

輸入冷凍食品包裝表面之COVID-19病毒監測

陳育志 簡偲家 王鈺婷 周璟伯 莊爵維 林澤揚 黃守潔 曾素香 王德原

衛生福利部食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

研究指出COVID-19新冠病毒(SARS-CoV-2)於室溫下能在塑膠、紙板、玻璃、金屬等材質表面存活半小時以上甚至數天，中國大陸曾在切過進口鮭魚的砧板、厄瓜多南美白蝦、巴西冷凍雞翅與豬肉、印度冷凍鮭魚與墨魚、冷凍鱈魚、雪糕、櫻桃等進口產品的包裝表面檢出新冠病毒核酸呈現陽性的結果。有鑑於食品外包裝驗出新冠病毒的新聞持續引起民眾關注，2020年10月27日中央流行疫情指揮中心指示衛生福利部食品藥物管理署(下稱食藥署)啟動進口冷凍食品包裝之COVID-19病毒監測調查之研究，首先針對冷凍肉品及水產品來自COVID-19盛行率較高的國家進行監測，2021年2月起抽驗範圍擴大為進口冷藏冷凍之肉品、水產品及水果。2021年8月為防堵Delta變異株入侵，本研究為COVID-19加強監測方案之一，並於2021年10月納入新冠病毒三大常態性監測。本研究參考世界衛生組織(WHO)及衛生福利部疾病管制署(下稱疾管署)新冠病毒檢驗方法，邊境冷凍冷藏食品包裝表面的採樣則由食藥署各區管中心協助，檢測流程整合自動化核酸萃取及One-Step qRT-PCR程序，使用SARS-CoV-2國家標準品與參考物質進行方法確認(Verification)，偵測極限(LOD)可達12.5 copies病毒核酸。本研究自2020年11月6日開始至2022年8月31日結束，共計抽驗33個國家350批產品、1356件樣品，COVID-19病毒核酸檢測結果皆為陰性。

關鍵詞：冷凍食品、新冠病毒、食品包裝

前言

新型冠狀病毒Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (簡稱：新冠病毒，SARS-CoV-2)感染所造成的「嚴重特殊傳染性肺炎」又稱為COVID-19 (Coronavirus Disease-2019)，源自於2019年12月中國湖北武漢市的不明原因肺炎的快速群聚感染，處於潛伏期的被感染者再經由交通往來或旅遊，迅速地將新冠病毒傳播至中國各地及全球。根據2023年3月10日約翰霍普金斯大學(Johns Hopkins University)冠狀病毒資源中心

(Coronavirus Resource Center)的最終統計，從2020年1月22日至2023年3月10日超過3年的時間，新冠病毒造成全球COVID-19確診的病例數約有6.76億，所造成的死亡病例約有688萬人⁽¹⁾。

新冠病毒的傳播方式主要是透過呼吸道的飛沫傳播，另外像是氣溶膠、接觸受污染的表面、病毒顆粒直接或間接透過眼耳鼻黏膜以及糞口的傳播，也都是新冠病毒可能的傳染途徑⁽²⁾。研究發現新冠病毒於室溫環境時，能在氣溶膠，或是在塑膠、紙板、玻璃、金屬與木材等不同材質的表面上，分別存活超過半小時

至數日⁽³⁾，另外曾有資料指出，COVID-19病毒能夠在冷藏(4°C)、冷凍(-20°C)及超低溫冷凍(-80°C)的肉類食材21天仍維持其活性。然而，最早傳出新冠病毒可能透過食品跨境的新聞，是中國大陸2020年6月於北京新發地海鮮市場所發生的疫情爆發事件，2020年6月13日的相關新聞指出，新發地市場切割進口鮭魚的砧板被發現有新冠肺炎病毒，大陸緊急暫停鮭魚進口，但之後又排除鮭魚是病毒傳播的來源^(4,5)。之後中國大陸陸續對進口冷凍食品外包裝及冷凍食品從業人員進行COVID-19病毒核酸的檢測，如厄瓜多南美白蝦的箱內壁和外包裝，巴西冷凍雞翅與豬肉、印度冷凍鯧魚與墨魚等外包裝，都曾驗出COVID-19病毒核酸陽性⁽⁶⁾。中國疾病預防控制中心於2020年10月17日發布的新聞指出，截至2020年9月15日的統計，大陸24個省報送298萬份檢驗結果，包含冷鏈食品(冷凍食品供應鏈)及包裝樣品67萬份、從業人員124萬份、環境樣品107萬份的檢驗結果，僅22件食品及包裝中檢出COVID-19病毒核酸陽性，且未分離出活病毒^(5,7)。從上述的結果似乎顯示新冠病毒是不太可能透過食品傳播而致病，然而青島於2020年10月爆發本土疫情病例，進行新冠病毒溯源的調查過程中，從工人搬運進口冷凍鱈魚的外包裝陽性樣本中檢測分離到活病毒，這也是國際上首次報導在冷鏈食品外包裝上分離到新冠活病毒^(5,7)，因而提醒需注意境外被病毒污染冷鏈物品輸入新冠病毒的風險。

