



市售盒餐中病原性大腸桿菌之調查研究

王鳳英* 王貞懿

行政院衛生署藥物食品檢驗局

摘 要

本計劃自八十四年七月至八十五年六月間，由台北市餐飲店及超級市場購買 120 件市售盒餐，進行大腸桿菌群、大腸桿菌及病原性大腸桿菌之檢驗。結果顯示 120 件盒餐中有 59 件檢出大腸桿菌群，37 件檢出大腸桿菌，18 件 (15.0%) 檢出病原性大腸桿菌。依據八十二年一月四日公告之一般食品類衛生標準為：大腸桿菌為陰性，大腸桿菌群小於 10 MPN/g(ml)。因此盒餐之不合格率為 30.8%，在 18 件檢出之病原性大腸桿菌其血清型以 O55:H9 最多，其次為 O86a:H34 及 O28ac:H18。台灣北部地區之盒餐其不合格率頗高，有待加強管理及輔導。

關鍵詞：盒餐，大腸桿菌群，大腸桿菌，病原性大腸桿菌。

前 言

盒餐包括市售便當及其他可外帶以餐盒包裝的便利餐食，因其簡便而價廉，深受外食者的喜愛。隨著工商業發達，外食人口也隨著增加，因此盒餐之衛生安全愈顯重要，尤其在民國 84 年 10 月 13 日發生 1590 人食品中毒之美滿便當食品中毒案件之後，更引發食品業、消費者及政府管理單位的重視^(1,2)。盒餐衛生標準在我國衛生標準中是屬於不需再調理即可供食用之一般食品，其衛生標準訂定為大腸桿菌群 (coliforms) 每公撮或每公克最確數 10 以下、大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 陰性。

大腸桿菌首先於 1885 年被 Theodor Escherich 所發現⁽³⁾。雖然多數之大腸桿菌是屬無毒性的，但部分大腸桿菌卻可引起腸胃炎及腹瀉等腸胃疾病，此等菌株稱為病原性大腸桿菌 (Enterovirulent *E. coli*)⁽⁴⁾，Levine (1987) 依菌株致病機致之不同，將之分為五大類：(1) 腸道致病性大腸桿菌 (enteropathogenic *Escherichia coli* EPEC)；(2) 侵入型大腸桿菌

(enteroinvasive *E. coli* EIEC)；(3) 腸毒素型大腸桿菌 (enterotoxigenic *E. coli* ETEC)；(4) 出血性大腸桿菌 (enterohemorrhagic *E. coli* EHEC)；(5) 附著型大腸桿菌 (enteroadherent *E. coli* EAEC)^(3,5,6)。其中 EHEC 菌株之血清型以 O157:H7 為主，其可導致病患出血性腸炎，嚴重者死亡，頗受人矚目。動物 (尤其牛隻) 為其主要棲息場所⁽⁷⁾，其可分別從牛肉、禽肉、羊肉及其製品如乳製品、禽畜製品、漢堡以及乳酪中分離出來^(8,9,10,11,12,13,14)。台灣曾分別針對即時禽肉^(15,16,17)及乳品^(18,19)進行 *E. coli* O157:H7 之檢驗，檢出率分別為 2.4%(5/210)及 0.6%(1/175)。

傳統對於大腸桿菌及大腸桿菌群之檢驗方法需耗時 3-4 天以上，早在 1976 年 Kilian 和 Bulow 兩氏提出⁽²⁰⁾，以酵素方法來快速檢驗腸內菌，曾利用 α -glucosidase, β -glucosidase, β -glucuronidase, β -xylosidase 和 α -glucosidase 進行 633 株腸內菌篩檢，其中發現 97% 的大腸桿菌均含有 β -glucuronidase (GUD) 能將 MUG(4-methylumbelliferyl β -D-glucuronic acid) 分解產生

Journal of Food and Drug Analysis. 1997. 5(2)

