



動物用藥與飼料添加物成份 檢驗與違禁檢測的技術開發

撰文/張春梵·林文華

前言

蔓延全國的三聚氰胺 (Melamine, $C_3H_6N_6$, 俗稱蛋白精)「毒原料」事件, 合併國外的幼兒和成人「毒奶粉」, 加上先前狗食品「毒罐頭」事件, 以及源自雞鴨「毒飼料」的雞鴨「毒蛋」事件, 徹底衝擊全國的消費大眾以及寵物與經濟動物相關的食品安全信心。於此事件, 緊隨著三聚氰胺陸續爆發曝光的非法添加「毒物」, 包括氰尿酸 (Cyanuric acid, 或稱三聚氰酸) 與尿素 (Urea), 及至最近的鈹粉 (Ammonium bicarbonate, NH_4HCO_3 , 或稱碳酸氫鈹), 危害大眾健康的錯綜複雜非法圖利行爲, 實應藉以思考開發相關成份檢驗與違禁檢測的技術系統, 期能達成捍衛消費大眾健康與確證食品安全有效的任務目標。

捍衛消費大眾健康與確證食品安全有效

政府管理部門相關分工團隊的硬體架構, 似需部分軟體改革務實應變, 期能強化食品安全有效相關管理目標的思維邏輯與應變對策, 捍衛消費大眾健康與確證食品安全性。目前, 政府管理部門的分工方面, 依據畜殖、販售至消費的相關階段, 分別由農委會管理產品畜殖, 標檢局管理商品品質標準, 以及衛生署管理食品消費; 階段業務團隊的組合方面, 各部門均包括檢驗、諮詢、管理等相關成員, 分別由檢驗單位專責檢體實測, 諮詢智庫擬具對策標準, 以及管理單位調和法規執行。

針對安全農業方面, 農委會相關部門運用有限人力與物資, 致力達成畜殖產品的安全有效管理目標, 檢驗單位的承辦執行更需商議擬定相關的思維邏輯與應變對策。農委會依據相關管理法規督導執行, 目標包括 (1) 有效性品保驗證與 (2) 安全性違禁查驗, 承辦檢驗服務業務的認證實驗室相關技術機構例如公務部門畜衛所檢定分所、財團法人中央畜產會、以及私有企業營利機構等。

現行政策的例常實施目標, 涵蓋著重成份確認的有效性品保驗證, 以及著重全面篩檢的安全性違禁查驗; 如敘的例常單項檢驗分別包括畜殖產品主體相關的動物用飼料添加物與防治藥物疫苗等驗證目標; 意即, 主管機關農委會督導先期檢舉、事故舉報、與例行查驗, 技術部門檢定分所承辦審驗登記申請與配合取締查緝。然而, 面臨類似三聚氰胺事件, 前述的既有運作方式顯然不足預警應變與防衛例常, 亟需擬定調整相關的思維邏輯與應變對策。

(一) 有效性品保驗證

儘管, 有效性品保驗證的成份確認已有實績, 然而, 安全性違禁查驗的全面篩檢卻是初始。農委會家畜衛生試驗所的動物用藥品檢定分所承辦全國相關業務特定部分, 涵蓋動物用飼料添加物與防治藥物疫苗等產品主體的有效性品保驗證服務業務, 包括 (1) 動物用一般藥品的登記檢驗與抽查送驗,

(2) 補助飼料的登記檢驗，與 (3) 飼料添加藥品成份鑑定的抽查送驗與取締檢驗；表一彙整有效性品保驗證案件數量的業務相關統計數字，顯示 (a) 動物用一般藥品的登記檢驗約 100 例合格率約 98% 與抽查送驗約 700 例合格率約 98%，(b) 補助飼料的登記檢驗約 100 例合格率約 97%，與 (c) 飼料添加藥品成份鑑定的抽查送驗約 700 例合格率約 98%

與取締檢驗約 100 例合格率約 0%。

有效性品保驗證服務業務的任務功能主要在於確保動物用藥品的效能品質管改進，維持藥品的成份質量與性狀效用等標準，遏止非法偽藥禁藥和劣藥上市，促進畜牧事業發展及維護動物健康。試驗報告特別註明驗證方法與提供驗證資料，含量測定依據本國或美英日等國藥典，檢驗方法依據藥典記

表一 有效性品保驗證相關案件數統計

(a) 動物用一般藥品

登記檢驗	年度	檢驗件數	合格件數	不合格件數	合格率%
	94	95	94	1	98.9
	95	76	76	0	100.0
	96	105	105	0	100.0
	97(Q1-3)	84	82	2	97.6
抽查送驗	年度	檢驗件數	合格件數	不合格件數	合格率%
	94	614	584	30	95.1
	95	719	692	27	96.2
	96	556	537	19	96.6
	97(Q1-3)	631	615	16	97.4

(b) 補助飼料

登記檢驗	年度	檢驗件數	合格件數	不合格件數	合格率%
	94	94	91	3	96.8
	95	94	93	1	98.9
	96	95	92	3	96.8
	97(Q1-3)	46	44	2	95.6

