

MIECZYŚLAW RADKOWSKI, STANISŁAW KAFEL

## Modyfikacja metody płytkowej Kocha dla oznaczania liczby bakterii w żywności

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego ART,  
10-957 Olsztyn-Kortowo II

Badania mikrobiologiczne ilościowe odgrywają w ocenie żywności dużą rolę ze względu na to, że jej ogólny stan sanitarny, trwałość, cechy organoleptyczne oraz zdrowotność zależą w dużym stopniu od sumy przemian metabolicznych związanych z liczebnością mikroflory.

Zakres, częstotliwość i operatywność kontroli rutynowej prowadzonej przez laboratoria zależy w dużym stopniu od prostoty obowiązującej metodyki. Z tych względów duże znaczenie przywiązuje się do metod, które w sposób reprezentatywny, a zarazem łatwy i szybki w wykonaniu, pozwalają na ustalenie stopnia ilościowego zakażenia badanych próbek. Spośród szeregu metod liczbowej określenia żywych bakterii tlenowych najbardziej rozpowszechnioną w rutynowych badaniach jest metoda posiewu powierzchniowego, zwana metodą Kocha, która jest szeroko stosowana w Europie i zalecana przez International Organization for Standardization (ISO) (3). Metoda ta była też szczególnie zalecana w USA do badania produktów mleczarskich (2) oraz innych produktów (1).

Posiew powierzchniowy jest bardzo pracochłonny i wymaga dużej ilości podłoża agarowego, co w pewnym stopniu ogranicza stosowanie go w kontroli rutynowej. Dlatego podjęto próby poszukiwania metody mniej pracochłonnej.

Celem pracy było porównanie wyników badań ilościowych uzyskanych przy zastosowaniu ogólnie stosowanej w naszym kraju metody powierzchniowego posiewu płytkowego oraz metody powierzchniowej według modyfikacji własnej.

### Materiał i metody

Materiał do posiewów stanowiły:

- mleko butelkowe nabywane w sklepie spożywczym, naturalnie zakażone,
- farsz mięsny zakupiony w Zakładach Mięsnych w Olsztynie, naturalnie zakażony. Dwadzieścia g farszu mięsnego dodawano do 180 ml płynu do rozcieńczeń i po dokładnym wymieszaniu przetrzymywano przez 15 minut na stole laboratoryjnym. W ten sposób uzyskano homogenizat mięsny do dalszych badań.

Mleko i homogenizat mięsny rozcieńczano dziesięciokrotnie 0,1% wodą peptonową i z poszczególnych rozcieńczeń wykonywano posiewy następującymi metodami:

- metodą płytkową Kocha (posiew powierzchniowy),
- metodą płytkową Kocha zmodyfikowaną, w której płytkę agarową dzielono na 3 części, a następnie

na odpowiednie pole płytki posiewano mikropipetą 0,1 ml z danego rozcieńczenia badanego materiału, który natychmiast rozprowadzono równomiernie na określonej części podłoża za pomocą użytej pipety.

Płytki z posiewami mleka i homogenizatu mięsnego inkubowano przez 48 godzin w temperaturze 30°C. Badania mleka i homogenizatu mięsnego powtórzono siedemdziesięciokrotnie. Wyniki poddano analizie statystycznej, wyliczając średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe. Istotność różnic oznaczano testem t-Studenta  $p \leq 0,05$  i  $p \leq 0,01$ .

### Wyniki i omówienie

Wyniki oznaczeń badanych próbek według dwóch wymienionych metod zestawiono summarycznie w tab. 1. Tak w przypadku farszu mięsnego, jak i mleka wyniki uzyskane metodą Kocha (A) i metodą powierzchniową zmodyfikowaną (B) nie wykazują istotnych różnic na poziomie  $p \leq 0,05$ .

Tab. 1. Wyniki porównawcze ilościowego oznaczania bakterii przy zastosowaniu metody płytkowej Kocha i jej modyfikacji (n=70)

Badany materiał	Metoda oznaczeń	Liczba bakterii w 1 cm <sup>3</sup> $\bar{x} \pm s$	Poziom. istotności $p \leq 0,05$
Mleko	płytkowa A	$5,2 \times 10^3 \pm 5,2 \times 10^3$	a
	zmodyfikowana B	$4,9 \times 10^3 \pm 4,8 \times 10^3$	a
Farsz mięsny	płytkowa A	$9,8 \times 10^4 \pm 3,9 \times 10^4$	a
	zmodyfikowana B	$9,9 \times 10^4 \pm 3,7 \times 10^4$	a

Objaśnienie: — wyniki oznaczone tymi samymi małymi literami nie różnią się istotnie przy  $p \leq 0,05$ .

W ogólnej ocenie przedstawionych metod można stwierdzić, że zmodyfikowana metoda posiewu powierzchniowego daje wyniki reprezentujące w dużym stopniu stan zakażenia ilościowego otrzymany metodą płytkową. Wymaga ona mniejszych nakładów pracy, czasu, energii oraz kosztów na przygotowanie, sterylizację i mycie szkła, a także mniejszych ilości pożywek. Zmodyfikowana metoda płytkowa Kocha może więc być stosowana przy badaniu żywności, ponieważ wartości liczbowe uzyskiwane tą metodą mieszczą się w tym samym przedziale logarytmicznym, co wartości otrzymane przy zastosowaniu standardowej metody Kocha.