儘管食品或外包裝被檢測出COVID-19病毒核酸為陽性的比例極低，WHO及聯合國糧食及農業組織(FAO)也認為尚無證據可顯示新冠病毒會透過食品傳播^(8,9)，但有鑑於食品外包裝被驗出新冠病毒的新聞持續引起民眾關注，中央流行疫情指揮中心於2020年10月27日的第52次討論會議，指示食藥署執行COVID-19病毒透過冷凍食品傳播之前導性研究，食藥署動員食品組、北區、中區與南區管理中心及研究

檢驗組分工執行，研檢組負責檢驗，檢測邊境抽樣之冷凍產品外包裝和內包裝在消毒前後的樣本，監控進口冷凍食品內、外包裝之病毒污染狀況及消毒作業效果評估。

本監測研究自2020年11月6日起至2022年8月31日止，隨著國內外COVID-19疫情的嚴峻或趨緩進行滾動式調整，共分為四個階段執行邊境冷鏈食品包裝之新冠病毒檢測，並進行整個檢測程序之方法確認(Verification)和偵測極限(LOD)之確認，檢測流程詳圖一。儘管新冠病毒不太可能透過食品傳播致病，但政府還是對於進口食品包裝可能涉及的衛生安全嚴格把關，充分展現謹慎防疫的執行力，以科學證據消除國人疑慮。

材料與方法

一、化學試藥

Chloroform、isopropanol、ethanol absolute及tris (Hydroxymethyl) aminomethane (Tris-base) (Merck, Germany)；Ethidium bromide及agarose (Amresco, Ohio, U.S.A.)；S-Gal™/LB Agar Blend (Sigma, Missouri, U.S.A.)。Chloroform為試藥特級，其餘皆為分子生物級。

二、核酸(RNA或DNA)萃取、純化、回收套組

病毒RNA萃取採用LabTurbo Viral DNA/RNA Mini Kit (Taigen Bioscience, Taiwan)，核酸純化採用QIAquick PCR purification kit，核酸回收採用QIAquick Gel Extraction purification kit (Qiagen GmbH, Germany)。以上所有操作步驟皆參照廠商提供之使用手冊。

三、儀器設備

(一)核酸萃取儀 (LabTurbo 48C, Taigen Bioscience, Taiwan)。



圖一、輸入冷凍冷藏食品包裝之COVID-19病毒檢測流程

- (二)PCR反應器 (Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700或ProFlex 3 x 32-well PCR System, Thermo Fisher Scientific, U.S.A.)。
- (三)Real-time PCR反應器 (QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System (簡稱QS12K), Thermo Fisher Scientific, U.S.A.)。
- (四)digital PCR反應器 (QX ONE Droplet Digital PCR (ddPCR) System, Bio-Rad, U.S.A.)。
- (五)微量定量用分光光度計 (NanoDrop ND-1000, NanoDrop Technologies, U.S.A.)。
- (六)高速微量低溫離心機 (KUBOTA-3740, KUBOTA Corporation, Japan)。
- (七)迷你型膠體電泳設備 (Mupid-2, Advance, Japan)。
- (八)膠體電泳影像系統 (GelDoc Go System, Bio-Rad, U.S.A.)。

四、標準品及其他對照參考物質

- (一)食藥署生物性國家標準品：SARS-CoV-2 National standard標準品及SARS-CoV-2 Working reagent標準品(來源株：CGMH-CGU-01/2020)^(10,11)為去活化病毒。
- (二)市售參考物質：EDX SARS-CoV-2 Standard及SARS-CoV-2 Negative (Exact Diagnostics, USA)，EDX SARS-CoV-2 Standard為人工合成RNA參考物質，含有SARS-CoV-2 Envelope protein (E)基因、Nucleocapsid protein (N)基因、ORF1ab基因、RNA-dependent RNA polymerase (RdRP)基因及Spike Protein (S)基因，這5個基因的RNA各200,000 copies/mL，以及人類gDNA 75,000 copies/mL。
- (三)自行構築之參考質體：將SARS-CoV-2 E基因、N基因、RdRP基因的cDNA核酸序列^(12,13)，以及人類RNase P基因序列^(12,13)

整理排序，委託基龍米克斯(New Taipei City, Taiwan)公司合成參考質體pCOV-19TCDC，做為確認PCR或Real-time PCR會呈現陽性反應的其中一種正反應對照組參考物質。

五、聚合酶鏈鎖反應(PCR)之引子、探針及反應試劑

本研究使用之引子及探針(表一)係參考WHO^(12,13)及疾管署⁽¹⁴⁾的新冠病毒檢驗方法，委託Integrated DNA Technologies(USA)公司或TIB Molbiol(Berlin, Germany)公司合成。TaqMan probe 5'端採用6-carboxy-fluorescein (FAM)標記，3'端採用Iowa Black FQ標記，並於探針中段加入ZEN標記作為額外的螢光淬滅物質(Quencher)。qRT-PCR反應試劑套組採用TaqPath™ 1-Step RT-qPCR Master Mix, CG (Thermo Fisher Scientific, U.S.A.)或One-Step RT-ddPCR Advanced Kit for Probes (Bio-Rad, USA)。