(c) 飼料添加藥品成份鑑定

抽查送驗	年度	檢驗項數	檢出項數	未檢出項數	合格率%
	94	1,800	72	1,728	99.9
	95	1,110	21	1,089	98.1
	96	744	8	736	90.9
	97(Q1-3)	447	9	438	98.0
取締檢驗	年度	檢驗項數	檢出項數	未檢出項數	合格率%
	94	10	10	0	0.0
	95	2	2	0	0.0
	96	77	77	0	0.0
	97(Q1-3)	34	34	0	0.0

備註：

a. 檢出藥物成份含量的各項次飼料，移由送檢機關另依據「含藥物飼料添加物使用規範」加以判定與處理。

b. 藥品成份含量檢驗鑑定的結果，移由送檢機關依法加以判定與處理。



載的藥品標準，無標準者選擇著名科技機構或文獻期刊的檢驗方法，配合既有量測設備驗證建立相關測試作業規範。檢驗標準涵蓋成品外觀性狀檢查、成份純度鑑別試驗、崩散差重澄度濕度、安全無菌軟化試驗、與生物限量酸鹼防腐等，必須符合動物用一般藥品檢驗標準規範。

(二) 安全性違禁查驗

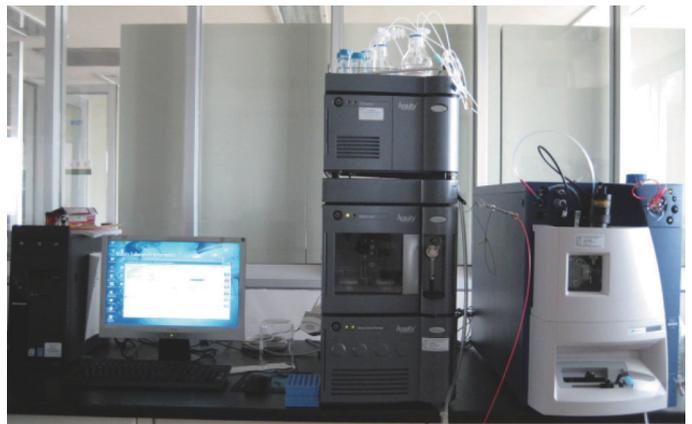
依據預警應變與防衛例常的主管機關思維邏輯，以建立風險判定與驗證平台的技術部門應變對策，因而落實主動預警防範的趨勢對策，目前似需微調被動例常防衛的現行政策。意即，對於畜殖產品安全性違禁查驗的強化部分，在於風險對策的趨勢評估。針對大宗物資與大眾消費，主管機關與技術部門分別進行影響規模管控與新興危害判定；對於執行對策的趨勢技術方面，建立主動篩檢必要的緊急單項與例行多項相關高效率低成本驗證平台，達成主管機關有效運用有限人力物資與徹底執行確保消費安全，仍需技術部門積極開發高量篩檢系統與完整監測毒物殘留積蓄。

因而，安全性違禁查驗方面，似應朝向 (1) 針對預警應變的驗證平台技術開發，對於新興危害判定的單項毒物目標，全面緊急查驗的關鍵議題在於驗證平台的感度與量能，高感度最佳條件與高通量合併試樣，似可技術性互補綜效達成高感度與高通量的預警應變目標；與 (2) 針對防衛例常的驗證平台技術開發，對於相關檢測群組的多項毒物目標，簡化例常抽驗的關鍵議題在於驗證平台的效能與感度，高效能共萃製備與高感度群組估測，似可技術性互補綜效達成高效能與高感度的防衛例常目標。

1. 預警應變與防衛例常的實務驗證平台技術開發

現行的實驗室級驗證平台技術基礎，足以達成單項目標少量檢體的最佳檢測，然而，面對產業實務需求的大量檢體與多項目標，實驗室級驗證平台似乎仍需調整設計與技術開發，成為符合感度效能與量能需求的產業級低成本高效率驗證平台，達成預警應變與防衛例常的主管機關業務目標；例如，

依據相關承辦單位實務經驗的非正式評估，兩台液相層析串連質譜儀 (LC-MS/MS) 每日 40 案例檢測能量的團隊人力需求，包括檢體處理製備 5 名與檢驗機器操作 2 名，檢體處理製備每名每次操作試樣 15 件包括實際試樣 3 件與品管試樣 12 件，加上器材模組的污染損耗相當快速，實際屬於高成本低效率的高感度驗證平台，故無法符合產業規格低成本高效率驗證平台的效能需求；因此，針對關鍵議題相關之單項與多項目標的不同檢測任務，強調設計與技術開發個別任務適用的產業規格驗證平台，或許會是可行的思維邏輯與應變對策。



圖一 檢定分所的液相層析串聯質譜儀 (LC-MS/MS)

安全速檢可行方法的實際應用開發必須確認符合效能規格與實作程序 (Office of Water, 1999; Botsoglou and Fletouris, 2001a)，參照氰化物 (HCN) 檢測方法範例的品管確效要件包括：

(1) 符合實驗室技術平台品管採認重點的效能規格

評估平均回收百分率 (average percent recovery)、相對標準誤差 (RSD, relative standard deviation)、與相對百分率差異 (RPD, relative percent difference) 的品管採認重點 (acceptance criteria) 效能規格，符合必要回收範圍 (required recovery range) 與準確度 (precision) 的二項獨立採認範圍，包括，實驗室對照檢體在初始期為 92 ~ 122% 與小於 5.1% RSD

