

出國報告(出國類別:研究)

參加 105 年度國際食品保護協會(International  
Association for Food Protection ; IAFP)年度研討會  
出國報告

服務機關:行政院衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱:林旭陽科長; 机文財副研究員

出國地區:美國密蘇里州聖路易市

出國期間:中華民國 105 年 7 月 29 日至 8 月 6 日

報告日期:中華民國 105 年 10 月 12 日

## 摘要

本年度國際食品保護協會(IAFP)年會於美國密蘇里州聖路易市之美國會議中心舉行，會期由7月31日至8月3日止，共計4天，參與人數超過3,000人。內容包含工作小組討論、特別演講、專題研討會、壁報論文發表、廠商參展、及頒獎餐會等。會議聚焦多種食因性病原及食品安全之前瞻性議題及技術研究。主題則包含食因性病原的盛行變化與傳播，新興食因性病原檢測技術如多重檢測技術、全基因體學於食品中毒案之溯源應用、元基因體學於生物防治的菌種篩選分析、食因性微生物的抗藥性現況等。經由參與本次年會之研討內容，得以學習最新之食因性病原檢測技術及流行趨勢。會中廠商亦展示各式有助簡化檢驗流程之新型儀器，其運作原理除可作為本署研究方向參考，儀器本身亦可供未來類似添購案件之比較。另亦透過交流，擴展人脈，期望提升日後實驗室交流與合作之機會。

	頁數
摘要.....	1
壹、前言與目的.....	3
貳、行程及工作紀要.....	4
參、研習內容.....	6
肆、心得與建議.....	24
伍、謝誌.....	25
陸、參考資料.....	26

## 壹、前言與目的

國際食品保護協會每年所舉辦之研討會為食品安全範疇中最大的年度會議。會議涵蓋多種不同主題，攸關本署未來數年食品安全研究之規劃與設計，例如食因性病原流行趨勢調查、最新病原檢測技術、病原抗藥性等。透過會議，可了解不同國家分享的病原流行情形，除了可得知具有潛在風險的食品及新興病原，也可了解不同國家、不同氣候或飲食習慣等因素可能對病原流行的影響。演講者介紹的食品中毒案例統計平台亦有助評估食品安全風險及新興病原。此外，近年來一些新興技術如次世代定序，已經廣泛應用於各種微生物之研究，如微生物的變異、代謝及互動。相關研究如何應用在食因性病原的檢測及案情調查已成為食品安全領域上極重要的課題。參加會議也有助學習最新技術及儀器應用，以進一步精進我國食因性病原之檢測。此外，隨著病原的變異，毒力改變與抗藥問題對食因性病原感染後的治療更加添隱憂，本會議另一重點主題即為食因性病原菌抗藥性現況及對應的防治策略或療法。因此，參加此世界級會議對本署日後相關業務之推展將有相當助益；另可擴展國際人脈，提高本署能見度。

## 貳、行程及工作紀要

日期	行程及工作紀要
105年7月29日至7月30日 星期五；星期六	啟程(桃園機場至洛杉磯至聖路易市)
105年7月31日 星期日	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 地點:聖路易市會議中心 (America's Convention Center)</li> <li>2 聽取國際食品保護協會工作小組會報，含：               <ol style="list-style-type: none"> <li>2.1 微生物監測及風險分析</li> <li>2.2 先進分子分析</li> <li>2.3 實驗室應用方法</li> </ol> </li> </ol>
105年8月1日 星期一	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 地點:聖路易市會議中心</li> <li>2. 聽取研討主題，如：               <ol style="list-style-type: none"> <li>2.1 諾羅病毒傳播、培養及汙染之研究</li> <li>2.2 多重微生物同時鑑別</li> <li>2.3 基礎微生物研究與滅菌</li> <li>2.4 微生物檢測方法</li> <li>2.5 抗微生物藥物</li> <li>2.6 高風險食品</li> </ol> </li> <li>3. 參研壁報論文</li> <li>4. 參研最新展示儀器</li> </ol>
105年8月2日 星期二	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 地點:聖路易市會議中心</li> <li>2. 聽取研討會主題，如：               <ol style="list-style-type: none"> <li>2.1 次世代/全基因體定序於食品安</li> </ol> </li> </ol>

	<p>全之應用</p> <p>2.2 食因性病原流行病學</p> <p>2.3 基礎微生物研究</p> <p>2.4 食品原料安全</p> <p>3. 參研壁報論文</p> <p>4. 參研最新展示儀器</p>
<p>105 年 8 月 3 日</p> <p>星期三</p>	<p>1. 地點:聖路易市會議中心</p> <p>2. 聽取研討會主題,如:</p> <p>2.1 食品風險評估</p> <p>2.2 食品寄生蟲之檢驗監測</p> <p>2.3 最新爆發之食因性疾病案件</p> <p>2.4 食品腐敗研究</p> <p>3. 參研壁報論文</p>
<p>105 年 8 月 4 日至 8 月 6 日</p> <p>星期四至星期六</p>	<p>返程(聖路易市至舊金山至桃園機場)</p>



圖一、現場報到照片。

## 參、研習內容

### 一、7月31日:參加國際食品保護協會工作小組會議

IAFP 為利業務的推展，將食品安全內容分成好幾個工作主題，交由數個不同的工作小組進行，例如「微生物風險分析」、「分子分析」、「應用實驗室方法」及「食品法規」。在當地時間7月31日星期天，為初步了解 IAFP 相關的作業內容，我們分別參加早午 2 梯次數場的工作小組會議。各會議一開始均有一個工作小組專屬的短時間，約 5 分鐘的演講，如於「微生物風險分析」小組介紹現今幾個國際的微生物檢測資料庫及軟體分析方式。演講結束後，即開始工作小組的工作報告，含小組主席及小組組員人數變動、工作績效、近期擬舉辦會議場次及主題、與小組討論及建議等。除了有助得知 IAFP 如此大型的國際組織如何運作外，也可得知各研究領域的重點人物。

### 二、8月1日至8月3日:參加年會專題研討

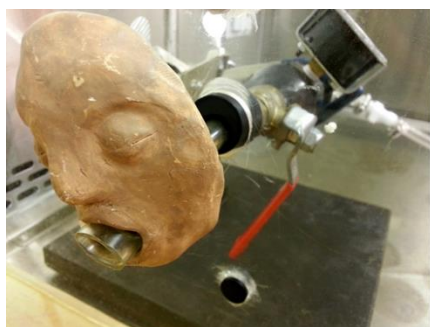
在8月1日至8月3日這段期間，研討會進行的內容主要為多場專題演講，另有廠商參展及壁報論文發表，相關學習內容如後述。