六、病毒核酸萃取與純化

去活化之新冠病毒標準品或邊境樣本的核酸萃取與純化係採用LabTurbo 48C核酸萃取儀自動化執行，上樣前將LabTurbo Viral DNA/RNA Mini Kit的試劑耗材及微量吸管尖(Tip)放置於LabTurbo 48C核酸萃取儀內，在生物安全

櫃進行取樣，自樣本管取500 µL的樣本保存液至上機專用之6連排樣本管，再將取樣完成之6連排樣本管放入LabTurbo 48C樣本槽，確認所有物件妥善放置後，啟動程式選擇正確上樣數目，依螢幕指引之步驟完成各項核對後即關閉機門執行核酸萃取與純化。核酸萃取與純化完成後，將含有樣本萃取液的1.5 mL離心管取出置於冰上，或置於-30°C或保存於-80°C。所有操作步驟皆參照廠商提供之使用手冊。

七、One-Step qRT-PCR檢測

製備反應溶液時先混合4X TaqPath™ 1-Step RT-qPCR Master Mix、20X P/P (Primer/Probe) Mix (含正股引子10 µM、反股引子10 µM、TaqMan探針5 µM)、無菌純水(RNase-/DNase-free)後，分裝於96孔反應盤中，再各別加入樣本萃取液或標準品溶液5 µL，至96孔反應盤之適當位置中，貼上96孔反應盤專用的光學膜密封，將96孔反應盤離心再置入QS12K Real-time PCR反應器進行反應，其結果以QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System v1.1.2進行分析。反應溶液之製備及反應條件如下：

反應溶液組成：

4X TaqPath™ 1-Step RT-qPCR Master Mix
..... 5.0 µL
20X P/P Mix..... 1.0 µL

表一、檢測SARS-CoV-2之引子與探針序列

引子與探針代號	序列 (Sequence 5'-3')*	種類
Envelope protein (E) gene		
E_Sarbeco_F1	ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT	正股引子
E_Sarbeco_R2	ATATTGCAGCAGTACGCACACA	反股引子
E_Sarbeco_P1	FAM-ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG-IBFQ	TaqMan探針
RNA-dependent RNA polymerase (RdRP) gene		
RdRP_SARsR-F2	GTGARATGGTCATGTGTGGCGG	正股引子
RdRP_SARsR-R1	CARATGTTAAASACACTATTAGCATA	反股引子
RdRP_SARsR-P2	FAM-CAGGTGGAACCTCATCAGGAGATGC-IBFQ	TaqMan探針

* FAM: 6-carboxy-fluorescein; IBFQ: Iowa Black Fluorescent Quencher.

樣本萃取液或標準品溶液.....	5.0 µL
無菌純水.....	9.0 µL
總體積.....	20.0 µL

反應條件：

步驟	溫度	時間	循環數
熱活化	25°C	2分鐘	1
反轉錄	50°C	15分鐘	1
酵素活化	95°C	2分鐘	1
變性	95°C	3秒	45
黏接、延展	58°C	30秒	

八、One-Step RT-ddPCR檢測(QX ONE ddPCR System)

製備反應溶液時先混合Supermix、Reverse transcriptase、DTT (300 mM)、20X P/P (Primer/Probe) Mix (含正股引子10 µM、反股引子10 µM、TaqMan探針5 µM)、無菌純水(RNase-/DNase-free)後，分裝於96孔反應盤中，再各別加入樣本萃取液或標準品溶液5 µL，至96孔反應盤之適當位置中，貼上96孔反應盤專用的鋁箔膜密封，震盪混勻後將96孔反應盤離心，移除封膜將96孔反應盤反應液移注至GCR96 Cartridges，使用PX1 PCR Plate Sealer封膜後離心，再置入QX ONE ddPCR System進行反應，其結果以QX ONE Software 1.1 Standard Edition進行分析。反應溶液之製備及反應條件如下：反應溶液組成：

Supermix	5.0 µL
Reverse transcriptase	2.0 µL
300 mM DTT	1.0 µL
20X P/P Mix.....	1.0 µL
樣本萃取液或標準品溶液.....	5.0 µL
無菌純水.....	6.0 µL
總體積.....	20.0 µL

反應條件：

步驟	溫度	時間	循環數
靜置	25°C	3分鐘	1
反轉錄	50°C	60分鐘	1

酵素活化	95°C	10分鐘	1
變性	95°C	30秒	45
黏接、延展	58°C	1分鐘	
酵素去活化	98°C	10分鐘	1
靜置	25°C	1分鐘	1

結果與討論

一、確認新冠病毒檢測之偵測極限 (LOD)

