

Stwierdzono, że dojrzałe kleszcze *D. pictus* pojawiają się na bydłe w Machnowie w dwóch okresach (wiosennym i jesiennym), co jest zgodne z danymi z piśmiennictwa. Interesujący jest natomiast fakt, że najbardziej masową inwazję kleszczy stwierdzono o dość późnej porze roku (29.X.1966 r.), podczas gdy Petriševa (16) wyraża pogląd, że dojrzałe osobniki *D. pictus* pasożytują jedynie do końca września, a Bregetova (2), Petriševa (16) i Dróždź (3) podają, że w okresie jesiennym kleszcze *D. pictus* występują w znacznie mniejszej liczbie niż na wiosnę. Pomerancev (18) wzmiankuje wprawdzie, że w południowej części ZSRR (Zakaukazie) okres pasożytowania kleszczy *D. pictus* przedłuża się i mogą one zimować na żywicielu, a nawet w Polsce Dróždź (4) i Krzemiński (10) stwierdzali je późną jesienią na łośiach, niemniej jednak wypadki masowej inwazji kleszczy *D. pictus* w drugiej połowie października nie były dotąd znane. Fakt ten należy w części tłumaczyć wyjątkowo ciepłą jesienią roku 1966, można jednak również przypuszczać, że aktywność *D. pictus* zmienia się na różnych obszarach występowania tego gatunku kleszcza.

Jest rzeczą interesującą, że Zwolski (21), który w latach 1957—1958 prowadził na terenie Machnowa badania nad ektopasożytami drobnych ssaków, nie stwierdził wówczas żadnych stadiów rozwojowych *D. pictus*. Świadczy to o tym, że kleszcze te pojawiły się w Machnowie już w ostatnim dziesięcioleciu. Z faktu tego wynika potrzeba przeprowadzenia na terenie wschodnich województw naszego kraju badań dotyczących występowania *D. pictus*. Za potrzebą takich badań przemawiają również wyniki badań seroepidemiologicznych w kierunku kleszczowego zapalenia

mózgu, otrzymane przez Kicińską i Wróblewską-Mularczykową (9), które to autorki stwierdziły wysoki odsetek odczynów na terenie pld. wsch, pñ. wsch. Lubelszczyzny. Nie ulega w każdym razie wątpliwości, że w wypadku stwierdzenia ognisk kleszczy *D. pictus*, należy dążyć do ich likwidacji, stosując opylanie insektycydami krzewów rosnących przy pastwiskach.

Piśmiennictwo

1. Arthur D. R.: Ticks and Disease. Fergamon Press, Oxford 1962.
2. Bregetova H. N. (red.): Klesči grizunov fauny SSSR. Izd. Ak. Nauk. SSSR, Moskva 1953.
3. Dróždź J.: Wiad. Parazyt., 9, 57, 1963.
4. Dróždź J.: Wiad. Parazyt. 10, 590, 1964.
5. Dróždź J., Szymański S.: Wiad. Parazyt. 11, 493, 1965.
6. Kapustin V. F.: Atlas parazitov zivotnych i klesčej iksodid. Gos. Izd. Sel'skochoz. Lit., Moskva 1955.
7. Katin A. A.: Izučenie roli klesčej Dermacentor pictus kak perenosčikov virusa klesčevogo encefalita. Tiumen 1965.
8. Katin A. A.: Rol' klesčej Dermacentor pictus Herm. kak perenosčikov virusa klesčevogo encefalita. Zbor. dokl. pervogo akarologičeskogo sovesčania, 167, Moskva-Leningrad 1966.
9. Kicińska H., Wróblewska-Mularczykowa Z.: Przegl. Epidemiol. 20, 249, 1966.
10. Krzemiński J. K.: Wiad. Parazyt. 14, 83, 1968.
11. Lachmajer J.: Wiad. Parazyt. 5 (Suppl.), 97, 1953.
12. Lachmajer J.: Wiad. Parazyt. 13, 511, 1967.
13. Lachmajer J.: Arachnoentomologia lekarska. Rozdz. podr.: Zarys parazytologii lekarskiej, PZWL, 1967.
14. Marinov M. P., Litvinenko E. F., Stepanova J. A.: K voprosu prirodnoj očajovosti tularemii w Ukrainskoj SSR. X Sovesčanie po parazytologičeskim problemam i prirodnoočagovym bolezniam, Vyp. 1, 153, Izd. Ak. Nauk SSSR, Moskva 1959.
15. Obitz K.: Pam. P.I.N.G.W. Wydz. Wet. 2, 80, 1938.
16. Petriševa P. A. (red.): Perenosčiki vzbuditelej prirodnoočagovych boleznij. Medgiz, Moskva 1962.
17. Petrov V. G.: Itogi izučenia iksodovych klesčej kak perenosčikov tularemii. X Sov. parazytol. probl. prirodnoočag. bol., 1, 160, Izd. A.N. SSSR, Moskva 1959.
18. Pomerancev B. I.: Iksodovyje klesč. Izd. Ak. Nauk SSSR, Moskva 1950.
19. Sokolov A. A.: Landšaftnyje rejony i lokalizacija prirodnyc očajov zoonoznych infekcij kalinińskiej oblasti. X Sov. parazytol. probl. prirodnoočag. bol., 1, 169, Izd. A.N. SSSR, Moskva 1959.
20. Stepanova I. A., Stupnickaja V. M., Litvinenko E. F.: Obnaruzhenie listerelleznoj infekcij sredi iksodovych klesčej i dikich grizunov Ukrainskoj SSR. X Sov. parazytol. probl. prirodnoočag. bol., 1, 178, Izd. A. N. SSSR, Moskva 1959.
21. Zwolski W.: Wiad. Parazyt. 6, 519, 1960.