#### (一)諾羅病毒汙染及增殖研究

##### 甲、諾羅病毒之氣膠傳播方式

諾羅病毒為世界上非細菌性胃腸炎之主因，受汙染之貝類、水體及食物為感染的主要媒介，感染的主要症狀主要為上吐下瀉。最新研究指出，患者嘔吐時可產生懸浮於空氣中，帶有病毒顆粒之氣膠微沫(aerosol)，此氣膠顆粒之飄散距離則與氣膠顆粒大小成反比。在數起國外餐廳發生的嘔吐案例群聚感染研究中，多數患者並未與嘔吐者有直接接觸，然而卻因為同處一個用餐環境而感染諾羅病毒。研究也發現用餐賓客，距離患者越遠，受到續發感染之風險越低，因此推測嘔吐的過程中，諾羅病毒可能隨著氣膠飄散於空中，進而汙染食物及餐桌，導致更大規模的群聚感染。後續研究以儀器模擬嘔吐數據(圖二)，結果發現帶有病毒之氣膠分布最遠可達

嘔吐者周邊半徑 25 呎處，而在有空調的情況下，分布情形更易有變數。然而目前尚無法確定集中循環式空調是否可能將病毒從一房間傳送至另一房間。由於嘔吐可能發生在公眾場所，若單純移除嘔吐物並消毒嘔吐物鄰近區域仍無法完全排除群聚感染的風險，最佳方式為封鎖區塊，進行全面消毒。



圖二、模擬嘔吐之儀器。

## 乙、諾羅病毒之細胞增殖系統

目前研究諾羅病毒最大的困難為尚無有效之細胞增殖方法，雖然 1 年多前於國際頂尖 ”自然(Nature)” 期刊，曾有論文表示諾羅病毒可感染小腸深層之免疫細胞，並成功以免疫細胞株增殖諾羅病毒，且相關步驟細節更進一步發表於自然的子期刊中。然而研討會中研究諾羅病毒的研究人員表示國際上許多實驗室無法成功重複相關結果，顯見諾羅病毒之培養仍有相當之困難待克服。根據會中最新且尚未發表之結果，有研究利用小腸細胞，透過 3D 之初始培養方式(Primary culture)，培育成類上皮細胞，成功增殖了諾羅病毒，而效果至少可達數十至數千倍。研究更進一步發現，膽汁，不論是否為人類或動物來源，對部分諾羅病毒的複製有幫助，約可再增多 10 倍之病毒量。而不同病毒基因型對膽汁的依賴程度也不同，如近年盛行於全球的 GII.4，不論有無膽汁，其複製沒有顯著受到影響。然而 GII.3 型需要膽汁才可有效複製。在缺乏膽汁的情況下，該培養系統對 GII.3 型諾羅病毒缺乏大量增殖效果。然而膽汁為何有助諾羅病毒之複製仍有待探討。相關研究雖成功增殖



諾羅病毒，然而應用上卻仍有相當之限制。首先，正常之小腸上皮細胞極難取得，且因細胞並非癌化之細胞株，培養數代後細胞便老化而失去生長能力，須再重新取得細胞，也影響了實驗的穩定性及再現性。此外，該研究利用 3D 培養以促使小腸上皮細胞之分化，方可增殖諾羅病毒。然而 3D 培養需要一定之技巧與培養條件，操作上有相當之難度。

### 丙、澳洲牡蠣、生蠔之諾羅病毒調查

牡蠣、生蠔為澳洲重要的產業。因牡蠣生蠔為濾食性生物，故體內容易蓄積諾羅病毒。受汙染之環境水體如有諾羅病毒，牡蠣因濾食海水，其中腸道因表現 HGMA，諾羅病毒因容易黏附上，而蓄積於牡蠣等貝類中。食用未經澈底煮熟之貝類為感染諾羅病毒的常見原因之一。為保護消費者健康，澳洲當局執行市售牡蠣生蠔的調查。經過檢測牡蠣中可能含有之諾羅病毒 DNA，研究結果顯示僅少數牡蠣生蠔可檢出諾羅病毒，顯示食用上雖有風險，但風險不高。

## (二)食因性病原未來的監測技術應用需求

傳統的食因性病原監控常需針對不同病原採取特定材料及流程，透過培養的方式，觀察菌落特徵及生化代謝特性進行食因性病原鑑定，然而流程上常需不同階段的篩選培養，因此過程相當耗費人力時間，不利緊急疫情的調查與控制。隨著分子生物技術的推展，未來針對潛在病原菌監測需求將有幾項特點(圖三)：

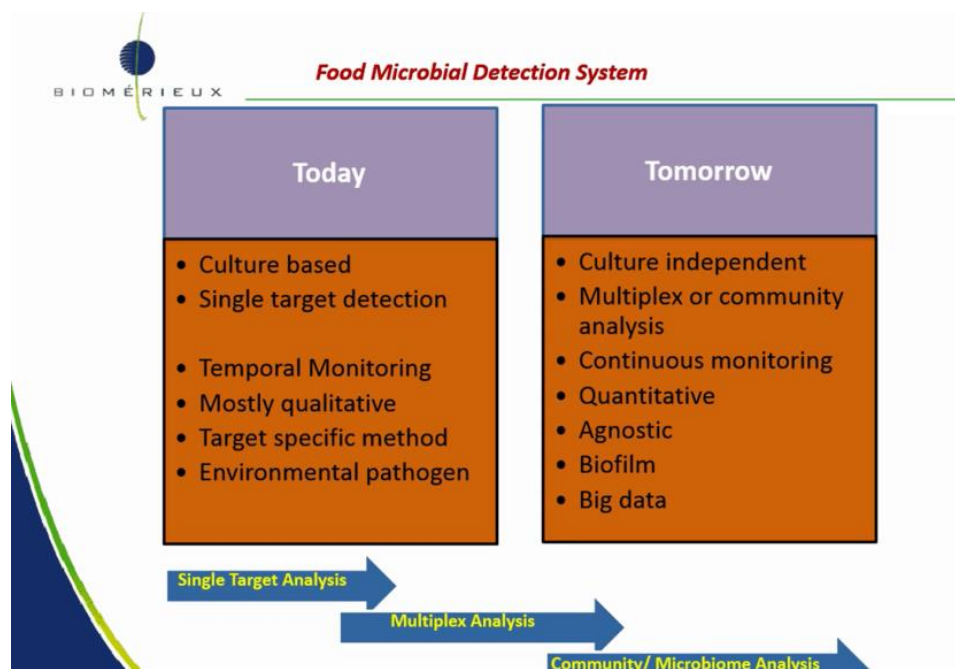
- 一、不需培養步驟，可節省培養過程耗費的材料與時間，盡快辨明可疑病原菌，以利流行病學調查。
- 二、多重或群體分析：可於單一檢測中得知多種不同的病原或毒素。
- 三、持續監測：傳統斷點式的監測方法因受限於較長的操作時程，在有限的人力下，通常透過固定的採樣以檢測檢體是否含有病原菌，採樣的時間間隔中容易出現風險盲點。與傳統方法相比，未來的檢測流程時間短，有利長期持續性監測。

四、傳統檢測方法雖然可鑑定特定病原菌，然而不易準確定量。未來的方法著重分子生物技術，有利準確定量病原。

五、不明物：目前對食因性病原的檢測方法多建立在已知的病原訊息上，如病原基因序列、生長特性及致病型態等。現今由於交通發達，提高了病原流通突變的機率；環境的過度開發亦增加了新興病原出現的可能性，若以傳統方法檢測，極可能忽略特殊之病原。未來的檢測將需要可同時發現不明病原的可能性。

