

19. Wiśniowski J.: *Medycyna Wet.*, 1964, 20, 641.  
 20. Wiśniowski J., Drożdżyński W.: *Medycyna Wet.*, 1961, 17, 565.  
 21. Wiśniowski J., Grajewski P., Grajewski H.: *BTN*, 1963, A, nr 4.  
 22. Wiśniowski J., Królik M.: *Pol. Arch. Wet.*, 1966, 9, 637.

23. Wiśniowski J., Romaniukowa K., Drożdżyńska M.: *Medycyna Wet.*, 1964, 20, 327.  
 24. Wiśniowski J.: *Medycyna Wet.*, 1966, 22, 472.

Adres autora: doc. dr Jerzy Wiśniowski, Bydgoszcz, Sułkowskiego 67 m. 34.

KRYSTYNA MALIK

## Zastąpienie u gronkowców próby na koagulazę odczynem aglutynacji w postaci grudek

Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Krakowie  
 Dyrektor Stacji: doc. dr M. BILEK

Od dawna stwierdzono, że szczepy gronkowców wyosobnione z przypadków chorobowych, wytwarzają kilka czynników związanych z ich potencjalną chorobotwórczością. Do tych czynników należy hemolizyna, leukocydyna, fibrynolizyna, enterotoksyna, koagulaza itp. Już w 1903 r. Loeb stwierdził, że gronkowce wyosobnione z przypadków chorobowych, a następnie inkubowane w plazmie powodują jej krzepnięcie. Również Much (1908) zauważył, że gronkowce zanurzone w plazmie natychmiast powodują wytworzenie się agregatów grudekwo-kłaczkowych. Champan (1944), oraz Halman (1961) uważają wytwarzanie koagulazy za kryterium chorobotwórczości gronkowców. Cadnes — Graves i wsp. (1943) ustalili, że gronkowce wytwarzają 2 postaci koagulazy, a to koagulazę związaną, którą można wykryć za pomocą metody szkiełkowej („slide test”), oraz koagulazę wolną, którą można wykryć metodą próbowką. Obie koagulazy są tą samą substancją białkową, różnią się tylko mechanizmem działania. Koagulaza związana działa bezpośrednio na fibrynogen (niektórych zwierząt) i powoduje natychmiast zlepianie się (clumping) drobnoustrojów. Natomiast wolna koagulaza działa na protrombinę (niektórych zwierząt) zmieniając ją na substancję trombino podobną. Aktywator (protrombina) dla wolnej koagulazy gronkowców występuje tylko w plazmie ludzkiej i w plazmie zwierzęcej królika, konia. Na działanie związanej koagulazy najbardziej wrażliwa jest plazma człowieka, królika, psa, oraz myszy, średnio wrażliwa plazma pochodzenia krowiego i końskiego, a plazma barania i świnia morskiej jest całkowicie niewrażliwa.

Celem niniejszej pracy jest stwierdzenie, czy można zastąpić odczyn koagulazy wykonanej metodą próbowką odczynem aglutynacji grudekwo-kłaczkującej w plazmie ludzkiej cytrynianowej i w plazmie króliczej.

### Materiał i metody

Materiałem do badań były szczepy gronkowców złocistych i szczepy gronkowców białych wyosobnione z artykułów żywności pochodzących z przypadków zatruc pokarmowych i z artykułów żywności pochodzących z obrotu, przysyłanych do zbadania do Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Krakowie, w celu oceny przydatności do spożycia.