4-methylumbelliferone 之藍色螢光物質（於 UV365nm 下）。但有些 *E. coli*（如出血性之 *E. coli*）因不含 GUD，以 MUG 檢驗分析時，無法偵測出來。同時要注意檢體若為魚蝦時，則可能魚蝦本身含有 GUD 酵素，則需再以 LST 經 35°C，24 小時培養後，接種至 EC broth/EC-MUG 經 35°C，24 小時培養確認^(21,22,23)。另外，也可利用大腸桿菌含有之 GUD 作用於 X-Glu(5-bromo-4-chloro-3-β-D-glucuronide)，產生藍色物質，進行偵測⁽²³⁾。除了利用 *E. coli* 具有之 GUD 來進行分析檢驗外，近年來更加入其他免疫學或基因工程等方法來縮短其檢驗時間，並增加其敏感度，如以 ELISA(Enzyme linked immunosorbent assay), PCR(Polymerase chain reaction) 或其所含的特有酵素等^(21,22,24)。

據美國 1992 年食品中毒案件之統計資料顯示，病原性大腸桿菌於致死率方面乃佔第三位，僅次於沙門氏桿菌及肉毒桿菌，在台灣地區食品中毒案件中亦有增加之情形，由此得知病原性大腸桿菌之重要性^(4,5,25)。尤其近年來外食人口比率增加，更顯示市售盒餐中若污染病原性大腸桿菌，則國人之食品安全堪虞。故本計畫擬就台灣北部地區市售盒餐 120 件中，調查大腸桿菌群、大腸桿菌、病原性大腸桿菌之污染，以提供衛生行政單位之參考。進而研擬病原性大腸桿菌之檢驗方法，以提供中央標準局之參考。

材料與方法

一、檢體

抽購自台灣北部地區商店、超級市場及餐廳之市售盒餐 120 件。

二、檢驗方法

(一)大腸桿菌群

依據中國國家標準 10984、N6164 及衛署公告方法、FDA 或 AOAC 認可之 MPN(Most Probable Number)計數法⁽²⁶⁾。

取檢體 25 或 50 g(ml)加入生理食鹽水 225 ml 或 450 ml，以鐵胃均質，經適當稀釋後，於不同的連續三階稀釋倍數各取 1 ml 至 LST(Lauryl Sulfate Tryptose broth)，於 37°C 培養箱中，培養 48 ± 2 小時，由 LST 產氣（於小醞管內多於 10% 以上之氣體）時，接種一接種環的量至 BGLB broth 上，置於 35°C 培養 48 小

時，計數產氣之管數。

(二)大腸桿菌之傳統檢驗法

依據中國國家標準 10951、N6192 及衛署公告方法、FDA 或 AOAC 認可之微生物檢驗法⁽²⁷⁾。

取檢體 25 g 或 50 g(ml) 加入 225 ml 或 450 ml 生理食鹽水均質後，經連續稀釋後，於適當連續三階稀釋倍數，各取 1 ml 置入 9 ml LST（三支三階），由 LST 產氣（多於 10% 以上之氣體）時，接種至 EC broth 上，經 45.5°C，24 ± 2 小時，接種至 EMB 上，經 37°C，24 小時，由 EMB 挑典型菌落，劃至營養瓊脂培養基，經 37°C，24 ± 2 小時，進行染色及鏡檢，取 G(-) 者，進行 IMViC 生化試驗，確認大腸桿菌。另外，取 1 ml 適當稀釋之樣品，利用混稀平板法(Pour plate method)與 Violet red bile agar(VRBA) 混合，在 37°C，培養 24 小時，在 VRBA 挑出可疑菌落，劃至 EMB 培養基上，並接種至 EC broth 上，經 37°C，48 ± 2 小時，產氣（多於 10% 以上之氣體）時，接種至 EMB 上純化，進行 IM ViC 生化試驗，確認大腸桿菌。