六、生物膜：生物膜由同種或多種細菌群集所形成，透過元基因體學(總體基因體學；Metagenomics)可了解細菌間彼此的交互作用及群集時的基因表現變化，以利進一步達成「生物防治」的目標。

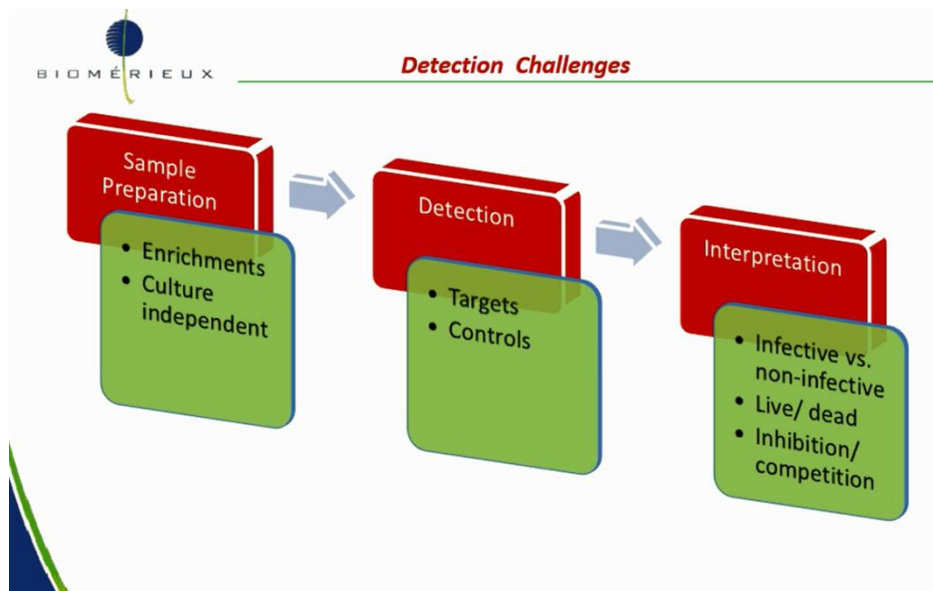
七、大數據：透過國際間資料庫的建立與整合，有利提早得知食因性病原的傳播及變化，以利預先擬定防治策略，避免疫情擴大。



圖三、未來食因性病原檢測技術的重點特色。

未來的檢測分析雖然看似方便，但實際應用上可能有幾點值得注意的地方(圖四):

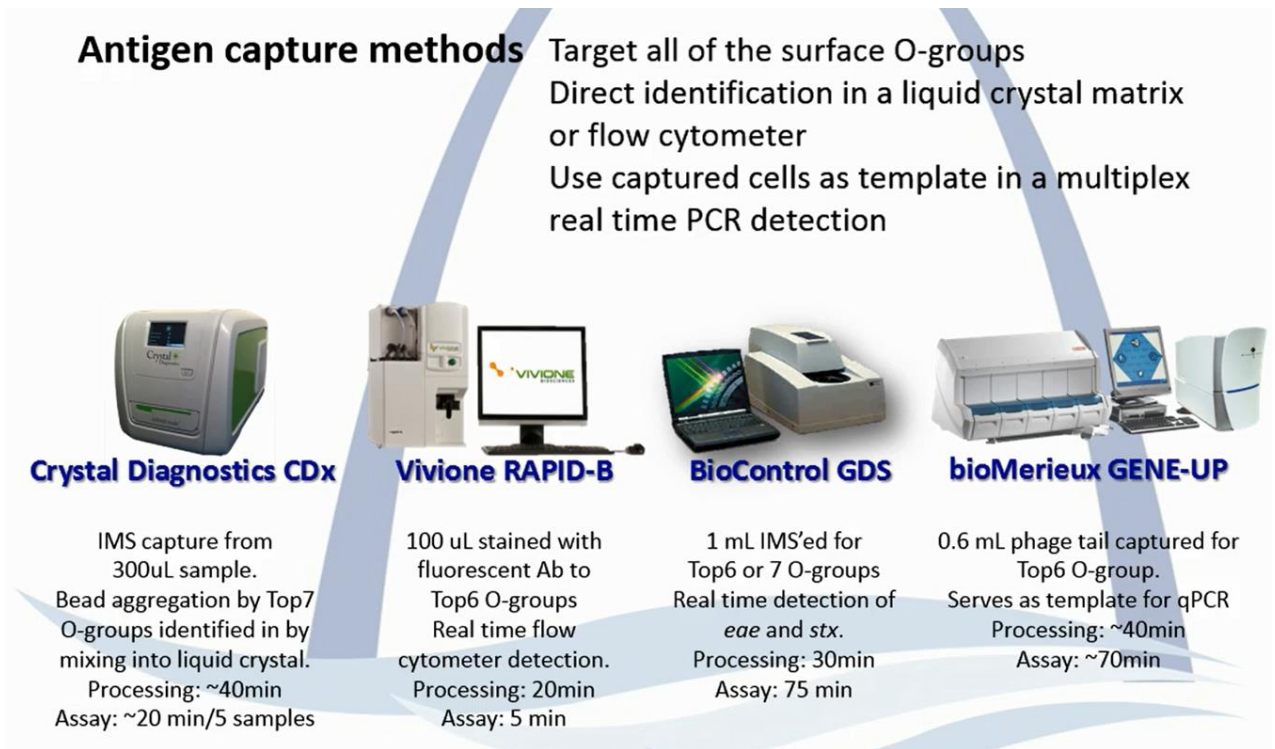
- 一、樣本前處理: 因為食品屬於高複雜性基質, 若隱含的病原菌數量較少或分布不均, 檢測上有一定的難度。傳統的檢測步驟透過培養, 有利病原菌增長, 可提高檢出率。
- 二、鑑別: 傳統培養的步驟有利特定菌種的選擇性增殖, 藉由提高樣本中目標菌種的比例, 以避免後續鑑定時背景值的干擾。未來的檢測技術若不經培養的步驟, 雖然可節省大量檢測所需的時間, 然而在未增加對象菌的前提下, 如何提高靈敏度及專一性將是未來研究的重點。也因此, 正負控制組的角色更形重要。
- 三、結果解讀: 在檢測的結果中, 除了判定有效數值, 亦即排除背景雜訊, 某些情況下, 例如利用 PCR 原理檢測病原菌, 只能斷定樣本有哪些病原菌, 而無法判斷是死菌活菌。若一市售經商業滅菌之食品殘留死菌, 在符合食品安全的情況下, 該死菌的 DNA 仍可能被檢測出。如何判別樣本有無感染風險將是一大課題。