Ogółem przebadano 750 szczepów gronkowców w tym 500 szczepów gronkowców złocistych koagulazo-dodatnich i 250 szczepów gronkowców białych koagulazo-ujemnych. Wyizolowane szczepy pochodziły z artykułów żywności, a mianowicie mleka i przetworów mlecznych, mięsa i przetworów mięsnych, przetworów cukierniczych, ryb i przetworów rybnych. Materiał do badań wysiewano na płynną pożywkę namnażającą i po 48-godzinnym okresie inkubacji w 37° przesiewano na pożywkę stałą Chapmana. Po 48 godzinach inkubacji w 37° na pożywkę tej zaobserwowano wzrost kolonii okrągłych, wypukłych, nieprzejrzystych, o gładkiej błyszczącej powierzchni, o zabarwieniu przejściowym od koloru białego do żółtożółtego. Kolonie gronkowców przesiewano następnie

na płytkę agarową z dodatkiem 5% krwi baraniej w celu znaczenia hemolizy, barwnika, jak również w celu wykonania odczynu na koagulazę. Odczyn na koagulazę nastawiano z hodowli 24 godzinnej, w ten sposób, że rozcieńczoną plazmę króliczą w stosunku 1:5 w roztworze fizjologicznym NaCl i rozcieńczoną plazmę ludzką cytrynianową w stosunku 1:25 w bulionie zwyczajnym i w roztworze fizjologicznym NaCl w stosunku 1:5 rozlewano jałowo do probówek o średnicy 1 cm w ilości 0,5 ml. i rozcierano w nich eż badane szczepy.

Przy każdorazowym nastawianiu odczynu uwzględniano kontrolę dodatnią i ujemną w celu sprawdzenia plazmy. Przy każdej serii oznaczeń sprawdzano każdą partię plazmy ludzkiej cytrynianowej na obecność inhibitorów koagulazy, które mogą hamować przebieg reakcji. Probówki z nastawionym odczynem wstawiano do termostatu o temperaturze 37°. Wynik odczytywano po 3 i po 24 godzinach. Za szczepy koagulazododatnie uznawano szczepy, które w ciągu 3—24 godzin ścinały plazmę króliczą i plazmę ludzką cytrynianową. Szczepy gronkowców nieścinających plazmy króliczej i plazmy ludzkiej cytrynianowej rozcieńczonej w bulionie zwyczajnym i roztworze fizjologicznym NaCl, uważano za koagulazo-ujemne.

Oprócz odczynu na koagulazę wykonanego metodą próbowką nastawiano również odczyn aglutynacji kłaczkującej w postaci grudek na szkiełkach podstawowych dla wykrycia koagulazy związanej. Na szkiełku odtłuszczonym i nieodtłuszczonym umieszczano eż (o średnicy 2 mm) po jednej kropli wody destylowanej. Następnie materiał z każdego badanego szczepu gronkowców rozcierano w kropli wody destylowanej na jednym i na drugim szkiełku podstawowym, nie opalając ezy przy przenoszeniu materiału z pierwszego szkiełka podstawowego na drugie szkiełko podstawowe, tak aby otrzymać jednolitą zawiesinę gronkowców o zmętnieniu odpowiadającym zawiesinie przynajmniej 100×10<sup>9</sup> *E. coli* w cm<sup>3</sup>. Następnie wyjałowioną eż o średnicy 1 mm nakładano świeżą cytrynianową plazmę ludzką na kroplę wody destylowanej z gronkowcami umieszczonymi na nieodtłuszczonym szkiełku podstawowym. Około 10 sekund wprowadzano szkiełko podstawowe w ruch kolisty. Jeżeli nastąpiło skupienie gronkowców w plazmie ludzkiej cytrynianowej, wynik oceniano jako dodatni. Skupienie gronkowców Cruickshank (1965), Duthie (1954) tłumaczą obecnością czynnika kłaczkującego („clumping factor”) powodującego wytrącenie się fibrynogenu na powierzchni komórki drobnoustroju. Rozmaz na drugim szkiełku podstawowym barwiono metodą Grama, w celu potwierdzenia obecności gronkowców.

### Wyniki badań i ich omówienie

Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 1 i 2.

