

aglutynacji płytowej niż testem tuberkulinowym.

2. Odczyn serologiczny w odróżnieniu od próby tuberkulinowej, pozwala na zachowanie jednolitego postępowania przy badaniu wszystkich ptaków w ZOO bez względu na gatunek.

3. Wydaje się słusznym zalecenie stosowania metody aglutynacji płytowej przy badaniu na gruźlicę ptaków w ogrodach zoologicznych.

Piśmiennictwo

1. Bekajto R.: *Medycyna Wet.* 5, 254 1963.
2. Fritzsche K., Gerriets E.: *Geflügel Krankheiten*, Verl. Parey, Berlin Hamburg, 1962.
3. Hutyla F., Marek J., Manninger R., Mócsy J.: *Szczegółowa*

lowa patologia i terapia chorób zwierząt, t. I. PWRiL, 1962.

4. Jacob E.: *Berl. Münch. Tierärztl. Wsch.* 358, 1953.
5. Klein H., Steffke E.: *Mh. Vet.-Med.* 5, 1959.
6. Marek K.: *Choroby drobiu*, PWRiL, 1962.
7. Nassal J.: *Mh. f. Tierheilk.* 6, 109, 1953.
8. Podbuskij I. W., Fomina A. J., Akutowa A. W.: *Wietierinaria*, 2, 1956.
9. Prochorow A. W., Fomina A. J., Akutowa A. W.: *Wietierinaria*, 11, 1955.
10. Prochorow A. W., Akutowa A. W.: *Wietierinaria*, 2, 1958.
11. Stoll L., Lucas H.: *Mh. f. Tierheilk.* 9, 164, 1963.
12. Svrcek A.: *Folia Vet.*, Kosice, 6, 115, 1962.
13. Vior C., Voynove E., Juncu N., Micu E., Armas T., Salantiu V.: *Probl. Epizoot. Vet.* IX IPIA, Bucuresti, 1956.
14. Vior C.: *Lucr. Stientifice Inst. Pasteur t. XI*, 31, Bucuresti, 1961.
15. Vior C., Sandulescu S., Anghel V.: *Lucr. Steintifice Inst. Pat. Ig. Anim.* XII, 57, 1963.

Adres autora: lek. wet. Benedykt Musielak, Gdańsk-Oliwa, ul. Piastowska 54.

HIGIENA I TECHNOLOGIA ŚRODKÓW SPOŻYWCZYCH

KRYSTYNA MALIK

Badania nad współzależnością pomiędzy wytwarzaniem fosfatazy a związanej i wolnej koagulazy wśród szczepów gronkowców wyizolowanych z artykułów żywnościowych

Wojewódzka Stacja Sanitarno Epidemiologiczna w Krakowie

Dyrektor: doc. dr M. BILEK

Od dawna stwierdzono, że zdolność wytwarzania koagulazy, ścinającej osocze ludzkie i królicze, oraz zdolność wytwarzania fosfatazy enzymu zewnątrzkomórkowego rozkładającego w środowisku połączenia organicznego z kwasem fosforowym, jest cechą najbardziej stałą i związaną z chorobotwórczością gronkowców (3, 5, 7, 8, 9). Badania różnych badaczy wykazały, że wytwarzanie fosfatazy jest dość ściśle uzależnione od współobecności koagulazy (1, 4, 6). Stwierdzono również że szczepy gronkowców koagulazo-dodatnich nie wytwarzające fosfatazy i szczepy gronkowców fosfatazo-dodatnie nie wytwarzające koagulazy spotyka się rzadko w etiologii chorób gronkowcowych (2).

Badając artykuły żywnościowe stwierdzono liczne zakażenia produktów żywnościowych szczepami gronkowców. Wykazanie chorobotwórczych wyizolowanych szczepów nasuwa trudności w związku z uzyskaniem plazmy ludzkiej, czy plazmy króliczej. W oparciu o dane piśmiennictwa nasuwa się pytanie czy stosowaną powszechnie próbę na koagulazę nie możnaby zastąpić testem na fosfatazę. Czy współzależność ta pokrywa się w wysokim odsetku, tak, że w każdej chwili bez wielkiego błędu w razie niemożliwości wykonania próby na koagulazę, można ją zastąpić próbą na fosfatazę.

Materiał i metody

Materiałem badanym były szczepy gronkowców złocistych koagulazododatnich i szczepy gronkowców białych koagulazoujemnych wyizolowanych z artykułów

żywności pochodzących z zatruc pokarmowych i z artykułów żywności pochodzących z obrotu, w celu oznaczenia przydatności do spożycia, przesyłanych do Wojewódzkiej Stacji Sanitarno Epidemiologicznej w Krakowie.