Adres autora: dr Jacek Dutkiewicz, Lublin, ul. Czwartek 4a, Instytut Medycyny Pracy i Higieny Wsi.

HIGIENA I TECHNOLOGIA ŚRODKÓW SPOŻYWCZYCH

CELESTYN SZCZUCKI, ZOFIA KANICKA

Porównanie ilościowych metod rutynowych w mikrobiologicznych badaniach mięsa i przetworów

Rejonowe Laboratorium Kontrolno-Badawcze Przemysłu Mięsnego w Łodzi

O wartości zastosowanej każdej rutynowej metody analitycznej decyduje zarówno dokładność i precyzja jak też prostota i operatywność metody.

W konkretnym odniesieniu do omawianych rutynowych badań mikrobiologicznych stopnia zakażenia mięsa i przetworów, przyjęto następujące zakresy pojęciowe tych wyróżników:

a) dokładność metody — stopień zbliżenia uzyskiwanych przy jej pomocy wyników do rzeczywistości określanej umownie wzorcową metodą odniesienia,

b) precyzja metody — stopień powtarzalności uzyskiwanych przy jej pomocy wyników, przy zachowaniu warunków stosowania metody,

c) prostota metody — stopień uciążliwości wyrażający się sumą nakładów czasu pracy i materiałów niezbędnych dla stosowania metody,

d) operatywność metody — potencjalna przydatność lub nieprzydatność w procesie czynnej (aktywnej) kontroli jakości, w której metoda występuje jako element sprzężenia zwrotnego: produkt → badania → produkt, jednak nie w sensie statycznym (np. dla formalnej kwalifikacji jakości), lecz w dynamicznym oddziaływaniu na kształtowanie tej jakości.

Niestety tak pojętą operatywność metod ilościowych należy ocenić w większości przypadków negatywnie. Szybkie badania bakteriologiczne lub testy biochemiczne okazują się na ogół niewystarczającą i niezbyt rzetelną podstawą do interpretacji i orzecznictwa, natomiast badania oparte na metodach hodowlanych są niemal z reguły zbyt długotrwałe.

Z tej racji ocenę wartości zastosowanej wybranych metod ilościowych ograniczono w niniejszej pracy jedynie do trzech pierwszych wyróżników wymienionych w pkt. a, b, c.

Metody i układ doświadczeń

Przedmiotem badań było porównanie nowej, własnej metody „bibułowej” (2) z tradycyjnymi metodami ilościowymi: płytkową Kocha i rozcieńczeń, wykonywanymi zgodnie z obowiązującymi zasadami (3) z tym, że zastosowano różne warianty przygotowania i homogenizacji materiału do posiewów.

Materiał do badań stanowiły kiełbasy trwałe, półtrwałe i nietrwałe, surowe, pieczone i parzone, wyroby wędliniarskie oraz mięso świeże i peklowane. Reprezentowały one bardzo różny stopień zakażenia oraz istotny dla metody bibułowej różny stopień czystości i związanie wody.