圖四、未來檢測分析技術可能面臨的問題。

### (三)多重檢測分析

多重檢測分析的特點為在一次的檢驗流程中可同時偵測多種病原或同一病原的多種型別，可節省大量人力與時間。隨著技術的精進與儀器價格逐漸合理化，勢必成為未來食因性病原檢測的趨勢。會中介紹了許多針對不同病原菌及病毒的檢測儀器。而目前許多市面可見的可進行多重鑑定分析的儀器，檢測原理除靠 PCR 外，上有多種電化學方式，例如數種透過辨識特定 O 抗原以純化志賀毒素產毒型大腸桿菌，再經即時定量連鎖聚合酶反應(real-time PCR)、流體細胞儀或液晶等方式鑑別(圖五)。比起常需數日流程的傳統培養鑑別法，相關儀器之處理分析可於極短時間內完成，然而部分儀器未必適用其他菌種，侷限了分析多種病原之適用性。



圖五、數種用於多重檢測病原性大腸桿菌的儀器。

#### (四)全基因體/次世代定序於食品安全上的運用

##### 甲、次世代定序於食品安全運用上的主要優缺點

次世代定序的特色為可在一次實驗中獲得大量的資訊。藉由大規模平行式的定序，一次流程從樣本前處理至數據產出，依照機型，可於數日內產出至少數百萬鹼基序列之訊息，常用以建立各種動植物及微生物的全基因 DNA 序列圖譜或 RNA 表現圖譜。後續透過分析，還可獲得許多有用之資訊，如高毒力病原菌的毒力決定因子或 DNA 突變點位。也可用於未知目標物的判別，如食品生物性摻偽的程度或判別造成食品中毒之生物性材料，特別是在混雜了多種食品原料的狀況下。

次世代定序的缺點包含需要高標準的樣本前處理以獲取大量高純度的 DNA、昂貴的儀器與試劑，最主要的問題在於產出的實驗數據過於龐大，反而不利後續分析。目前逐漸增多的套裝分析軟體將有助改善此情形。

##### 乙、全基因體定序於食因性病原之溯源應用

食因性病原的溯源常需要進行食品中毒患者檢體與可疑食品或環境檢體間之菌種比對；此外，尚須進行親源分析，以釐清病原來源。傳統上細菌的親源分析常依靠特定基因之定序結果，例如 16SrRNA。部分技術如脈衝場凝膠電泳 (Pulsed Field Gel Electrophoresis, PFGE) 則分析完整基因體，透過比較基因體 DNA 片段電泳圖譜來比較菌株間的差異性。優點是不須知道菌株的遺傳訊息，可在短時間內比對大量菌株。缺點為產出之訊息較粗略，且因為各實驗室間操作的手法可能略有差異，提高了比對上的困難度。多重基因座序列分型法 (Multilocus sequence typing, MLST) 為一種使用序列分析來判別細菌之方法。經由定序數個變異度較高的持家基因群座 (housekeeping gene loci)，再分析每個菌株選定的基因座或當中的基因序列變異程度來判別細菌親緣關係。由於可選擇相當多樣的基因座或基因，在不同的排列組合下，具備了高度的菌株區分能力，也容易進行資料庫的建立與比對。

雖然 MLST 的分析結果有相當的解析度，對親源分析有非常大的幫助，然而目前因次世代定序興起，且成本逐漸降低，同時分析後可獲得大量親緣關係外的其他訊息，因此越來越多的研究嘗試利用次世代定序分析完整細菌或病毒的完整基因體。根據最新研究結果指出，全基因體定序的結果中，若不同來源之細菌，其基因體所含單核苷酸多形性(single nucleotide polymorphism, SNP)差異數目小於 5 至 10 個，即可視為高度相關。當 SNP 差異數目越多，則相關度逐漸降低。作者亦比較 SNP 與 MLST 的強弱優缺(圖六)，而利用 SNP 差異做出的與 MLST 做出的親緣關係圖，顯示兩者高度類似，顯示全基因體定序足以判定食品中毒案件中之病媒來源。

此外，全基因體定序的資料分析還有許多優點：

- 一、明確定義有關係之群聚感染及擴散案例:傳統的脈衝場凝膠電泳因解析度較粗略，有可能雖然圖譜型態相同，但其實卻是親源關係有差異的同種細菌。當遇到大規模的擴散感染案例，便不易界定案例間是否都肇因於同一感染源。透過全基因體定序，高解析度的序列資訊對親緣推測有相當大的幫助。
- 二、有效連結人體檢體與問題食品的因果關係:人體排泄物與食品檢體經常含有種類繁多的微生物，傳統方法找出的病原菌不一定是特定案例中造成食品中毒的主因。透過全基因定序將可確認兩者的關聯程度。
- 三、歷史案例的回溯連結
- 四、尋找潛在的病原來源:當有大量的環境檢體時，由於環境微生物組成相對複雜，不易透過傳統方法確認含量比例較低的潛在病原菌。全基因體不但可幫助尋找可能的病源潛藏處，也可指出病原在傳播過程中逐漸累積的變異程度，有助流行病學的調查。
- 五、從資料的分析除了確認病原之種型別，也可同時得知許多訊息，如毒力因子、抗藥基因、有無質體、血清型等。
- 六、在分析排泄物檢體的過程中，也可定序檢體中摻混的殘餘食物 DNA，有助確認患者回憶所吃過之食物，以利問題食品之追蹤。



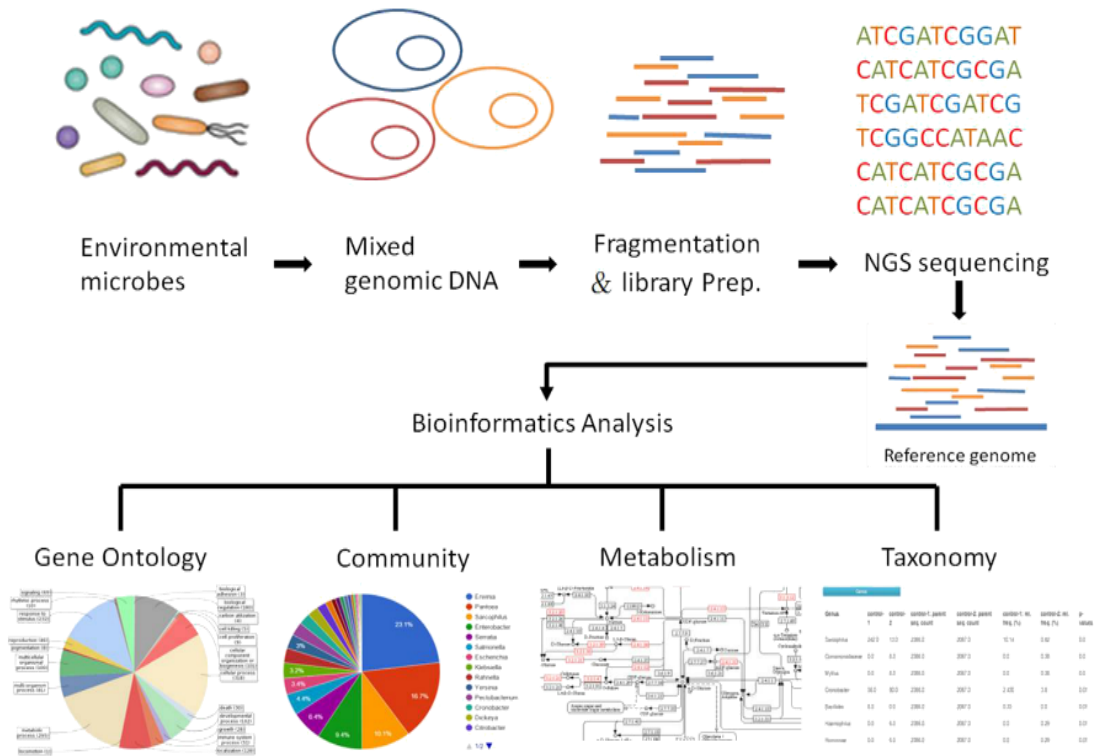
SNP vs MLST		
	SNP	MLST
Epidemiological concordance	High	High
Stable nomenclature	(No)	Yes
Reference characterization: identification, serotyping, virulence & resistance markers	No	Yes
Speed	Slow SNP calling, slow analysis	Slow allele calling, <b>fast analysis</b>
Local computing requirements	Medium-High	<b>Low</b>
Local bioinformatics expertise	Yes	<b>No</b>
Reference used to perform analysis	<b>Sequence of closely related annotated strain</b>	<b>Allele database</b>
Requires curation	No	(Yes)

