

有機農場中大腸桿菌群與沙門氏桿菌之調查

陳淑娟 陳麗淑 柯伯宗 羅致逵*

農委會農業藥物毒物試驗所

(接受刊載日期: 中華民國一〇三年七月二十五日)

四個有機農場 (1~4) 共抽檢 13 個蔬菜樣品, 有 12 個樣品含有大腸桿菌群 (92.3%), 七個含有大腸桿菌 (53.8%)。九個土壤樣品中有七個含有糞生大腸桿菌群 (77.7%)。六個灌溉水樣品中有三個含有大腸桿菌群 (50%), 三個含有糞生大腸桿菌 (50%), 所有 28 個樣品中均無沙門氏桿菌之檢出。

關鍵字: 大腸桿菌群, 糞生大腸桿菌, 大腸桿菌, 沙門氏菌, 最確數。

Detection of Coliforms and *Salmonella* sp. in the Organic Farms

Shu-Chuan Chen, Li-Shu Chen, Ba-Zong Ke and Chi-Chu Lo*

Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture,
11, Kuang-Ming Road, Wufong, Taichung County, Taiwan, ROC.

(Accepted for publication: July 25, 2014)

Investigations of coliforms and *Salmonella* sp. in the vegetables, soil and water samples from four organic farms were conducted. Thirteen vegetable samples were analyzed, and 12 samples were contaminated with coliforms (92.3%), and 7 samples were contaminated with *E. coli* (53.8%). Seven farmland soil samples out of nine were contaminated with fecal coliforms (77.7%). Six irrigating water samples were analyzed, and 3 samples were contaminated with coliforms (50%), and three samples were contaminated with fecal coliforms (50%). No *Salmonella* sp. were detected in all 28 samples collected.

Key words: Coliforms, Fecal coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., MPN.

前 言

有機農業操作不能使用化學肥料, 因此需使用堆肥以促使蔬果生長良好。但如堆肥製作不謹慎, 對人致病之病原菌可能仍存活, 一旦施用後即會附著在新鮮蔬果上繼續生長造成中毒。依國外的調查顯示堆肥中有致病菌存在⁽¹⁾, 且綠葉菜類是最容易受污染的食物, 包括國人常吃的高苣及菠菜。在 2011 年四月德國發生的芽菜含 0104:H4 型大腸桿菌事件⁽²⁾, 造成 50 人死亡。2011 年七月美國也發生哈密瓜 (Cantaloupes) 含李斯特菌 (*Listeria* sp.)⁽³⁾, 導致 30 人死亡。國內自民國 70 年至 101 年國內食品中毒者共 110,869 人, 其中細菌性食源性中毒事件共 2,468 件等⁽⁴⁾, 均顯示上市前的田間蔬果安全檢測與管理之重要性。

堆肥如以禽畜糞為原料, 在正確的堆肥過

程中, 通常病原菌會因熱與高溫而消失。但如操作不謹慎, 仍可能會有少量或部份的病原菌存活, 若施用後附著在新鮮蔬果上繼續生長, 便有可能會造成中毒。現階段並無有效的方法可從生鮮蔬果將病原菌去除, 因此應從源頭農地栽種環境及收穫後處理等做好管控。

致病性大腸桿菌 0157:H7 可存在於健康牛隻的糞便中, 比例可至 10-25%⁽⁵⁾, 在健康的豬糞中出現的比例在 0.4% 至 7.5%⁽⁶⁾。Islam 等人⁽⁷⁾ 將高苣 (Lettuce) 與香菜 (Parsley) 種植在含有 *E. coli* 0157:H7 菌之家禽糞堆肥 (Poultry manure compost) 及乳牛糞堆肥 (Dairy manure compost) 之土壤中, 發現病菌可存活在土中 154-217 天, 在高苣上可存活 77 天, 在香菜上可存活 177 天。Solomon 等人⁽⁸⁾ 亦發現如蔬菜生長於不良的糞堆肥 (Composted manure) 中, 就會含有致病的大腸桿菌, 且可在高苣上存活 20

