

# 防禦李斯特菌

## 感染的第一道防線

### —腸道微生物



資料來源：Neogen Corporation  
文章翻譯：Akisha

對於食品衛生安全專家來說，沒有比「李斯特菌」還要嚇人的！尤其是「單核細胞增生性李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)」，更是造成李斯特菌食品污染事件與回收警訊的頭號罪犯。

食用受到「李斯特菌」污染的食品，將導致誤食者出現嚴重的疾病問題。此外「李斯特菌」亦帶給食品生產製造業者很大的麻煩——它是個強韌且適應力強的微生物，可以在多種不同的環境生存、繁殖，甚至是在濕冷的環境，例如冰箱、冷藏庫！這使得李斯特菌成為食品安全的最大威脅之一，特別是速食、鮮食食品，如袋裝的沙拉、鮮切水果和蔬菜。

在大多數的病例中，李斯特菌食物中毒都是個不太愉快的經驗，對於健康的成年人患者，不需要太多治療便可在幾天內恢復健康，然而，對於嬰幼兒、年長者、孕婦以及免疫功能不全的病患，特別是癌症患者來說，感染李斯特菌

所帶來的危險性更高。

通常，李斯特菌僅會存在於腸胃道中，但在某些嚴重的情況，它們會轉移到身體的其他部位，造成血液中毒、腦膜炎，甚至死亡。然而，近期研究人員發現腸道微生物可以對抗大多數嚴重的感染，這個發現提供了一個以益生菌預防李斯特菌病(*Listeriosis*)發生的新方法。

腸道微生物通常是腸道內一群無害的微生物，他們甚至可以增強免疫反應、阻止有害細菌的生長，對宿主有著非常正面且良好的關係。

研究團隊發現，以抗生素干擾小鼠腸道內的正常微生物菌叢，會使小鼠更容易受到單核細胞增生性李斯特菌的感染，這種影響在免疫系統較弱的小鼠以及接受化療的小鼠身上更為明顯。

研究人員指出，由於免疫力受到化療而下降的影響，某些特定癌症的患者在受李斯特菌感染而產生嚴重疾病的機

率上，甚至比一般健康人有高出1000倍！

當研究人員鑑定出這些對腸道有正面幫助的「好菌」時，他們將這些「好菌」接種到小鼠的腸道內，並且發現這些「好菌」會限制李斯特菌在腸胃道及其他地方繁殖的能力。

因此，研究學者相信，以腸道微生物為基礎所製作出的益生菌，不僅可以幫助癌症病患，同時也會對孕婦及免疫功能不全的患者有著非常大的幫助。

# ANSR® 李斯特菌 快速檢驗系統

Neogen的新產品*Listeria Right Now* 檢測系統利用rRNA偵測技術，在60分鐘內完成李斯特菌的檢驗作業，檢測對象包含具致病性的單胞多核性李斯特菌(*L. monocytogenes*)。

*Listeria Right Now*已獲美國國家衛生基金會(NSF International)的認證，比起其他市售產品，本系統的偵測敏感度更高，比起傳統法，可更快速、有效地檢測出環境中微量但存在的李斯特菌。

除此之外，*Listeria Right Now*也亦於AOAC進行系統的效能評估與認證。

「*Listeria Right Now*的出現將顛覆傳統環境中李斯特菌檢測的方法，現在，業者可以在短時間內取得環境中李斯特菌的檢驗結果，若出現汙染反應，業者便可以在食品生產製造前，即時地進行再清潔作業，避免產品品質或安全出現疑慮。」Neogen食品安全部的副總裁ED Bradley繼續提到，「*Listeria right*

*now*讓食安人員可以快速地判斷、並執行正確且有效的矯正措施，包含廠區環境衛生的清潔與維護。此外，本檢測系統更省去了前增菌培養的步驟，因此可避免病原菌培養而衍生出的其他汙染問題或風險，而業者也無須再為了後續試驗的需要，留存這些可能受汙染的檢體樣品。」除了檢測速度快以外，*Listeria Right Now*的操作也相當簡易，無須專業訓練即可輕鬆上手。