2020年1月新冠病毒於全球快速傳播，國際間緊急開發新冠病毒核酸檢驗方法因應防疫所需，各國檢測新冠病毒之基因標的不同，WHO及歐盟方法檢測SARS-CoV-2 E基因及RdRP基因^(12,13)，美國方法檢測3個N基因(N1~N3)及人類RNase P基因⁽¹⁵⁾，中國大陸方法檢測N基因及ORF1ab基因⁽¹⁶⁾，然而，同樣是檢測SARS-CoV-2 N基因的方法，美國和中國大陸檢測病毒核酸序列的位置也不同。本研究開始前即參考各國方法，使用標準品或對照參考物質測試各基因標的(僅S基因未測試)建立實驗室檢驗能力，並參與SARS-CoV-2核酸標準品共同標定研究⁽¹⁰⁾。此外，SARS-CoV-2基因體演化快速，德國的研究亦發現檢測一個以上的基因標的，將有助於避免檢驗結果呈現偽陰性⁽¹⁷⁾。因此，本研究採用國際通用WHO與歐盟^(12,13)以及疾管署⁽¹⁴⁾相同引子探針位置的E基因及RdRP基因為檢測標的，由於樣品來源為食品包裝表面，則無需要檢測人類RNase P基因。將SARS-CoV-2參考物質(EDX SARS-CoV-2 Standard)連續稀釋成1,000 copies、200 copies、100 copies、50 copies、25 copies及12.5 copies，以QS12K Real-time PCR儀器檢測SARS-CoV-2的E基因及RdRP基因，圖二分別為E基因(圖二.a)及RdRP基因(圖二.b)進行One-Step qRT-PCR的螢光增幅曲線，比較2個基因的螢光增幅曲線，RdRP基因的正反股引子屬

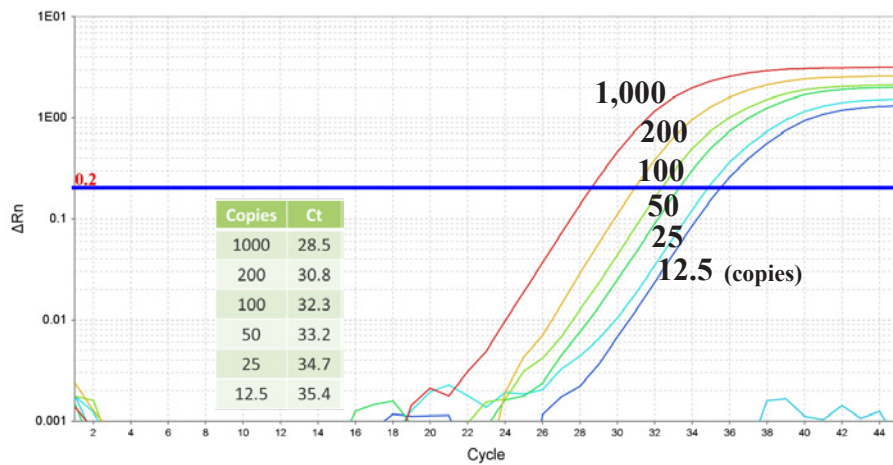
於Degenerate primer^(12,13)，RdRP基因螢光增幅曲線平緩階段的最高高度會隨著RNA copies數量的減少而有較大幅度降低，由於螢光增幅曲線臨界值線(Threshold line)的閾值(Threshold value)須設置在螢光增幅曲線的線性階段(Linear phase)，故結果的分析依據2個基因螢光增幅曲線線型的特性，同時評估螢光探針的背景值，決定將E基因的閾值設定為0.2 (圖二a)，RdRP基因的閾值設定為0.064 (圖二b)，圖

二的結果亦顯示E基因及RdRP基因之偵測極限皆可達12.5 copies。

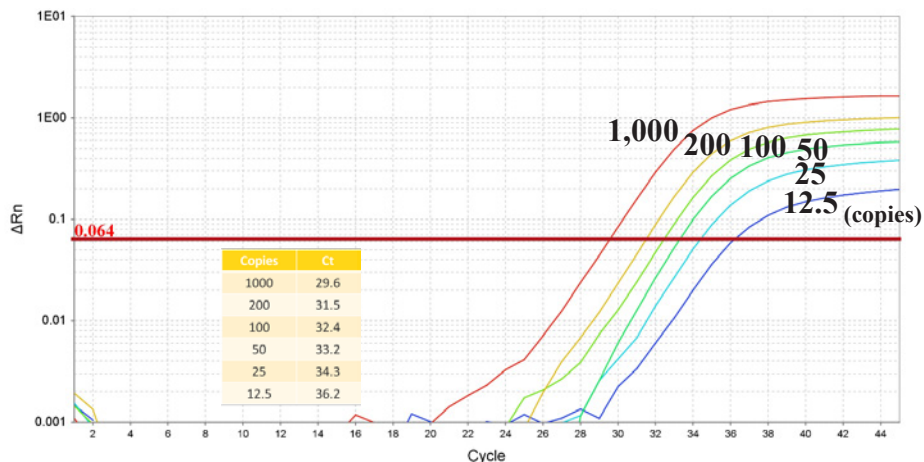
二、以ddPCR確認稀釋SARS-CoV-2參考物質的基因拷貝數(Copy numbers)

將1,000 copies以及經過稀釋為200 copies、100 copies、50 copies、25 copies及12.5 copies的SARS-CoV-2參考物質(EDX SARS-