(三)病原性大腸桿菌之方法

依據中國國家標準 12539、N6211 及衛署公告方法、FDA 或 AOAC 認可之微生物檢驗法⁽²⁸⁾。

取檢體 25 g(ml) 加 225 ml 生理食鹽水均質後，取均質檢液 10 ml 加 90 ml 稀釋液，依序作成一系列十倍稀釋，另由均質檢液直接取 1 ml 至 9 ml BHI broth。由均質檢液分別取 0.1 ml 直接塗抹 EMB、MacConkey agar、MacConkey sorbitol agar，另分別於每稀釋檢液吸取 1 ml 量入 9 ml BHI 試管中每稀釋檢液各接種三支（稱三支三階）於 37°C，培養 3 小時，為增菌培養液 I，移入 10 ml 之雙倍濃度 TP 培養液中，於 44°C，培養 20 小時，為增菌培養液 II，自各增菌培養液 I 或 II，取 1 白金耳在 EMB，MacConkey 培養基表面劃線，於 37°C，培養 20 小時，生長於 EMB，MacConkey 培養基上之菌落，挑選可疑菌落於 BAB 斜面培養基上，於 37°C，培養 24 ± 2 小時，挑選生長於 BAB 或 TSA 斜面培養基上之菌落，進行初步試驗，以斜面穿刺接種法於 TSI 培養基及 9 ml BHI broth 以備進行血清 H 型，及接種於 Urea broth, Arabinose Bromocresol Purple broth, Tryptone broth，並進行 ONPG test，及作革蘭氏染色及鏡檢，符合初步試驗結果及 G(-)無芽

Table 1. Incidence of *E. coli* and Enterovirulent *E. coli* in 120 samples of box lunches

Kinds of box lunches	No. of samples	Positive no. of samples	
		<i>E. coli</i>	EEC ^a
Non-refrigerated	103	37	18
Refrigerated	17	0	0
Total	120	37	18

^a, Enterovirulent *E. coli*(EEC)

Table 2. Percent of coliform in 120 samples box lunch using different methods

Methods	No. of sample	Coliform positive sample(%)
Strip for coliform	120	59(49.2)
Petrifilm <i>E. coli</i> 3M	120	52(43.3)
Chromocult coliform agar	120	51(42.5)
Coliform of FDA	120	59(49.2)

胞桿菌之 BAB 或 TSA 上可疑 EEC，進行各項生化試驗，進行血清試驗，經鑑定符合 EEC 生化試驗及血清試驗之菌株，判定為病原性大腸桿菌及查 MPN 表計數。

(四)簡易檢測大腸桿菌方法

1. Chromocult coliform 培養基之方法⁽²⁹⁾

取檢體 25 或 50 g(ml)，加入稀釋液 225 ml 或 450 ml，經適當稀釋後，於不同稀釋倍數，各取 0.5 ml 或 1 ml 至培養基 (Chromocult coliform 培養基，Merk Co.)，置於 37°C 培養箱中，藍色菌落為大腸桿菌，無色菌落為其他腸內菌。

2. Petrifilm *E. coli* Count Plate 及 Coliform Count Plate 之方法⁽³⁰⁾

取檢體 25 或 50 g(ml) 加入稀釋液 225 ml 或 450 ml，經適當稀釋後，於不同稀釋倍數，各取 1 ml 至 Plate 上，蓋上塑膠膜 (3M petrifilm Co.)，用壓板壓平 3-10 秒，並避免氣泡之產生，靜置 1 分鐘，置於 37°C 培養箱中，培養 21±3 小時，判定結果，紅色菌落且在周圍有氣泡者為大腸桿菌群，藍色菌落且有氣泡產生者為大腸桿菌。

3. 大腸桿菌群檢查試紙之方法⁽³²⁾

取檢體 25 或 50 g(ml) 加入稀釋液 225 ml

或 450 ml，經適當稀釋後，於不同稀釋倍數，各取 1 ml，平均潤濕於大腸桿菌群檢查試紙 (Sun Co.) 上，置入無菌袋中，壓出空氣。置於 37°C 培養箱中，培養 21±3 小時，判定結果：試紙產生紅點時為大腸桿菌群陽性。

(五)血清型別試驗

經生化試驗及鏡檢確認為可疑病原性大腸桿菌時，將 BAB、TSA 或 NA 之可疑病原性之菌種接種於 BHI 培養基置於 37°C 培養箱中，再繼續培養至少 24 小時後，加入 5 ml 之 0.5% 生理食鹽水，充分震盪後，將懸浮液等量移入兩支已滅菌之試管中，一支試管進行 *E. coli* O 抗血清試驗，另一支試管進行加熱後抗血清試驗，其步驟如下：

1. 本體抗血清 (*E. coli* O, antisera test)