，在營運期為 82~132% 與 N/A；另校正群確效為 86~118% 與 N/A；以及基質摻入與基質摻入複作為 82~130% 與小於 11% RPD。

(2) 實施實驗室技術平台品管採認重點的操作程序

安全速檢技術平台達成前述品管採認重點的實驗室品管工作包括三類，(a) 實驗室對照檢體群，確證初始期實驗室技術平台的檢測極限與回收百分率的標準誤差，前述建立校正曲線的實驗室空白物與對照群，正式稱為校正群空白物與標準物，校正曲線範圍必須涵蓋至少三個最低劑量的校正群標準物；(b) 基質摻入與基質摻入複作檢體群，各批檢體至少選取 10% 摻入背景值劑量濃度約五倍以內的校正群標準物，評估平均回收百分率、相對標準誤差 (RSD)、與相對百分率差異 (RPD)；以及 (c) 標準參照材料，確證實驗室技術平台效能，使用外部參照檢體 (reference sample) 定期測試技術平台方法的各项效能指標。

現行標準檢測流程主要包括檢量曲線與檢體定量如附表二，主要類別涵蓋：

(1) 檢量曲線

包括絕對劑量標準曲線與回收效率標準曲線二者，分別代表基質的 (-) 無混合與 (+) 有混合情況建立標準曲線，依據使用純標準物較高、高、中、低、較低等五種劑量，個別試樣萃取淨化微幅調整成爲一倍體積三複作混合的三倍體積，合計執行萃取淨化五個試樣，三複作混合萃取淨化適合實施檢量曲線每日三班制的每班陸續使用一倍體積的三複作混合試樣於機器調校。

(2) 檢體定量

包括基質因子影響的絕對劑量實測、回收效率實測、與檢體定量實測等三者，分別代表標準物高低劑量的萃取後與萃取前摻入，以及無劑量摻入；微幅調整個別試樣萃取淨化成爲三倍體積三複作，合計執行萃取淨化十五個試樣，三倍體積萃取淨化適合實施檢體定量陸續使用二成體積的混合試樣執

表二 液相層析串聯質譜儀的標準檢測試樣與微幅調整

1	類別	標準物劑量	基質(飼料)	萃取淨化操作量 (一倍體積三複作混合)	說明
i	檢量曲線	1較高、2高、3中、4低、5較低劑量	(-)無基質	0試樣操作量 5劑量*1複混*0基質	絕對劑量標準曲線
ii	檢量曲線	1較高、2高、3中、4低、5較低劑量	(+)有基質	5試樣操作量 5劑量*1複混*1基質	回收效率標準曲線
2	類別	標準物法定限值劑量	基質(飼料)	萃取淨化操作量 (三倍體積三複作)	說明
a	檢體定量	萃取後高低劑量摻入	個別檢體	6試樣操作量 2劑量*3複作	基質因子影響的 絕對劑量實測
b	檢體定量	萃取前高低劑量摻入	個別檢體	6試樣操作量 2劑量*3複作	回收效率實測
c	檢體定量	萃取後無劑量摻入	個別檢體	3試樣操作量 1定量*3複作	檢體定量實測



行 MS/MS 高感度檢測、一倍體積檢測數值高量群的個別試樣執行 HPLC 次感度檢測、與一倍體積檢測數值低量群暨次感度檢測失敗群的個別試樣執行 MS/MS 高感度檢測，相關細節請參閱表三與後文敘明。再者，依據檢體定量實測與絕對劑量標準曲線的實作經驗，出現二者檢測波峰稍微偏移的難以辨認情況，可以藉由附帶檢測數值的吸收光譜判斷為不同物質，顯示飼料存在基質因子足以影響檢測數據的判讀。

2 應變預警配套相關技術開發

(1) 單項目標的混合試樣全面檢驗

應變預警方式的全面抽驗必須兼顧檢測時效與通量成本如表三所示，依據先前敘及的非正式評估進行檢測效率提昇，兩台液相層析串連質譜儀 (LC-MS/MS) 的團隊人力需求包括檢體處理製備 5 名與檢驗機器操作 2 名，檢體處理製備每名每次操作試樣 15 件包括實際試樣 3 件與品管試樣 12 件，每日 40 案例的萃取淨化檢測能量理應依據合理方