* Corresponding author. E-mail: lcc@tactri.gov.tw

天以上。Solomon等人⁽⁹⁾發現施用含致病菌的糞肥於土中或水中，而在所種植萵苣的內層中發現活的致病菌細胞，並證明致病菌可由根部侵入後移至萵苣可食部位。

沙門氏菌可在牛糞肥(Bovine manure)和濕土中分別存活三至五星期⁽¹⁰⁾及45天⁽¹¹⁾。Natvig等人⁽¹²⁾研究發現在牛糞肥添加沙門氏菌血清型Typhimurium (*Salmonella enterica* serovar Typhimurium)，如在平均日溫20℃以上施用，則可污染生長於其中的蔬菜根與葉(蘿蔔及紅蘿蔔)；但如在平均日溫小於10℃以下時施用，則不會造成生長於其中的蔬菜遭致病菌污染。Islam等人⁽¹³⁾將沙門氏菌血清型Typhimurium加入三種禽畜糞堆肥(Poultry manure compost, PM-5, pH 8.1; dairy cattle manure compost 338, pH 8.7; 鹼pH穩定型dairy cattle manure compost, NVIR0-4, pH 7.5)及灌溉水中(10^7 cfu/g糞肥, 10^5 cfu/mL水)。經種植蘿蔔與紅蘿蔔後，發現本菌可在土中存活至少203-231天，在蘿蔔上存活84天，紅蘿蔔203天。Dong等人⁽¹⁴⁾研究指出*Salmonella*細菌可在苜蓿(Alfalfa)之初芽內層形成菌落，而此內層菌落可能是土中致病菌經側根侵入。

台灣目前有機農戶約有3,317戶，有機農產品業者約有1,621家⁽¹⁵⁾。因此本研究室針對有機農場的生食性蔬果，進行人畜共通致病菌檢驗。共抽檢四家有機農場及一家傳統農場，樣品包含蔬果和農地與灌溉水。檢驗方法以官方的方法為主要依據，並作必要之簡化修正。例如蔬果中致病菌檢驗以食管署方法⁽¹⁶⁻¹⁸⁾，灌溉水依環保署的方法⁽¹⁹⁻²¹⁾，土壤依美國環保署的堆肥方法^(22, 23)進行檢測。樣品的致病菌含量標準亦以相關單位的限值為標準(表一)。糞生大腸桿菌與大腸桿菌之檢測依不同主管機關要求進行。蔬菜檢測大腸桿菌群與大腸桿菌，不檢

測糞生大腸桿菌；土壤檢測糞生大腸桿菌與沙門氏桿菌，不檢測大腸桿菌群與大腸桿菌。

材料與方法

一、樣品來源

1. 有機農場：花蓮地區二家，桃園地區一家，高雄地區一家。
2. 傳統農場：南投地區一家。

二、檢驗法

1. 蔬菜：每批樣品約300 g。大腸桿菌群與大腸桿菌以MPN計數菌量，沙門氏菌則為定性檢驗。

(a)大腸桿菌群之檢驗⁽¹⁶⁾：

將檢體切碎混合均勻後，取50 g，加入稀釋液450 mL，混合均勻，作為10倍稀釋檢液。吸取上述之10倍稀釋檢液依序作成100倍、1,000倍、10,000倍等一系列稀釋檢液。推定試驗：將稀釋檢液充分混合均勻後，分別吸取1 mL接種於已裝有硫酸月桂酸胰化蛋白胨培養液(LST)試管中，每稀釋檢液各接種三支(稱三階三支)，於35℃培養24 ± 2小時，觀察是否產生氣體；未產生氣體者，繼續培養24小時。若仍無氣體產生，為大腸桿菌群陰性；產生氣體者，為可疑大腸桿菌群陽性。確定試驗：由LST產生氣體之各試管中取一白金耳量培養液，接種於另一支煌綠乳糖膽汁培養液(BGLB)於35℃培養24 ± 2小時，觀察是否產生氣體；未產生氣體者，繼續培養24小時，若仍無氣體產生即為大腸桿菌群陰性；產生氣體者，判定為大腸桿菌群陽性。最確數

表一 食媒性病原菌限量標準

Table 1. Standards for food-borne pathogens

Sample	Standards for pathogens
Crops eaten raw	TFDA (Taiwan): coliforms 10^3 MPN/g; <i>E. coli</i> 10 MPN/g ¹
Irrigation water	1. USEPA : fecal coliforms 10^3 MPN/100 mL ² 2. MAFF (Canada) ³ : irrigation general : <i>E. coli</i> $1,000$ cfu/100 mL; fecal coliforms $1,000$ cfu/100 mL irrigation of crops eaten raw : <i>E. coli</i> 77 cfu/100 mL; fecal coliforms 200 cfu/100 mL 3. MAFF (Canada) ³ : crop washing : <i>E. coli</i> 0 cfu/100 mL; fecal coliforms 0 cfu/100 mL

¹中華民國102年08月20日部授食字第1021350146號令。

²USEPA (1972). Water Quality Criteria-1972. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

³Treating Irrigation and Crop Wash Water for Pathogens. Water Quality (British Columbia, MAFF, Canada, 2003).

