

衛生福利部食品藥物管理署
實驗室品質管理規範－微生物領域測試結果之品質管制

核定日期：102.04.19
第一次修訂日期：102.07.23
第二次修訂日期：103.02.07
第三次修訂日期：107.06.03

一、訂定目的

為控管檢驗機構微生物領域檢驗結果品質，特訂定「微生物領域測試結果之品質管制」（以下簡稱微生物測試品管要求）。微生物檢驗品管要求之事項，於檢驗方法已有規定者，應依該檢驗方法之規定。

二、規範內容

微生物檢驗品管要求之內容包括下列項目：(一) 人員、(二) 實驗系統設施、(三) 儀器設備、(四) 材料、試劑及培養基、(五) 實驗室用品之清洗及滅菌、(六) 樣品採集與保存、(七) 品管措施、(八) 紀錄與報告及(九) 安全、衛生及環境保護之責任等九大項。

三、要求事項

(一) 人員

1. 檢驗人員應具有相應的教育、微生物專業培訓經歷，具備相當之資質，能夠理解並正確實施檢驗。
2. 檢驗人員應掌握實驗室生物檢驗安全操作知識和消毒知識。
3. 檢驗人員應在檢驗過程中遵守相關預防措施的規定，保證自身安全。
4. 檢驗機構應確認檢驗人員在執行檢驗業務前，已完成相關設備操作、微生物檢驗技術和實驗室生物安全等方面的培訓，並經考核合格及授權後方可執行檢驗業務。
5. 檢驗機構每年應規劃檢驗人員的訓練計畫及在職研習計畫。
6. 檢驗機構應進行內部品質管制、能力試驗或使用標準菌株等方法客觀評估檢驗人員的能力，必要時，對其進行再培訓並重新評核。
7. 所有檢驗人員的培訓、考核內容和結果均應記錄存檔備查。

(二) 實驗室系統設施

1. 實驗室環境不應影響檢驗結果的準確性。
2. 實驗室的工作區域應與辦公室區域明顯分開。
3. 實驗室工作面積和總體布局應能滿足從事檢驗工作的需要，實驗室布局應採用單方向

工作流程，避免交叉汙染。

4. 實驗室內環境的溫度、濕度、照度、噪音和潔淨度應符合工作要求。
5. 病原微生物分離鑑定工作應在二級以上生物安全實驗室進行。
6. 實驗室應具備獨立之門禁管制與安全防護措施，並具通道管制的獨立動線。
7. 實驗室門上應標示生物危害標識、緊急處理標準作業程序、檢驗部門主管與緊急聯絡人之姓名、職稱與緊急聯絡方式等。
8. 實驗室應具備符合操作微生物分級之相關生物安全防護設備，措施及作為。
9. 實驗室必須符合消防、安全衛生等相關法規之要求。
10. 實驗室應針對火災、地震等天然災害及實驗室生物安全意外事件擬訂實驗室緊急應變計畫。
11. 實驗室之設計運作，最好有一獨立的區域，進行各種培養基、玻璃器皿及材料之準備及滅菌。
12. 有足夠的操作檯面以進行樣品之分析且檯面的質地必須是以耐高溫、防腐蝕的物質所構成的光滑平面操作檯面，並於使用前後應消毒維持其清潔。
13. 供應實驗室使用之壓縮氣體鋼瓶須放置於實驗室外，且應固定妥善。

(三) 儀器設備

1. 實驗設備應滿足檢驗工作的需要。
2. 實驗設備應放置於適宜的環境條件下，便於維護、清潔、消毒與校準，並保持整潔與良好的工作狀態。
3. 實驗設備應定期實施校驗保養，以確保工作性能和操作安全。
4. 實驗設備應有日常性監控紀錄和使用紀錄。
5. 無菌操作檯(生物安全櫃)應根據檢驗之病原體及生物操作室的等級選用適當之生物安全櫃，殺菌釜應按期進行滅菌功能確定。

