

## 食因性病毒之調查研究

劉宗彥 王鈺婷 黃翠萍 林澤揚 林旭陽 鍾月容 周秀冠 陳惠芳

食品藥物管理署研究檢驗組

### 摘要

食因性病毒被認為是造成急性腸胃炎發生的主因之一，常見的食因性病毒有諾羅病毒(Norovirus)、星狀病毒(Astrovirus)以及A型肝炎病毒(Hepatitis A virus)等。食藥署自99年至102年止之統計，台灣每年約有4%至7%的食品中毒案件屬於諾羅病毒感染案件，隨著檢驗技術的發展與流行病學的持續調查，將可瞭解上述相關病因物質是否為病毒所造成。本計畫自103年1月至12月間共採集300件檢體，分別為93件台灣產銷之牡蠣、7件進口牡蠣、43件台灣產銷之生蠔、107件進口生蠔、17件台灣產銷之蔬果以及33件進口蔬果，並以聚合酶鏈鎖反應法(PCR)及巢式聚合酶鏈鎖反應法(Nested-PCR)檢測諾羅病毒GI、GII型、星狀病毒、A型肝炎病毒、沙波病毒(Sapovirus)、腸病毒(Enterovirus)、輪狀病毒A、B、C型(Rotavirus A、B、C)以及E型肝炎病毒(Hepatitis E virus)。結果顯示，300件檢體中有2件檢體受到食因性病毒污染，皆為韓國進口之生蠔檢體，聚合酶鏈反應法產物定序比對結果，確定分別與諾羅病毒GII型、星狀病毒相似度皆達99%，總檢出率為0.67%(2/300)，而諾羅病毒GI型、A型肝炎病毒、沙波病毒、腸病毒、輪狀病毒A、B、C三型、E型肝炎病毒皆未檢出。本計畫中所有陽性檢體均僅受一種食因性病毒污染，與其他國家相比，台灣地區貝類養殖區之周邊汙水處理廠設置密度較低，且台灣位處亞熱帶地區，其海水溫度較歐美與東北亞國家高，因此牡蠣、生蠔以及易生食之蔬果類其食因性病毒污染率較低。本次調查結果針對目前市售高污染風險產品如貝類、蔬果類進行監測，便可瞭解食品之衛生現況，建構台灣食品中食因性病毒之背景資料與在各類食品基質中的分布情形，以供消費者選購、業者提昇產品品質及衛生行政單位、邊境查驗單位輔導管理之參考。

**關鍵詞：**諾羅病毒、巢式聚合酶鏈鎖反應法、食品中毒、急性腸胃炎、食因性病毒

### 前言

自1970年代開始發現病毒可能是引起急性腸胃炎的病原體之一以來，相關學術研究趨勢與流行病學調查顯示食因性病毒已然成為台灣群聚性腹瀉或腸胃炎發生主因之一，光是諾羅病毒(Norovirus)就佔了六成以上，其他同樣能引起腸胃炎的食因性病毒還包含輪狀病毒(Rotavirus)、星狀病毒(Astrovirus)、沙波病毒

(Sapovirus)、腺病毒(Adenovirus)、A型肝炎病毒(Hepatitis A virus)、E型肝炎病毒(Hepatitis E virus)及腸病毒(Enterovirus)等，這些病毒通常經由糞-口途徑傳染，好發於成人及較大之孩童，並且容易在安養院、醫院、學校、軍隊、水上活動盛行區及開放式自助餐廳造成群聚型感染，傳染媒介包含環境中的水、在海中因濾食特性而易蓄積病毒的貝類、未洗淨而直接生食的蔬菜水果、或是受病毒感染餐飲從業人

員因未有良好食衛觀念造成食物遭受污染的一般食品。在2012年6月發生的連鎖餐飲群聚腹瀉案件，造成77人食物中毒，即是因為韓國進口生蠔的生長海域受到糞便污染而蓄積了諾羅病毒及星狀病毒，民眾在不知情的狀況下生食而致病。