(Most probable number, MPN)：由BGLB確定為大腸桿菌群陽性者推算各階LST大腸桿菌群陽性之試管數，利用最確數表⁽¹⁶⁾，推算大腸桿菌群之最確數(MPN/g或MPN/mL)。

(b)大腸桿菌之檢驗⁽¹⁷⁾：

先適當切碎，混合均勻後，稱取50 g加入稀釋液450 mL，以鐵胃搓揉二分鐘，即為10倍稀釋檢液。吸取上述之10倍稀釋檢液10 mL依序作成100倍、1,000倍、10,000倍等一系列稀釋檢液。推定試驗：將檢體原液混合均勻後，分別自原液或10倍稀釋檢液起之三個連續稀釋倍數檢液中吸取1 mL接種於裝有LST培養液10 mL的試管中，每一稀釋倍數接種三支，於35°C培養24 ± 2小時，觀察是否產氣；未產生氣體者繼續培養24小時。仍無氣體產生者，即為大腸桿菌陰性；產生氣體者則疑為大腸桿菌陽性。鑑別試驗：產生氣體之每一試管中取一接種環量之培養菌液接種於大腸桿菌肉羹培養液(EC培養液)中，於45.5°C有蓋水浴箱中培養24 ± 2小時，觀察是否產生氣體，未產生氣體者繼續培養24 ± 2小時。仍無氣體產生即為大腸桿菌陰性，產生氣體者疑似大腸桿菌陽性。產生氣體之每一試管中取一接種環量之培養菌液，在伊紅亞甲藍培養基(L-EMB培養基)表面劃線後，於35°C培養18-24小時，觀察所形成菌落之形態，典型大腸桿菌菌落中央呈黑色，扁平，帶有或不帶有金屬光澤。自每一片L-EMB培養基上取二個可疑菌落移殖於平板計數培養基(PCA培養基)斜面上，35°C培養18-24小時，以進行形態確認及生化試驗。

最確數：判定為大腸桿菌陽性菌落，反推回確實產氣且含大腸桿菌之EC培養液產氣試管數，利用最確數表⁽¹⁷⁾，推算出大腸桿菌之最確數(MPN/g或MPN/mL)。

(c)沙門氏菌之檢驗⁽¹⁸⁾：

增量培養：檢體為塊狀或丁狀時，以無菌操作稱取檢體25 g，添加蛋白胨緩衝液(Buffered peptone water, BPW) 225 mL，均質二分鐘，並於35°C培養24 ± 2小時後，供作檢液。選擇性增菌培養與分離：吸取檢液0.1 mL至沙門氏菌增菌培養液(RV培養液)10 mL中混合均勻。將RV培養液置於42°C水浴培養24 ± 2小時。分離培養：分別自RV增菌培養液中取一接種環量，在木糖離胺酸去氧膽酸鹽培養基(XLD培養基)表

面作劃線後，於35°C培養24 ± 2小時，觀察所形成菌落型態。自XLD培養基中各挑二個或二個以上之典型菌落，每一菌落同時接種於三糖鐵培養基(TSI)及離胺酸鐵培養基(LIA斜面培養基)，並同時進行斜面劃線及穿刺接種。將已接種菌之TSI及LIA斜面培養基於35°C培養24 ± 2小時。典型沙門氏桿菌在TSI培養基斜面呈紅色反應(鹼性)，底部呈黃色(或無色)反應(酸性)，有培養基顏色變黑或無硫化氫產生；在LIA培養基之底部呈紫色反應(鹼性)，大多數沙門氏桿菌在LIA培養基會產生硫化氫而呈黑色。凡是在LIA斜面培養基底部產生鹼性的菌株須保留作生化試驗；在LIA培養基底部產生酸性且在TSI斜面培養基產生鹼性斜面及酸性底部者亦須保留菌株作生化。

2. 土壤：先去除地面作物殘株或雜草，以滅菌之鏟子採集，每一採樣點以植株為中心採集三個小點(每一小點約300 g混合土壤)，混合成一個組合樣本以供分析。每一樣本，裝入夾鏈袋後，註明採樣日期，GPS定位及採樣編號。遠距離採集土壤時將土壤置於冰上，使用宅急便低溫(4°C)運送回實驗室。檢驗糞生大腸桿菌、沙門氏菌等二種項目。