MLST are the primary approaches for public health surveillance; SNP is used if more detail is needed or MLST fails

圖六、源自 SNP 與 MLST 的親緣關係圖之比較。

### 丙、元基因體學(Metagenomic sequencing)

元基因體學 (Metagenomics) 是一門探討環境微生物多樣性、微生物群之間以及微生物與環境或其他生物之間相互關係的科學。在微環境菌群中，微生物彼此間有複雜的互動關係，包含合作協同或相互抑制。此方面的研究著重於確認環境中複雜的微生物群組成及其相互關係，因此主要透過次世代定序直接分析環境、人體或動植物中微生物群的所有序列，檢出樣本中幾乎所有的基因序列。比起傳統的微生物學檢測方式，次世代定序比較不會遺漏群體中含量比例較微量的微生物，相關衍生應用更可分析微生物群落的組成與功能，在篩選新型活性物質如抗生素及污染物降解有關的菌種及基因，及人體腸道微生物群的互動研究等方面均有相當大的幫助。在食品安全部分，透過元基因體學分析相關場所如肉品工廠的環境微生物菌群，可了解病原菌的散布及汙染情形。



圖七、元基因體學及應用

(<http://www.yourgene.com.tw/content/messages/contents/655412454415503242/>)。

根據某一工廠的廢水的案例，研究人員注意到該工廠的4道廢水溝渠中，2道溝渠中可發現單核球增多性李斯特菌，另2道則無。且有無單核球增多性李斯特菌的不同廢水中，微環境菌群的組成有差異。在缺乏李斯特菌的溝渠中，*Janthinobacterium*、*Prevotella*、*Pseudomonas*等菌類含量相對較多。進一步研究發現菌群中的特定細菌對單核球增多性李斯特菌的生長及生物膜的形成有關鍵性的影響。*E. gallinarum*可顯著促進單核球增多性李斯特菌貼附於物體表面及後續生物膜的形成；相反地，*J. lividum*則會抑制單核球增多性李斯特菌的生長及生物膜的形成。

食品製作場所為一相對複雜之環境，隨著物料的搬運、噴濺及人員的移動，病原菌可能潛藏在許多容易受忽略的角落。為了找出可能的汙染並鎖定汙染來源，有研究利用次世代定序及元基因體學大量分析工廠環境檢體。若以傳統分析方式，需



針對不同的病原菌採取不同的篩檢材料及步驟，對大量的檢體數目而言，需耗費大量時間及人力進行病原菌檢驗。透過元基因體學，所得出的資料可單純用以尋找特定病原菌的基因序列，以節省分析的時間。在食品安全上目前也有研究嘗試在特定食品中添加對人體無害之菌種，來抑制有害菌之生長或形成生物膜，以達到「生物防治」之目的。

#### (四)適體(Aptamer)於食因性病原微生物的檢測應用

核酸適體指的是經由稱為配體指數增強系統進化技術(Systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)的特殊技術篩選出的單股寡核苷酸片段，應用上主要以 DNA 適體較常見，少數研究可見 RNA 適體。主要長度則多為數十至上百個核苷酸長。不同的單股核酸片段，因序列及長度差異，當自然黏合成部分雙股的結構時，便可形成不同的立體結構，而具有類似抗體的特性，可用以辨識小分子化學物質、蛋白質、核酸，甚至細胞、組織等。然而，比起傳統的抗體，適體有不少優點，例如價錢較便宜、容易設計與合成複製、容易保存、在動物體內較不易引起續發免疫反應。目前許多研究正嘗試利用適體做為生物感測器，搭配各種電化學或光學分析，以檢測微量的病原微生物。

#### (五)食品微生物抗藥性分析

##### 甲、食品微生物抗藥性分析

動物養殖業者常在飼料裡添加少量抗生素以避免動物生病，促進動物生長。然而養殖業使用的抗生素常隨著動物排泄物、廢水、隨意丟棄之殘骸等方式進入動物養殖的周遭環境中，如此長期慢性的使用抗生素導致動物產品出現抗藥性病原菌的比例逐漸升高。有研究顯示，在特定國家，部分動物腸內菌對一些抗生素，如四環黴素的抗藥性可高達九成。更有研究發現經由食品污染感染人類之沙門氏菌對喹諾酮類康生素的感受性明顯降低，因此在食品安全上，應該討論動物抗生素用藥的適

切性及劑量。

金黃色葡萄球菌為臨床最常見的細菌之一，常於人體鼻腔皮膚等處發現，多屬於正常菌群，然而抗生素的濫用，感染多重抗藥性金黃色葡萄球菌的案例逐年增加。雖然一般人多可於短時間內自金黃色葡萄球菌造成的食品中毒中恢復，少數免疫不全患者可能引起嚴重的全身感染，甚至危及性命。最新研究指出一種來自植物的天然成分(Berry pomace, BPE)可有效抑制已形成生物膜的多重抗藥性金黃色葡萄球菌的生長。BPE除了可改變多數多重抗藥性金黃色葡萄球菌毒力因子的表現，亦可促進其他抗生素的吸收或穿透入菌體，因此值得進一步研究以對抗金黃色葡萄球菌的感染。