利用蠟筆在載玻片上畫成兩部分大小約 1×2cm，一邊加一滴 *E. coli* O 抗血清及數滴 0.5% 食鹽水，均勻混合後，另一邊滴入數滴生理食鹽水 (作對照之用)。再各取一白金耳量懸浮液分別塗於載玻片之兩部分內，反覆搖晃玻片後，靜置三分鐘，使混合均勻後觀察結果，有凝集現象者為正反應。若呈凝集正反應，可經另一試管之細菌懸浮液，以 100°C 加熱一小時或 121°C 加熱 15 分鐘，破壞菌體之夾膜

Journal of Food and Drug Analysis. 1997. 5(2)

Table 3. Distribution of coliform counts for 120 samples of box lunches using Petrifilm *E. coli* 3M

Kinds of box lunches	No. of samples	Sample number with coliform count (CFU/g) as following				
		>10 ³	10 ³	10 ²⁻¹	<10 ¹	0
Non-refrigerated	103	9	4	18	18	54
Refrigerated	17	0	0	0	3	14
Total	120	9	4	18	21	68

Table 4. Distribution of coliform counts for 120 samples of box lunches using chromocult coliform agar

Kinds of box lunches	No. of samples	Sample number with coliform count (CFU/g) as following				
		>10 ³	10 ³	10 ²⁻¹	<10 ¹	0
Non-refrigerated	103	11	4	19	14	55
Refrigerated	17	0	0	0	3	14
Total	120	11	4	19	17	69

Table 5. Distribution of coliform counts for 120 samples of box lunches using method of FDA

Kinds of box lunches	No. of samples	Sample number with coliform count (CFU/g) as following				
		>10 ³	10 ³	10 ²⁻¹	<10 ¹	0
Non-refrigerated	103	8	7	18	23	47
Refrigerated	17	0	0	0	3	14
Total	120	8	7	18	26	61

後，再進行一次凝集試驗，若兩者呈正反應，則測試菌株之本體抗原 (O, antigen) 屬於測試用之型號。並判病原性大腸桿菌為正反應。

2. 鞭毛抗血清 (*E. coli* H, antisera test)

於 BAB、TSA 或 NA 之可疑菌株，接種於 craigy's 試管中，觀察可否走游於半凝固培養基中，接出走游之菌株，接種於 BHI 培養液，置於 35°C 培養 6~8 小時，取等量之培養液及含 1%(v/v) 福馬林之食鹽水，混合均勻後，取出 0.5 ml，各加入二滴不同之 H 抗血清，另一支試管僅有菌液，而不加入抗血清為控制組。經

混合均勻，置於 50~52°C 之水浴中，加熱一小時，觀察凝集反應。加抗血清之試驗組有凝集反應而控制組無凝集反應者為正反應，則測試菌株之鞭毛抗血清 (*E. coli* H, antigen) 屬於測試用之型號。並判病原性大腸桿菌為正反應。

結 果

一. 由台灣北部地區所抽購 120 件盒餐檢體中，測試大腸桿菌及病原性大腸桿菌，其結果如表一，抽驗 120 件盒餐檢體中，37件檢出

Table 6. Detection rates for coliform in 120 samples of box lunches using different methods

Different methods	% of sample in the following range				
	>10 ³	10 ³	10 ²⁻¹	<10 ¹	0
Coliform of FDA	6.7	5.2	15.0	21.7	50.8
Petrifilm <i>E. coli</i> 3M	7.5	3.3	15.0	17.5	56.7
Chromocult coliform agar	9.2	3.3	15.8	14.2	57.5

Table 7. Serotypes of Enterovirulent strains of *E. coli* detected from 120 samples of box lunches

Serotype	No.
O159:H9	1
O164:H41	1
O128:H9	1
O15:H21	1
O126:H28	1
O1:H9	1
O44:H? ^a	1
O26:H? ^a	1
O86a:H34	2
O28ac:H18	2
O55:H9	6
	18