(a)糞生大腸桿菌：依USEPA方法⁽²²⁾方法進行。稱取30 ± 0.1 g樣品，加入含有270 mL無菌磷酸鹽緩衝稀釋操作液，混合均勻，作為已均質之樣品(Homogenized sample為10倍均質檢液)。系列稀釋成100倍、1,000倍、10,000倍等一系列稀釋檢液。推定試驗(LTB培養基，35 ± 0.5°C)，觀察是否產氣體；產生氣體者推定為糞生大腸桿菌群陽性。有氣體產生之樣品再以EC培養基做確定試驗(44.5 ± 0.2°C)，如有氣體生成則確定試驗為陽性反應。再由EC培養基確定為糞生大腸桿菌群陽性者計數各階LTB培養基中大腸桿菌群陽性之試管數，利用最確數表⁽²²⁾，推算大腸桿菌群之最確數(MPN/g或MPN/mL)。

(b)沙門氏菌：依USEPA方法⁽²³⁾方法進行，稱取30.0 ± 0.1 g樣品，加入含有270 mL無菌緩衝稀釋液之混合瓶，混合均勻，作為已均質之樣品(10倍稀釋檢液)。以三階五重複分析2.0, 1.0, 和0.1 g的原始樣本(Original sample)(20.0, 10.0, 和1.0 mL之已均質樣品)。增量培養液為胰化酪蛋白大豆培養液(TSB培養液)(36 ± 1.5°C，24 ± 2小時)。鑑定培養基為改良式半固態RV培養基(MSRV培

養基) $(42 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 培養16-18小時)。若出現直徑大於20 mm灰白色半透明生長圈之檢體即判為陽性檢體。陽性之檢體鉤取定量培養基劃到木糖離胺酸去氧膽酸鹽培養基(XLD agar)上，於 37°C 恆溫培養箱中培養24小時，觀察所形成菌落型態，進行生化確認⁽²³⁾，如為陽性菌，則以MPN計數。

3. 灌溉水：將採樣器容器以擬採之水樣洗滌二、三遍後，採取表面水體下15公分之水樣(200 mL \times 3)，裝入樣品容器。經處理後進行大腸桿菌群、糞生大腸桿菌群與沙門氏桿菌等三種項目。

(a) 大腸桿菌群⁽¹⁹⁾：試驗分兩階段進行。推定試驗：水樣在進行檢測或稀釋之前必須劇烈搖晃25次以上，以使樣品充分混搖均勻。使用無菌吸管吸取10 mL水樣至90 mL無菌稀釋液中，形成10倍稀釋度水樣，混合均勻，而後自10倍稀釋度水樣以相同操作方式進行一系列適當之100、1,000、10,000倍等稀釋水樣。以無菌吸管分別取各稀釋度10 mL水樣至內含10 mL二倍濃度的LST試管中，在 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 培養箱中培養 48 ± 3 小時，觀察並記錄發酵情形，若有氣體產生則推定試驗為陽性反應，若無氣體產生則推定試驗為陰性反應。確定試驗：利用無菌接種環自產生氣體以及混濁之LST培養基試管中，接種一圈培養液至BGLB培養基試管中，在 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 培養箱中培養 48 ± 3 小時。在 48 ± 3 小時內，BGLB培養基試管如有氣體產生，則確定試驗為陽性反應。經確定試驗確認BGLB試管為陽性反應後，應以「100 mL水中最大可能數(MPN/100 mL)」計算及記錄。

(b) 糞生大腸桿菌群⁽²⁰⁾：

水樣取回後，先進行水樣稀釋步驟，分別使用滅菌過之吸管依序做成一系列適當之10倍、100倍、1,000倍、10,000倍等稀釋水樣，並混搖均勻。進行每一稀釋步驟時，應取10 mL水樣至90 mL無菌稀釋水中。推定試驗：將10 mL水樣接種在含LST培養基之試管中，每一稀釋濃度各做五支，在 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 培養箱中培養 24 ± 2 小時觀察並記錄發酵情形。若無氣體產生，在 48 ± 3 小時後再檢查一次。若仍無氣體產生則推定試驗為陰性反應，若有氣體產生則推定試驗為陽性反應。確認試驗：以接種環自產生氣體之LST試管接種一圈液體至內含EC培養基之試管中，在 $44.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水浴槽中