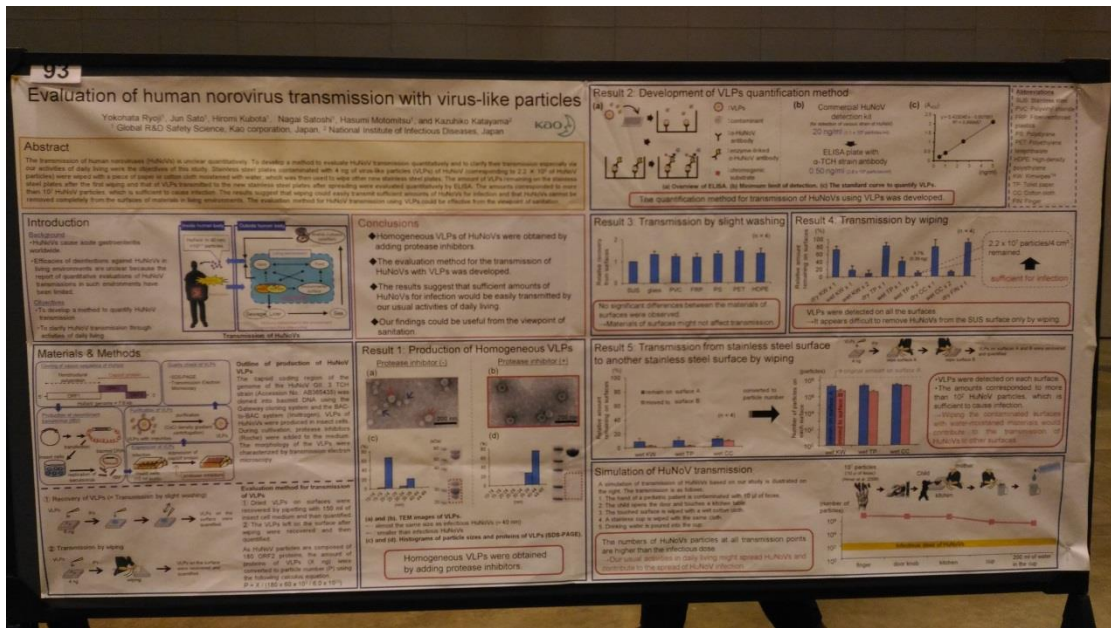
### 三、壁報論文展示

會議三天中參展之壁報論文共約 340 篇，內容涵蓋基礎微生物學研究、新興食因性病原檢測技術、微生物生物防治技術，不同食品食因性病原檢出情形、新型儀器於食因性病原之檢驗應用、病原菌抗藥監測、殺滅菌技術研究、食品汙染途徑研究等。

部分重點論文如下：

#### (一) Evaluation of Human Norovirus Transmission with Virus-Like Particles

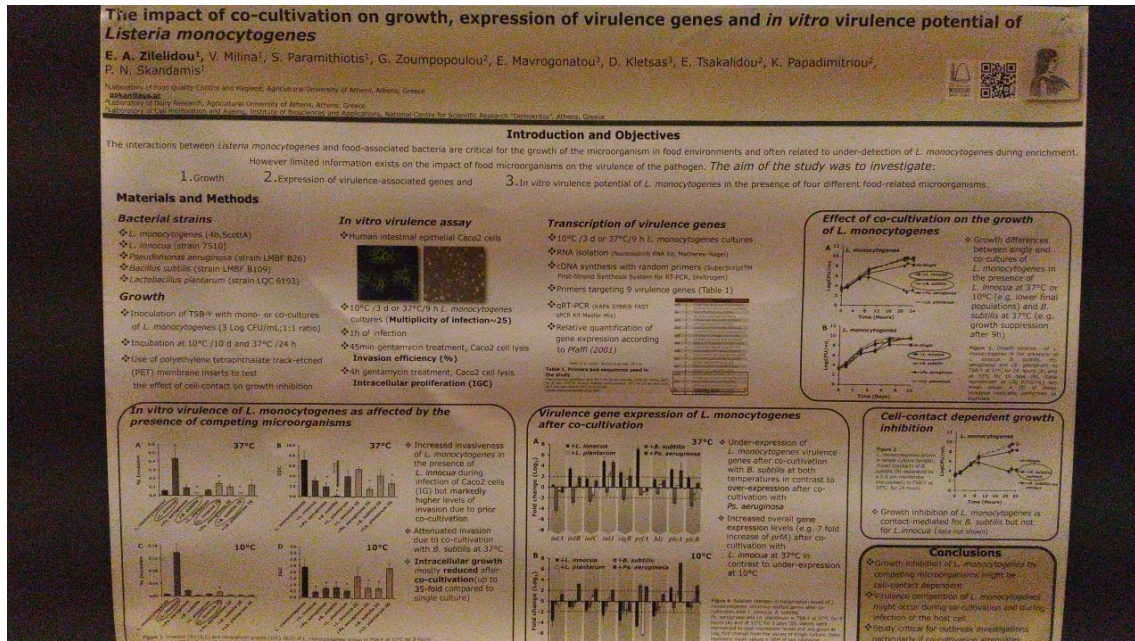
本篇研究試圖了解當人類諾羅病毒汙染固體表面時，病毒藉由接觸、洗滌、擦拭等動作，擴大汙染範圍的可能性(圖八)。作者以昆蟲細胞表現系統製造人類諾羅病毒的外殼蛋白，並以組裝而成的類病毒顆粒進行相關研究，汙染路徑過程的殘存病毒量則透過 ELISA 偵測定量。研究結果顯示在不銹鋼表面，以紙或棉布進行擦拭並無法有效移除病毒汙染；而在足量病毒的情況下，日常的動作極可能反而幫助諾羅病毒的擴散及後續感染。



圖八、諾羅病毒透過日常清潔動作擴大污染範圍的模擬研究。

## (二) The Impact of Co-cultivation on Growth, Expression of Virulence Genes and *in vitro* Virulence Potential of *Listeria monocytogenes*

本篇以元基因體學的觀點，試圖了解單核球增多性李斯特菌在其他競爭菌共存的情況下，菌體生長與毒力基因表現的變化(圖九)。結果顯示 *B. subtilis* 存在時，可透過菌體間的接觸抑制單核球增多性李斯特菌的生長與細胞侵襲性，同時也減少毒力因子的表現。相較下，綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)存在下，單核球增多性李斯特菌毒力因子的表現則有顯著增加。*L. innocua* 菌則可提高單核球增多性李斯特菌對 Caco2 細胞的侵襲性，尤其是當兩菌有預先混合培養時。此研究明確指出為環境之共生菌種可影響單核球增多性李斯特菌的生長及毒力。

