

堆肥中大肠菌群等粪便污染指标菌的残留状况调查

龚春明¹, 王晓丹², 顾卫兵³, 染谷孝⁴

(1.厦门市环境保护研究所, 福建 厦门 361006; 2.上海市环境科学研究院, 上海 200233; 3.南通农业职业技术学院, 江苏 南通 226007; 4.日本佐贺大学农学部, 日本 佐贺 840-0027)

摘要:从日本九州地区 23 处堆肥化设施采集了以牛粪、鸡粪、污泥和餐厨垃圾为原料的堆肥试样 29 个, 调查了大肠菌群等粪便污染指标菌的残留状况。结果表明, 使用 DESO 培养基有 11 个试样被检出大肠菌群, 检出率达 38%, 菌数在 $10^2 \sim 10^6$ cfu·g⁻¹ 的范围。使用 API 20E 鉴定系统对 4 个试样中的 21 个分离纯化菌株进行了菌种鉴定, 发现有大肠菌群属的 *Escherichia coli*、*Escherichia vulneris*、*Pantoea* sp. 和 *Buttiauxella agrestis*, 以及非大肠菌群属的 *Serratia marcescens* 等肠内细菌科细菌。采用血清凝集试验对 5 株 *E. coli* 的病源性检测结果均为阴性。进一步针对 6 处堆肥设施的堆肥发酵过程中大肠菌群的消长追踪发现, 大肠菌群数从原料到成品出现了逐渐减少直至消失、暂时消失、未完全消失、完全未检出 4 种走势, 显示即使堆肥发酵温度在 60℃ 以上, 大肠菌群也有可能通过交叉污染等途径残留在堆肥成品中。

关键词:堆肥; 大肠菌群; 大肠菌; 沙门氏菌; 残留

中图分类号:S141.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)08-1595-06

Investigation on Survival of Coliform Bacteria in Various Composts

GONG Chun-ming¹, WANG Xiao-dan², GU Wei-bing³, SOMEYA Takashi⁴

(1.Xiamen Environmental Protection Institute, Xiamen 361006, China; 2.Shanghai Academy of Environmental Science, Shanghai 200233, China; 3.Nantong Agricultural Vocational Technology College, Nantong 226007, China; 4.Faculty of Agriculture, Saga University, Saga 840-0027, Japan)

Abstract: Occurrence and survival of fecal-contamination indicator (coliform bacteria) in various compost samples collected from 23 composting facilities in Kyushu were investigated by using selective media. Coliform bacteria were detected on desoxycholate agar (DESO) from 11 (38%) of 29 product samples (15 cow dung manures, 4 poultry manures, 2 biosolid composts and 8 food waste composts) at a range of $10^2 \sim 10^6$ cfu·g⁻¹ dry matter. From positive samples, 21 isolates were purified. From which, species of coliform bacteria (*E. coli*, *E. vulneria*, *Pantoea* sp. and *Buttiauxella agrestis*) were identified, other bacteria (*Serratia marcescens*) were also observed, suggesting that careful identification was necessary to avoid false positive counting. Isolates of *E. coli* were tested for slide aggregation with a set of antisera against pathogenic *E. coli* serotypes and negative reaction was obtained for all the isolates tested. Fate of fecal-contamination indicators was followed during compost production at 6 compost facilities and 4 patterns were observed: (1) decreased and finally disappeared, (2) decreased, then re-growth occurred in products, (3) decreased to certain extent and remained in products, (4) not detected even from raw materials. These results suggested that some coliform bacteria might survive during compost production even temperature reached to as high as 60℃.

Keywords: compost; coliform bacteria; *Escherichia coli*; *Salmonella*; survival

我国有机废弃物资源分布广泛, 餐厨垃圾、农作物生产和畜禽养殖中产生的大量秸秆和粪便、污水处理厂生产的污泥、食品和饮料加工中的边角余料等都是其中较为常见的有机废弃物, 在农业上具有巨大的

开发潜力。对它们加以有效的处理和利用, 对于节约自然资源、防止环境污染、实现生态经济良性循环具有重要意义。随着我国近 30 年社会经济的飞速发展, 特别是随着我国人民生活水平的提高以及入世后我国农产品应对国际竞争的需求, 人们对农产品的品质提出了更高的要求, 从而给使用有机废弃物制造堆肥创造了巨大的市场空间。