Ogółem przebadano 990 szczepów gronkowców, w tym 660 szczepów gronkowców złocistych koagulazododatnich i 330 szczepów gronkowców białych koagulazoujemnych. Wyizolowane szczepy pochodziły z artykułów żywności a mianowicie: mleka i przetworów mlecznych, mięsa i przetworów mięsnych, przetworów cukierniczych, oraz ryb i przetworów rybnych.

Materiał nadesłany wysiewano na pożywkę płynną Chapmana w celu namnożenia się drobnoustrojów. Po 48 godzinnym okresie inkubacji w temp. 37°C przesiewano hodowlę na pożywkę stałą Chapmana. Po 48 godzinnej inkubacji na pożywkę stałą stwierdzono wzrost kolonii charakterystycznych dla gronkowców. Podejrzone kolonie izolowano na pożywkę agarową z dodatkiem 5% krwinek baranich. Również dla wykluczenia nietypowych szczepów wszystkie kolonie gronkowców przebadano biochemicznie oznaczając fermentację glikozy, mannitolu, wytwarzanie katalazy. Następnie z oznaczonych kolonii nastawiano odczyn na wolną koagulazę przy użyciu plazmy króliczej i plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w stosunku 1/5 w płynie fizjologicznym, oraz przy użyciu plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w bulionie zwyczajnym w stosunku 1/25. Przy każdorazowym nastawianiu odczynu uwzględniano kontrolę dodatnią i ujemną w celu sprawdzenia plazmy. Szczepy gronkowców złocistych uważano za dodatnie, jeżeli w ciągu 3—24 godzin ścinały plazmę króliczą i plazmę ludzką rozcieńczoną w płynie fizjologicznym i w bulionie zwyczajnym. Oprócz oznaczania wolnej koagulazy stosowano oznaczenia związanej koagulazy metodą szkiełkową. Odczyn aglutynacji szkiełkowej nastawiano na dwóch równoległych szkiełkach podstawowych w ten sposób, że umieszczano eż o średnicy 2 mm po jednej kropki

wody destylowanej. Następnie każdy badany szczep gronkowca złocistego i białego rozcierano na szkiełku podstawowym eż, tak aby otrzymać jednorodną zawiesinę. Wyjałowioną eż nakładano świeżą plazmę ludzką cytrynianową. Około 10 sekund wprowadzano szkiełko podstawowe w ruch kolisty i odczytywano wyniki wytwarzanej związanej koagulazy polegający na skłaczeniu się drobnoustrojów, wobec plazmy ludzkiej cytrynianowej. Rozmaz zaś na drugim szkiełku podstawowym barwiono metodą Grama, celem potwierdzenia gronkowców. Badane szczepy gronkowców złocistych i białych przebadano również w kierunku wytwarzania fosfatazy, w celu stwierdzenia współzależności pomiędzy zdolnością wytwarzania fosfatazy a związanej i wolnej koagulazy. Każdy szczep gronkowców złocistych koagulazododatnich i gronkowców białych koagulazoujemnych rozcierano w odpowiednio przygotowanym podłożu na fosfatazę (na 100 ml bulionu odżywczego dodawano 1 ml 1% roztworu soli kwasu fenoltaleino-fosforowego uprzednio wyjałowionego w temperaturze 117°C).

Po 18 godzinnym okresie inkubacji do każdej próbowki dodawano po kilka kropli 1% wodorotlenku sodowego. W przypadku wytworzonej fosfatazy przez badany szczep, podłoże po alkalizacji przybierało zabarwienie wiśniowo-czerwone. Zabarwienie to stwierdza wytwarzanie przez szczep gronkowca fosfatazy, która powoduje rozbitcie związku chemicznego tzn. soli sodowej kwasu fenoltaleinofosforowego na wolną fenoltaleinę, którą łatwo można wykryć przez zalkalizowanie podłoża 1% roztworem wodorotlenku sodowego. Przy każdym nastawianiu odczynu na fosfatazę uwzględniono kontrolę dodatnią i ujemną, celem sprawdzenia podłoża.