表三 串聯質譜標準檢測的應變流程與成本略估

A	感度	背景值	高感度檢測0.1ppm	次感度檢測2.5ppm	附註成本略估
B	系統		LC-&GC-MS/MS 串連質譜儀	UPLC&HPLC 液相層析儀	三聚氰胺
	1. 檢測通量		每日40檢體	N/A(易平行增量)	
	2. 檢測人力		檢體處理5名與檢驗操作2名	檢體處理5名	
	3. 檢測方法		FDA, OCT2007	FDA, OCT2007	
C	成本	主要成本項目	成本約96單位	成本約1單位	原則儘量使用次感度
	1. 萃取淨化	1.1. 時間	約4-5 Hr	約4-5 Hr	相同
		1.2. 溶劑步驟	高純度溶劑	高純度溶劑	相同
		1.3. 系統操作人力	常職技術員	常職技術員	相同
	2. 機器分析	2.1. 時間	約2分鐘	約4-10分鐘	耗時2倍
		2.2. 系統	約NTD\$8.0M x 2	約NTD\$1.3M x 2	節省成本6倍
		2.3. 耗材管柱	約NTD\$25.0K	約NTD\$13.0K	節省成本2倍
		2.4. 檢測容量	每管柱約80-100試樣	每管柱約800試樣	增加使用8倍
		2.5. 系統操作人力	專門技師人員	常職技術人員	節省成本2倍
D	應變流程	微幅調整設計	減少必要使用	儘量可行使用	最佳通量速度成本
	1. 混合檢測	1.1. 全面檢測速驗應變 (微調新增)	1.1. 同主同源的同質同批10-40試樣		二成體積混合40倍通量
	2. 個別檢測	2.1. 個別檢體粗篩		2.1. 再測混合檢測數值的 (1.1.)高量群	每試樣節省95單位成本
		2.2. 個別檢體細節	2.2.a. 再測混合檢測數值的(1.1.)低量群		每試樣耗用96單位成本
			2.2.b. 再測未得檢測數值的(2.1.)失敗群		每試樣耗用96單位成本

式平行擴增，以提昇效率降低成本。試樣合併與減少使用高成本低效率的 MS/MS 高感度驗證連帶降低器材模組的污染損耗，以及增加利用低成本低效率的 HPLC 次感度驗證，可符合產業規格低成本高效率驗證平台的時效能量需求。流程微調的整體效益方面，鎖定達成單項目標的預警應變型驗證平台技術開發，藉由高感度最佳條件與高通量合併試樣的技術性互補綜效，可實現高感度與高通量的預警應變驗證平台技術規格。

應變預警方式的全面抽驗兼顧檢測時效與通量成本的可行流程微調設計，相關整理歸納於表三，強調依循現行標準流程仍可具有高度經濟效益，(1) 通量相同的成本略估顯示，應變預警方式的全面抽驗 MS/MS 高感度驗證每試樣的主要成本約 96 單位，相對的，HPLC 次感度驗證的主要成本約 1 單位，因此，儘量使用 HPLC 次感度驗證的每試樣節省成本約 95 單位，然而，關鍵問題在於決定何時採行最多的次感度驗證與如何獲致最低的假陰性誤測，達成最大節省與最佳檢測，(2) 檢測時效的速驗判定顯示，應變預警方式的全面抽驗應有明快的行政處置，依據同主同源的同質同批相關產品混合試樣的爭取時效原則，執行 MS/MS 高感度驗證的速驗判定疑似陽性混合群暫予留置，或可能陰性者暫予放行自主管理，後續再行個別試樣的詳細檢驗確認與檢具正式報告。

(2) 三聚氰胺的單萃回收檢測

單萃回收檢測的應變流程微調設計上，應避免改變現行標準檢測的萃取淨化流程，如表二所示建立有效合併 MS/MS 高感度驗證與 HPLC 次感度驗證，基於相同的萃取淨化時間與高純度溶劑，應變流程微幅調整設計包括混合檢測與個別檢測等二階段如表三所示；(1) 混合檢測：包括表二所敘個別試樣萃取淨化三倍體積三複作的十五個試樣，依據同主同源的同質同批相關爭取檢測時效原則，實施 10~40 試樣的二成體積混合執行 MS/MS 高感度檢測，滿足全面應變的通量提昇成本降低與檢測時效

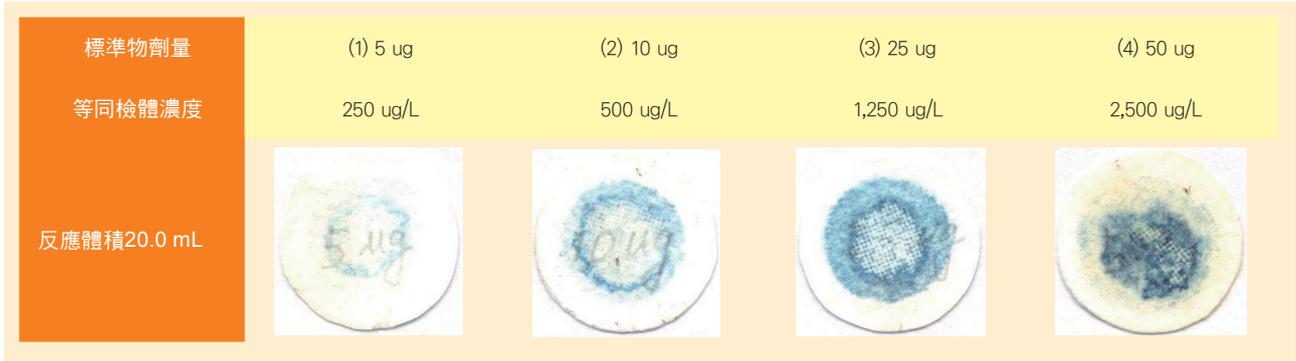
速驗判定；(2) 個別檢測：包括表三混合檢測結果數值所敘數值高量群的個別試樣一倍體積執行 HPLC 次感度檢測，以及所敘數值低量群暨次感度檢測失敗群的個別試樣一倍體積執行 MS/MS 高感度檢測，符合正式檢測報告的感度適用成本降低與檢測效力確認判定。