培養 24 ± 2 小時。在 24 ± 2 小時內，內含EC培養基試管如有氣體產生，則確定試驗為陽性反應。完成試驗：以接種環自產生氣體之內含EC培養基之試管中沾取菌液，於含LES遠藤瓊脂(LES Endo Agar)之培養皿平面上劃線，倒置於 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 培養箱內培養 24 ± 2 小時，形成之菌落相互距離至少在0.5 cm以上。由上述LES Endo Agar培養皿內挑取典型的大腸桿菌群菌落(粉紅色或暗紅色且具金屬光澤者)一或一個以上，以傳統方法或已商品化的套組或鑑定儀器鑑定之。

(c) 沙門氏桿菌⁽²¹⁾：增量培養液為胰化酪蛋白大豆培養液(TSB培養液)，取水樣加入TSB培養液中進行增量培養($36 \pm 1.5^\circ\text{C}$ ， 24 ± 2 小時)。鑑定培養基為改良式半固態RV培養基(MSRV培養基) $(42 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 培養16-18小時)。若出現直徑大於20 mm灰白色半透明生長圈之檢體即判為陽性檢體。陽性之檢體鉤取定量培養基劃到木糖離胺酸去氧膽酸鹽培養基(XLD agar)上，於 37°C 恆溫培養箱中培養24小時，觀察所形成菌落型態，進行生化確認，如為陽性菌，則以MPN計數。

結果與討論

一、有機農場1：

其致病菌含量如表二所示。結果顯示苦瓜(Balsam pear)中含大腸桿菌群為23 MPN/g，不含大腸桿菌與沙門氏桿菌，符合生食限量標準(表一)。胡蘿蔔(Carrot)中含大腸桿菌群高於1,000 MPN/g，大腸桿菌為13 MPN/g，皆高於限量標準(表一)，但不含沙門氏桿菌。種植苦瓜之土壤中含糞生大腸桿菌群為2.0 MPN/g，不含沙門氏桿菌。種植胡蘿蔔之土壤中含糞生大腸桿菌為24 MPN/g，不含沙門氏桿菌。灌溉水中大腸桿菌群為 2.4×10^4 - 1.1×10^5 MPN/100 mL，糞生大腸桿菌為 3.1 - 3.3×10^3 MPN/100 mL，雖不含沙門氏桿菌，但其菌量不符合美國和加拿大之限量標準(表一)。

二、有機農場2：

為放養禽畜之有機農場，其致病菌含量如表三所示。結果顯示經調查結果顯示萵苣中大腸桿菌群高於1,000 MPN/g，大腸桿菌為348 MPN/g，皆高於限量標準(表一)，不含沙門氏

表二 有機農場1中致病菌之檢驗結果

Table 2. Pathogens detected in organic farm No. 1.

Sample	Coliforms (MPN/g)	Fecal coliforms (MPN/g)	<i>E. coli</i> (MPN/g)	<i>Salmonella</i> sp.
Balsam pear	23	— ¹	ND ²	ND
Carrot	> 1100	—	13	ND
Soil from balsam pear field	—	2.0	—	ND
Soil from carrot field	—	24	—	ND
Irrigation water 1 (river)	1.1×10^5 (MPN/100 mL)	3.1×10^3 (MPN/100 mL)	—	ND
Irrigation water 2 (river)	2.4×10^4 (MPN/100 mL)	3.3×10^3 (MPN/100 mL)	—	ND

¹—: not conducted.²ND : non-detectable.

表三 有機農場2中致病菌之檢驗結果

Table 3. Pathogens detected in organic farm No. 2.

Sample	Coliforms (MPN/g)	Fecal coliforms (MPN/g)	<i>E. coli</i> (MPN/g)	<i>Salmonella</i> sp.
lettuce	> 1100	— ¹	3.5×10^2	ND
Balsam pear	3.6	—	ND ²	ND
Balsam pear with soil	> 1100	—	1.8×10^2	ND
Soil from lettuce field	—	2.2×10^2	—	ND
Soil from balsam pear field	—	70	—	ND
Soil with chicken feces	—	> 1609	—	ND
Blank soil	—	9.2×10^3	—	ND
Groundwater 1	—	ND (MPN/100 mL)	—	ND
Groundwater 2	—	ND (MPN/100 mL)	—	ND
Groundwater 3	—	ND (MPN/100 mL)	—	ND

¹—: not conducted.²ND : non-detectable.