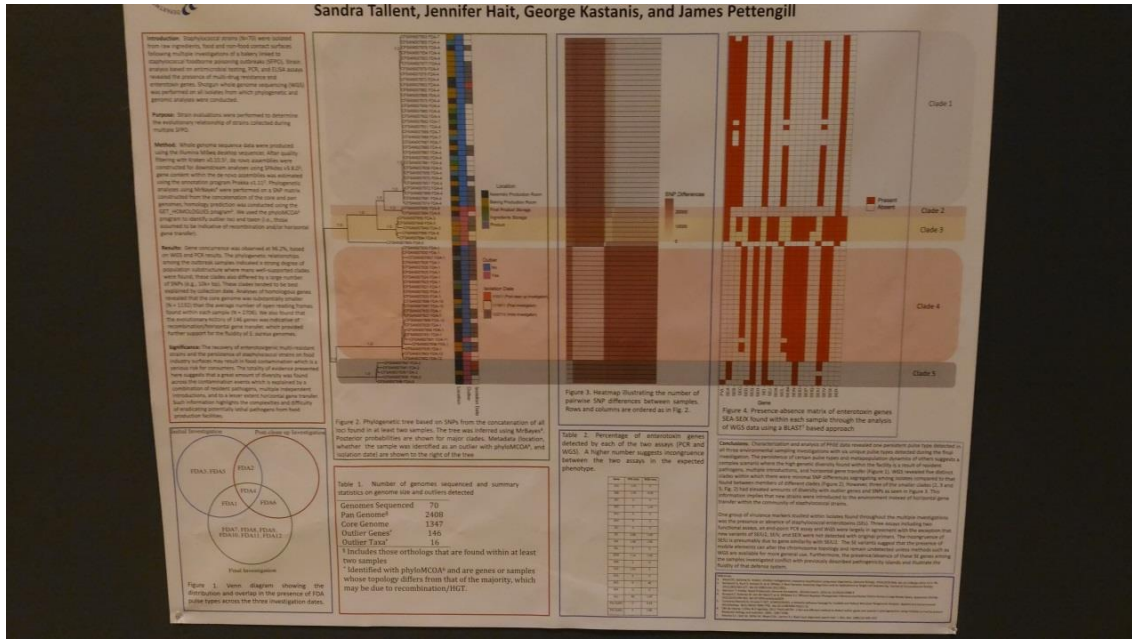


圖九、單核球增多性李斯特菌在競爭菌存在時的生長及毒力變化研究。

### (三) Whole Genome Sequence Analysis of Staphylococcal Strains Isolated from Bakery Following Food Poisoning Outbreaks

本研究利用全基因體定序分析 70 株分別來自食品中毒案例有關麵包店中的原始材料、產品或環境檢體(圖十)。結果顯示菌株間存在相當大的差異程度，原因則可能為案件彼此乃各自獨立，因此個別案件有關菌種間較無關聯或者是缺乏水平基因傳輸。根據菌體 SNP 所做出之親緣關係可將本研究中的金黃色葡萄球菌分成 5 大群別。每一群中，菌體所攜帶腸毒素的類型及數量各有不同。普遍而言，傳統 PCR 與全基因體定序各有優缺點。就腸毒素的檢出方面，全基因體定序未必佔優勢，特別對腸毒素 Q(SEQ)來說，比起傳統 PCR，全基因體定序的檢出率卻非常低，原因值得探討。





圖十、麵包店食品中毒案例金黃色葡萄球菌菌株之全基因體定序。

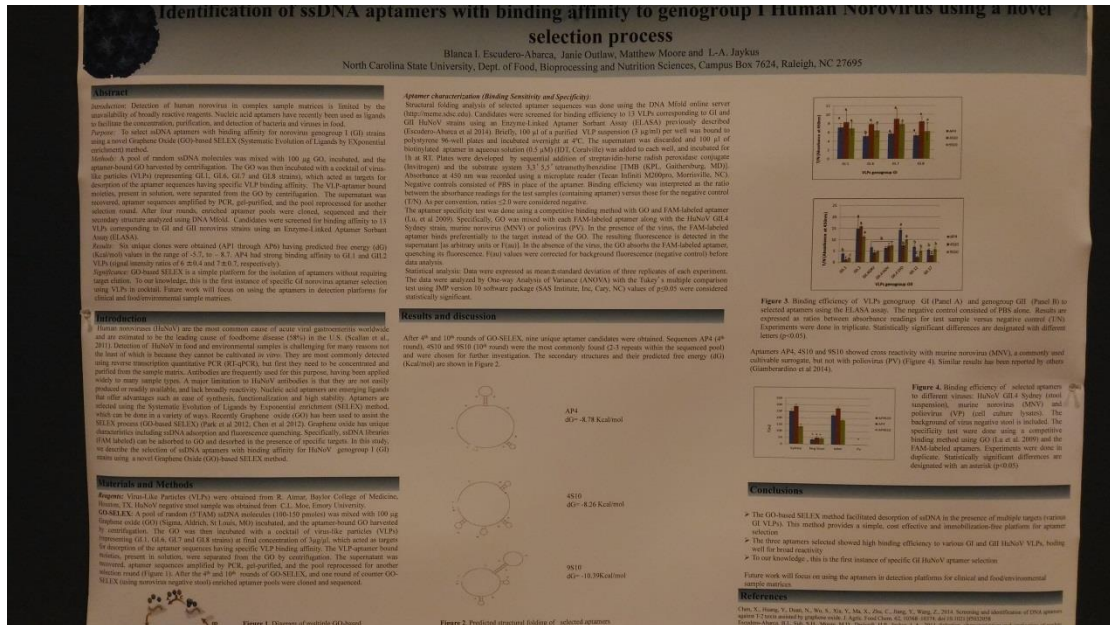
#### (四) Selection of Aptamers Using Whole-Bacterium SELEX for Rapid Detection of *E. coli* O157:H7

此篇研究屬於”生物感測器”的一種。作者利用金粒子鋪成但未接通之線路，該線路區域中貼附有可辨識致病性大腸桿菌，功能類似抗體之DNA適子(Aptamer)。檢測步驟為將可疑樣本吸取至該線路區域，孵育一段時間後，移除樣本，並充分清洗。再加入特殊之鐵化合物，經化學反應後，所形成之沉澱物可堆積在該晶片線路上，因有導電特性，可使電流通過線路間隙。若樣本中有目標大腸桿菌，因其被適體抓住而附著在晶片上，菌體便可阻止鐵化合物沉積於線路斷路區域上，經過清洗後，儀器便測不到電訊號。無目標菌之晶片，則因化合物沉積，金線斷路接通，儀器進而可測得電訊號。隨著樣本中大腸桿菌濃度越高，晶片斷路上累積的沉積越少，訊號越弱。結果證實晶片可成功偵測並定量目標菌，然而原型晶片之敏感度仍可能有相當之改進空間。

#### (五) Identification ssDNA Aptamers with Binding Affinity to Genogroup I

# Human Norovirus Using a Novel Selection Process

本篇研究試圖篩選針對人類 GI 型諾羅病毒的 DNA 適體。作者運用連接大量不同序列單股 DNA 片段的氧化石墨烯，以 SELEX 步驟篩選並增幅可專一性辨識人類諾羅病毒類病毒顆粒的 DNA。方法的優點是可減少另外提取留存 DNA 的步驟時間。



圖十一、人類 GI 型諾羅病毒專一性適體篩選。

## (六) Application of High Pressure Processing on Frozen Strawberries to Inactivate Murine Norovirus

本篇研究探討透過空氣加壓的方式是否可能去活化食品檢體附著的諾羅病毒。作者運用一種常用於諾羅病毒研究，高度近似諾羅病毒的替代病毒「鼠類諾羅病毒」的類病毒顆粒。經過加壓裝有草莓樣本機器中的空氣，當氣壓達到一定程度，逐漸造成病毒顆粒的變形，甚至瓦解，相關結果亦透過電子顯微鏡證實。但由於是採用類病毒顆粒，所以無法測試變形但未崩解的病毒顆粒是否仍具備感染能力。若能證實加壓方式同樣對人類諾羅病毒有效果，未來可能有商業上的應用價值。