Wyniki badań

Tabela 1 ilustruje wyniki badań 660 szczepów gronkowców złocistych wyizolowanych z artykułów żywności z obrotu i z zatruc pokarmowych, oraz przedstawia istniejącą współzależność wśród badanych szczepów pomiędzy zdolnością wytwarzania fosfatazy a związanej i wolnej koagulazy, przy użyciu plazmy króliczej i plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w płynie fizjologicznym i plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w bulio-

nie zwyczajnym wyrażoną w procentach i w ilościach przypadków.

Tabela 2 ilustruje wyniki badań 330 szczepów gronkowców białych wyizolowanych również z artykułów żywności z obrotu i z zatruc pokarmowych, oraz przedstawia istniejącą współzależność wśród badanych szczepów pomiędzy zdolnością wytwarzania fosfatazy a związanej i wolnej koagulazy, przy użyciu plazmy króliczej i plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w płynie fizjologicznym i plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w bulionie zwyczajnym wyrażoną w procentach i w ilościach przypadków.

Wnioski

Reasumując wyniki badań stwierdzono:

1. Gronkowce złociste wyizolowane z artykułów żywności z obrotu i z zatruc pokarmowych mają zdolność wytwarzania fosfatazy w 98,34%, związanej koagulazy w 83,6% i wolnej koagulazy wobec plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w bulionie zwyczajnym w 97% i rozcieńczonej w płynie fizjologicznym w 88%, oraz wobec plazmy króliczej rozcieńczonej w płynie fizjologicznym w 100%.

2. Gronkowce białe nie mają zdolności wytwarzania fosfatazy w 96,36%, związanej koagulazy w 97% i wolnej koagulazy wobec plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w płynie fizjologicznym w 100%.

3. Wśród badanych szczepów gronkowców złocistych i gronkowców białych istnieje ścisła współzależność pomiędzy wytwarzaniem fosfatazy a związanej i wolnej koagulazy. Badane szczepy wykazywały równocześnie jednakowe odczyny w kierunku wytwarzania fosfatazy i koagulazy z małymi tylko odchyleniami.

4. Chorobotwórczość badanych szczepów gronkowców wiąże się ze zdolnością wytwa-

Tab. 1. Współzależność pomiędzy zdolnością wytwarzania fosfatazy a związanej i wolnej koagulazy, wśród szczepów gronkowców złocistych wyizolowanych z artykułów żywności z obrotu i zatruc pokarmowych

	Ogólna ilość szczepów badanych	Ilość szczepów badanych z wynikiem			Aglutynacja z H ₂ O destyl.
		dodatnim	wątpliwym	ujemnym	
Odczyn fosfatazy gronkowców złocistych	660	649 (98,34%)	—	11 (1,66%)	—
Odczyn koagulazy związanej gronkowców złocistych wobec plazmy ludzkiej i cytrynianowej	660	552 (83,6%)	51 (7,7%)	56 (8,5%)	1 (0,2%)
Odczyn koagulazy wolnej gronkowców złocistych wobec plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w bulionie zwyczajnym w stosunku 1/25	660	642 (97%)	8 (1%)	10 (2%)	—
Odczyn koagulazy wolnej gronkowców złocistych wobec plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w płynie fizjologicznym w stosunku 1/5	660	580 (88%)	25 (4%)	55 (8%)	—
Odczyn koagulazy wolnej gronkowców złocistych wobec plazmy króliczej rozcieńczonej w płynie fizjologicznym w stosunku 1/5	660	660 (100%)	—	—	—

Tab. 2. Współzależność pomiędzy zdolnością wytwarzania fosfatazy a związanej i wolnej koagulazy, wśród szczepów gronkowców białych wyizolowanych z artykułów żywności z obrotu i zatruc pokarmowych

	Ogólna ilość szczepów badanych	Ilość szczepów badanych z wynikiem		Aglutynacja z H ₂ O destyl.
		dodatnim	ujemnym	
Odczyn fosfatazy gronkowców białych	330	12 (3,64%)	318 (96,36%)	—
Odczyn koagulazy związanej gronkowców białych wobec plazmy ludzkiej cytrynianowej	330	8 (2%)	317 (96%)	5 (1%)
Odczyn koagulazy wolnej gronkowców białych, wobec plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w bulionie zwyczajnym w stosunku 1/25	330	12 (3,64%)	318 (96,36%)	—
Odczyn koagulazy wolnej gronkowców białych, wobec plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w płynie fizjologicznym w stosunku 1/5	330	—	330 (100%)	—
Odczyn koagulazy wolnej gronkowców białych, wobec plazmy króliczej rozcieńczonej w płynie fizjologicznym w stosunku 1/5	330	—	330 (100%)	—

rzania fosfatazy w wysokim odsetku 98,34%. Gronkowce białe koagulazoujemne nie mają zdolności wytwarzania fosfatazy w wysokim odsetku (96,36%).