桿菌。苦瓜中大腸桿菌群為3.6 MPN/g，不含大腸桿菌與沙門氏桿菌，符合生食性限量標準(表一)。苦瓜(表面帶有土壤)中大腸桿菌群為高於1,000 MPN/g，大腸桿菌175 MPN/g，皆高於限量標準(表一)。種植萵苣之土壤中糞生大腸桿菌為221 MPN/g，不含沙門氏桿菌。種植苦瓜之土壤中糞生大腸桿菌為70 MPN/g，不含沙門氏桿菌。含糞土中糞生大腸桿菌為1,609 MPN/g，不含沙門氏桿菌。

三、有機農場3：

為放養禽畜之有機農場，其致病菌含量如表四所示。結果顯示其小黃瓜(Cucumber)中無大腸桿菌群，大腸桿菌與沙門氏桿菌之檢出，符合生食限量標準(表一)。小黃瓜(表面帶有土壤)中大腸桿菌群為 2.1×10^3 MPN/g，高於衛

生標準，不含大腸桿菌與沙門氏桿菌。苦瓜與苦瓜表面帶有土壤之苦瓜中大腸桿菌群為4-8 MPN/g，均不含大腸桿菌與沙門氏桿菌，符合生食限量標準(表一)。種小黃瓜土中含有糞生大腸桿菌為13 MPN/g，不含沙門氏桿菌。種苦瓜土中糞生大腸桿菌與沙門氏桿菌均未檢出。灌溉水中含大腸桿菌群為13 MPN/100 mL與糞生大腸桿菌群為3 MPN/100 mL，但不含沙門氏桿菌，均符合美國和加拿大之用於生食性作物灌溉水之限量標準(表一)。有機農場3之灌溉水與農地土壤致病菌含量均低，僅小黃瓜(表面帶有土壤)部份高達 2.1×10^3 MPN/g，原因不明，將繼續追蹤，探討可能的原因。

四、有機農場4：

其致病菌含量如表五所示。結果顯示油

表四 有機農場3中致病菌之檢驗結果

Table 4. Pathogens detected in organic farm No. 3.

Sample	Coliforms (MPN/g)	Fecal coliforms (MPN/g)	<i>E. coli</i> (MPN/g)	<i>Salmonella</i> sp.
Cucumber	ND	— ¹	ND ²	ND
Cucumber with soil	2.1×10^3	—	ND	ND
Balsam pear	4	—	ND	ND
Balsam pear with soil	8	—	ND	ND
Soil from cucumber field	—	13	—	ND
Soil from balsam pear field	—	ND	—	ND
Blank soil	—	ND	—	ND
Groundwater	13 (MPN/100 mL)	3 (MPN/100 mL)	—	ND

¹—: not conducted.²ND: non-detectable.

表五 有機農場4中致病菌之檢驗結果

Table 5. Pathogens detected in organic farm No. 4.

Sample	Coliforms (MPN/g)	<i>E. coli</i> (MPN/g)	<i>Salmonella</i> sp.
Rapeseed	2.4×10^2	ND ¹	ND
Amaranth green	93	ND	ND
Water spinach	1.1×10^3	3.0	ND
Green onion	> 1100	< 3.0	ND

¹ND: non-detectable.

菜(Rapeseed)與莧菜(Amaranth green)中大腸桿菌群分別為240 MPN/g與93 MPN/g，不含大腸桿菌，皆符合限量標準(表一)。空心菜(Water spinach)與青蔥(Green onion)中大腸桿菌群分別為1,100 MPN/g與>1,100 MPN/g，皆高於衛生標準，大腸桿菌分別為3.0 MPN/g與<3.0 MPN/g，不含沙門氏桿菌。

五、傳統農場：

其致病菌含量如表六所示。結果顯示油菜中大腸桿菌群為150 MPN/g，不含大腸桿菌與沙門氏桿菌。空心菜與白菜(Chinese cabbage)中

大腸桿菌群高於1,100 MPN/g，不含大腸桿菌與沙門氏桿菌。顯示大腸桿菌群也可能普遍存在於傳統農業操作區中。

Loncarevic等人⁽²⁴⁾調查挪威12家有機農場所生產的萵苣，發現在179個樣品中，有16件含大腸桿菌，其中有12件含量低於100 CFU/g。出血性大腸桿菌與沙門氏桿菌則未檢出，但李斯特菌則在二個有機農場所生產的萵苣中檢出，顯示在有機農業操作時，要注意大腸桿菌與李斯特菌之污染。

Johnston等人⁽²⁵⁾調查美國國內與進口之新鮮農產品食媒性病原菌之污染情形(共466件)，結果顯示大腸桿菌群含量在1.0-4.5 log

表六 傳統農場中致病菌之檢驗結果

Table 6. Pathogens detected in a traditional farm

Sample	Coliforms (MPN/g)	<i>E. coli</i> (MPN/g)	<i>Salmonella</i> sp.
Rapeseed	1.5×10^2	ND ¹	ND
Water spinach	> 1100	ND	ND
Chinese cabbage	> 1100	ND	ND

¹ND: non-detectable.