## ANSR® Listeria Right Now作業流程 ▶

以採樣棒進行環境採樣

將採樣棒放入水解緩衝液內，水解菌體、釋出rRNA

以特殊試劑大量複製其李斯特菌rRNA

*Listeria Right Now* 偵測螢光訊號

操作簡單

分生等級

1小時判讀

免培養



# 什麼是ANSR<sup>®</sup>?

**ANSR** 全名為Amplified Nucleic Single Temperature Reaction，又作「新型定溫式核酸增幅反應系統」，本系統以獨家專利技術進行DNA的增幅反應。不同於傳統的PCR，ANSR不需要反覆升溫、降溫的步驟，本系統的反應溫度全程維持定溫56°C，並在此溫度下進行DNA的複製、增幅與放大。因此ANSR可快速放大目標微生物的特定DNA片段。

在短短幾分鐘之內達到可被機器偵測的濃度。反應過程中，特殊的核酸內切酶(endonuclease)會剪切雙股螺旋DNA，產生可供聚合酶(polymerase)作用的切口，進而以聚合酶(polymerase)放大該核酸片段。而這些核酸片段引子上帶有特殊的螢光標記，故可藉由ANSR即時進行目標片段偵測。為特定微生物檢驗提供了一個更準確且快速的檢測方法。

## ANSR<sup>®</sup> Listeria Right Now ▶



### 1 小時就可看結果？怎麼可能？

此系統非常靈敏，他可以檢測環境樣品中微量的李斯特菌，包含單核細胞增多性李斯特菌(*L. monocytogenes*)，且不用進行增菌培養。ANSR與傳統PCR不同的地方在於：

- (1) 此系統無須反覆的升溫、降溫步驟
- (2) 進行即時地螢光偵測
- (3) 本系統的偵測目標為rRNA (ribosomal RNA)！

即時

高濃度

快速

定溫式反應系統

和傳統PCR不同的是，此系統僅需要一個定溫的作用溫度，無須再耗時等待系統反覆升溫、降溫，因此可以大大縮短每次DNA複製、放大所需要的循環時間。

即時地螢光偵測機制

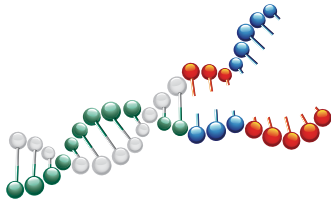
特殊的螢光分子信號(Molecular Beacons)設計，使系統可即時的進行螢光偵測。

系統之偵測目標為rRNA

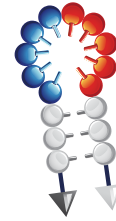
在李斯特菌體內，rRNA的含量約是DNA含量的1,000 – 10,000倍，高濃度的目標分析物，將系統的偵測靈敏度提升到新的層級。

**rRNA約1,000 – 10,000 copies/cell VS. DNA 約1 copy/cell**

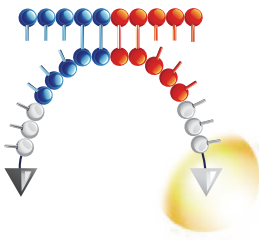
# ANSR<sup>®</sup> 的作用原理



(1) 以特殊的水解試劑釋出目標菌的DNA或RNA



(2) 將ANSR試劑加入經水解的樣品中，內含特定的引子對，數分鐘即可複製出數百萬個目標DNA片段。



(3) 這些複製出的DNA片段會與特殊螢光標誌結合，進而被ANSR判讀機讀取與偵測。



(4) 系統自動顯示檢驗結果：10分鐘取得沙門氏菌、單核細胞增多性李斯特菌、大腸桿菌 O157:H7 的檢驗結果，18分鐘取得其他李斯特菌屬和曲狀桿菌屬的檢驗結果。

## ANSR<sup>®</sup> 更精準、快速的檢測方法

基因檢測等級

檢驗結果更精確

單一循環時間變短、檢測時間更短

在10~32小時內取得食品或環境樣品的完整檢測報告

獲AOAC OMA認證之快速的沙門氏菌確認試驗法

較傳統方法縮短48小時

目標微生物	微生物濃度	反應時間
<i>Salmonella</i> spp., <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> O157:H7	10 <sup>4</sup> cfu/mL	10 分鐘
<i>Listeria</i> spp., <i>Campylobacter</i>	10 <sup>2</sup> cfu/mL	18 分鐘