### Piśmiennictwo

- Association of Official Analytical Chemists: Official methods of analysis. Washington D.C. 1975.

2. Hausler W. J.: Standard methods for the examination of dairy products. Am. Public Health Ass. Washington D.C. 1972.
3. Thatcher F. S., Clark D. S.: Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration. Univ. Toronto Press, Canada 1968.

Adres autora: dr Mieczysław Radkowski, ul. Osińskiego 19/14, 10-010 Olsztyn

Радковский М., Кафель С. — Модификация плиточного метода Коха для определения числа бактерий в продовольствии

Исследовали числа бактерий в натурально зараженном молоке и мясе методом поверхностного плиточного посева Коха, а также методом поверхностного плиточного посева. Показали, что модифицированный метод поверхностного плиточного посева дает результаты, представляющие в большей степени состояние количественного заражения, констатируемое методом Коха. Числа бактерий, по-

лучаемые разными методами при исследовании того же материала, располагались всегда в том же самом логарифмическом интервале. Модифицированный метод Коха нуждается в меньшем количестве агаровой среды, а притом менее трудоемок.

Radkowski M., Kafel S. — Modified plate inoculation method to determine the bacteria number in food

The number of bacterial cells was examined in contaminated milk and meat by means of standard plate inoculation method and a modified one. It was found that the modified method of inoculation of agar surface enabled to calculate the proper degree of contamination assayed by Koch's method. The number of bacteria of the same products determined with those different methods was always within the same log intervals. The modified Koch's method permitted to use less agar medium and it was less time and labour-consuming.

## FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASNIENIANIE

KAZIMIERZ ROSŁANOWSKI  
Poznań

### XXX lat działalności Sekcji Fizjologii i Patologii Rozrodu oraz Sztucznego Unasieniania Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych\*)

W dniach 24 i 25 czerwca 1986 r. odbyła się w Poznaniu uroczysta Sesja naukowa poświęcona zagadnieniom ochrony reprodukcji zwierząt przed czynnikami zakaźnymi. Było to 25 jubileuszowe spotkanie członków i sympatyków Sekcji Fizjologii i Patologii Rozrodu oraz Sztucznego Unasieniania PTNW. Ponieważ równocześnie zbliża się 30 rocznica istnienia Sekcji, dlatego też wydaje się, że jest to właściwa sposobność, aby przypomnieć chociażby zasadnicze fakty z dotychczasowej jej działalności, a także pokusić się o kilka refleksji. Pragnę tu uczynić dla podkreślenia roli tych, którzy aktywnie uczestniczyli w powstaniu i działalności Sekcji, jak również dla przypomnienia tym, którzy dopiero obecnie, względnie od niedawna biorą udział w naszych spotkaniach i wykazują żywe zainteresowanie jej dalszym rozwojem.

W pamiętnym 1956 r., podczas spotkania grupy członków PTNW, które odbyło się 8 października w Zakładzie Unasieniania w Kosowie w b. województwie poznańskim, zrodziła się koncepcja zorganizowania przy Polskim Towarzystwie Nauk Weterynaryjnych — Sekcji Fizjologii i Patologii Rozrodu oraz Sztucznego Unasieniania. Inicjatywa ta wynikała ze zrozu-

mienia potrzeby zgrupowania zarówno praktyków, jak i teoretyków zainteresowanych zagadnieniami rozrodu zwierząt. Zakładano, iż Sekcja stanowić powinna płaszczyznę wymiany poglądów, umożliwiając szybkie przekazywanie wyników prac naukowych praktyce, a równocześnie sygnalizowania przez praktyków istotnych problemów i potrzeb w zakresie rozrodu zwierząt, wymagających naukowego opracowania.

Z grona uczestników pamiętnego spotkania w Kosowie odeszło niestety już bardzo wielu, między innymi profesorowie T. Olbrycht, R. Hoppe, Wł. Bielański, L. Jaśkowski, ponadto mgr T. Szałajko, dr J. Mulak i dr T. Majewski.

Do podjętej w Kosowie inicjatywy ustosunkował się przychylnie ówczesny Zarząd Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, którego prezesem w tym czasie był prof. R. Hoppe i uchwałą IX Ogólnego Zebrania Administracyjnego, które odbyło się w dniu 27 stycznia 1957 w Warszawie, formalnie powołana została Sekcja Fizjologii i Patologii Rozrodu oraz Sztucznego Unasieniania. Członkami założycielami byli prof. Wł. Bielański, prof. R. Hoppe i prof. L. Jaśkowski. Jej pierwszym przewodniczącym wybrany został prof. L. Jaśkowski. W dotychczasowych kadencjach, przewodniczącymi Sekcji byli:

w latach 1957—1960 prof. dr Lech Jaśkowski

\*) Referat wygłoszony podczas XXV Sesji naukowej Sekcji Fizjologii i Patologii Rozrodu oraz Sztucznego Unasieniania PTNW w Poznaniu 24.6.1986 r.