CFU/g以下，大腸桿菌含量在1.0-4.0 log CFU/g以下，腸球菌(*Enterococcus*)含量在1.0-5.4 log CFU/g以下。無沙門氏桿菌、志賀菌與出血性大腸桿菌O157:H7等菌。但李斯特菌則在43個美國國內生產的大白菜中檢出，檢出率為7%。顯示對新鮮農產品中加強李斯特菌之調查重要性。

Mukherjee等人⁽²⁶⁾調查明尼蘇達洲(Minnesota)的32家有機農場及八家傳統農場中蔬果致病菌含量，有機農場共採476個樣品，傳統農場共採129個樣品。所有的有機農場均使用禽畜糞堆肥。大腸桿菌群平均含量為2.9 log MPN/g，大腸桿菌出現頻率為9.7% (有機農場)與1.6% (傳統農場)。在所有蔬果中以有機萵苣出現頻率最高(22.4%)。使用新鮮堆肥(年齡一年以下)的農場，大腸桿菌含量比使用舊堆肥(年齡一年以上)的高19倍。出血性大腸桿菌未檢出，但有機萵苣與有機青椒各有一件含沙門氏桿菌。

Mukherjee等人⁽²⁷⁾在2003至2004年共調查明尼蘇達洲(Minnesota)的14個有機農場(認證)、30個半有機農場(Semiorganic farms，有機操作，但未認證)，及19個傳統農場，共分析了採收前期(preharvest)的蔬果樣品共2029件(有機473件，半有機911件，及傳統645件)，結果顯示三種型式的農業操作在含菌量上差異不大，均含有大腸桿菌群(Coliforms)，平均含量為1.5至2.4 log MPN/g。也均不含沙門氏桿菌與出血性大腸桿菌O157:H7。大腸桿菌檢出率為8%，主要出現在萵苣與大白菜。

本次對台灣有機農場之病原菌調查中發現大腸桿菌群普遍存在於有機蔬菜與傳統蔬菜樣品中，糞生大腸桿菌群也存在於大部份土壤樣品中。大腸桿菌群與糞生大腸桿菌群亦大量存在於河水中，而在地下水中則未檢出，或少量存在。

結 論

四個有機農場(1-4)共抽檢13個蔬菜樣品，有12個樣品含有大腸桿菌群(92.3%)，七個含有大腸桿菌(53.8%)。九個土壤樣品中，其中有七個含有糞生大腸桿菌群(77.7%)。六個灌溉水樣品中，其中三個含有大腸桿菌群(50%)，三個含有糞生大腸桿菌(50%)，所有樣品均無沙門氏桿菌之檢出。

本調查結果是台灣第一個對有機農場進行

致病菌調查的研究，目的是期望瞭解上市前有機農產品中致病菌的含量。但在調查時發現有些有機農場會配合調查，但有更多的有機農場不同意進入採樣，導致可調查的農場數目有限，較難比較各農場結果，而得到較明確之結論。因此將持續與這些有機農場溝通，增加同意調查的意願，以了解致病菌種類與分佈，協助控管農場中生食性蔬果安全。在檢測方法中也發現沙門氏桿菌在檢驗過程中需注意偽陽性之鑑定以免誤判。

未來將繼續增加有機農場與傳統農場中致病菌之調查種類與數量，例如李斯特菌。同時也將發展較快速的PCR檢驗方法，以提供更多農民與相關業者在農產品與農業資材中致病菌之篩檢服務，提供更安全的農產品與商品價值，協助農業的永續經營。

參 考 文 獻

- (1) J. E. Smith and J. M. Jr., Perdek: Assessment and management of watershed microbial contaminants. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, **33**: 1-27 (2003).
- (2) World Health Organization Regional Office for Europe. Outbreaks of *E. coli* O104:H4 infection: update 30. 22 July 2011. [Accessed 29 July 2011]. Available at: <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/emergencies/international-health-regulations/news/news/2011/07/outbreaks-of-e.-coli-o104h4-infection-update-30>
- (3) Centers for Disease Control and Prevention. 2011. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms, Colorado. [http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/120811/index.html].
- (4) 衛生福利部食品藥物管理署，食品中毒發生與防治年報，<http://www.fda.gov.tw/upload/133/201312161503377774.pdf>
- (5) J. Van Donkersgoed, T. Graham and V. Gannon: The prevalence of verotoxins, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella* in the feces and rumen of cattle at processing. *Can. Vet. J.*, **40**: 332-338 (1999).
- (6) S. C. Read, C. L. Gyles, R. C. Clarke, H. Lior and S. McEwen: Prevalence of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in ground beef, pork, and chicken in southwestern Ontario. *Epidemiol. Infect.*, **105**: 11-20 (1990).
- (7) M. Islam, M. P. Doyle, S. C. Phatak, P. Millner and X. Jiang: Persistence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *J. Food Prot.*, **67**: 1365-1370 (2004).
- (8) E. B. Solomon, C. J. Potenski and K. R. Matthews: Effect of irrigation method on transmission to and persistence of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *J. Food Prot.*, **65**: 673-676 (2002a).
- (9) E. B. Solomon, S. Yaron and K. R. Matthews: Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from

- contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**: 397-400 (2002b).
- (10) S. Himathongkham, S. Bahari, H. Riemann and D. Cliver: Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in cow manure and cow manure slurry. *FEMS Microbiol. Lett.*, **178**: 251-257 (1999a).
- (11) X. Guo, J. Chen, R. E. Brackett and L. R. Beuchat: Survival of *Salmonella* on tomatoes stored at high relative humidity in soil, and on tomatoes in contact with soil. *J. Food Prot.*, **65**: 274-279 (2002).
- (12) E. E. Natvig, S. C. Ingham, B. H. Ingham, L. R. Cooperband and T. R. Roper: *Salmonella enterica* serovar typhimurium and *Escherichia coli* contamination of root and leaf vegetables grown in soils with incorporated bovine manure. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**: 2737-2744 (2002).
- (13) M. Islam, X. Jiang, P. Millner, S. C. Phatak, M. P. Doyle and J. Morgan: Fate of *Salmonella enterica* serovar typhimurium on carrots and radishes grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**: 2497-2502 (2004).
- (14) Y. Dong, A. L. Iniguez, B. M. Ahmer and E. W. Triplett: Kinetics and Strain Specificity of Rhizosphere and Endophytic Colonization by Enteric Bacteria on Seedlings of *Medicago sativa* and *Medicago truncatula*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**: 1783-1790 (2003).
- (15) 有機農業全球資訊網, 2013。
- (16) 衛生福利部食品藥物管理署: 食品微生物之檢驗方法-大腸桿菌群之檢驗。部授食字第1021950329號公告修正(2013)。
- (17) 衛生福利部食品藥物管理署: 食品微生物之檢驗方法-大腸桿菌之檢驗。部授食字第1021951163號公告修正(2013)。
- (18) 衛生福利部食品藥物管理署: 食品微生物之檢驗方法-沙門氏菌之檢驗。部授食字第1021951187號公告修正(2013)。
- (19) 行政院環境保護署: 水中大腸桿菌群檢測方法-多管發酵法。96年11月29日環署檢字第0960091685號公告, NIEA E201.54B (2007)。
- (20) 行政院環境保護署: 水中糞生大腸桿菌群(Fecal coliform)檢測方法-多管發酵法。87年12月11日環署檢字第82959號公告, NIEA E213.02C (1998)。
- (21) USEPA Method 1200: Analytical Protocol for Non-Typhoidal *Salmonella* in Drinking Water and Surface Water.
- (22) USEPA Method 1680: Fecal coliforms in sewage sludge (Biosolids) by Multipletube fermentation using Lauryl Tryptose Broth (LTB) and EC Medium.
- (23) USEPA Method 1682: *Salmonella* in sewage sludge (biosolids) by Modified Semisolid Rappaport-Vassiliadis (MSRV) medium.
- (24) S. Loncarevic, G. S. Johannessen and L. M. Rørvik: Bacteriological quality of organically grown leaf lettuce in Norway. *Lett. Appl. Microbiol.*, **41**: 186-189 (2005).
- (25) L. M. Johnston, L.-A. Jaykus, D. Moll, J. Anciso, B. Mora and C. L. Moe: A field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin. *Int. J. Food Microbiol.*, **112**: 83-95 (2006).
- (26) A. Mukherjee, D. Speh, E. Dyck and F. Diez-Gonzales: Preharvest evaluation of coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* O157:H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. *J. Food Prot.*, **67**: 894-900 (2004).
- (27) A. Mukherjee, D. Speh, A. T. Jones, K. M. Buesing and F. Diez-Gonzalez: Longitudinal microbiological survey of fresh product grown by farmers in the upper Midwest. *J. Food Prot.*, **69**: 1928-36 (2006).