillary 電力泳動

同樣使用 Capillary 法，但是與上述的 CE 法分離模式不同的等電點電力泳動技術也適用於微生物細胞分離。

### 3.3.2 誘電泳動電阻抗計測法

利用誘電泳動現象濃縮微生物，以電阻抗計測，迅速簡易的測出微生物。Micro 電極上導入高週波電場，電場中的菌分離，利用電力集中的誘電泳動現象，在電極 Gap 間捕捉濃縮微生物。

## 3.4 依據抗原抗體反應的技術

### 3.4.1 ELISA 法

以免疫法檢測大腸菌 O157 已經是公認的方式，檢測的感應度上，利用抗原抗體的反應，捕捉目標的微生物後，根據酵素反應，信號增強的 ELISA 法有特別優勢。而且對於抗原抗體反應所需要的時間縮短，也有更多的嘗試。另外配合 PCR 法可以有更高感應的檢測。

### 3.4.2 電氣化學法

利用抗原抗體反應檢測目標微生物與擔體結合的方法，其中電氣化學法有低成本，感應度的優點。標識大腸菌抗體的 Urease 的活性以氧化還原測定監視，修飾抗體的電極上，判定是否捕捉到大腸菌。檢測的時間縮短。

### 3.4.3 QCM 法

大腸菌抗體以水晶震動子質子上固定，觀察與大腸菌結合的重量變化，測定大腸菌的量。



財團法人

工業技術研究院

能源與資源研究所 水利產業技術組

### 3.5 其他的技術

另外還有開發 MALDI-TOF-MS(Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometer)法，幫助迅速識別。

而採用表面 Raman 散亂法(SERS surface enhanced Raman scattering)還可識別大腸菌的菌株。