# 有了ANSR<sup>®</sup> Right Now，你可以：

- (1)省去增菌培養的步驟
- (2)更快速地執行正確的矯正措施——即時的進行再清潔與再檢測
- (3)發現汙染反應當下立即進行調查作業
- (4)更簡單地執行正確的監控作業
- (5)對環境監測的計畫更具彈性並積極掌握
- (6)「省去增菌培養的步驟」——避免廠內暴露在「培養病原菌」的風險中
- (7)「免培養法」——可省去培養樣品溯源、紀錄的需要

## 美國NSF評比報告 ▶

### Listeria Right Now VS. 傳統培養方法

在食品級不鏽鋼表面上接種單胞多核性李斯特菌(*L. monocytogenes*)和其他競爭性微生物，如綠膿桿菌、枯草桿菌和腸球菌，待其部分乾燥後，以採樣棒集進行表面採樣，並分別以LRN (*Listeria Right Now*) & 傳統培養法進行測試，傳統培養法會先在37°C下進行過夜前增菌培養，而LRN的測試中，則在當天進行。

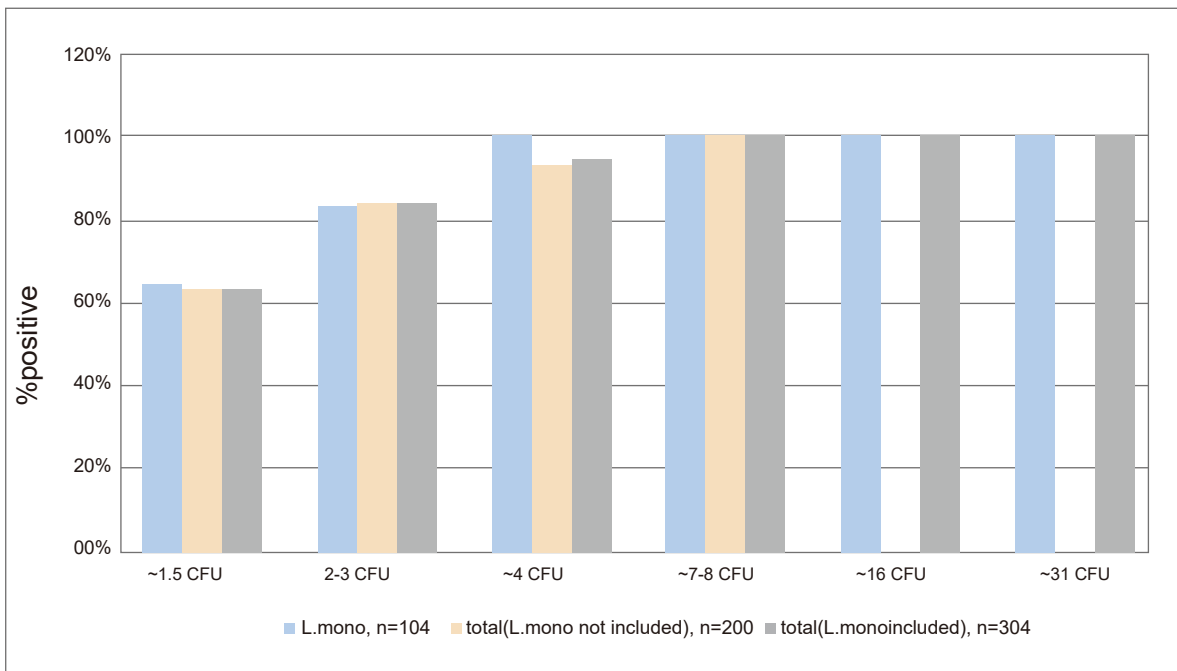
測試結果顯示，LRN靈敏度與傳統隔夜培養法敏感度相同，且並未出現偽陰性、偽陽性或無效測試的反應結果。

ANSR<sup>®</sup> *Listeria Right Now*可在無增菌培養的檢驗流程下，精確地進行環境中李斯特菌的檢測。

—NSF報告評比報告總結(2017)

#### 系統偵測極限

達單一採樣棒上4 CFU *L. monocytogenes*(95%信賴區間)



· Method: Inoculated directly onto swab

· Organisms Tested:

- *L. monocytogenes*
- *L. welshim*
- *L. seeligeri*
- *L. innocua*
- *L. grayi*
- *L. ivanovii*