諾羅病毒最早發現於1968年，美國俄亥厄州之Norwalk小城一小學爆發集體急性腸胃炎，受感染者在12至48小時內出現噁心、嘔吐甚或嚴重腹瀉的現象，症狀可持續約12至60小時之久。由諾羅病毒引起之病毒性腸胃炎全年均有可能發生，尤其以秋冬與初春等氣候較為涼爽的季節最為常見(大致上與養殖貝類收成季節相符)，好發年齡層廣，包含成人與幼童。而後學者利用免疫電子顯微鏡發現病毒顆粒，又陸續許多腸胃炎群聚型感染都證明與諾羅病毒相關，台灣地區則是在2004年2月間爆發首例諾羅病毒引起之院內感染事件，食因性病毒近年來逐漸受到專家重視而有更加深入探討及研究<sup>(1)</sup>。

近年來，食品安全問題逐漸受到民眾高度的重視與關心，本計畫遂依據食藥署公告之病毒檢驗方法針對目前國人易生食、具有高污染風險之市售食品(包含來源為網路通路之進口)如貝類及蔬果類進行監測，以建構台灣食品中諾羅病毒和其他食因性病毒之背景資料與在各類食品基質中的分布情形，有助強化並提升國內現有之監測、檢驗及調查等管理機制，並以

科學研究證據促成政策及日後食品管理法律條文之修訂，以降低食媒性疾病的發生，維護國人健康。

## 材料與方法

### 一、採樣規劃

由食藥署協助設計採樣計畫，委託弘光科技大學食品安全與超微量檢驗中心於103年1月至12月間執行採樣，每月針對國人易生食、具有高污染風險之市售食品(包含來源為網路通路之進口)如貝類及蔬果類進行抽驗。貝類檢體以牡蠣與生蠔為主，牡蠣為國內水產養殖貝類中產量及產值較高且易被國人生食之食品，而可生食用之生蠔來源產地則以國外進口居多，故抽驗貝類檢體時，食品進口與生產國家會考量國人實際食用情形而做不同比例的採樣分配，抽驗時間亦會搭配產品之季節性而定，如表一。蔬果類則以非軟果類(小葉菜類、包葉菜類、乾豆苗類、根菜類、果菜類)及軟果類(莓類、葡萄、番茄)為主，其中軟果類考量來源產地與國人實際消費情形則會以國外進口為主要抽驗對象，採樣分佈如表二。檢體來源包括餐廳、超市賣場、便利商店、傳統市場、產地市場、郵購及網購。共抽驗300件檢體，分別為牡蠣100件(以國內產銷為主)、生蠔150件(以國外進口為主)以及蔬果50件(非軟果類國內外各半，軟果類以國外進口為主)。

表一、貝類檢體採樣及進口/生產國家分佈

季節	牡蠣					生蠔										總計
	台灣	韓國	日本	中國	小計	台灣	韓國	日本	加拿大	美國	英國	法國	澳洲	小計		
冬季 (12-2月)	21	1	1	1	24	8	23	1	1	3	0	1	1	38	62	
春季 (3-5月)	35	0	1	0	36	4	0	1	1	5	0	1	0	12	48	
夏季 (6-8月)	10	0	0	0	10	18	1	0	0	6	0	0	0	25	35	
秋季 (9-11月)	27	0	3	0	30	13	18	4	1	33	4	2	0	75	105	
總計	93	1	5	1	100	43	42	6	3	47	4	4	1	150	250	

表二、蔬果類檢體採樣及進口/生產國家分佈

季節	非軟果類 <sup>a</sup>							軟果類 <sup>b</sup>						總計	
	台灣	日本	美國	秘魯	泰國	加拿大	小計	台灣	日本	美國	秘魯	智利	紐西蘭		小計
冬季 (12-2月)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	1	1	6	6
春季 (3-5月)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
夏季 (6-8月)	11	0	3	1	0	0	15	1	2	4	1	1	0	9	24
秋季 (9-11月)	4	3	2	0	1	1	11	1	3	5	0	0	0	9	20
總計	15	3	5	1	1	1	26	2	7	11	1	2	1	24	50

a. 非軟果類：小葉菜類、包葉菜類、乾豆苗類、根菜類、果菜類

b. 軟果類：莓類、葡萄、番茄

## 二、檢驗步驟及方法

依據食藥署公告檢驗方法及相關文獻資料進行，各類檢體前處理、核酸萃取及增幅等步驟配合參考使用經確效認可之市售分生檢測套組、鑑定系統及品質優良之基因體定序公司。

所有的諾羅病毒GI、GII型、星狀病毒、A型肝炎病毒、沙波病毒、腸病毒、輪狀病毒A、B、C型及E型肝炎病毒，其個別檢驗方法依食藥署公告方法、建議方法或相關參考文獻如下：