^a? : 表示以現有市售病原性大腸桿菌之血清檢測套組，其H血清型未檢出。

大腸桿菌，18件檢出病原性大腸桿菌。

二. 利用大腸桿菌群檢查試紙、Petrifilm *E. coli* 3M、Chromocult 大腸桿菌群培養基及 FDA 傳統之方法進行市售 120 盒餐中大腸桿菌群之測試得知：以大腸桿菌群檢查試紙之方法檢驗市售 120 件盒餐中大腸桿菌群，有 59 件檢出，檢出率為 49.2%，以 Petrifilm *E. coli* 3M 檢出大腸桿菌群有 52 件，檢出率為 43.3%。以 Chromocult 大腸桿菌群培養基檢出大腸桿菌群有 51 件，檢出率為 42.5%。以 FDA 傳統之大腸桿菌群方法檢出大腸桿菌群有 59 件，檢出率為 49.2% (如表二)。

三. 以 Petrifilm *E. coli* 3M 檢驗市售 120 件

盒餐中大腸桿菌群菌數分佈之情形如表三；檢出大腸桿菌群含量大於 10³ CFU/g，有 9 件。大腸桿菌群 100~1000 CFU/g 者，有 4 件。大腸桿菌群 10~100 CFU/g 者，有 18 件。大腸桿菌群 10~1 CFU/g 者，有 21 件。其中有 68 件未檢出大腸桿菌群。

四. 以 Chromocult 大腸桿菌群培養基檢驗市售 120 件盒餐中大腸桿菌群之情形如表四；檢出大腸桿菌群含量大於 10³ CFU/g，有 11 件。大腸桿菌群 100~1000 CFU/g 者，有 4 件。大腸桿菌群 10~100 CFU/g 者，有 19 件。大腸桿菌群 10~1 CFU/g 者，有 17 件。其中有 69 件未檢出大腸桿菌群。

五. 以 FDA 傳統之大腸桿菌群方法檢驗市售 120 件盒餐中大腸桿菌群之情形如表五。120 件檢體中；檢出大腸桿菌群含量大於 10³ MPN/g 者，有 8 件。大腸桿菌群 100~1000 MPN/g 者，有 7 件。大腸桿菌群 10~100 MPN/g 者，有 18 件。大腸桿菌群 10~1 MPN/g 者，有 26 件。其中有 61 件未檢出大腸桿菌群。

六. 如將 FDA 傳統之大腸桿菌群方法、Petrifilm *E. coli* 3M、Chromocult 大腸桿菌群培養基之方法檢出大腸桿菌群菌數之情形如表六。將菌數進行分析比較，以 ANOVA 方法統計分析結果，無顯著差異性，可信度為 99%。

七. 將 120 件盒餐中檢出之 EEC 將其血清型進行分類及統計之結果 (如表七) 得知，以 O55:H9 檢出 6 件，最為常見，其次為 O28ac:H18 及 O86a:H34。

八. 將 120 件盒餐中所檢出之 EEC 與 84-85 年度之 147 件食品中毒案中檢出之 EEC 進行比較結果 (如表八) 得知，皆以 *E. coli* O55 菌株最為常見，O28ac、O86a 次之，顯示此項

Journal of Food and Drug Analysis. 1997. 5(2)

Table 8. Comparison of the serotypes for EEC strains isolated from 120 samples of box lunches and for strains from outbreaks of 1994.7~1996.7

Serotypes of isolates (No.) from		
Outbreaks from 1994.7.2-1996.7.2		Box lunches, this study
		O1
O8		
O15	(2)	O15
O18		
O26		O26
O27	(2)	
O28ac	(2)	O28ac (2)
		O44
O55	(3)	O55 (6)
O63		
O86a		O86a (2)
O111		
O114	(2)	
O115		
O119		
O125	(3)	
O126		O126
O127a	(2)	
O128	(3)	O128
O144		
O148	(3)	
O157		
O158	(2)	
O159	(3)	O159 O164
O166		

結果盒餐中所檢出之 EEC 與 84-85 年度食品中毒案中檢出之 EEC 相仿，表示台灣地區最常見之病原性大腸桿菌確為 *E. coli* O55 血清型。

討 論

依據 FDA 傳統方法(細菌學手冊之方法)進行檢驗，其中利用血清型來分類⁽⁵⁾，在分離培養之過程則增加 MacConkey Sorbitol agar 做

為出血性大腸桿菌之篩選分離用，可利用 *E. coli* O157:H7 於 24 小時內對山梨糖醇之遲緩利用的特性來分離，已提高其檢出率^(11,12,13,14)。