Jak widzimy z powyższych danych gronkowce złociste wykazują dodatni odczyn próbowkowy na koagulazę wolną w 100% przy użyciu

Tab. 1. Badania na koagulazę wolną i związaną szczepów gronkowców złocistych \*)

1	2	3	4 5 6		
			Ilość szczepów badanych z wynikiem		
Rodzaj badania	Rodzaj plazmy	Ogólna ilość szczepów badanych	dodatnim	wątpliwym	ujemnym
Odczyn probówkowy na koagulazę wolną	Plazma ludzka cytr. rozcieńczona w stos. 1/25 bulionem zwyczajnym	500 (100%)	487 (97%)	8 (2%)	5 (1%)
Odczyn probówkowy na koagulazę wolną	Plazma ludzka cytr. rozcieńczona w stos. 1/5 w roztworze fizjol. NaCl	500 (100%)	425 (85%)	25 (5%)	50 (10%)
Odczyn probówkowy na koagulazę wolną	Plazma królicza rozcieńczona w stos. 1/5 w roztworze fizjol. NaCl	500 (100%)	500 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Odczyn szkiełkowy na koagulazę związaną	Plazma ludzka cytrynianowa	500* (100%)	404 (81%)	44 (8,8%)	51 (10%)

\*) Jeden szczep (0,2%) wykazywał samorzutną aglutynację już w wodzie destylowanej (postać R).

Tab. 2. Badania na koagulazę wolną i związaną szczepów gronkowców białych \*)

1	2	3	4 5 6		
			Ilość szczepów badanych z wynikiem		
Rodzaj badania	Rodzaj plazmy	Ogólna ilość szczepów badanych	ujemnym	dodatnim	wątpliwym
Odczyn probówkowy na koagulazę wolną	Plazma ludzka cytr. rozcieńczona 1/25 w bulionie zwyczajnym	250 (100%)	238 (95,2%)	12 (4,8%)	0 (0%)
Odczyn probówkowy na koagulazę wolną	Plazma ludzka cytr. rozcieńczona 1/5 w roztworze fizjol. NaCl	250 (100%)	250 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Odczyn probówkowy na koagulazę wolną	Plazma królicza rozcieńczona 1/5 w roztworze fizjol. NaCl	250 (100%)	250 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Odczyn szkiełkowy na koagulazę związaną	Plazma ludzka cytrynianowa	250* (100%)	241 (96,4%)	4 (1,6%)	0 (0%)

\*) 5 szczepów (2%) wykazywało aglutynację już w wodzie destylowanej (postać R).

plazmy króliczej (1:5 z r. f. NaCl) a w 97 względnie tylko w 85% przy zastosowaniu plazmy ludzkiej. Co do odczynu szkiełkowego na koagulazę związaną, to przy użyciu plazmy ludzkiej wypada on dodatnio w 81%.

Co do gronkowców białych to pomimo wyobsonienia ich również z artykułów żywności z obrotu i z przypadków zatruc pokarmowych wyniki były zupełnie odmienne. Odczyn probówkowy na koagulazę wolną wypadł tu ujemnie przy użyciu plazmy króliczej w 100%, plazmy ludzkiej (1:5 z r. f. NaCl) — 100%, a plazmy ludzkiej 1:25 z bulionem — w 95,2%. Odczyn szkiełkowy na koagulazę związaną w 96,4%. Jak z powyższych rezultatów wynika, najlepszą metodą odróżnienia gronkowców złocistych od gronkowców białych okazał się odczyn na koagulazę wolną z użyciem plazmy króliczej (1:5 z r.f. NaCl).

Jednak przy konieczności szybkiej oceny badanego szczepu można zastosować jako metodę orientacyjną (np. przy badaniach wielkich ilości prób żywnościowych, lub masowych poszukiwaniach nosicielstwa gronkowcowego u pracowników przemysłu żywnościowego), odczyn szkiełkowy na koagulazę związaną.