- (一)食品中諾羅病毒之檢驗<sup>(2)</sup>
- (二)食品中星狀病毒之檢驗<sup>(3)</sup>
- (三)食品中A型肝炎病毒之檢驗<sup>(4)</sup>
- (四)沙波病毒之檢驗<sup>(5)</sup>
- (五)食藥署相關參考文獻

## 結 果

### 一、採樣說明

本計畫自103年1月23日起至12月5日止，共完成300件檢體採集與檢測。檢體抽驗類別與進口/生產國家之選擇會依據實際食用、消費情形及產品產期旺季而做適度的分配。檢體分別為100件牡蠣檢體(93件台灣產銷之牡蠣與7件進口牡蠣)、150件生蠔檢體(43件台灣產銷之生蠔與107件進口生蠔)以及50件蔬果類檢體

(17件台灣產銷之蔬果與33件進口蔬果)。貝類檢體進口/生產國家分佈如表一，蔬果類檢體進口/生產國家分佈如表二。

100件牡蠣檢體中，93件為台灣產銷之牡蠣(93%)；7件為進口牡蠣(7%)，進口牡蠣生產國家分別為南韓(1件)、日本(5件)與中國大陸(1件)。150件生蠔檢體中，43件為台灣產銷之生蠔(29%)；107件為進口生蠔(71%)，進口生蠔生產國家分別為南韓(42件)、日本(6件)、加拿大(3件)、美國(47件)、英國(4件)、法國(4件)與澳洲(1件)。

50件蔬果類檢體中，分別為26件為非軟果類檢體與24件軟果類檢體。26件非軟果類檢體中，15件為台灣產銷之非軟果類檢體(58%)；11件為進口非軟果類檢體(42%)，進口非軟果類檢體生產國家分別為日本(3件)、美國(5件)與秘魯(1件)、泰國(1件)、加拿大(1件)。24件軟果類檢體中，2件為台灣產銷之軟果類檢體(8%)；22件為進口軟果類檢體(92%)，進口軟果類檢體生產國家分別為日本(7件)、美國(11件)、秘魯(1件)、智利(2件)與紐西蘭(1件)。

### 二、檢測結果

本計畫共完成300件檢體採集與檢測。共有2件生蠔受到食因性病毒污染，聚合酶鏈反應法產物定序比對結果，確定分別與諾羅病

毒GII型(GII.4亞型)、星狀病毒，相似度皆達99%，病毒總檢出率為0.67%(2/300)。然而，諾羅病毒GI型、A型肝炎病毒、沙波病毒、腸病毒、輪狀病毒A、B、C三型及E型肝炎病毒之檢驗結果300件檢體均為陰性反應。在103年度之食因性病毒監測計畫當中，300件檢體中有2件檢出食因性病毒之檢體皆於11月以網路通路的方式購買，其生產/進口國皆為南韓，於該年度監測結果而言，南韓為食因性病毒污染風險度最高之國家。

## 討 論

隨著檢驗技術的進步及流行病學調查系統的健全，食因性病毒感染越來越受到矚目與重視。在2011至2014年的四年中，最新的統計資料顯示世界各國諾羅病毒群聚事件(疫情)自2011年開始逐漸攀升，並於2013年檢出率達至最高峰，而2014年後呈現顯著下降的趨勢，其中以荷蘭、法國、紐西蘭為檢出比例最高之國家<sup>(6)</sup>。根據統計圖表顯示過去四年中，諾羅病毒群聚事件(疫情)主要以GII.4、GII.P4、GII.Pe型為主<sup>(6)</sup>，而在該年爆發檢出相同亞型之案例可同時於不同國家如澳洲、比利時、丹麥發現，其流行之病毒亞型與本計畫中所檢出之諾羅病毒GII.4亞型相同，顯示全球諾羅病毒群聚事件(疫情)發生比率雖有稍降之趨勢，其流行病毒亞型之感染風險依然存在，故政府須加強病毒污染風險度較高之國外進口貝類產品的管控，為國人食品安全把關。