整體而言，預留適量飼料檢體存查，進行個別飼料檢體基質的相同萃取淨化程序，經歷萃取分離淨化過濾與輸進試樣儀器分析，檢測全程費時數小時。實作方面，基於同主同源的同質同批產品相關原則，混合檢測範圍仍須嚴格限定於相同單萃回收淨化溶劑系統的試樣；例如，三聚氰胺與氰尿酸單萃回收的不同萃取淨化溶劑系統，不宜實施三聚氰胺與氰尿酸的試樣混合檢測，藉以避免產生三聚氰胺氰尿酸鹽的結晶物質沈澱導致檢測失敗。

(3) 氰化物中毒的安全速檢另例

動物個體遭遇中毒常致死亡，毒物來源種類眾多與防範追蹤不易，衛生管理常未重視甚至忽略。基於提供檢測服務應用於疑似氰化物中毒動物案例檢體，必須建立氰化物安全簡易速檢法，演算影像數據與回歸檢量曲線 (Lin *et al.*, 2007)。氰化物鹽類中毒致死重症案例的氰離子 (CN⁻, cyanic ion) 血液濃度達 2~10 mg/L，組織濃度常見類別差異；氫氰 (HCN, hydrogen cyanide) 中毒案例經弱酸解離則少見氰離子。利用普魯士藍檢測斑點形成法適為一種安全簡易速檢技術平台，操作檢體氰化物實施酸化釋出氰氣，經二價鐵反應生成亞鐵氰化物斑點，由鹽酸脫色呈現藍色化合物沈積；其他類似方法包括微擴散法，微濾盤蒸餾法，與氰試膜 (Cyantesmo®) 長條試紙法。

普魯士藍檢測斑點形成法是可行的安全速檢方法，開發實用仍須確效符合效能規格與實作程序，適於安全有效速檢各式檢體氰化物的生成原因類型與檢測劑量範圍，包括體內代謝分佈與體外來源含量。有關體內代謝分佈，動物食入體內代謝釋出氰化物的中毒案例通常不易察覺；動物攝食產氰配



圖二 氰化物中毒速檢應用的普魯士藍檢測斑點形成法校量曲線標準物的影像數據

醣類和亞硝酸鹽組成物如苦杏仁素（存於核桃與杏仁核果、樹薯根部和青豆等植物組織），誤食硫酸鹽殺蟲劑體內代謝釋出嚴重毒性氰離子；藥物用途硝基普魯士酸鈉鹽的血管擴張劑和亞硝酸鹽組成物，誤食代謝釋出氰化物則會導致罕見中毒案例。有關體外來源含量，氰化物生成涵蓋攻擊、意外及天然等原因，常見存在於食料暨胃內物、飲水及空氣；亦即，食料暨胃內物來源案例常見於天然植物與醫療藥物；飲水來源案例則常見廢水污染河川與飲用水，地下水相較地表水的污染持續程度更為嚴重，氰化物廢水來源為漆鍍鋁鋼業；空氣來源案例常見煙癮者，火場罹難者，與失效白金觸媒轉換器暨石化工業的空氣污染 (Lin *et al.*, 2007)。

氰化物中毒的毒物來源涵蓋氰酸鉀或氰酸鈉 (cyanide)、攝食氫氰酸 (hydrocyanic acid)、或吸入氫氰，常見來源例如 (1) 植物組織苦杏仁素 (amygdalin) 的核桃與杏仁核果仁、樹薯根部與青豆等，動物攝食此類植物組織，會在體內代謝釋出氰化物引發中毒；(2) 氫氰類毛綢化纖與有機建材，火場高溫釋出一氧化碳與氫氰；(3) 複合型氰化物的金屬電鍍與酸化溶液，工業應用廢水排放氫氰化物污染水質；以及 (4) 氰化配醣類和亞硝酸鹽組成物。整體而言，氰化物中毒案例需要積極建立相關對策的氰化物中毒檢測技術與衛生管理制度，確保公衛安全的個體健康與防範意外事件的社會損失。在疑似氰化物中毒案例的現行臨床診療實施經驗型病歷

資料、高乳酸血症、與靜脈高氧症等，皆尚缺臨床診療適用的安全簡易速檢法，以利緊急實施於氰化物中毒疑似案例，即時協助判定給予支持療法。

3. 例常監測配套相關技術開發

(1) 多項目標的個別試樣共萃檢驗

例常監測方式的共萃檢驗仍須兼顧檢測時效與通量成本，依據實務經驗的非正式評估顯示相關效能仍需改進，液相層析串連質譜儀 (LC-MS/MS) 團隊的萃取淨化檢測能量必須依據合理可行方式共同萃取淨化試樣與提昇效率降低成本，共萃檢驗與減少高成本低效率的 MS/MS 高感度驗證，則要符合產業規格低成本高效率驗證平台的時效量能需求。例常流程微幅調整設計的整體效益方面，應可達成多項目標的例常監測型驗證平台技術開發，藉由高通量共萃製備與高感度共測回估的技術性互補綜效，應可實現高通量與高感度的防衛例常驗證平台技術規格。