Stosowano następującą metodykę:

Metoda bibułowa. Sączki z bibuły filtracyjnej krajowej o ϕ 12,3 mm wkładano do przekroju produktu (lub zmielonego farszu) i lekko dociskano brzegi przecięcia, by sączek przyległ obustronnie do masy. Po kilkunastu minutach, sączek wraz z sokiem i bakteriami rozpraszało przy pomocy homogenizatora magnetycznego w 10 ml agaru 50°C i wylewano na płytkę.

Metoda płytkowa. 10 g zmielonego i wymieszanego produktu, lub w innym postępowaniu 10 g wycinków, homogenizowano z dodatkiem 90 ml 0,85% roztworu NaCl przez 1 min. w mikserze (12000 obr/min) lub przez 10 minut intensywnie rozcierano z piaskiem. Po 15 minutowym odstaniu, spod powierzchni cieczy pobierano mikropipetą płyn do dalszych roz-

cieńczeń (10^{-2} , 10^{-3} , i 10^{-4}), z których posiewano po 1 ml do upłynnionego agaru (50°C), a po wymieszaniu wylewano na płytki.

Metoda rozcieńczeń. Płyn z miksera (10^{-1} otrzymany jak uprzednio) rozcieńczano dalej aż do 10^{-6} i posiewano po 1 ml na bulion odżywczy.

W badaniach porównawczych zastosowano układ poszczególnych serii doświadczeń przedstawiony w tabeli 1.

Tab. 1

Przygotowanie próbek do posiewu		Metoda posiewu (seria)		
wstępne	homogenizacja	płytkowa	rozcieńczeń	bibułowa*)
Próba zmielona i wymieszana	mechaniczna (mikser)	A, D	D	A, B, D
	ręczna (moździerz)	B, D	—	
Wycinki	mechaniczna (mikser)	C	—	C
	niehomogenizowana	—	—	

Wyniki badań i dyskusja

a. Dokładność metod ilościowych.

Podstawę do porównania dokładności metod ilościowych stanowiły:

Seria A — 140 posiewów równoległych

„ B — 108 „ „

„ C — 381 „ „

Razem: 629 „ „

Dla właściwego porównania, wyniki przedstawione są (tab. 2) w postaci średnich z logarytmów ilości bakterii w poszczególnych grupach produktów.

Warta podkreślenia jest tu zgodność wyników w seriach A i C (metoda bibułowa oraz obie płytkowe z homogenizacją mechaniczną). W serii B (rozcieranie w moździerz) różnice są natomiast znacznie większe i ukierunkowane w sposób świadczący o niższej dokładności.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, posługując się uproszczoną statystyką „klasową” (1) wygodną przy tak dużym materiale doświadczalnym.

Obliczone charakterystyki statystyczne zestawione są w tabeli 3.

Tab. 2

Lp.	Grupa produktów	Średnie z logarytmów ilości bakterii w seriach					
		A		B		C	
		bibułowa	płytkowa	bibułowa	płytkowa	bibułowa	płytkowa
1	Mięso	5,480	5,622	—	—	4,965	4,946
2	Wędliny soczyste	5,216	5,369	4,139	3,880	4,081	4,095
3	Wędliny suche	5,138	5,240	3,683	3,351	4,086	4,186
4	Wyroby wędliniarskie	5,065	5,075	4,327	3,951	3,706	3,783
	Średnia ważona	5,217	5,314	4,221	3,888	4,315	4,349
	Różnica	-0,097		+0,333		-0,034	

Tabela 3

L. p.	Statystyki	Wartości statystyk w serii		
		A	B	C
1	\bar{n} — licznosc prób w serii	140	108	381
2	\bar{x} — średnie wyników w met. bibulowej	5,02	4,25	4,32
3	\bar{y} — średnie wyników w met. płytkowej	5,11	3,98	4,36
4	R_x — rozstęp wyników w met. bibulowej	3,230 do 5,846	3,301 do 5,670	2,477 do 6,314
5	R_y — rozstęp wyników w met. płytkowej	3,556 do 9,971	2,845 do 5,514	2,903 do 6,579
6	S_x — odchyl. średnie wyników w met. bibulowej	0,672	0,493	0,765
7	S_y — odchylenie średnie wyników w metodzie płytkowej	0,653	0,600	0,678
8	r — współczynnik korelacji metod	0,9343 przy $r_{0,99} = 0,228$	0,638 przy $r_{0,99} = 0,253$	0,856 przy $r_{0,99} = 0,132$
9	$y = ax + b$ — równanie regresji	$y = 1,041$ $x - 0,108$	$y = 1,622$ $x - 2,91$	$y = 1,037$ $x - 0,142$

Z porównania przytoczonych w tabeli 3 statystyk nasuwają się następujące obserwacje:

- w serii B, $\bar{x} > \bar{y}$ zaś w seriach A i C, $\bar{x} < \bar{y}$ przy znacznie mniejszej różnicy,
- w serii, B, wartość $R_x < R_y$ gdy w pozostałych $R_x > R_y$; zważywszy, że na zmienność całej serii wpływa zmienność naturalna badanej cechy (wspólna dla obu metod) oraz indywidualna zmienność wynikająca z ograniczonej dokładności tych metod, mniejsze wartości rozstępu wskazują na dokładniejszą metodę,
- w serii B, wartość $S_x < S_y$ gdy w seriach A i C, $S_x > S_y$ przy mniejszych różnicach; dla identycznych przyczyn jak podano przy rozstępach mniejsze wartości S wskazują na metodę dokładniejszą,
- seria B posiada znacznie niższy współczynnik korelacji niż A i C,
- równania regresji w seriach A i C są bliższe tożsamości ($a \cong 1$ zaś $b \cong 0$) gdy w serii B $a \neq 1$ zaś $b \neq 0$.

Przytoczone obserwacje wskazują jednoznacznie, że dokładność metody bibulowej ustępuje nieco metodzie płytkowej z homogenizacją w mikserze (serie A i C) natomiast przewyższa dokładność tej metody przy zastosowaniu rozcierania próbki w moździerz (seria B). Mimo braku danych doświadczalnych, porównanie to można rozciągnąć także na metodę rozcieńczeń (miana). Z natury rzeczy jest ona obarczona potencjalnie najmniejszą dokładnością wśród przebadanych metod i to o cały jeden rząd wielkości.

b. Precyzja metod ilościowych.

Dla określenia precyzji porównywanych metod ilościowych, przebadano w serii D metodę: płytkową w dwu wariantach (homogenizacja w mikserze i moździerz), rozcieńczeń i bibulową, każdą w 20 równoległych podwójnych powtórzeniach (po 4 pary badań na każdej z 20 zmielonych i wymieszanych próbek).

Mimo wielkiej rozpiętości w stopniu zakażenia badanych produktów (10^3 do 10^7 bakt/g) różnice między równoległymi powtórzeniami

okazały się niewielkie. W metodach płytkowych i bibulowej nie przekraczały one w skrajnych przypadkach 100% wartości mierzonej, a w metodzie rozcieńczeń jednego rzędu wielkości. Ilustracją precyzji mogą tu być rozstępy i wartości średnie względem wyników równoległych powtórzeń (wyrażone w % wartości mierzonej) przedstawione w tabeli 4.

Tabela 4

Metoda	Różnice powtórzeń w % wartości mierzonej		
	Rozstęp		średnio w serii
	granice R	wartość R	
I Bibulowa	0,0 do 32,48	32,48	14,30
II Płytkowa z miks.	8,69 do 62,30	53,61	23,41
III Płytkowa z moźdz.	0,0 do 85,60	85,60	30,59
IV Rozcieńczeń	0,0 do 0,0	0	0

Jak widać największą powtarzalnością, a więc precyzją wyników, charakteryzuje się metoda bibulowa (I), dalej płytkowa z mikserem (II), następnie płytkowa z moździerzem (III) i (mimo, że nie wynika to z danych tabeli 4) na końcu tej listy znajduje się metoda rozcieńczeń, jako obarczona potencjalną możliwością ukrytej różnicy do 1000% (jeden rząd wielkości).

Obiektywnym sposobem oceny precyzji metod jest porównanie wartości odchylenia średniego (S) różnic w powtórzeniach przy każdej z metod. Jako kryterium istotności różnic (w danym przypadku S_I S_{II} S_{III}) służy test Morgana (1). Wyniki serii D przeliczono statystycznie uzyskując następujące dane wyjściowe:

$$S_I = 302,3, S_{II} = 420,5, S_{III} = 1008,3$$

$$r_{I/II} = 0,9959; r_{I/III} = 0,9947, r_{II/III} = 0,9097$$

Metodę IV (rozcieńczeń) pominięto jako nieporównywalną.

Wartości odchylen średnich potwierdzają wnioski z tabeli 4. Ocena istotności różnic od-

chyłeń średnich (precyzji) dokonana testem Morgana dała następujące rezultaty:

$$t_{I/III} = 7,767; t_{II/III} = 26,227; t_{II,III} = 1,458$$

zważywszy, że dla 18 stopni swobody t graniczne wynosi: $t_{0,90} = 1,734$; $t_{0,95} = 2,101$; $t_{0,99} = 2,875$ można stwierdzić, że precyzja metody bibułowej okazała się w przeprowadzonych badaniach istotnie wyższa od obu metod płytkowych, które nie różnią się między sobą w sposób statystycznie istotny.

c. Porównanie prostoty przebadanych metod.