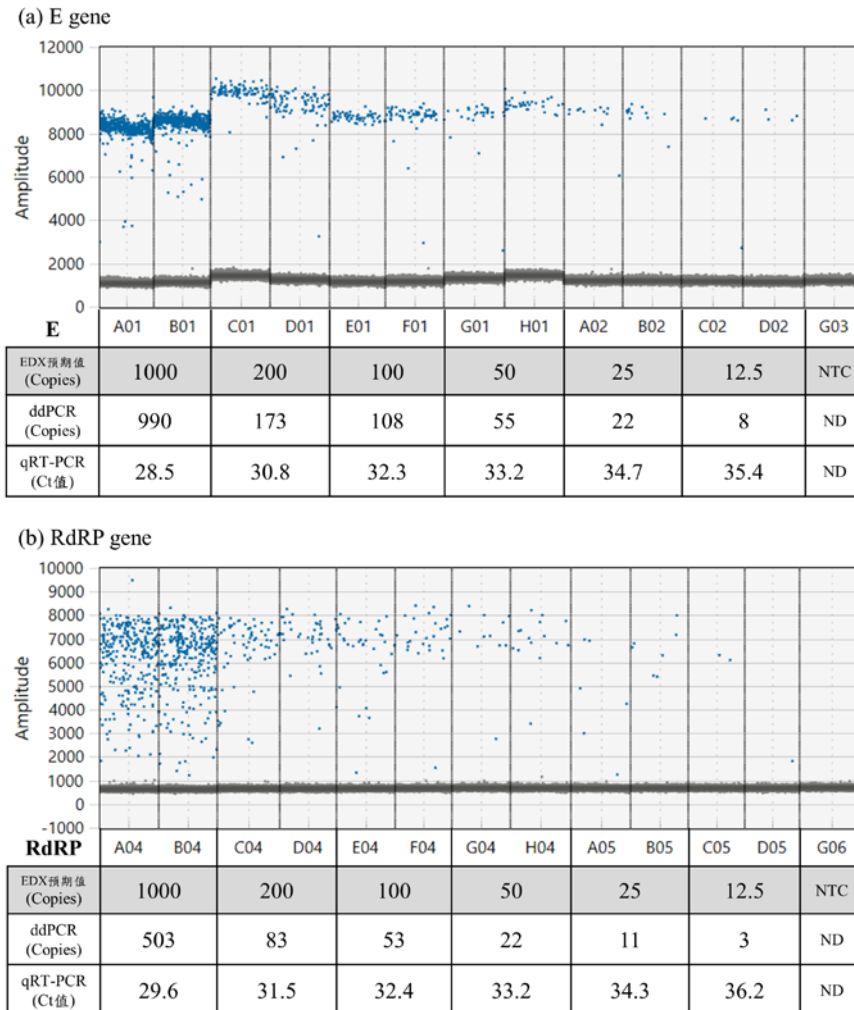
(a) E gene



(b) RdRP gene



圖二、使用連續稀釋之SARS-CoV-2參考物質(EDX SARS-CoV-2 Standard)於QS12K Real-time PCR確認E gene (a) 及RdRP gene (b) 之偵測極限(LOD)



圖三、使用連續稀釋之SARS-CoV-2參考物質(EDX SARS-CoV-2 Standard)於QX ONE ddPCR檢測E gene (a)及RdRP gene (b)之結果及qRT-PCR Ct值的比對NTC (no template control); ND (not detected)

CoV-2 Standard)，以QX ONE ddPCR進行One-Step RT ddPCR檢測，結果顯示E gene之檢測值與預期值相近(圖三a)，亦與de Kock等人的結果⁽¹⁸⁾相似，確認此ddPCR系統可在需要時支援新冠病毒的精準定量檢測。然而相同的參考物質檢測RdRP gene，其基因拷貝數的檢測值與預期值有差異(圖三b)，使用其他型式的digital PCR儀器亦有相似的結果，但比較E gene與