然而, 随着堆肥产量的急剧增加, 一些未充分腐

收稿日期: 2010-02-13

作者简介: 龚春明 (1965—), 男, 福建建阳人, 留日博士, 高级农艺师, 主要从事生物环境保护研究。E-mail: xmgcm@163.com

通讯作者: 染谷孝 E-mail: someyat@cc.saga-u.ac.jp

熟的堆肥施用后,引起了作物烧苗和土壤污染等问题,尤其是一些病原微生物通过堆肥的使用而导致人类疾病的事件屡屡发生。据报道,由于生吃被污染的水果和蔬菜,而导致具有强烈病原性的肠管出血性埃希氏菌 *Escherichia coli* O157:H7(*E. coli* O157)食物中毒事件在许多国家时有发生,已成为世界关注的公共卫生问题,由 *E. coli* O157 引起的食源性疾病的暴发、流行已呈逐年上升的趋势^[1-5]。大量研究证实,牛等家畜、家禽是大肠菌 *E. coli* O157 的重要宿主,对人类的健康造成很大的威胁^[6-10]。因此,加强堆肥生产过程中发酵热的管理,对堆肥的微生物安全性十分重要,也是生产安全农产品的一个重要环节。

目前,有关土壤环境、水环境和废弃物中大肠菌的残留研究很多^[11-13],但有关堆肥中的病原菌存在的调查实例很少。笔者在日本留学期间,对这方面研究有一定的涉及^[14-15],本研究是通过从日本九州地区各县堆肥制造设施采集的堆肥试样,进行大肠菌群等粪便污染指标菌的残留调查,同时对作为堆肥原料的牛粪和餐厨垃圾等的大肠菌群数量及其在堆肥化过程中的消长进行了相应的探讨,以期为我国的堆肥生产过程中微生物安全性控制提供有益参考。

1 材料与方法

1.1 试样的采取和处理

从日本九州地区的 23 个堆肥设施中采集了 29 个堆肥试样(表 1)。其中,牛粪堆肥试样 13 个(序号 1~13),牛粪与鸡粪混合堆肥试样 2 个(序号 14,15),鸡粪堆肥试样 4 个(序号 16~19),污泥堆肥试样 2 个(序号 20,21),餐厨垃圾堆肥试样 8 个(序号 22~29),这些全部是完全发酵的堆肥产品。堆肥发酵过程中还混入了作为畜舍垫料的锯屑、树皮、稻草和稻壳等辅料。同时也采集了 6 个堆肥(序号为 10~13,22,25)的原料以及发酵过程中的堆肥中间品。

试样采取时,从堆肥表面以下 30~50 cm 的 5 个部位各采集试样大约 500 g,充分混合后取混合试样 500 g 密封于试样袋,放入低温箱中运送到研究室冷藏保存,3 日内进行分析。

称取试样 10 g(湿重)放入不锈钢分散杯中,加入灭菌生理盐水至 100 mL,在分散机(日本精机 AM-3)中 15 000 r·min⁻¹ 分散处理 15 min,分散液用灭菌生理盐水逐次梯度稀释,得到 10⁻³~10⁻⁸ 的个数梯度稀释液。

1.2 大肠菌群的检测方法

大肠菌群使用脱氧胆酸盐琼脂(Desoxycholate

表 1 各种堆肥制造场所、原料、辅料和发酵时间

Table 1 The composting place, raw material, supplementary material and the composting time