食因性病毒如諾羅病毒具有抗凍、抗熱(60°C)、耐酸鹼、耐酒精及耐含氯消毒劑等特性，因而可以存在於環境之中不易被消滅，並具有低致病量，且無法在環境或食品中增殖的特性，攝食10至100顆病毒顆粒即可能致病或產生症狀，因可致病之污染食品中的病毒量低，唯有不斷改良、創新、提高檢測方法靈敏度以避免偽陰性結果的發生<sup>(7)</sup>。而食因性病毒的診斷方法常見的有電子顯微鏡法、細胞培養法、核酸雜交法、酵素免疫分析法及聚合酶鏈反應法(PCR、real-time PCR)等，電子

顯微鏡法一直是病毒診斷的黃金標準，具有直接和可靠之優點卻有靈敏度低(檢測極限約 $10^6$ /克檢體)的缺點，更因一些病毒缺乏顯著的形態學特徵及此法操作門檻較高而不宜適用於一般實驗室；部分食因性病毒可以細胞培養方法檢測，但此方法操作步驟繁複，所需時間長，且某些食因性病毒目前尚無法培養，如諾羅病毒、E型肝炎病毒等；相較於聚合酶鏈反應法，核酸雜交法及酵素免疫分析法的靈敏度偏低，在台灣法規層面規定具致病性之病毒於食品當中為不得檢出的項目，故目前若有食品中毒案件爆發，實際的案件檢測上仍以敏感度較高的聚合酶鏈反應法為檢測食品中病毒的主流方法<sup>(8)</sup>。

偵測低致病量的病毒顆粒對於食品微生物之檢驗方法是個莫大的挑戰，病毒檢驗的過程包含把病毒顆粒從食品基質中沖洗下來、濃縮沖洗液中的病毒、病毒核酸的萃取到病毒基因體的偵測，每步皆存在著病毒顆粒流失或受到破壞的風險。分子生物技術如各種純化核酸的市售套組、PCR、real-time PCR等技術使得後段病毒顆粒的偵測極限可以達至1至10顆即可被偵測，故如何從各式各樣的食品基質中(如生蠔、水、蔬果、一般食品)分離、濃縮病毒，同時避免流失病毒顆粒及PCR反應抑制物的累積成為食品中病毒檢驗之關鍵，故檢體前處理方法改良搭配上高敏感度聚合酶鏈反應法成為未來食藥署病毒檢測方法開發之主要方針與設計概念。

本計畫針對250件國產或進口之生蠔、牡蠣及50件國產或進口之生鮮蔬果類產品進行7種10型之食媒性病毒(包含諾羅病毒GI、GII型、星狀病毒、A型肝炎病毒、沙波病毒、腸病毒、輪狀病毒A、B、C型、E型肝炎病毒)之檢測，以瞭解該病原在高風險食品分布之背景資料，作為風險控管、方法開發、政策擬定及法律增修訂之依據。本年度檢出2件韓國進口生蠔產品分別遭受諾羅病毒GII型及星狀病毒之污染，同年9月亦自加拿大傳出韓國生蠔遭受諾羅病毒污染之新聞事件，顯示目前韓國進

口水產品仍為食品安全高風險食品。有鑑於此，食藥署已向韓方提出其出口水產品之衛生疑慮並要求加強管理措施，同時亦針對該生產國之出口水產品提高抽驗比例，強化邊境把關以達到加強源頭管理之目的。

本計畫實屬市場長期監測之調查研究，針對市售高風險食品為調查重點，瞭解食品之衛生現況，供消費者選購、提升業者產品品質要求與來源控管程度、及衛生行政單位、邊境查驗單位輔導管理之參考，並建立本土性背景值，相關調查結果必要時可進一步作分型研究而可與臨床病例資料比對，共同建置完善之健康安全防護網和流行病學趨勢圖表，另一方面持續教育民眾勤洗手、避免生食、正確衛教觀念，確保國人食品衛生安全。