RdRP gene在同一參考物質qRT-PCR的檢測結果⁽¹⁹⁾，E gene Ct值小於RdRP gene Ct值的趨勢一致。

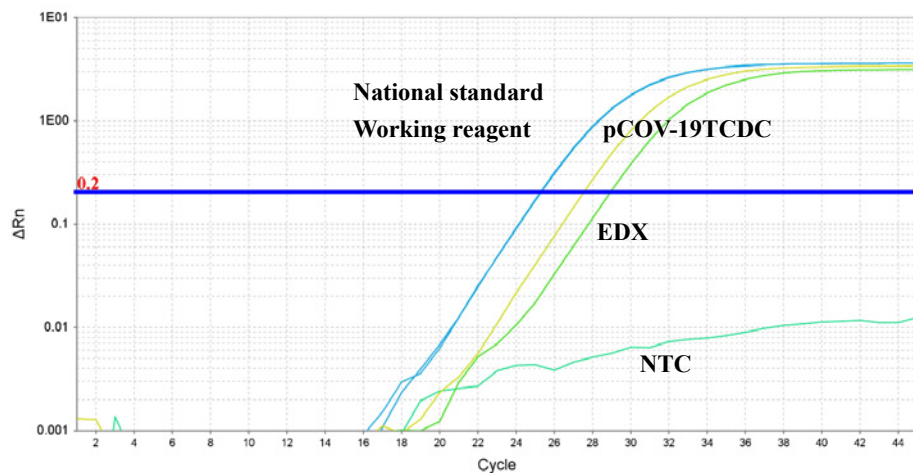
三、進口冷鏈食品包裝表面之COVID-19病毒監測

本研究自2020年11月6日起至2022年8月31日止共分為四個階段執行輸入冷凍食品包裝表面之COVID-19病毒監測，監測開始之前，依

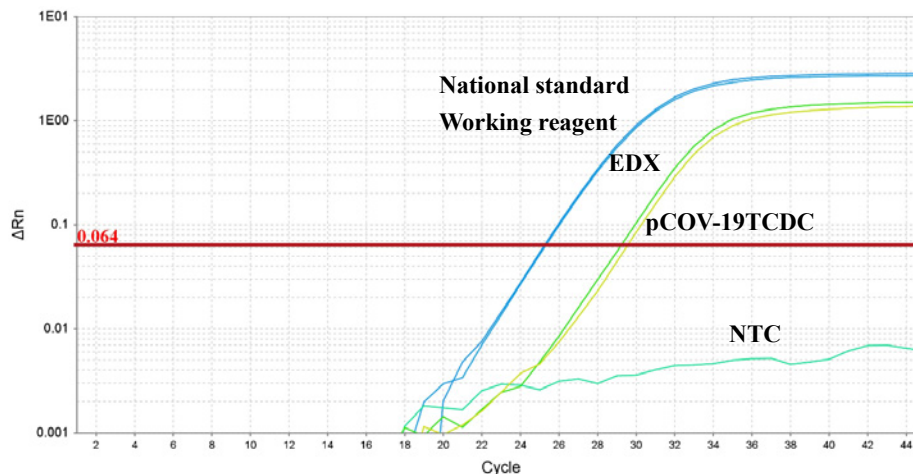
循圖一的檢測流程，進行病毒核酸萃取與One-Step qRT-PCR檢測流程的確認。使用含有去活化病毒顆粒的食藥署生物性國家標準品SARS-CoV-2 National standard標準品及SARS-CoV-2 Working reagent標準品依循圖一自動化病毒核酸萃取流程，進行自動化病毒核酸萃取及One-Step qRT-PCR檢測的方法確認，此外，在One-

Step qRT-PCR檢測流程中，亦同時使用其他兩種不同性質來源的陽性對照參考物質：EDX SARS-CoV-2 Standard及pCOV-19TCDC質體進行COVID-19病毒核酸檢驗的方法確認，三種不同性質(去病毒萃取的RNA、市售人工合成標的基因RNA、含有標的基因DNA的質體)陽性對照組的檢測結果，以及陰性空白對照

(a) E gene



(b) RdRP gene



圖四、SARS-CoV-2標準品及對照參考物質之檢測結果

自動化萃取食藥署生物性國家標準品SARS-CoV-2 National standard與Working reagent標準品之病毒核酸、EDX SARS-CoV-2 Standard (EDX)、pCOV-19TCDC質體及陰性空白對照組(NTC)於QS12K Real-time PCR進行E gene (a)及RdRP gene (b)之檢測

組的檢測結果皆符合預期(圖四)，進一步使用 ddPCR 確認 SARS-CoV-2 National standard 標準品及 SARS-CoV-2 Working reagent 標準品的病毒基因拷貝數皆符合來源數據⁽¹⁾，當完成圖一檢測流程的方法確認，則立即展開四個階段的監測：

第一階段監測自2020年11月6日至11月20日針對新冠肺炎盛行率高的國家進口之冷凍食品內外包裝採樣，共抽驗4個國家之輸入豬肉、牛肉及鮭魚，共11批產品，就其外包裝、內包裝，在消毒前、消毒後分別取樣，共44件樣品，COVID-19病毒核酸檢驗結果皆為陰性。

第二階段自2020年12月11日至12月27日，持續執行進口冷凍食品內外包裝之COVID-19病毒核酸檢驗，並增加鄰近國家(中國、日本、韓國、菲律賓、越南及印尼)之冷凍肉品及水產品內外包裝為採樣標的，抽驗8個國家輸入之豬肉、牛肉、雞肉及水產品，共77批產品、302件樣品，檢驗結果皆為陰性。

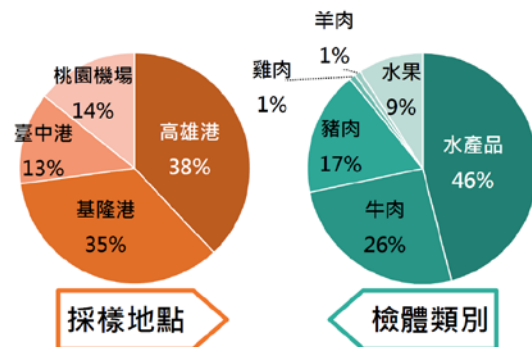
第三階段自2020年12月28日至2021年2月16日，持續執行進口冷凍食品內外包裝之COVID-19病毒核酸檢驗，再加強未曾抽驗過之國家及產品，或是鄰近疫情嚴重國家之產品為優先採樣標的，抽驗8個國家輸入之豬肉、牛肉及水產品，共19批產品、74件樣品，檢驗結果皆為陰性。