例常監測方式的共萃檢驗在兼顧檢測時效與通量成本，可行流程的微幅調整設計類似表三所示，依然遵循現行的標準檢測流程；包括 (I) 通量相同的成本略估顯示，例常監測方式的單項目標 MS/MS 高感度驗證每試樣的主要成本約 96 單位，相較於 HPLC 次感度驗證約 1 單位，因此，依據儘量使用共萃檢驗的操作原則，個別試樣每增併單項目標即可節省 95 單位成本與一個萃取淨化成本，

如表三所示合併不同萃取淨化方法成為共同萃取淨化條件，然而，關鍵問題仍舊在於決定何者採行高感度共萃驗證與如何獲致最低的假陰性檢測失敗群，達成最大節省與最佳回估；以及(2) 檢測時效的全項共測顯示，例常監測方式的零星抽驗應達成涵蓋全部項目的行政確認，依據共萃製備多項目標的相關個別案例試樣執行 MS/MS 高感度驗證，爭取時效執行個別試樣全項確認與檢具正式檢驗報告。

涵蓋抗菌藥物 11 類、驅蟲藥物 17 類、抗球蟲抗原蟲藥物 9 類、賀爾蒙型生長促進藥物 6 類、以及其他藥物 11 類合計彙整 54 類藥物的研究顯示，固相萃取 (soild phase extraction) 的 C18 層析管柱產品群累計曾經應用於單項萃取 31/54 的彙整全部項目，加上 Silica 層析管柱產品群則是累計曾經應用於單項萃取 42/54 的彙整全部項目；相關的洗取方式則是限縮範圍於包括 acetone、methanol/ethanol、ethyl acetate、與 chloroform 等少數基礎溶劑摻入少數幾種的溶質，顯示共萃製備與回收檢測的可行性 (Botsoglou and Fletouris, 2001b)。

(2) 三聚氰胺的共萃回收檢測

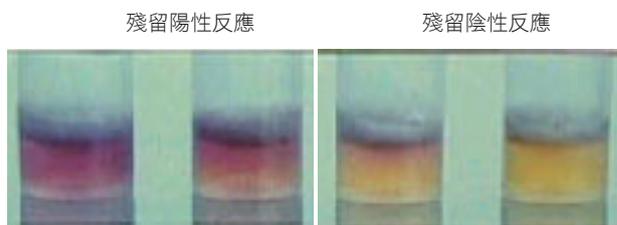
共萃回收檢測例常流程的微幅調整設計，應避免改變現行標準檢測的萃取淨化流程，表二建立有效共萃回收的 MS/MS 高感度驗證，基於相近的萃取淨化時間與高純度溶劑，例常流程的微調設計包括共萃淨化與個別檢測類似表三所示二個階段；(1) 共萃淨化：包括表二所敘個別試樣萃取淨化三倍體積三複作的十五個試樣，獲得共萃多項藥物目標的群組試樣涵蓋全部項目的藥物目標；(2) 個別檢測：一倍體積個別試樣執行 MS/MS 高感度共萃檢測，滿足例常零星試樣的通量提昇、成本降低與回估全項；與 (3) 回估曲線：包括絕對量標準曲線與回收效率標準曲線的基質 (-) 無混合與 (+) 有混合情況，依據共萃檢驗多項目標的純製標準物同步摻入較高、高、中、低、較低等五種劑量，個別萃取淨化一倍體積三複作混合的五個試樣，分別建立共萃目標的

個別回估曲線，以便換算個別檢體共萃檢驗數值的真實劑量。

實作方面，共萃檢測範圍僅限定於多項目標藥物的各自共萃溶劑系統，因此，預先完整界定實際行政管理業務相關的全部目標藥物，藉由共萃多項目標藥物的多重群組共萃數據聯集，達成完整涵蓋全部目標藥物；如此，對於三聚氰胺與氰尿酸的共萃回收檢測，避免產生三聚氰胺氰尿酸鹽的結晶物質沈澱導致檢測失敗，因為共萃回收檢測平台主要採行共萃數據虛擬聯集以及原則避免實體混合溶劑甚至試樣。

(3) 抗生物質殘留的篩檢辨別另例

現行檢測違反最高殘留容許量的食品安全藥物殘留檢測，在於篩選辨別與定量確認的策略程序，必須依據業務界定的殘留藥物種類採行單種層析的定量確認，抗生物質各項目標藥物均需個別萃取檢測，因而成本昂貴無法實施；由於忽略篩選辨別的策略分析程序需求，無法解決繁雜藥物種類與互異操作條件，容易疏漏檢測藥物種類，致使實驗室的測試報告瑕疵與品保蒙受質疑。抗生物質殘留的篩檢分析通常採用瓊膠擴散試驗，藉由微生物生長抑制進行篩檢，檢測試驗系統的二個部分涵蓋初步篩選與後續辨別，初步篩選型菌膠呈色法適合建置食品供應商的自發性預行篩檢，後續辨別型四種培養基菌盤測試法適合建置承辦機關的整合型種類辨別，此項四菌盤法檢測效能的感度最佳限值實作符合衛生署公告之動物用藥殘留標準的殘留容許量。