市售之快速檢驗大腸桿菌群、大腸桿菌之套組^(30,31,32)，經本計劃所選用之 Petrifilm *E. coli* 3M、大腸桿菌群試紙及 Chromocult 大腸桿菌培養基其對於盒餐中之大腸桿菌群之篩選與傳統之 FDA 方法有相似之結果，經統計分析結果無顯著差異性，此結果與 Feldsine 等人於 1993 年之測試結果相仿⁽³³⁾。其方法已受 AOAC 之認可⁽³⁴⁾。甚至於 1994 年 Feldsine 等人 (Feldsine 等人選用了 10 種食品進行比較之結果)，更證實 Petrifilm *E. coli* 3M 之方法對於其他食品檢測 *E. coli* 及 coliform，皆優於傳統 FDA 之方法⁽³⁵⁾，時間上可由 3-4 天減為 30 小時。本計劃針對 120 件盒餐檢驗大腸桿菌群、大腸桿菌之結果，Petrifilm *E. coli* 3M 之結果與傳統之 FDA 之結果相近，但如盒餐污染大腸桿菌及大腸桿菌群較為嚴重時，若無稀釋則無法計數，因此最好能預先稀釋 (即除了稀釋 10 倍外)，另取稀釋 100 或 1000 倍再進行實驗。如此才能精確計數。對於 Chromocult 大腸桿菌培養基亦是相同處理方式，才會有較理想之結果。而 Chromocult 大腸桿菌培養基所得之菌落較大，能行成單一菌落，易於另外進行挑選菌落培養，再行鑑定為大腸桿菌之菌株，而 Petrifilm *E. coli* 3M 則不易取得其單一菌落。

由抽驗市售 120 件台灣北部地區之盒餐，由分離之病原性大腸桿菌，若以其血清型來分類比較，腸致病型大腸桿菌 (EPEC) 如 *E. coli* O55、侵入型大腸桿菌 (EIEC) 如 *E. coli* O124:H30、腸毒素型大腸桿菌 (ETEC) 如 *E. coli* O78:H12、出血性大腸桿菌 (EHEC) 如 *E. coli* O157:H7 及附著型大腸桿菌 (EAEC)。得知由實驗分離之菌株除了 O159:H9、O15:H21 與 O26:H? 未能確認無法歸類外，其他可大致歸類為腸致病型大腸桿菌 (EPEC)，(如 *E. coli* O55:H9) 該菌會造成人類腸胃炎、水樣腹瀉、發燒與嘔吐等症狀。病原性大腸桿菌以血清型來分類僅能做略分，如需進一步詳細分類不受市售血清型之類別，或地方菌株特性之限制則應再進行其他毒性測試及輔助試驗以確認病原性大腸桿菌之分類⁽⁵⁾。

由計畫之結果分析，台灣北部地區之盒餐其病原性大腸桿菌污染率為 15%，而 84-85 年度 147 件食品中毒案中，檢出之 EEC 有 23

Journal of Food and Drug Analysis. 1997. 5(2)

件，其檢出之 EEC 之最常見血清型為 *E. coli* O55 血清型。表示台灣地區最常見 *E. coli* O55 血清型。而台灣北部地區之盒餐其不合格率（不符衛生標準）高達 30.8%，顯示盒餐之衛生品質堪虞，有待加強管理及輔導。在本計畫之進行中，當有初步結果時，立即呈報行政管理單位，以期預防食品中毒案件發生。