由於國際COVID-19疫情持續快速變化，又有雪糕、櫻桃、奶棗等非冷凍肉品及水產品驗出新冠病毒核酸陽性⁽⁶⁾，故滾動式調整抽樣標的，故第四階段自2021年2月17日開始，擴大輸入食品抽驗項目至所有冷藏冷凍之肉品、水產品及水果，2021年8月23日為防堵Delta變異株入侵，指揮中心啟動COVID-19加強監測方案，2021年10月5日中央流行疫情指揮中心宣布將此調查納入三大常態性監測。直至2022年6-7月期間，國內COVID-19疫情逐漸趨緩，相關防疫政策亦逐步調整，由於冷藏冷凍食品

包裝並非COVID-19病毒的傳染媒介，且長期監測的結果皆未檢出COVID-19病毒核酸，於2022年8月31日結束監測。綜整第四階段的結果，從2021年2月17日至2022年8月31日共歷時1年6個月，抽驗33個國家輸入之雞肉、豬肉、牛肉、羊肉、水產品及水果，共243批產品、936件樣品，檢驗結果皆為陰性。

本研究自2020年11月6日至2022年8月31日針對邊境進口冷凍食品抽樣進行COVID-19病毒監測，分別於基隆港、臺中港、高雄港及桃園機場抽驗來自33個國家(美國、西班牙、英國、智利、菲律賓、中國、日本、越南、印尼、挪威、宏都拉斯、南非、加拿大、荷蘭、澳大利亞、秘魯、紐西蘭、斯里蘭卡、尼加拉瓜、泰國、阿根廷、巴基斯坦、緬甸、馬爾他、巴拿馬、法國、韓國、丹麥、巴西、巴拉圭、印度、厄瓜多及奧地利)輸入之豬肉、牛肉、雞肉、羊肉、水產品及水果共350批不同類別的產品(圖五、表二)，就其外包裝與內包裝表面，在消毒前、後分別取樣，共計有1,356件樣品進行檢測，COVID-19病毒核酸的檢驗結果皆為陰性。

WHO及FAO等國際組織皆認為尚無證據顯示新冠病毒會透過食品傳播，本研究在1,356件邊境樣品的檢測結果皆為COVID-19病毒核酸陰性，未在食品外包裝及內包裝發現新



圖五、350批輸入冷凍冷藏食品包裝檢測之採樣地點與檢體類別

輸入冷凍食品包裝表面之COVID-19病毒監測

表二、進口冷鏈食品包裝表面COVID-19病毒核酸監測之產品來源與類別

國別	產品類別(批數)						總計
	水產品	牛肉	豬肉	雞肉	羊肉	水果	
美國	2	49	11	3	-	11	76
日本	39	24	-	-	-	6	69
越南	30	-	-	-	-	7	37
西班牙	-	-	35	-	-	-	35
中國	27	-	-	-	-	1	28
印尼	18	-	-	-	-	-	18
澳大利亞	2	9	-	-	-	-	11
紐西蘭	2	2	-	-	3	2	9
泰國	8	-	-	-	-	-	8
菲律賓	8	-	-	-	-	-	8
荷蘭	-	1	5	-	-	-	6
智利	3	-	-	-	-	2	5
緬甸	3	-	-	-	-	-	3
法國	-	-	3	-	-	-	3
巴拿馬	2	1	-	-	-	-	3
加拿大	1	-	2	-	-	-	3
挪威	3	-	-	-	-	-	3
尼加拉瓜	1	2	-	-	-	-	3
斯里蘭卡	2	-	-	-	-	-	2
巴拉圭	-	2	-	-	-	-	2
丹麥	-	-	2	-	-	-	2
印度	2	-	-	-	-	-	2
巴基斯坦	2	-	-	-	-	-	2
英國	-	-	2	-	-	-	2
阿根廷	2	-	-	-	-	-	2
奧地利	-	-	1	-	-	-	1
宏都拉斯	1	-	-	-	-	-	1
馬爾他	1	-	-	-	-	-	1
韓國	-	-	-	-	-	1	1
厄瓜多	1	-	-	-	-	-	1
南非	-	-	-	-	-	1	1
秘魯	-	-	-	-	-	1	1
巴西	1	-	-	-	-	-	1
總計	161	90	61	3	3	32	350