圖三 菌膠呈色法試驗抗生物質殘留

整合型種類辨別的四菌盤法適度解決動物用抗生物質種類範圍繁雜的檢測難題，有效限縮種類範圍銜接前敘微調建立的定量確認型 MS/MS 高感度共萃驗證，確保動物產品符合最高殘留容許量的法定標準，同時節約資源成本與減低工作負荷。藉由微生物學試驗達成種類辨別限縮效能，適於大量檢體初步篩選不合格的陽性檢體，繼而執行定量確認型 MS/MS 高感度共萃驗證。四種培養基菌盤測試法是歐盟英國等國家實施抗生物質殘留篩選的現行參考試驗，涵蓋五種不同類別抗生物質：乙內醯胺類、四環素類、胺基配醣苷類、巨環素類與磺胺劑類 (Lin *et al.*, 2005)。

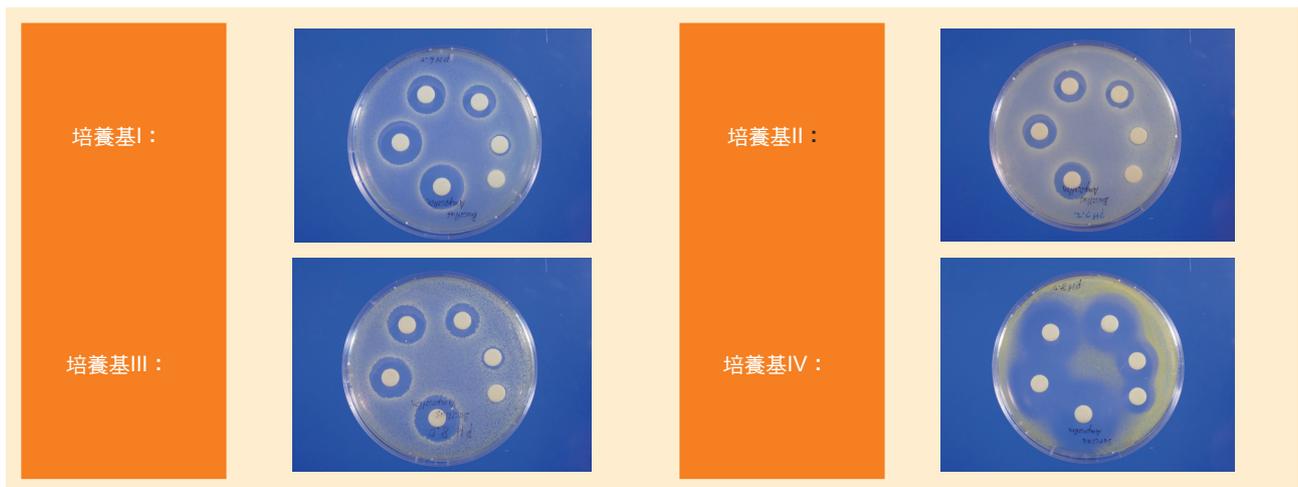
初步篩選型膠體培養基或同級流程方法：菌膠呈色法的市售許可荷蘭 DSM 食品公司 Premi®Test 合格套組，適用動物產品檢體之常用抗生物質殘留檢測如圖三所示，殘留檢測陽性反應維持紫紅色，殘留陰性反應黃或黃微紫色顯示抗生物質殘留量未超過最大殘留容許標準 (MRL, maximum residue limits) 的限定值。菌膠呈色法檢測套組適合經濟有效地去除大量假陽性檢體，省時簡便僅需一般訓練與實驗室即可每日完成 40 案例檢測，或可整合自動培養儀器提高檢驗通量；依據涵蓋 34 種抗生物質

共計九類範圍的檢測套組感度效能：乙內醯胺、四環素、胺基配醣苷、巨環素和磺胺劑等足以檢出法定最高殘留容許量濃度，適於各種類型動物產品檢體之動物用藥抗生物質殘留的初步篩選。

後續辨別型四種培養基菌盤測試法或同級流程方法：分別塗盤 [菌盤 1,2,3] 枯草桿菌 *Bacillus subtilis* ATCC6633 於 30 °C 培養 18 小時以及 [菌盤 4] 微小球菌 *Sarcina lutea* ATCC9341 於 37 °C 培養 24 小時，分別使用默克公司抗生物質測試專用的編號瓊膠培養基於 [菌盤 1]10663, pH 6.0, [菌盤 2]105270, pH 7.2, [菌盤 3]10664, pH 8.0, 與 [菌盤 4] 10664, pH 8.0。抗生物質種類的相互辨別方式，即是依據各類抗生物質在於四種培養基菌盤呈現抑制圈大小的敏感性高低順序：乙內醯胺類 4132(或 23)、四環素類 1234、胺基配醣苷類 3214、與巨環素類 4321；再者，磺胺劑類檢測於菌盤 2 滴加三甲苄氨嘧啶 (TMP) 提高感度。