(四) 材料、試劑及培養基

1. 材料
 - (1) 常規檢驗用品主要有接種環(針)、酒精燈、鑷子、剪刀、藥勺、消毒棉球、微量吸管、吸管、試管、培養皿、玻璃或塑膠瓶、廣口瓶、量筒及L形玻棒等。
 - (2) 檢驗用品在使用前應保持清潔和無菌。常用的滅菌方法包括濕熱法、乾熱法等。
 - (3) 需要滅菌的檢驗用品應放置在特定容器內或用合適的材料(如專用包裝紙、鋁箔紙等)包裹、加蓋或加塞，並應保證滅菌效果。

- (4) 可選擇適用於微生物檢驗的一次性用品來替代反覆使用的物品與材料（如培養皿、吸管、吸頭、試管、接種環等）。
- (5) 檢驗用品的儲存環境應保持乾燥和清潔,已滅菌與未滅菌的用品應分開存放並明確標識。
- (6) 滅菌檢驗用品應記錄滅菌/消毒的溫度與持續時間。

2. 試劑

檢驗試劑的品質及配製應適用於相關檢驗。對檢驗結果有重要影響的關鍵試劑應進行適用性驗證。

3. 培養基

培養基是微生物檢驗的基礎，直接影響微生物檢驗結果。適宜的培養基製備方法、貯存條件和品質控制檢驗是提供優質培養基的保證。為了確保培養基品質，可使用市售之商品化培養基，亦可依據培養基成分自行製備。

(1) 培養基的品質

應具備下列文件：

A. 產品證明文件

產品證明文件，係指表購買之商品化培養基或粉末盒裝培養基，廠商所需檢附之證明文件。應包含產品內容物、產品編號、批號、培養基使用前的 pH、儲藏條件、有效日期、性能評估及所使用的測試菌株、技術數據清單、品管證明、必要的安全/危害數據。

B. 實驗室檢查紀錄單

實驗室收到市售之商品化培養基後，應記錄培養基的名稱及批號、接收日期、有效日期、並檢查包裝及其完整性。

(2) 成品的質量控制

A. 培養基之無菌性 (Sterility of media)：每批經高壓蒸氣滅菌之培養基，應取樣置於本法所規定之溫度培養不少於七日，或於無菌試驗時將未接種檢品之培養瓶作為陰性對照培養之，培養結束必須無微生物生長，以確定培養基本身為無菌。

B. 測試菌株：測試菌株是具有其代表種的穩定特性，並能有效證明實驗室特定培養基最佳性能的一套菌株。測試菌株應使用微生物菌種保藏專門機構、可溯源的標準或參考菌株。實驗室應保存能滿足實驗需要的標準或參考菌株，在購入

和繼代培養過程中，應進行驗證試驗，並進行檔案化管理。

- C. 培養基驗證試驗，係表實驗室內應至少自行用陽性菌株進行測試，確認培養出來的微生物菌落大小及數量，與先前使用的培養基一致（同一樣品使用前後兩批培養基分別進行測試，結果之對數差異值應落於精密度管制範圍內）。

(3) 培養基的儲存

應嚴格按照檢驗方法或供應商提供的儲存條件、有效日期和使用方法進行培養基的保存和使用。

A. 粉末培養基

粉末培養基應轉緊瓶蓋貯存於低於 30°C、避光、乾燥的環境中，如製造廠商另有規定則從其規定。未開封時之有效期限以原廠建議為準。若發現有結塊、變色、變質等現象時，就不可繼續使用。建議置於防潮櫃中保存。

B. 液體(培養液)及固體培養基

以粉末培養基製備之液體或固體培養基，保存於 $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ，且不得在 0°C 或 0°C 以下存放。培養基如果內含染料，須避光保存。如使用鬆蓋培養皿，保存時須密封，以避免水分散失過多。培養基除特定方法規範現配現用外，如置於冰箱保存，以不得超過 14 天為限。