冠病毒，監測結果與國際組織的說明相符，以實際的科學證據，消除國人對於進口食品安全的疑慮。

參考文獻

- Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). 2023. COVID-19 Dashboard. [https://coronavirus.jhu.edu/map.html].
- Dong, E., Du, H. and Gardner, L. 2020. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *The Lancet Infect Dis.* 20: 30120-30121.
- van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D.H., Holbrook, M.G. and *et al.* 2020. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.* 382: 1564-1567.
- 中央廣播電台。2020。鮭魚被稱北京疫情禍首 挪威：與中國都認為不可能。 [https://www.rti.org.tw/news/view/id/2068518]。
- Liu, P., Yang, M., Zhao, X., Guo, Y. and *et al.* 2020. Cold-chain transportation in the frozen food industry may have caused a recurrence of COVID-19 cases in destination: Successful isolation of SARS-CoV-2 virus from the imported frozen cod package surface. *Biosaf. Health.* 2: 199-201.
- Han, J., Zhang, X., He, S. and Jia, P. 2021. Can the coronavirus disease be transmitted from food? A review of evidence, risks, policies and knowledge gaps. *Environ. Chem. Lett.* 19: 5-16.
- 中國疾病預防控制中心。2020。中國疾病預防控制中心在冷鏈食品外包裝分離到新冠病毒。
- [https://www.chinacdc.cn/yw_9324/202010/t20201017_222144.html]。
- WHO and FAO. 2020. COVID-19 and food safety: guidance for food businesses: interim guidance, 07 April 2020. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331705/WHO-2019-nCoV-Food_Safety-2020.1-eng.pdf].
- FAO. 2021. COVID-19: Guidance for preventing transmission of COVID-19 within food businesses. Updated guidance. Rome. [https://doi.org/10.4060/cb6030en].
- 巫博智、吳明憲、林伯霖、陳昕梅等。2021。SARS-CoV-2核酸國家標準品暨呼吸道病毒套組建立。食品藥物研究年報，12: 108-123。
- 衛生福利部食品藥物管理署。2022。生物性國家標準品暨參考物質供應資訊說明。 [https://www.fda.gov.tw/TC/siteNews.aspx?sid=42&id=15]。
- WHO. 2020. Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf].
- Corman, V.M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R. and *et al.* 2020. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro. Surveill.* 25: 2000045.
- 衛生福利部疾病管制署。2020。SARS-CoV-2 病毒核酸檢測。 [https://www.cdc.gov.tw/En/File/Get/cQ8FwaQ-2Hq1qwgxSId0NQ]。
- Lu, X., Wang, L., Sakthivel, S. K., Whitaker, B. and *et al.* 2020. US CDC Real-Time Reverse Transcription PCR Panel for Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Emerg. Infect. Dis.* 26: 1654-1665.
- Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F. and *et al.*

2020. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 323:1061-1069.
17. Muenchhoff, M., Mairhofer, H., Nitschko, H., Grzimek-Koschewa, N. and *et al.* 2020. Multi-centre comparison of quantitative PCR-based assays to detect SARS-CoV-2, Germany, March 2020. *Euro. Surveill.* 25: 2001057.
18. de Kock, R., Baselmans, M., Scharnhorst, V. and Deiman, B. 2021. Sensitive detection and quantification of SARS-CoV-2 by multiplex droplet digital RT-PCR. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 40: 807-813.
19. Vierbaum, L., Wojtalewicz, N., Grunert, H. P., Lindig, V. and *et al.* 2022. RNA reference materials with defined viral RNA loads of SARS-CoV-2-A useful tool towards a better PCR assay harmonization. *PLoS One.* 17: e0262656.

COVID-19 Virus Surveillance for the surface of Imported Frozen Food Package

YU-CHIH CHEN, SSU-CHIA CHIEN, YU-TING WANG, JING-BO CHOU,
JYUE-WEI CHUANG, CHE-YANG LIN, SHOU-CHIEH HUANG,
SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA, MOHW

ABSTRACT

Studies indicated that the COVID-19 new coronavirus (SARS-CoV-2) can survive on the surface of plastic, cardboard, glass, metal and other materials for more than half an hour or even several days at room temperature. In the mainland China, the SARS-CoV-2 nucleic acid has been detected from the cutting board once used for imported salmon, and from the packaging surface for white leg shrimp from Ecuador, frozen chicken wings and pork from Brazil, frozen pomfret and cuttlefish from India, frozen cod, ice cream, cherries and other imported products. In view of that news of detecting the new coronavirus on the outer packaging of food kept attracting public attention, the Central Epidemic Command Center instructed the Taiwan Food and Drug Administration (TFDA) to initiate a study on SARS-CoV-2 surveillance of imported frozen food package on October 27, 2020. First, frozen meat and aquatic products were monitored from countries with high prevalence of COVID-19. From February 2021, the scope of random inspection was expanded to imported refrigerated and frozen meat, aquatic products and fruits. In August 2021, in order to prevent the invasion of the Delta mutant strain, this study was one of the enhanced surveillance programs for COVID-19, and was later incorporated into the three major routine surveillance of the SARS-CoV-2 in October 2021. The COVID-19 testing methods of the WHO and Taiwan Centers for Disease Control were employed in this study. The sampling on the surface of frozen and refrigerated products packaging at the border was assisted by TFDA Centers for Regional Administration (Northern, Central, Southern). The detection process integrates automated nucleic acid extraction and One-Step qRT-PCR procedures, using SARS-CoV-2 national standards and reference materials for method verification, and the limit of detection (LOD) can reach 12.5 copies of viral nucleic acid. This study was carried from November 6, 2020 to August 31, 2022. A total of 350 batches of products and 1,356 samples from 33 countries were collected and tested. The test results of the COVID-19 virus were all negative.

Key words: frozen food, COVID-19, SARS-CoV-2, food package