堆肥试样序号	制造场所	原料	辅料	发酵时间/月
1	宫崎县 N 牧场	牛粪	锯屑	1
2	宫崎县 N 设施	牛粪	稻草	3
3	宫崎县 A 设施	牛粪	锯屑	3
4	宫崎县 A 农协	牛粪	锯屑	3
5	宫崎县 I 社	牛粪	锯屑	3
6	鹿儿岛县 K 牧场	牛粪	树皮	5
7	鹿儿岛县 I 设施	牛粪	锯屑	3
8	福冈县 H 牧场	牛粪	锯屑,豆腐渣	2
9	熊本县 K 设施	牛粪	豆腐渣	6
10	熊本县 Q 设施	牛粪	稻草	3
11	佐贺县 A 设施	牛粪	锯屑,稻壳	3
12	佐贺县 B 设施	牛粪	锯屑,稻壳	3
13	佐贺县 Q 设施	牛粪	锯屑	6
14	熊本县 K 农协	牛粪,鸡粪	锯屑,稻壳	4
15	熊本县 M 组合	牛粪,鸡粪	锯屑	3.5
16	鹿儿岛县 K 设施	鸡粪	-	2
17	熊本县 M 社 ¹⁾	鸡粪	-	1
18	熊本县 M 社	鸡粪	-	1
19	佐贺县 Y 社	鸡粪	-	3
20	冈山县 N 社	污泥,鸡粪	-	1.5
21	佐贺县 D 社	污泥,餐厨垃圾	豆腐渣	4
22	佐贺县 D 商会	餐厨垃圾	稻壳	3
23	佐贺县 I 设施 ²⁾	餐厨垃圾	锯屑	3.5
24	佐贺县 I 设施	餐厨垃圾	锯屑	3.5
25	佐贺县 I 设施	餐厨垃圾	锯屑	3.5
26	佐贺县 I 设施	餐厨垃圾	锯屑	3.5
27	长崎县 N 设施	餐厨垃圾	锯屑	3
28	长崎县 N 设施	餐厨垃圾	锯屑	3
29	宫崎县 A 设施	餐厨垃圾	稻草	3

注:¹⁾ 17,粒状品;18,粉末状品。²⁾23~26,27~28 分别是同一设施,不同时期采取的试样。

Agar, DESO)培养基(日本,荣研)平板法培养计数。从 10⁻³~10⁻⁸ 的稀释悬浊液中选取适当的 3 梯级,取 100 μL 滴入平板上(直径 9 cm 培养皿)涂沫,5 重复,在 37 ℃下培养 24 h,计数 DESO 培养基上出现赤红色的大肠菌群菌落。

1.3 大肠菌群分离菌株的鉴定

用接种笔从 DESO 培养基中疑似大肠菌群的菌落上挑菌,放入 0.5 mL 灭菌生理盐水中悬浊(1 个试样取数个菌落)。把悬浊液在普通肉汤琼脂培养基(日本,生研)上划线接种,30 ℃下培养 5 d 后,确认其纯粹性。按照 API 20E 系统的操作指南,分离菌株纯化

后的新鲜培养菌液接种在 API 20E 系统的小试管中,经 37℃、24 h 培养后,通过观察试验管内的反应,或是加入试剂后颜色的变化,对照 API 20E 系统编码来判别鉴定细菌的种类。

1.4 大肠菌(*E. coli*)的血清凝集试验

采用玻片凝集法,免疫血清使用日本生研的病原大肠菌免疫血清(含 43 种 O 抗原免疫血清)。*E. coli* 的菌株经培养后,用接菌环接菌放入 100 μ L 生理盐水中制成悬浮液,经 37℃、15 min 加热处理后去除菌体表面的鞭毛抗原。接着经过 15 000 $r \cdot \min^{-1}$ 、5 min 的离心分离,在去除上清液后在沉淀中加入 100 μ L 生理盐水制成抗原液。在玻片上滴入病原大肠菌混合血清和作为对照的生理盐水各 1 滴,用接菌环接种抗原液在血清和生理盐水上各自接种,在玻片上混匀,数分钟后就可判断有无凝集反应。试验中作为对照的阳性病原大肠菌使用日本产业医科大学产业保健院微生物研究室保存的 *E. coli* O157:H7 菌株,阴性大肠菌使用 *E. coli* K12 菌株。

2 结果与讨论

2.1 堆肥中的大肠菌群数

29 个堆肥试样中,大肠菌群被检出的有 11 个(38%),菌数在 $10^2 \sim 10^6$ cfu $\cdot$ g $^{-1}$ 的范围。从原料来源看,牛粪堆肥 13 个试样(试样 1~13)中有 6 个检出大肠菌群,菌数在 $3.0 \times 10^2 \sim 2.5 \times 10^6$ cfu $\cdot$ g $^{-1}$,污泥堆肥 2 个试样(试样 20,21)的菌数分别为 1.1×10^2 、 1.8×10^2 cfu $\cdot$ g $^{-1}$,餐厨垃圾堆肥 8 个试样(试样 22~29)中有 3 个检出大肠菌群,菌数在 $3.2 \times 10^3 \sim 2.4 \times 10^4$ cfu $\cdot$ g $^{-1}$ 之间;而牛粪、鸡粪混合堆肥 2 个(试样 14,15),以及鸡粪堆肥 4 个(样品 16~19)没有检出大肠菌群。结果表明,大肠菌群较易在以牛粪、污泥和餐厨垃圾为原料的堆肥中残留,这可能与原料中大肠菌群的多寡有关。