(4) 培養基的製備

使用粉末培養基和其他含有有害物質的成分時，應遵守微生物實驗室規範和生產廠商提供的使用說明。使用各別成分製備培養基時，應按配方準確配製，並紀錄所使用成分的特性(如代號和批號等)。培養基配製過程中如須進行精確之體積量測，應用校正過之量筒或吸管，體積誤差不得超過 2.5%。製備完成的培養基須標明培養基名稱、製備日期、製備者及使用期限。

A. 水

配製培養基應使用蒸餾水或相同質量的水，並排除抑制或影響微生物生長的物質。

B. 秤量和復水

秤量所需量的粉末培養基(必要時配戴口罩或在通風櫃中操作，以防吸入含有有毒物質或培養基粉末)，先加入少量的水，充分混合再加水至所需的量。

C. 溶解

粉末培養基加水後適當加熱，不停攪拌使其快速溶解。含瓊脂的培養基在加熱

前應先浸泡幾分鐘。用各別成分製備的培養基應將不同成分分別加入適當的水中，並充分溶解，然後再加水至所需要的量。

D. 培養基 pH 值之測定

液體培養基之 pH 值測定，應於培養基滅菌後冷卻到 25°C 時，以無菌操作取少量以 pH 測定儀量測，測定值應為 $\text{pH} \pm 0.2$ 。內含瓊脂之培養基，應於培養基滅菌後，取少量待其固化，再以 pH 測定儀搭配表面電極 (surface probe) 測定其 pH 值。(如滅菌後之培養基其 pH 值未落於建議範圍內，且差異小於 0.5 pH 單位，可使用已過濾除菌之 1 N 氫氧化鈉或鹽酸溶液調整培養基 pH 值) 如滅菌後培養基 pH 值和預期相差超過 0.5 pH 單位，則須將製備之培養基廢棄，並檢討 pH 值變化之原因，檢討後應在相關紀錄上加以標註。

E. 添加成分的製備

製備含有有毒物質的添加成分時應小心操作，避免因粉末擴散造成實驗人員過敏或發生其他不良反應。

(5) 培養基的滅菌

培養基和試劑應採用濕熱滅菌或過濾滅菌。當培養基中含有對光或熱敏感的物质，只能過濾滅菌。且培養基配製完成後 2 小時以內必須進行滅菌。

A. 濕熱滅菌

配製培養基時，容器體積至少須為待配培養基體積的 2 倍以避免培養基煮沸或滅菌時溢出。一般培養基之滅菌方式為 121°C 下高溫高壓滅菌 15 分鐘，滅菌後應儘速將培養基取出冷卻，以避免持續加熱造成醣類分解。

B. 過濾滅菌

如果培養基中含有對熱敏感的物质(如抗生素等)，應取對熱敏感物质進行過濾除菌後(使用孔徑為 0.22 μm 之無菌濾膜)，再加入已滅菌且溫度降至可容許範圍之培養基。其過濾分裝等操作過程，必須在無菌環境下完成。

(五) 實驗室用品之清洗及滅菌

1. 清洗

實驗室器皿的清洗步驟應包括三個程序：

- (1) 用適當的清潔劑徹底清潔器皿。
- (2) 用自來水沖洗除去清潔劑避免殘留，必要時使用熱水。
- (3) 用蒸餾水沖洗。

器皿清洗完後，應檢視玻璃表面水珠殘留情形，以決定是否必須重新清洗。如有必要，玻璃器皿使用前置入 100°C 之烘箱進行烘乾 10 至 15 分鐘。另，有微生物污染疑慮之待洗器皿在清洗之前必須先進行滅菌。

2. 滅菌

各種器皿用具，應依其耐熱特性，選擇適當的滅菌方法。不鏽鋼器皿、玻璃器皿或可高溫滅菌塑膠（如聚丙烯）器皿可使用高溫高壓蒸氣滅菌器（一般為 121°C，滅菌 15 分鐘），滅菌時間應依待滅菌物質之特性而調整（見附表）。不鏽鋼或玻璃材質之用具器皿，也可使用烘箱進行乾熱滅菌。滅菌時應維持在 170±10°C，至少 2 小時。其他實驗室證明可達到滅菌效果者，亦可。滅菌釜之滅菌能力有效性查驗至少每季執行一次。