# NSF國際認證-Listeria Right Now

## 比傳統檢測法速度更快、靈敏度更高

### 環境表面檢測試驗

#### 於不鏽鋼表面上進行*L. monocytogenes* 之敏感度測試

本測試於塗有其他背景微生物之不鏽鋼表面上進行*L. monocytogenes*之敏感度測試，並分為Level 1 = 3 CFU、Level 2 = 9 CFU 及Level 3 = 22.5 CFU(理論值CFU/swab)。在Level 1，LRN的偵測達成率為93%、傳統培養法則為60%；在Level 2 與3中，LRN與傳統培養法之偵測達成率皆相同，達100%；皆無偽陽性、偽陰性或無效反應。

level	Theoretical Inoculum (CFU/swab)	Sample Number	LRN Positive	%LRN Positive	Culture Positive	%Culture Positive
Negative	0	5	0	0%	0	0%
Positive	2.4E+4	5	5	100%	5	100%
L1	3	15	14	93%	9	60%
L2	9	15	15	100%	15	100%
L3	22.5	15	15	100%	15	100%

NOTE :

LRN=*Listeria* Right Now

#### 試驗結果顯示：

ANSR® *Listeria* Right Now的敏感度與傳統培養法相同，甚至高於傳統培養法。



## Listeria Right Now表面採檢確效試驗數據

### 表面採檢確效試驗資料

不同表面上、含/不含背景微生物之測試結果：

Surface type	Trial	Listeria CFU/ swab	N	ANSR Listeria Right Now+	Culture+	dPOD(95% CI)
Stainless	Lm(4b)only	1	15	3	2	0.07(-0.21,0.34)
		2	15	10	7	0.20(-0.14,0.48)
		2438	5	5	5	0(-0.43,0.43)
		0	5	0	0	0(-0.43,0.43)
Stainless steel	Lm(4b)+ background	1.8	20	8	7	0.05(-0.23,0.32)
		1800	5	5	5	0(-0.43,0.43)
		0	5	0	0	0(-0.43,0.43)
Plastic	L. innocua+ background	2.3	20	9	9	0(-0.28,0.28)
		2250	5	5	5	0(-0.43,0.43)
		0	5	0	0	0(-0.43,0.43)
Sealed concrete	L. weishimeri +background	1.2	20	6	11	-0.25(-0.5,0.05)
		1550	5	5	5	0(-0.43,0.43)
		0	5	0	0	0(-0.43,0.43)
Ceramic tile	Lm(1/2a)+ background	1.83	20	14	9	-0.25(-0.05,0.50)
		1930	5	5	5	0(-0.43,0.43)
		0	5	0	0	0(-0.43,0.43)

NOTE :

- dPOD(95% CI)= 測試方法與參考方法之間的差異，又做檢測機率，全名Probability of Detection (95%信賴區間)。
- 為了控制ANSR LRN採樣樣品的濃度，本系統是以採樣棒進行採檢，而非海綿進行採檢。
- ANSR LRN亦通過殘留清潔劑干擾測試，殘留之清潔劑不會對系統的偵測極限造成影響。
- ANSR LRN僅適用於環境採樣，但非用於食品樣品之檢測。



# ANSR<sup>®</sup> Listeria Right Now

## 產品介紹 (No. 9837)

- 16孔定溫核酸增幅反應儀 (16-well, isothermal polymerization instrument)
- ANSR<sup>®</sup> Listeria Right Now檢測軟體 (ANSR<sup>®</sup> Listeria Right Now detection software)
- 加熱板2個 (Two heater blocks)

## 配件套組(No. 9873)

- 96管反應管·附正對照組 (96 reaction tubes with internal positive control)
- 96支環境樣品採集棒 (96 environmental sampling swabs)
- 其他所需之配件

## 簡易操作5步驟

- Step1** | 表面採樣。
- Step2** | 將採樣棒放入微量離心管(Eppendorf tube)、加入水解緩衝液(lysis buffer)。
- Step3** | 取水解液至微量管(cluster tube)內，並置於第一個加熱板插槽內。
- Step4** | 再將微量管(cluster tube)移置於第二個加熱板插槽內。
- Step5** | 取適量反應液至試劑管(reagent tube)內、鎖蓋、置入分析儀內，按下「START」。

What if we told you  
**Listeria** detection  
was possible in  
less than 60 minutes  
without enrichment?



Simple and Easy to Use