根据日本对蔬菜抽检结果,有机栽培蔬菜 153 个抽检样品中的 98%,市售蔬菜 44 个抽检样品中的 56%,被检出了大肠菌群^[6]。因此,堆肥的施用可能是造成蔬菜、水果被污染的原因和人类疾病传染的途径之一,尤其是以牛粪、污泥和餐厨垃圾为原料的堆肥。通常认为,在堆肥制造过程产生的发酵热能够杀死原料中带来的病原菌、寄生虫卵和杂草种子等。在本研究中,腐熟的堆肥成品中大肠菌群被高频率地检出,特别是大肠菌、沙门氏菌以及其他的内源性感染菌(数据未列出)被检出,说明在堆肥发酵过程中,温度的控制和交叉污染的防止等管理工作十分重要。

2.2 大肠菌群分离菌株的鉴定与大肠菌血清凝集试验

选取 4 个被检出大肠菌群的堆肥试样,每一试样选取赤红色的疑似大肠菌群菌落数个,共计 21 株进行分离纯化。使用 API 20E 鉴定系统进行鉴定的结果如表 2,3 个试样(样品 11,12,26)被分离的菌株中有 11 株鉴定为 *E. coli*,*E. vulneris*,*Pantoea* sp. 和 *Buttiauxella agrestis*,这些都是大肠菌群属的肠内细菌科细菌。此外,1 个试样(样品 23)的 6 株分离纯化菌株都被鉴定为 *Serratia marcescens*,以及另一个试样(样品 11)也有 2 株分离菌株被鉴定为 *S. marcescens*。*S. marcescens* 是不属于大肠菌群属的肠内细菌科细菌,即在 DESO 培养基上被判断为检出大肠菌群的 4 个堆肥试样中,有 1 个试样未被分离出大肠菌群。这可能与 *S. marcescens* 能够在 DESO 培养基上产生红色色素(prodigiosin)而被误判的原因有关。

从堆肥试样中分离纯化的大肠菌群中有 5 株为 *E. coli*,而 *E. coli* 有非病原性的菌株和病原性菌株,其病原性大多是通过菌体抗原的血清类型进行判别的。本研究采用玻片凝集反应法对 5 株鉴定为 *E. coli* 的菌株进行判断,结果所有的菌株都没有发现抗血清反应,即它们都是非病原性大肠菌(见表 2)。

大肠菌群属的 *E. vulneris*、*Pantoea* sp.、*B. agrestis* 和非大肠菌群属的 *S. marcescens*,这些菌种虽然病原性因菌株而有差异,但都是常见的内源性感染菌^[17-20],这些菌种在堆肥中被检出的事实需要我们谨慎对待。