致 謝

本計畫承蒙本局第五組施組長養志之全力支持，食品處陳處長樹功、陳副處長陸宏悉心斧正，謹此致謝。

參考文獻

1. 施養志、周薰修、林阿洋、蔡玉雲、洪達朗、黃翠萍、王肇馨、王鳳英、方紹威、林澤群、王貞懿。1995。行政院衛生署藥物食品檢驗局84年度受理食品中毒案之分析。食品科技年會 25:141。
2. 台灣省政府衛生處。1996。食品中毒處理工作手冊 77-94頁。
3. Escherich, T. 1989. The intestinal bacteria of the neonate and breastfed infant. Rev. Infect. Dis. 11: 352-356.
4. Hitchins, A. D., Hartman, P. A. and Todd, E. C. D. 1992. Coliform-*Escherichia coli* and its toxins. In "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". 3rd ed. pp.325-350. Vanderzant, C. and Splittstoesser, D. F. ed., American Public Health Association, Washington, D.C., U.S.A.
5. Hitchins, A. D., Feng, P., Watkins, W. D., Rippey, S. R. and Chandler, L. A. 1995. *Escherichia coli* and the coliform bacteria. In "FDA Bacteriological analytical manual". 7th ed. pp.27-49. AOAC International, Arlington, VA, U.S.A.
6. Levine, M. M. 1987. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, enteroadherent. J. Infect. Dis. 155: 377-389.
7. Riley, L. W., Remis, R. S., Helgerson, S. D., McGee, H. B., Wells, J. G., Davis, B. R., Herbert, R. J., Olcott, E. S., Johnson, L. M., Hargrett, N. T., Blake, P. A. and Cohen, M. L. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. N. Engl. J. Med. 308:681-685.
8. Padhye, N. V. and Doyle, M. P. 1991. Rapid procedure for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 in food. Appl. Environ. Microbiol. 57: 2693-2698.
9. Wells, J. G., Shipman, L. D., Greene, K. D., Sowers, E. G., Green, J. H., Cameron, D. N., Downes, F. P., Martin, M. L., Griffin, P. M., Ostroff, S. M., Potter, M. E., Tauxe, R. V. and Wachsmuth, I. K. 1991. Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 an other Shiga-like-toxin-producing *E. coli* from dairy cattle. J. Clin. Microbiol. 29:985-989.
10. Borczk, A. A., Karmali, M. A., Lior, H. and Duncan, L. M. C. 1987. Bovine reservoir for verotoxin-producing *E. coli* O157:H7 Lancet i:98.
11. Doyle, M. P. and Schoeni, J. L. 1987. Isolation of *E. coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl. Environ. Microbiol. 53: 2384-2396.
12. Martin, M. L., Shipman, L. D., Wells, J. G., Potter, M. E., Hedberg, K. Wachmuth, I. K., Tauxe, R. V., Davis, J. P., Arnold, J. and Tilleli, J. 1986. Isolation of *E. coli* O157:H7 from dairy cattle associated with two cases of haemolytic ureamic syndrome. Lancet ii: 1043.
13. Okrend, A. J. G., Rose, B. E. and Bennett, B. 1990. A screening method for the isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef. J. Food Prot. 53:249-252.
14. Szabo, R. A., Todd, E. C. D. and Jean, A. 1986. Method to isolate *Escherichia coli* O157:H7 from food. J. Food Prot. 49: 768-772.
15. 王鳳英、邱慶明。1991。 *Escherichia coli* O157:H7 在即禽肉食品污染之調查。食品衛生檢驗科技研討會報告彙編 187-224頁。
16. 王鳳英、邱慶明。1992。 *Escherichia coli* O157:H7 檢驗方法之確定及其在即食禽肉食品污染之調查。第二十二屆食品科技年會手冊 106頁。
17. Wang, F.I. and Chiou, C.M. 1992. Test for *Escherichia coli* O157:H7 in ready-to-eat poul-

Journal of Food and Drug Analysis. 1997. 5(2)