Czynnikiem niezależnym od dokładności i precyzji, a przesadzającym o wartości zastosowanej rutynowych metod analitycznych jest ich prostota. W konkretnym przypadku ilościowych metod mikrobiologicznych, zupełnie dokładnym miernikiem ich prostoty jest ilość pozostającego po badaniu szkła i sprzętu, jako funkcja nakładów pracy, czasu i kosztów na:

- przygotowanie podłoż i materiału do badań,
- wykonanie posiewów i odczytów,
- unieszkodliwienie, umycie, sterylizację i przygotowanie szkła i sprzętu do powtórniego użytku,
- materiały, energię i amortyzację.

Porównanie ilości szkła i sprzętu używanego przeciętnie na jednorazowe badanie ilościowe, przedstawione jest w tabeli 5.

Tabela 5

Sprzęt i szkło	Metoda	Bibułowa	Płytkowa z mikserem	Płytkowa z moździerzem	Rozcieńczeń
Probówki		1	5	5	11
Płytki Petriego		1	3	3	—
Pipety miarowe		—	5	5	7
Leje homogenizacyjne		—	1	—	1
Moździerze		—	—	1	—
Razem sztuk		2	14	14	19

Te łączne ilości pomnożone przez wyliczone rodzaje nakładów (szczególnie pracy) pozwalają ocenić metodę bibułową jako ca 7-krotnie prostszą od płytkowej i 9-krotnie prostszą od

metody rozcieńczeń, co odpowiada wieloletnim obserwacjom praktycznym. Szczególnie przy dobrze zorganizowanych masowych posiewach seryjnych, prostota metody bibułowej okazuje się tu niemal nieporównywalna z metodami tradycyjnymi.

Podsumowanie

Przyjmując umownie, że dokładność, precyzja i prostota przebadanych metod ilościowych są równorzędnymi miernikami ich wartości zastosowanej w rutynowej kontroli mięsa i przetworów, można te metody uporządkować w następującej kolejności:

- metoda bibułowa,
- metoda płytkowa Kocha z homogenizacją w mikserze,
- metoda płytkowa Kocha z homogenizacją w moździerzu,
- metoda rozcieńczeń.

Piśmiennictwo

1. Bożyk Z., Rudzki W.: Zarys metod statystycznych przy badaniu jakości prod. spożywczych, WPL i S, s. 95, 136, 285, 1967.
2. Szczucki C.: Medycyna Wet. 24, 582, 1968.
3. PN-66/A-82054. Mięso i przetwory mięsne. Badania bakteriologiczne.

Adres autora: dr inż. Celestyn Szczucki, Łódź, ul. Inżynierska 1/3.

Щуцки Ц., Каницка З. — Сравнительная оценка официальных количественных методов микробиологического исследования мяса и мясных продуктов.

Исследовали 649 серии мяса и мясных продуктов собственным „бумажным” методом, методом пластинок в 2 вариантах гомогенизации и методом разбавлений. Статистически установили что по точности результатов и простоте выполнения самым лучшим является „бумажный” метод а самым плохим метод разбавлений.

Szczucki C., Kanicka Z. — The comparison of the quantitative conventional methods of microbiological inspection of meat and meat products.

649 series of quantitative comparative investigations on the contamination level of meat and meat products carried out. The own („paper”) plate method was applied in two variants of homogenization, and also the dilution method was used. The statistical evaluation of the strictness of precision and of the simplicity of the compared methods points out to the „paper” method as most useful and the dilution method as the least useful in the conventional quantitative methods.

KRYSTYNA GOLICZ

Wyniki laboratoryjnych badań san.-wet. konserw rybnych w latach 1963—67

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Szczecinie
Kierownik: lek. wet. B. UZIĘBŁO

Pracownia Badania Środków Spożywczych Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Szczecinie przeprowadza badania bakteriologiczne konserw rybnych, kierowanych do badań w ramach nadzoru Weterynaryjnej Inspekcji Sa-

nitarnej z poszczególnych Zakładów Produkcyjnych.

W okresie od IV kwartału 1963 r. do końca 1967 r. dokonano analizy bakteriologicznej 6360 konserw rybnych sterylizowanych — 21