## Piśmiennictwo

1. Cadness-Craves B., Williams R. E. O., Hager G. J., Miles A. A.: Slide test for coagulase-positive Staphylococci. *Lancet* 1, 736 (1943).
2. Chapman G. H.: The value of concentrated human whole blood and agar cultures for testing the coagulation power Staphylococci. *J. Bact.* 50, 234 (1945).
3. Chapman G. H.: The comparative value of human plasma and human whole blood for testing the coagulating power of Staphylococci. *Jour. Bact.* 47, 211 (1944).
4. Cruickshank R.: *Medical Microbiology*. E. S. Livingstone L.T.D. Slide coagulase test 11. 138. (1965).
5. Duthie E. S.: Evidence for two forms of Staphylococcal coagulase. *J. Gen. Microbiol.* 10 a, 327 (1954).
6. Halman L.: *Bakteriologie und Serologie Ausgewählte Untersuchungs-methode für das Bakteriologische und Serologische Laboratorium*. G.T.V. Stuttgart 3, 100 (1961).
7. Much H.: Über eine Vorstufe des Fibrinfermentes in Kulturen von *Staphylococcus aureus*. *Biochem. Zeitschr.* 14. 143 (1908).

Adres autora: mgr Krystyna Malik, Kraków, ul. Sa-rego 10/12.

Малик К. — Замена у стафилококков пробы на коагулазу реакцией агглютинации в форме кучек.

Исследовали 750 штаммов стафилококков, в том числе 500 коагулялоположительных *St. aureus* и 250 коагулялоотрицательных *St. albus*. Штаммы изолировали из продовольственных продуктов. Установили, что штаммы *St. aureus* дают положительную пробирочную реакцию на коагулазу при применении кроличьей плазмы (1:5 физ. раств. NaCl) — в 100%, а плазмы человека — в 97% или даже только в 85%. На предметном стекле положительный результат пробы на коагулазу с плазмой человека получали в 81%. Результаты у *St. albus* были со-

вершено другие. Пробирочная проба на свободную коагулазу оказалась здесь в 100% отрицательной с кроличьей и с человеческой плазмой 1:5 физраствора NaCl а в 95,2% с человеческой плазмой 1:25 бульона. Реакция на предметном стекле на связанную коагулазу оказалась отрицательной в 96,4%.

Автор приходит к выводу, что лучшим методом дифференциации *St. aureus* от *St. albus* является реакция на свободную коагулазу с применением кроличьей плазмы явзведенной физраствором NaCl 1:5. В случае необходимости ускоренной оценки можно применять в качестве ориентировочной пробы метод реакции на связанную коагулазу на предметном стекле.

**Malik K. — The substitution of tests coagulase with the agglutination reaction in the form of lumps, in investigations on Staphylococcus.**

The author investigated 750 strains of *Staphylococcus*, of which 500 were strains of coagulase-positive *Staphylococcus aureus*, and 250 were strains of

white coagulase-negative *Staphylococcus*. The strains investigated were isolated from food.

It was found that the *Staphylococcus aureus* showed a positive test-tube reaction to free coagulase with the use of rabbit plasma (1:5 with physiological solution of NaCl) in 100% and with the use of human plasma in 97% or only 85%. The watch-glass reaction for linked coagulase was positive, when human plasma was used in 81%. With the white *Staphylococci* the results were totally different. The test-tube reaction for free coagulase was 100% negative, both for rabbit and human plasma with salt solution (1:5) and 95,2% negative for human plasma with broth (1:25). The watch-glass test for linked coagulase was negative in 96,4%. As can be seen from the above investigations, the best method for distinguishing *Staphylococcus aureus* from white *Staphylococcus* was the reaction for free coagulase with rabbit plasma (1:5 with NaCl solution). When it is necessary to recognise the strain investigated quickly, the watch-glass reaction for linked coagulase can be used as an approximate method.