結語—綜效檢測技術的衛生管理

積極的衛生管理可以綜效承辦機關的相關技術與業務，以抗生物質為例的衛生管理策略，可以包括減少使用、準確使用與避免使用。



圖四 抗生物質乙內醯胺類Ampicillin標準物的四種培養基菌盤抑制圈分析

在減少使用方面，抗生物質管理政策積極朝向限縮導入處方範圍 (Davey and Nathwani, 1997)，行政部門公告禁用包括 2007 年 7 月的枯草菌素 (Bacitracin)、氯四環黴素 (Chlor tetracycline)、可利斯汀 (Colistin)、新黴素 (Neomycin)、與四環黴素 (Tetracycline)；2007 年 1 月的配尼西林 (Penicillin)；2006 年 1 月的林可黴素 (Lincomycin)、觀黴素 (Spectinomycin)、純黴素 (Virginiamycin)；2005 年 7 月的德畜黴素 (Destomycin A)、效高黴素 (Hygromycin B)、摩朗得 (Morantel citrate)、寧畜定 (Nystatin)、硫肽黴素 (Thiopeptin)；此外，畜禽產品殘留藥物監控項目總計超過 30 項，包括前述各項與磺胺劑、氯黴素、青黴素、安必西林、安默西林、泰黴素、健牠黴素、鏈黴素、康黴素、紅黴素、林可黴素、泰妙素、歐來金得、歐索林酸、卡巴得、恩氟奎琳羧酸、雪華匹林、雪華力新、雪華魯新、受體素、呋喃劑、必利美達民、西普氟撒欣、氣吡啶、安保寧、拉薩羅、雌二醇、己雌酚、乙烯雌酚等。

在準確使用方面，動物分離菌耐藥性監測計畫進行於臺大、國衛院、屏科大、北縣動物疾病防治所、彰縣動物防疫所、以及南縣與屏縣畜病防治所，前導性調查研究本國豬場與雞場的腸內人畜共通細菌 (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*) 與指標性細菌 (*Enterococcus*) 相關的耐藥性資訊，分析相關耐藥性與增加原因藉以選用正確抗生物質，再者，亦可建立環境菌株耐藥基因的核酸檢測晶片，對於嵌入元 (integron) 檢測基因卡匣攜帶的耐藥基因，藉以避免選用錯誤抗生物質 (Huang *et al.*, 2005)。

在避免使用方面，提供無特定病原種畜禽包括雞、正番鴨、天竺鼠、與傳統乾淨兔，進行特定實驗動物的生產與供應，藉由無特定病原種畜禽的環境清淨，避免環境因子干擾，和提升抗生物質備用。

AgBIO

張春梵 中國文化大學 動物科學系 副教授
林文華 農委會家畜衛生試驗所 動物用藥品檢定分所 副研究員

參考文獻

- Andersen, W. C., Turnipseed, S. B., Karbiwnyk, C. M. and Madson, M. R. (2007) *Determination of Melamine Residues in Catfish Tissue by Triple Quadrupole LC-MS-MS with HILIC Chromatography*. Laboratory Information Bulletin LIB No. 4396, Volume 23, by U.S. Food and Drug Administration, Animal Drugs Research Center, USA.
From <http://www.cfsan.fda.gov/~frf/lib4396.html>
- Botsoglou, N. A. and Fletouris, D. J. (2001a) *Drug Residues in Foods: Pharmacology, Food Safety and Analysis*. Chapter 25 Validation, pp.749-764. New York: Marcel Dekker, Inc., USA.
- Botsoglou, N. A. and Fletouris, D. J. (2001b) *Drug Residues in Foods: Pharmacology, Food Safety and Analysis*. Chapter 20 Sample Preparation, pp.569-635. New York: Marcel Dekker, Inc., USA.
- Davey, P. G. and Nathwani, D. (1997) *Antibiotic and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy*. Chapter 12 Antibiotic policies, pp.149-162. New York: Pearson Professional Limited, USA.
- Huang, Y. C.[§], Chang, C. F.[§], Chan, C. H., Yeh, T. J., Chang, Y. C., Chen, C. C. and Kao, C. Y. (2005) *Integrated Minimum-Set Primers and Unique Probes Design Algorithms for Differential Detection on Symptom Related Pathogens*. *Bioinformatics*, 21(24): 4430-4437.
- Lin, W. H.*, Chang, C. F.*, Chen, C. C., Weng, L. J., Sung, H. T. and Chao, P. H. (2007) *Prussian Blue Test - Spot Formation Method for Rapid Detection of Cyanide-Poisoned Specimens*. Experimental Report of National Institute for Animal Health Research, Council of Agriculture, Executive Yuan, 42:11-20.
- Lin, W. H., Weng, L. J., Chang, C. F., Chang, C. M. and Sung, H. T. (2005) *Assessment on Screening and Differential Detection System for Categorized Antimicrobial Substance Residues*. Experimental Report of National Institute for Animal Health Research, Council of Agriculture, Executive Yuan, 41:135-146.
- Office of Water (1999) *Available cyanide by flow injection, ligand exchange, and amperometry* (EPA-821-R-99-013). US-EPA Method OIA-1677:1-23.