2.3 堆肥发酵过程中大肠菌群的消长

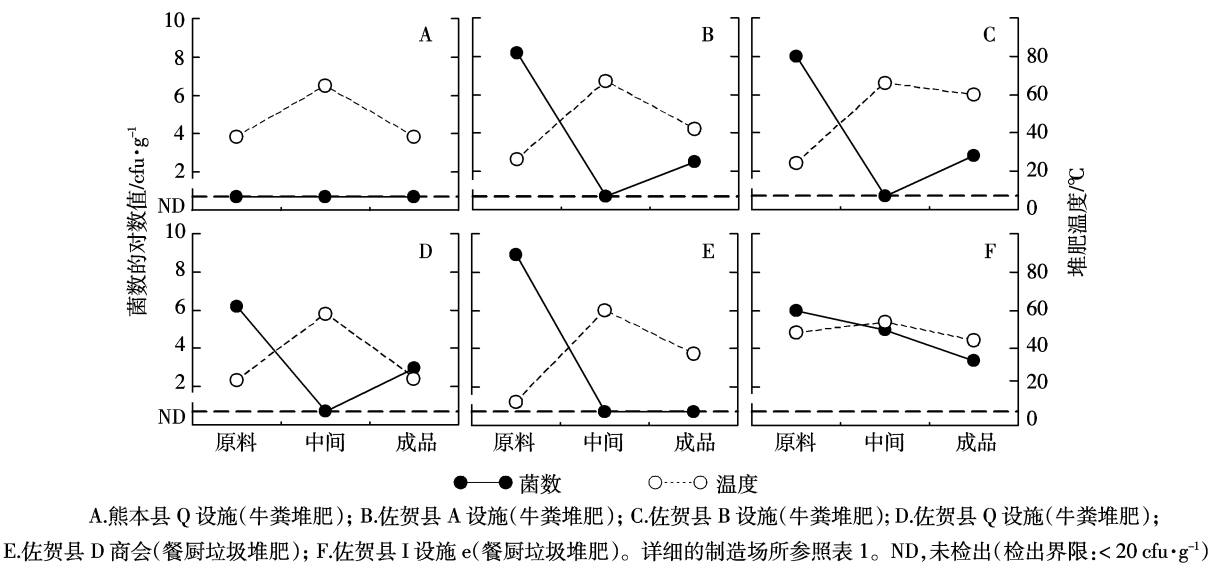
从 6 个堆肥设施中追踪堆肥化过程中大肠菌群的消长情况(图 1)。堆肥发酵过程中,6 例原料为牛粪或餐厨垃圾的堆肥中有 5 例(A 到 E)的发酵温度上升到 60℃以上,发酵完成时,除 C 约 60℃外,其他 4 例成品温度下降到 40℃以下。余下的 1 例(F),是从原料,发酵中间品,到成品的整个发酵过程中温度大约 40~50℃。从图 1 可以看出,堆肥从原料到成品的发酵过程中,大肠菌群大约呈 4 种走向,即:(1)大肠菌群在原料中检出,在发酵中减少,在成品中消失(E);(2)在发酵中暂时消失后,在成品中又出现(B, C, D);(3)未完全消失(F);(4)原料中未被检出(A)。这一结果,与已有的报告^[21-23]大体一致。

判断造成以上堆肥发酵过程中大肠菌群的走向结果的可能原因为:(1)温度控制恰当,大肠菌群在发酵热的作用下被完全杀灭。(2)由于发酵温度不足而导致大肠菌群暂时失活残留,在湿度较大时再增殖^[24]。

表 2 API 20E 系统对疑似大肠菌群分离菌株的鉴定及病原大肠菌免疫血清反应
Table 2 The identification of isolated strain by API 20E and slide agglutination test

堆肥试样序号	菌株编号	API 20E 系统鉴定结果			是否大肠菌群	病原大肠菌免疫血清反应
		检索编码	菌种	准确率/%		
11	1	5307721	<i>Serratia marcescens</i>	97.5	-	NT ⁰
	2	5307721	<i>Serratia marcescens</i>	97.5	-	NT
	3	5044553	<i>Escherichia coli</i>	94.8	+	-
	4	5044553	<i>Escherichia coli</i>	94.8	+	-
	5	5144572	<i>Escherichia coli</i>	99.6	+	-
	6	5144572	<i>Escherichia coli</i>	99.6	+	-
12	7	5144556	<i>Escherichia coli</i>	97.6	+	-
	8	5344576	不存在	-	-	NT
	9	5244576	不存在	-	-	NT
23	10	5307761	<i>Serratia marcescens</i>	97.0	-	NT
	11	5307761	<i>Serratia marcescens</i>	97.0	-	NT
	12	5307761	<i>Serratia marcescens</i>	97.0	-	NT
	13	5306761	<i>Serratia marcescens</i>	95.3	-	NT
	14	5306761	<i>Serratia marcescens</i>	95.3	-	NT
	15	5306761	<i>Serratia marcescens</i>	95.3	-	NT
26	16	1005113	<i>Pantoea</i> sp.	97.9	+	NT
	17	1005113	<i>Pantoea</i> sp.	97.9	+	NT
	18	1005113	<i>Pantoea</i> sp.	97.9	+	NT
	19	1004113	<i>Escherichia vulneris</i>	41.4	+	NT
			<i>Buttiauxella agrestis</i>	24.6	+	NT
	20	1004113	<i>Escherichia vulneris</i>	41.4	+	NT
			<i>Buttiauxella agrestis</i>	24.6	+	NT
	21	1004113	<i>Escherichia vulneris</i>	41.4	+	NT
			<i>Buttiauxella agrestis</i>	24.6	+	NT