- try products in Taiwan. Proce. of the Sixth AAAP Animal Sci. Cong. (Bang Kok) Vol. III:269.
18. 王鳳英、施養志。1995。乳品中出血性大腸桿菌 *Escherichia coli* O157:H7 分佈之研究。第二十二屆食品科技年會手冊 139 頁。
 19. 王鳳英、施養志。1996。乳品中出血性大腸桿菌 *Escherichia coli* O157:H7 分佈之研究。食品科技年會。
 20. Kilian, M. and Bulow, P. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae*. Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B. 84: 245-251.
 21. Patel, P. D. and Williams, D. W. 1994. Evaluation of commercial kits and instruments for the detection of foodborne bacterial pathogens and toxins. In "Rapid analysis techniques in food microbiology". 1st ed. pp. 81-85. Chapman & Hall, London, U.K.
 22. Mossel, D. A. A., Marengo, C. M. L. and Struijk, C. B. 1994. History of prospects for rapid and instrumental methodology for the microbiological examination of foods. In "Rapid analysis techniques in food microbiology". 1st ed. pp. 1-28. Chapman & Hall, London, U.K.
 23. Frampton, E. W., Restaino, L. and Blaszkowski, N. 1988. Evaluation of the β -glucuronidase substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide (X-Glu) in a 24 hour direct plating method for *Escherichia coli*. J. Food Prot. 51: 402-404.
 24. Hall, P. A. 1994. Scope for rapid microbiological methods in modern food production. In "Rapid analysis techniques in food microbiology". 1st ed. pp. 255-267. Chapman & Hall, London, U.K.
 25. Mehlman, I. J. and Romero, A. 1982. Enteropathogenic *Escherichia coli* methods for recovery from food. Food Tech. 36: 73-79.
 26. 經濟部中央標準局。1984。食品微生物之檢驗—大腸桿菌群之檢驗。中國國家標準 CNS 10984/N 6194。
 27. 經濟部中央標準局。1984。食品微生物之檢驗—大腸桿菌之檢驗。中國國家標準 CNS 10951/N 6192。
 28. 經濟部中央標準局。1984。食品微生物之檢驗—病原性大腸桿菌之檢驗。中國國家標準 CNS 12539/N 6211。
 29. Blood, R.M. and Curtis, G. D. W. 1995. Media for total *Enterobacteriaceae*, coliforms and *Escherichia coli*. Int. J. Food Microbiol. 26: 93-115.
 30. Matner, R. R., Fox, T. L., Mciver, D. M. and Curiale, M. S. 1990. Efficiency of Petrifilm™ *Escherichia coli* count plates for *Escherichia coli* and coliform enumeration. J. Food Prot. 53: 145-150.
 31. Ossmer, R. 1993. Simultaneous detection of total coliform and *Escherichia coli* Fluorocult LMX broth. Food Microbiol. and Hygiene 15th International Symposium on Food and Hygiene August 31-September 3 1993 in Germany.
 32. Clark, J. A. and EI-Shararawi, A. H. 1993. Evaluation of commercial presence-absence test kits for detection of total coliforms, *Escherichia coli*, and other indicator bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 59: 380-388.
 33. Philip, T. F., Maria, T. F. N. and David, L. H. 1993. Substrate supporting disc method for confirmed detection of total coliform and *E. coli* in all foods: collaborative study. Food Biolog. Cont. 76:32.
 34. Wallace, H. A. 1994. Update on validation of microbiological method by AOAC international. J. AOAC Int. 77:925.
 35. Philip, T. F., Maria, T. F. N. and David, L. H. 1994. ColiComplete substratesupporting disc method for confirmed detection of total coliforms and *Escherichia coli* in all foods: comparative study. Food Biolog. Cont. 77:38.

A Survey of Enterovirulent *Escherichia coli* in Box Lunches

FENG-ING WANG* AND JAN-YI WANG

*National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health,
Executive Yuan, 161-2, Kuen Yang Street, Nan Kang, Taipei, Taiwan, R.O.C.*

ABSTRACT

From July 1995 to June 1996, 120 samples of box lunches purchased from restaurants and supermarkets in Taipei were inspected for the presence of coliform, *Escherichia coli* and Enterovirulent *E. coli* (EEC). The results showed that 59 of these samples were contaminated with coliform, 37 were contaminated with *E. coli*, and 18 were contaminated with Enterovirulent *E. coli*. For the 18 Enterovirulent isolates, strains of

serotype O55:H9 were the most numerous, followed by strains of the serotypes O86a:H34 and O28ac:H18. The announcement by the Department of Health on January 4, 1993 set hygienic standards for box lunches, in particular summarize relevant standard. The sanitation levels of 30.8% of the box lunches were therefore unsatisfactory.

Key words: box lunches, coliform, *E. coli*, Enterovirulent *E. coli*.