WANDA DUBIEŃSKA, HALINA LINOWSKA-MARCHOCKA

## Badania nad zarobaczeniem kurcząt typu broiler na terenie woj. zielonogórskiego

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gorzowie Wlkp.  
Kierownik: dr J. CHWALIBOG

Celem pracy było uzyskanie danych o zarobaczeniu kurcząt typu broiler i stwierdzenie czy miało ono bezpośredni wpływ na wagę tuszek.

Badano przewody pokarmowe kurcząt typu broiler poddanych ubojowi w rzeźni drobiu w B. w okresie od 1 lipca 1965 r. do 23 czerwca 1966 r. Kurczęta pochodziły z terenu woj. zielonogórskiego z różnych powiatów i hodowli, tak państwowych, jak i prywatnych. Ogółem przebadano 1093 przewodów pokarmowych. Z tego 492 od kurcząt z hodowli prywatnych 322 od kurcząt z fermy PGR oraz 279 od kurcząt z PWD w R. Badano treść przewodów pokarmowych makroskopowo i mikroskopowo zmodyfikowaną metodą flotacyjną Fülleborna, oddzielnie jelit cienkich, oddzielnie jelit ślepych. Przy każdej nadesłanej partii przewodów pokarmowych podawano dane dotyczące ogólnej ilości, ciężaru i wieku kurcząt. Na tej podstawie obliczono średnią wagę pojedynczego ptaka dla każdej partii. Waga ta wahała się w granicach 1,04 do 1,43 kg, wiek natomiast wynosił od 7 do 12 tygodni życia.

### Wyniki

Stwierdzono następujące rodzaje pasożytów:

- 1) glisty (*Ascaridia galli* — u 415 kurcząt — 39%),
- 2) nicienie żół.-jelit. (*Heterakis gallinarum* — u 115 kurcząt — 11%),
- 3) oocysty kokcydii jelit ślepych (*Eimeria tenella* — u 168 kurcząt — 16%).

Najczęściej stwierdzano inwazje mieszane. Przeciętny ciężar ptaków wahał się od 1,21 do 1,35 kg, a niezarobaczonych od 1,04 do 1,22 kg.

Interesującego materiału do badań dostarczyła ferma PWD w R. U kurcząt z tej fermy największe nasilenie inwazji glist przypadło na miesiące późno jesienne. W tym okresie stwierdzono sekcyjnie bardzo duże ilości glist. Ciężar ptaków osiągał w tym czasie przeciętnie 1,43 kg. Ostatnia partia kurcząt w 1965 r. była odrobaczona wraz z całą fermą z dodatnim wynikiem i w badaniach nie wykazano już zarobaczenia glistami.

Mimo to średni ciężar ptaków w wieku 11 tygodni wynosił przeciętnie tylko 1,22 kg.

W czerwcu 1966 r. w przesłanej partii przewodów pokarmowych z fermy PZD w R. stwierdzono znowu zarobaczenie glistami. Zapewne jaja glist odznaczające się dużą wytrzymałością na niską temperaturę i działanie czynników chemicznych przetrzymowały w kurkach, a wiosenne ocieplenie stworzyło odpowiednie warunki dalszego rozwoju tychże jaj. Mimo to ciężar ubitych kurcząt w wieku 10 tygodni wynosił przeciętnie 1,30 kg, a więc wynik produkcji tychże serii był raczej korzystny. Heterakidozę stwierdzono w 11 fermach, jednak o małej intensywności. Oocysty kokcydii rozpoznano w 19 fermach w bardzo małych ilościach.

Z powyższych badań wynika, że inwazja omawianych pasożytów nie wpływa w zasadniczy sposób na wagę tuszek broilerów.

Zaobserwowane w badaniach różnice w wadze poszczególnych partii kurcząt, po wyeliminowaniu wpływu inwazji pasożytniczych, można tłumaczyć warunkami środowiskowymi indywidualnych ferm.

Adres autora: dr Wanda Dubieńska, Gorzów Wlkp., ul. Bohaterów Warszawy 4.