附表、不同物質於高溫高壓滅菌釜之最適滅菌時間

類別	時間（溫度 121°C）
濾膜及吸收襯墊	10 分鐘
培養基	依方法規定或製造廠商之規定
污染及待丟棄的微生物樣品	至少 30 分鐘
過濾裝置、空的樣品採集瓶	至少 15 分鐘
稀釋液	15 至 30 分鐘

濾膜、襯墊及培養基，在滅菌完成之後要儘速取出。過濾漏斗在每日或每批次開始操作之前，均須先行高溫高壓或乾熱滅菌。

(六) 樣品採集與保存：全程應具備無菌觀念，以確保樣品之原始樣態。

1. 樣品採集

根據檢驗目的、食品特點、檢驗方法、微生物危害程度等確定採樣方案，並應全程使用無菌採集器具，以無菌操作技術採集檢測所需樣品，並以無菌容器盛裝，儘速送回實驗室。實驗室接到送驗樣品後應核對登記，確保樣品的相關訊息完整並符合檢驗要求。

2. 樣品保存

除檢驗方法另有規定外，食品類樣品運送時檢體溫度應維持在低於 10°C 且不得凍結，而實驗室內保存溫度應維持在 5 ± 3°C，以防止樣品中目標微生物因客觀條件的干擾而發生變化。除原包裝未開封且在有效期限內，並依原條件保存之樣品外，採樣後 24 小時內應完成檢驗並置入培養箱中進行培養。

(七) 品管措施

實驗室應對實驗用菌株、培養基、試劑等設置陽性對照、陰性對照和空白對照。稀釋

樣品建議於稀釋後三十分鐘內完成檢驗步驟，以免造成微生物死亡或增生，影響實驗數據之正確性。並建立內部錯誤報告系統紀錄檢驗進行中所發生的異常及錯誤，並檢討原因。

1. 內部品質管制

為確保不同時間進行的實驗都有相同的品質確認，利用添加參考菌株、空白樣品，重複樣品的方式確保檢驗系統的正確性。

(1) 空白樣品

包括運送空白樣品及方法空白樣品二項。空白樣品分析值應低於檢驗方法之最小計數值（係指以未檢出時之數值表示）。

A. 運送空白樣品（又稱旅運空白樣品）（請採樣單位配合執行）

目的為用於監控運送過程是否會造成樣品之污染。在實驗室中將無菌稀釋水或無菌稀釋液置入與盛裝待測樣品相同之採樣容器內（操作過程須避免污染），攜至採樣地點，再與待測樣品放置於同一冰箱運送回實驗室。每批次採樣時，應進行運送空白樣品之檢驗。

B. 方法空白樣品（又稱試劑空白樣品）

目的為用於判知樣品在分析過程是否遭受污染。一般使用無菌稀釋液作為方法空白樣品。每批次或每十個樣品需進行方法空白樣品之檢驗。

(2) 重複樣品

A. 精密度管制範圍僅適用於定量分析，半定量最確數(Most Probable Number, MPN)及定性分析不受此規範要求。

B. 藥物及化粧品：進行二重複樣品分析時，應建立精密度管制範圍，且每年應重新計算。

C. 食品：進行二重複樣品分析，對於不同基質樣品應分別計算各別檢驗項目之精密度管制範圍，其建立及使用步驟如下：

(a) 依不同基質樣品，分別取 15 個結果為陽性之二重複樣品分析測定值(D_1 、 D_2)。

(b) 依下式分別計算 D_1 、 D_2 的對數值 L_1 、 L_2 （若 D_1 、 D_2 其中之一為 0，則 D_1 、 D_2 皆加 1 後再分別求其對數值）。

$$\log D_1 = L_1 \quad \log D_2 = L_2$$

(c) 依下式計算每組重複樣品分析測定值的對數差異值 (R)，再求出 15 組重複之對數差異值平均(\bar{R})：

$$R = |L_1 - L_2| \quad \bar{R} = \frac{\sum R}{n}$$

(d) 精密度管制範圍為 $3.27\bar{R}$ (99% 信賴區間)。如後續重複樣品分析之結果，其對數差異值 (R) 超出精密度管制範圍 (大於 $3.27\bar{R}$) 時，除非測定值 D_1 、 D_2 均小於 20，否則須放棄此組測定值，並檢討變異太大之可能原因後，重新進行分析。