## 誌 謝

本研究為食藥署103年度「食品中諾羅病毒之調查研究」委託弘光科技大學食品安全與超微量檢驗中心辦理之計畫，謹此致謝。

## 參考文獻

1. 行政院衛生署疾病管制局。2008。台灣地區新興腸道病毒之環境調查及風險評估。[<http://www.cdc.gov.tw/professional/program-resultinfo.aspx?treeid=beac9c103df952c4&nowtreeid=8a34b0215f997099&tid=13EB092CE16BBFBC>]。
2. 衛生福利部。2014。食品中微生物之檢驗方法-諾羅病毒之檢驗。103.06.27部授食字第1031900867號公告修正。
3. 衛生福利部。2014。食品中微生物之檢驗方法-星狀病毒之檢驗。103.06.27部授食字第1031900874號公告修正。
4. 衛生福利部。2014。食品中微生物之檢驗方法-A型肝炎病毒之檢驗。103.06.16部授食字第1031900776號公告訂定。
5. 行政院衛生署。2011。食品微生物之檢驗方法-沙波病毒之參考檢驗方法。[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?pn=15&sid=1574>]。
6. National Institute for Public Health and the Environment. 2014. Norovirus Molecular Platform - Noronet update, April 2014. [[http://www.rivm.nl/en/Documents\\_and\\_publications/Common\\_and\\_Present/Publications/Centre\\_for\\_Infectious\\_Disease\\_Control/Noronet\\_updates/Noronet\\_update\\_april\\_2014](http://www.rivm.nl/en/Documents_and_publications/Common_and_Present/Publications/Centre_for_Infectious_Disease_Control/Noronet_updates/Noronet_update_april_2014)]。
7. 行政院衛生署食品藥物管理局。2012。食因性病毒檢驗技術研習。[[http://report.nat.gov.tw/ReportFront/report\\_detail.aspx?sysId=C10103561](http://report.nat.gov.tw/ReportFront/report_detail.aspx?sysId=C10103561)]。
8. 行政院衛生署藥物食品檢驗局。2008。赴日本研習食因性病毒檢測技術。[[http://report.nat.gov.tw/ReportFront/report\\_detail.aspx?sysId=C09600017](http://report.nat.gov.tw/ReportFront/report_detail.aspx?sysId=C09600017)]。

# Investigating and Reporting Foodborne Viruses

TSUNG-YEN LIU, YU-TING WANG, TSUI-PING HUANG,  
CHE-YANG LIN, HSU-YANG LIN, YUEH-JONG CHUNG,  
HSIU-KUAN CHOU AND HWEI-FANG CHENG

Division of Research and Analysis, TFDA

## ABSTRACT

Foodborne viruses, such as norovirus, astrovirus, and hepatitis A virus, are recognized as the leading cause of epidemic and sporadic acute gastroenteritis. According the Ministry of Health and Welfare of the Food and Drug Administration in Taipei, Taiwan, from 2010 to 2013, approximately 4-7% of food-poisoning cases were caused by norovirus. With the development of detection methods and an ongoing epidemiological surveillance, identifying viral agents of a foodborne illness is attainable. In this study, 300 specimens were collected from January 23, 2014 to December 5, 2014 to detect the presence or absence of norovirus GI and GII, astrovirus, hepatitis A virus, sapovirus, enterovirus, rotaviruses A, B, C, and hepatitis E virus using polymerase chain reaction (PCR) and nested-PCR. These specimens consisted of domestic oysters (93), imported oysters (7), domestic oysters for direct human consumption (43), imported oysters for direct human consumption (107), domestic produce (17), and imported produce (33). Two, (namely Korean oysters for direct human consumption) of the 300 specimens, were contaminated by foodborne viruses: norovirus GII and astrovirus. Sequence analysis of PCR indicate that the norovirus GII and astrovirus detected had a 99% similarity. The total detection rate of foodborne viruses was 0.67%. Norovirus GI, hepatitis A virus, sapovirus, enterovirus, rotaviruses A, B, C, and hepatitis E virus were tested negative in all the samples. In this study, all virus-positive specimens were contaminated by one species. In Taiwan, there are comparatively fewer sewage treatment plants near shellfish harvesting areas. Furthermore, in subtropical Taiwan, seawater temperature is higher than in Europe, the Americas, and Northeastern Asian countries. Therefore the incidence of foodborne viruses in oysters, oysters for direct human consumption, and produce for direct human consumption is lower in Taiwan than in other countries. Through monitoring marketed high risk foods for contamination in Taiwan, such as shellfish, fruits and vegetables, we can monitor the current situation of food hygiene and establish the background and distribution of foodborne viruses in various food matrices. This study is a reference for consumers, food manufacturers, and government agencies, such as the food standards agency, as well as the customs and border protection.

**Key words:** norovirus, nested-PCR, food poison, acute gastroenteritis, foodborne viruses