#### 四、參展廠商重點商品

本次會議共有超過 160 家廠商參展。展示多種儀器與材料，功能涉及病原培養、檢測、濃縮、檢體前處理等。重點儀器舉例如下：

##### (一) MicroSnap

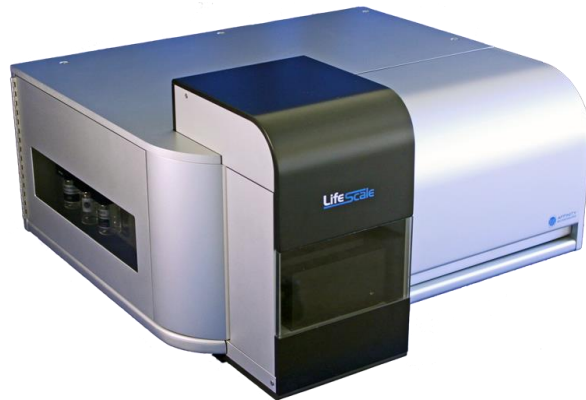
MicroSnap 為 Hygiena 公司所生產的小型手持儀器，可檢測不同細菌類別所攜帶的不同酵素，也可定量三磷酸腺苷(ATP)及鹼性磷酸酶(Alkaline phosphatase)，目前常可用於生菌數、大腸桿菌群、大腸桿菌定量，所需時間僅數小時。



圖十二、手持微生物檢測定量儀。

##### (二) LifeScale

LifeScale 為 Affinity Biosensors 公司出產，可用於微生物的多種研究及偵測，例如微生物個體的重量、細胞計數、生長及反應曲線、微生物濃度量化、微生物型態外觀之變化等。



圖十三、LifeScale 生物感測儀。

## 五、新增國際實驗室及研究人員聯絡方式

為拓展國際人脈，促進本署於相關實驗室之交流與合作，於會議舉行期間，亦透過交流，了解與會來賓之專業及業務，並取得有關人員之名片，以利未來實驗室進一步的交流與學習，相關訊息如下：

### (一)美國食品藥物管理署研究人員

Mohammad Samiul Alam 博士任職於美國食品藥物管理署，研究方向為單核球增多性李斯特菌與宿主免疫反應的交互作用，主要藉由小鼠模式探討該菌如何誘發及規避宿主免疫反應。

### (二)美國 NoroCore 諾羅病毒研究團隊研究人員

Elizabeth Bradshaw 博士任職於美國北卡羅來納大學知名諾羅病毒實驗室。該實驗室屬於研究諾羅病毒的專門聯盟式實驗室機構 NoroCore 的一員。

### (三)美國馬里蘭大學研究人員

Robert Korir 博士來自肯亞，目前任職於馬里蘭大學，主要專長為真菌學。



#### (四)加拿大

Robbie Smith 博士任職於加拿大 Maple Leaf Foods 微生物實驗室。

### 肆、心得與建議

#### (一)研習心得

IAFP 年會為食品安全領域規模最大的研討會。本次會議報名登記者雖達三千多人，但場地動線流暢，餐點精美。會中主題多樣，大會也能事先考量到不同研討主體的熱門程度，而安排大小不同的場地，無論硬體或軟體均有一定水準。令人驚訝的是，大會連遠在3年後的研討會地點都已確認完成。唯一可惜之處為主題太多，有些有趣的專題因安排在同一時間舉行，只能放棄聽講。

大會中一個重點主題為新興檢驗技術，內容包括了近年相當熱門的次世代定序、市售多重檢測儀器，及多種利用電化學原理之生物感測器先導型研究。目前檢測食因性病菌，除了依靠傳統的培養及生化鑑定方法，亦有其他技術如飛行時間質譜儀 (MALDI-TOF; matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight) 可輔佐鑑定。然而分階段之培養方法及生化鑑定均需一定之時間，即便是可快速鑑別菌種之飛行時間質譜儀，仍需要培養所得到的單一菌落才可分析，因此在大規模之食品中毒案件中，為求快速鑑別病原與問題食品，勢必需要發展其他平行檢測技術，在緊急狀況下可快速提供病原及嫌疑食品資訊，以及早控制案情規模，後續則輔以培養及生化方法確認檢驗結果。雖然目前國際上部分實驗室正嘗試開發替代方法以快速檢驗病原，如各種生物感測器及物理化學方法，然而因為食品基質相對複雜，相關方法在食品上的實用性仍有待改進或證實，顯見快速檢測食因性病原仍是不小的挑戰。

整體而言，參加 IAFP 研討會收穫良多，除了接觸到最新科技與資訊，也可觀摩了解大會的積極與用心，雖然旅途遙遠，確實不虛此行。建議日後可鼓勵同仁持

續參與，將有助學習最新之食品安全知識及技術應用。

## (二)建議

1. 諾羅病毒在國際上已成為非細菌性胃腸炎的主因，近年在本國食品中毒案件亦有一定之檢出率，由於諾羅病毒具有高度傳染力，提升本國各衛生單位對諾羅病毒之檢驗量能將有助案情釐清與控制。
2. 隨著交通便利，國際間人員的進出及食品或原料的輸出入可能加速病原的流通散布及變異，如毒力改變等情形。考量相關病原日趨複雜，未來可能需要利用次世代定序等新興技術，以提高不明微生物或具非典型性狀之食源性病原檢出率。然而次世代定序得出之序列資料相當龐大，因此建議引入生物資訊人才或開設生物資訊課程，以提升同仁資訊分析能力。
3. 目前國際上已有數個食品及食源性病原案例及風險評估平台，隨著資料與平台的建立、累積，在未來可用以了解新興食源性病原及國際間不同的食品中毒案例，因此可藉由相關警訊，學習借鏡。
4. 在歐洲對於肉品中寄生蟲的檢驗，可發現部分肉品，尤其豬肉、羊肉，可檢出旋毛蟲等寄生蟲。由於旋毛蟲在肉品中含量極微，檢驗上有相當之困難度，建議可派員與相關實驗室聯繫，並學習肉品中旋毛蟲檢驗技術。
5. 目前有市售儀器號稱可直接檢測檢體生菌數及大腸桿菌群，若經確認適用性及效果，可考慮採購，有助簡化實驗流程與時間。

## 伍、謝誌

感謝長官的愛護與栽培，提供如此難得之機會，在百忙之餘仍不忘叮嚀相關行政作業，也因此我們才有機會踏上美國國土，見識到食品科技的最新發展，也體認到大會的執著與用心。

## 陸、參考資料網站

IAFP 官網。

[http://www.affinitybio.com/images/products/lifescale\\_instrument.png](http://www.affinitybio.com/images/products/lifescale_instrument.png)