5. Wobec istniejącej współzależności polegającej na równoległej zdolności wytwarzania fosfatazy oraz związanej i wolnej koagulazy przez badane szczepy gronkowców chorobotwórczych, odczyn koagulazy w każdej chwili może być zastąpiony odczynem na fosfatazę w wysokim odsetku (98%) dodatnim, tam gdzie występują trudności w uzyskaniu plazmy ludzkiej cytrynianowej czy plazmy króliczej.

Piśmiennictwo

1. Barber M., Kuper S. W. A.: J. Path. Bact. 63, 65, 1951.
2. Borowski J., Świątecka G., Wagner J.: Med. Dośw. Mikrob. 1, 14, 1962.
3. Dobrzański T.: Przegł. Epidem. 9, 281, 1955.
4. Lachowicz T., Romanowski T.: Med. Dośw. Mikrob. 9, 339, 1957.
5. Mardarowicz G., Jabłoński L.: Padiatria Pol. 32, 1345, 1957.
6. Pakula R., Rabczyński F., Zaleska H.: Med. Dośw. Mikrob. 5, 71, 1953.
7. Pliżka A.: Zatrucia Pokarmowe. PZWL, Warszawa 1962.
8. Sokolowska Dekowa: Choroby gronkowcowe u dzieci. PZWL, Warszawa 1963.
9. Rangam C. M., Katdare.: Excerpta Medica S. IV. 2, 9, 75, 1956.

Adres autora: mgr Krystyna Malik, Kraków, ul. Sarego 10/12.

Малик К. — Исследования по корреляции продукции фосфатазы и связанной и свободной коагулазы у штаммов *Staphylococcus* изолированных из продовольственных продуктов.

Исследовали 660 штаммов *Staphylococcus aureus* (коагулязоположительных) и 330 *Staph. epidermidis s. albus* (коагулязоотрицательных). Установили, что штаммы *Staph. aureus* оказывают способность продукции фосфатазы в 98%, связанной коагулазы в 83%, а свободной коагулазы в зависимости от метода от 88% с человеческой цитринизированной плазмой разведенной в растворе до 97% (с той же плазмой разведенной в бульоне) и даже 100% (с

кроличьей плазмой разведенной в физ.-растворе). Соответствующие числа для *Staph. albus* равняются для фосфатазы — 4%, связанной коагулазы — 3% и свободной коагулазы в зависимости от метода — 3%, 0% и 0%.

Между способностью продукции фосфатазы и связанной и свободной коагулазы имеется у исследованных штаммов *Staphylococcus* тесная взаимосвязь. Установили также, что со способностями продукции фосфатазы и коагулазы связана также патогенность исследованных штаммов. Автор полагает, что реакция на коагулазу в случаях трудности получения человеческой или кроличьей плазмы может быть заменена реакцией на фосфатазу.

Malik K. — The investigations on the mutual dependence between the production of phosphatase and bound and free coagulase among the *Staphylococci* strains isolated from food products.

Nine hundred and ninety *Staphylococci* strains isolated from food products were investigated (660 coagulase positive strains of *Staphylococcus aureus* and 330 coagulase negative strains of *Staphylococcus albus*). On the basis of these investigations it was stated that *Staphylococcus aureus* in 98 per cent is able to produce phosphatase, in 83 per cent — bound coagulase. Free coagulase can be produced by *Staphylococcus aureus* in 88 per cent with the use of human plasma with citrate, in physiological liquid, in 97 per cent with the use of human plasma with citrate, in normal broth, and in 100 per cent with the use of rabbit plasma in physiological liquid. It was also stated that the strains of *Staphylococcus albus* are unable in 96 per cent to produce phosphatase, in 97 per cent — bound coagulase, and in 100 per cent — free coagulase in the presence of human plasma with citrate and rabbit plasma in physiological liquid. Also the strict mutual dependence was stated of the phosphatase and bound and free coagulase production in the investigated strains of *Staphylococcus aureus* and *albus*. The investigated strain showed the same reactions in the direction of phosphatase and coagulase production. It was also pointed out that the pathogenicity of the strains is connected with the ability of phosphatase and coagulase production. The coagulase reaction can be replaced by the phosphatase reaction in high positive percentage (98 per cent) in cases of difficulties in getting human plasma with citrate or rabbit plasma.