注:1)未检测。



(3)发酵温度较低而未能完全杀灭,造成交叉污染(发酵过程中堆肥表面低温部位生存的大肠菌群在发酵完成后混入成品中)。笔者曾经在 54~67 ℃高温的发酵堆肥中检出了大肠菌群、粪便性大肠菌群、大肠菌

和沙门氏菌,它们的残留与堆肥发酵过程中的温度、湿度、菌种和是否对数繁殖期具有很大的关联性^[14]。然而,存在于堆肥原料中,可能残留在堆肥成品中病原菌之中,最值得警惕的是 *E. coli* O157。有研究证明牛粪中的 *E. coli* O157 在一定温度下能生存 70 d^[25]。本研究中,虽然从堆肥中被分离的大肠菌是非病原大肠菌,但所分析的堆肥数量依然十分有限,希望今后能集合更多的研究实例和更多的见解。

3 结论

堆肥成品中大肠菌群高频率被检出,大肠菌群较易在以牛粪、污泥和餐厨垃圾为原料的堆肥中残存,而不易在鸡粪为原料的堆肥中残留。从分离纯化的菌株中发现有大肠菌群属的 *E. coli*、*E. vulneris*、*Pantoea* sp. 和 *B. agrestis*, 以及非大肠菌群属的 *S. marcescens* 等肠内细菌科细菌,其中 *E. coli* 菌株未检出病原性,而 *E. vulneris*、*Pantoea* sp.、*B. agrestis* 和 *S. marcescens* 是病原性较弱的内源性感染菌。追踪堆肥发酵过程中大肠菌群的消长,发现即使堆肥发酵温度超过 60℃,大肠菌群也可能在成品中残留。

参考文献:

- [1] Cieslak P R, Barrett T J, Griffin P M, et al. *Escherichia coli* O157:H7 infection from a manured garden[J]. *The Lancet*, 1993, 42:367.
- [2] Pell A N. Manure and microbes: Public and animal health problem?[J]. *J Dairy Sci*, 1997, 80:2673-2681.
- [3] Hilborn E D, Mermin J H, Mshar P A, et al. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce[J]. *Arch Intern Med*, 1999, 159:1758-1764.
- [4] 金子賢一. 生食用野菜および果実が媒介食品となる感染症[J]. 食衛誌, 1999, 40(6):417-425.
Kaneko K I. Foodborne infection induced by the consumption of salad vegetables and fruits[J]. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 1999, 40(6):417-425.
- [5] 小沼博隆. 野菜における微生物汚染状況とその対策[J]. 日本食品微生物学会雑誌, 2000, 17:37-41.
Konuma H. Microorganism pollution situation in vegetable and the measures[J]. *Japanese Journal of Food Microbiology*, 2000, 17:37-41.
- [6] 马国柱, 王安礼, 刘长宏, 等. 2002 年陕西省食品中食源性致病菌监测[J]. 中国食品卫生杂志, 2003, 15(6):489-491.
MA Guo-zhu, WANG An-li, LIU Chang-hong, et al. Surveillance for foodborne pathogen in foods in Shaanxi Province 2002 [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2003, 15(6):489-491.
- [7] Bohaychuk V M, Gensler G E, King R K, et al. Occurrence of pathogens in raw and ready-to-eat meat and poultry products collected from the retail marketplace in Edmonton, Alberta, Canada[J]. *J Food Prot*, 2006, 69(9):2176-2182.
- [8] 龚云伟, 王平, 董伟力. 长春地区家禽(家畜)中心 *E. coli* O157:H7 调查[J]. 微生物学杂志, 2006, 26(6):102-104.
GONG Yun-wei, WANG Ping, DONG Wei-li. Investigation on *E. coli* O157:H7 among poultry and livestock in Changchun area[J]. *Journal of Microbiology*, 2006, 26(6):102-104.
- [9] Kudva I T, Blanch K, Hovde C J. Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64:3166-3174.
- [10] 韦俊超, 占利, 王雅琴, 等. 从农村耕牛粪便中检出产志贺毒素大肠埃希菌 O157:H7[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(11):1983-1985.
WEI Jun-chao, ZHAN Li, WANG Ya-qin, et al. Detecting shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from countryside farm cattle excrement[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2007, 17(11):1983-1985.
- [11] Ravva S V, Sarreal C Z, Duffy B, et al. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in wastewater from dairy lagoons[J]. *Journal of applied microbiology*, 2006, 101(4):891-902.
- [12] Ibekwe A M, Grieve C M, Yang C H. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on lettuce after soil fumigation[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2007, 53(5):623-635.
- [13] 龚春明. 应用 FISH 技术对土壤中大肠杆菌的快速特异性检出[J]. 海峡科学, 2009, 31(7):26-28.
GONG Chun-ming. Rapid and specific detection of *Escherichia coli* in soil by fluorescence in situ hybridization (FISH)[J]. *Straits Science*, 2009, 31(7):26-28.
- [14] Gong C M, Inoue K, Inanaga S, et al. Survival of pathogenic bacteria in compost with special reference to *Escherichia coli*[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2005, 17(5):770-774.
- [15] Gong C M. Microbial safety control of compost material with cow dung by heat treatment[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19(8):1014-1019.
- [16] 上田成子, 桑原祥浩. 有機栽培圃場の野菜および有機肥料の衛生細菌学的研究[J]. 防菌防黴, 2002, 30(3):145-152.
Ueda S K, Kuwabara Y S. Bacteriological evaluations of the produce and organic fertilizer from organic farming fields[J]. *Bokin Bobai*, 2002, 30(3):145-152.
- [17] Lebine W N, Goldberg M J. *Escherichia vulneris* osteomyelitis of the tibia caused by a wooden foreign body[J]. *Orthop Rev*, 1994, 23:262-265.
- [18] DeBaere T, Verhelst R, Labit C, et al. Bacteremic infection with *Pantoea ananatis*[J]. *J Clin Microbiol*, 2004, 42:4393-4395.
- [19] Dionisio D, Belli A, Dionisio A, et al. Appendicitis: Microbial interactions and new pathogens[J]. *Recenti Prog Med*, 1992, 83:330-336.
- [20] 平瀧洋一. セラチア[J]. 日本臨牀, 2002, 60:2156-2160.
Hirakata Y. *Serratia marcescens*[J]. *Japan Clinical*, 2002, 60:2156-2160.
- [21] 伊吹俊彦, 畠中哲也, 齊藤雅典, 等. 天井クレーン型堆肥自動切り返し装置および戻し堆肥利用を特徴とする堆肥化施設の性能[J]. 農林水産省草地試験場草地飼料研究成果最新情報, 1996, 11:105-106.

- Ibuki T, Hatanaka T, Saitou M, et al. Performance of composting facility using automated crosscut type composting equipment crane and recycled compost[J]. *The Latest Information of Japanese Grassland Research Institute*, 1996, 11:105-106.
- [22] 渡辺千春, 布藤正之, 内藤慎吾, 等. 牛糞の堆肥化過程における大腸菌の消長と分離菌の性状[J]. 滋賀県畜産技術振興センター研究報告, 1998, 5:27-30.
- Watanabe C, Butane M, Naito S, et al. Fate of *Escherichia coli* and characterization of isolates in cow manure composting process [J]. *Bulletin of the Shiga Prefectural Livestock Research and Improvement Institute*, 1998, 5:27-30.
- [23] 敖日格乐, 王纯洁, 于俊娥, 等. 牛粪堆肥中添加抑菌剂对大肠杆菌杀灭效果的研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(1):243-244.
- Aorigele, WANG Chun-jie, YU Jun-e. Sterilization effects of bacterial inhibitor on *Escherichia coli* in cattle manure compost[J]. *Journal of Anhui Agriculture Science*, 2009, 37(1):243-244.
- [24] Soares H M, Cardenas B, Weir D, et al. Evaluating pathogen regrowth in biosolids compost[J]. *Biocycle*, 1995, 36:70-74.
- [25] Wang G, Zhao T, Doyle M P. Fate of *Enterohemorrhagic E. coli* O157:H7 in bovine feces[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62:2567-2570.