(e) 計算範例如下：

樣品號碼	重複樣品分析結果		結果對數值		對數差異值 ($R = L_1 - L_2 $)
	D_1	D_2	L_1	L_2	
1	62	59	1.7924	1.7709	0.0215
2	13	11	1.1139	1.0414	0.0725
3	111	104	2.0453	2.0170	0.0283
4	80	75	1.9031	1.8751	0.0280
5	43	47	1.6335	1.6721	0.0386
6	110	103	2.0414	2.0128	0.0286
7	56	50	1.7482	1.6990	0.0492
8	42	37	1.6232	1.5682	0.0550
9	47	52	1.6721	1.7160	0.0439
10	127	135	2.1038	2.1303	0.0265
11	64	70	1.8062	1.8451	0.0389
12	83	89	1.9191	1.9494	0.0303
13	135	142	2.1303	2.1523	0.0220
14	79	81	1.8976	1.9085	0.0109
15	52	45	1.7160	1.6532	0.0628

$$\sum R = 0.0215 + 0.0725 + 0.0283 + \dots + 0.0109 + 0.0628 = 0.5570$$

$$\bar{R} = \sum R \div n = 0.5570 \div 15 = 0.0371$$

$$\text{精密度管制參考範圍} = 3.27 \times 0.0371 = 0.1214$$

查對 15 組數據中，若對數差異值有大於精密度管制範圍 0.1214 者，則選取其他樣品，重新計算精密度管制範圍。

案例：

樣品號碼	重複樣品分析結果		結果對數值		對數差異值 ($R = L_1 - L_2 $)
	D_1	D_2	L_1	L_2	
a	71	65	1.8513	1.8129	0.0384
b	110	121	2.0414	2.0828	0.0414
c	73	50	1.8633	1.6990	0.1643

樣品 c 對數差異值 $0.1643 >$ 精密度管制參考範圍 0.1214，數據無效。

(f) 精密度管制範圍每年應檢討重新計算 1 次，將當年度 15 個陽性樣品，依前述步驟 a 至 d 計算，如當年度之陽性樣品不足 15 個時，可將 3 年之內數據補足 15 個；若 3 年內陽性樣品仍不足 15 個，可用參考菌株添加方式補足 15 個。

2. 外部品質評估

實驗室應定期參加外部的能力考核，以確保品質系統之有效性。

(八) 紀錄與報告

1. 紀錄

檢驗過程中應即時、準確的紀錄觀察到的現象、結果和數據等信息。

2. 報告

實驗室應按照檢驗方法中規定的要求，準確、客觀的報告每一項檢驗結果。

(九) 安全、衛生及環境保護之責任

1. 實驗所產生之所有生物材料等廢棄物，經過高溫高壓滅菌後才可丟棄。
2. 實驗所產生之所有生物材料等廢棄物，應依照行政院環境保護署訂定之有害事業廢棄物認定標準處理。
3. 若實驗或廢棄物含有基因重組物質，則應依照行政院國家科學委員會訂定之基因重組實驗守則處理。
4. 若實驗或廢棄物含有放射性物質則應依照行政院原子能委員會訂定之放射性物質與可發生游離輻射設備及其輻射作業管理辦法處理。
5. 操作生物安全一定等級之感染性材料、人數達一定數時，須依行政院疾病管制局訂定之感染性生物材料管理及傳染病人檢體採檢辦法規定成立生物安全委員會，以維護人員、環境之安全。