

JERZY ZAHACZEWSKI, ANDRZEJ KOMOROWSKI

Zagadnienie diagnostyki proteolitycznych laseczek beztlenowych

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Rzeszowie
Kierownik: dr J. ZAHACZEWSKI

Obserwowany ostatnio duży rozwój bakteriologicznych laboratoriów kontrolujących produkcję przemysłu mięsnego podyktowany jest wzrastającymi wymaganiami w dziedzinie higieny i jakości konserw oraz przetworów mięsnych. Wykładnikami jakości konserw i stanu sanitarnego produkcji są prawidłowe cechy organoleptyczne, zgodna z normami zawartość związków chemicznych konserwujących i smakowych oraz minimalna ilość drobnoustrojów z wykluczeniem drobnoustrojów chorobotwórczych i laseczek beztlenowych. Z dostępnego piśmiennictwa oraz własnych badań wynika, że najczęstszą beztlenową florą bakteryjną konserw pasteryzowanych jest *Clostridium perfringens*, *Clostridium bifermentans* i *Clostridium sporogenes*. O ile rozpoznawanie *Cl. perfringens* nie nastęrcza trudności, to diagnostyka laseczek proteolitycznych jest bardziej skomplikowana do przeprowadzenia w rutynowych laboratoriach z powodu dużej pracochłonności stosowanych metod. W krajowych laboratoriach mięsoznawczych ogranicza się diagnostykę przeważnie do grupowego typowania laseczek beztlenowych. Postępowanie to należy uznać za aktualnie niewystarczające. W niniejszym opracowaniu pragniemy omówić zagadnienie diagnostyki proteolitycznych laseczek beztlenowych. Celowość różnicowania tych drobnoustrojów ma złożony aspekt. Po pierwsze, chodzi o wykluczenie bardzo rzadko spotykanych w konserwach laseczek jadu kiełbasianego. Laseczki te pomimo niekorzystnego oddziaływania na ich rozwój i wytwarzanie toksyn chemicznych czynników poprawiających jakość konserw, są potencjalnym niebezpieczeństwem dla konsumentów. Drugim poważnym zagadnieniem jest obserwowana w trakcie badań bakteriologicznych, przeżywalność laseczek beztlenowych w konserwach o prawidłowych cechach organoleptycznych. Z doświadczeń nadzoru weterynaryjnego wynika, że w trakcie składowania w chłodni konserw zakażonych laseczkami beztlenowymi, następuje stopniowe zanikanie tej flory bakteryjnej. Poza pracami Kafla (6, 7) i Strzeleckich (13) dotyczącymi przeżywalności *Cl. perfringens* w zakażonych konserwach składowanych w chłodni, nie spotkano krajowych opracowań dotyczących tego zagadnienia w odniesieniu do beztlenowych laseczek proteolitycznych.

Bez prostych metod diagnostycznych zezwalających na różnicowanie tych drobnoustrojów w warunkach laboratorium usługowego przebadanie zagadnienia przeżywalności proteolitycznych laseczek beztlenowych jest bardzo utrudnione. Wyjaśnienie okresu przeżywal-

ności poszczególnych laseczek beztlenowych pozwalałoby prawdopodobnie na bardziej dokładne i uzasadnione ustalanie terminów składowania zakażonych nimi konserw.

Niechorobotwórcze laseczki proteolityczne stanowią wreszcie poważne zagadnienie w technologii produkcji konserw. Pomimo braku właściwości chorobotwórczych, ich duży dynamizm biologiczny oraz intensywne wydzielanie fermentów proteolitycznych, sacharolitycznych i prawdopodobnie lipolitycznych pozwala widzieć w nich przyczynę dużych strat produkcyjnych. One to bowiem obok *Cl. perfringens* powodują bombażę konserw. Współczesne metody diagnostyczne uwzględniają w różnicowaniu laseczek beztlenowych badanie cech morfologicznych, biochemicznych i biologicznych. Diagnostyka w oparciu o cechy morfologiczne posiada tylko orientacyjne znaczenie. Kształt komórki, lokalizacja zarodnika, kształt i wielkość kolonii, intensywność i rodzaj hemolizy na podłożu Zeisslera są cechami niestałymi na co zwraca uwagę wiele autorów. Niechorobotwórczość tych drobnoustrojów za wyjątkiem *Cl. botulinum* i *Cl. sordelli* stwarza konieczność różnicowania ich w oparciu o właściwości biochemiczne. Metody te nie dają jednak gwarancji pewnej diagnostyki, ponieważ zasadnicze odczyny biochemiczne są wspólne dla całej grupy beztlenowych, proteolitycznych laseczek zarodnikujących. Wszystkie te drobnoustroje jak podaje Willis (16) fermentują glukozę i maltozę, proteolizują mleko, czernią papkę mózgową i rozrzedzają żelatynę. Badania ostatnich lat nad wytwarzaniem lecytynazy i lipazy przeprowadzone przez Willisa (15) i Gonzalesa i Sierę (5, 12) udoskonaliły diagnostykę tych drobnoustrojów, jednakże w omawianym zagadnieniu pozostało jeszcze wiele szczegółów, które wymagają dalszych prac.

Metoda biologicznego badania ze względu na swą przydatność do badania drobnoustrojów chorobotwórczych, w tym przypadku ogranicza się do typowania toksycznych szczepów laseczek jadu kiełbasianego i *Cl. sordelli*. Natomiast diagnostyka *Cl. bifermentans*, *Cl. sporogenes* i nietoksycznych szczepów *Cl. botulinum* nie może opierać się na testach biologicznych. Próby oparcia diagnostyki proteolitycznych laseczek beztlenowych na klasycznym odczynie precypitacji próbówkowej zawiodły ze względu na wytwarzanie grupowych antygenów. Również zawodną okazała się fluorescencyjna metoda różnicownia tych drobnoustrojów przy pomocy znakowanych przeciwciał. Spowodowane to jest wspólnotą antyge-

nową szczepów *Cl. botulinum* A i B i *Cl. sporogenes*. Wykazali to w swych pracach Meisel (9) oraz Walker (14) posługując się antygenami rozpuszczalnymi tych szczepów, które badano metodami serologicznymi. Badania Meisla i Rymkiewicz (10) nad strukturą antygenową zarodników grupy *Cl. bifermentans*, *Cl. sordelli* oraz *Cl. sporogenes* wykazały odmienną antygenową zarodników tych drobnoustrojów. Późniejsze badania Ellnera i Greena (3, 4) oraz Walkera (14) potwierdziły istnienie odrębnych precypitujących, rozpuszczalnych antygenów wytwarzanych przez proteolityczne laseczki beztlenowe z grupy *Cl. bifermentans-Cl. sordelli* i *Cl. sporogenes*. Wykorzystując dane dotyczące pokrewieństwa antygenowego *Cl. botulinum* A i B oraz *Cl. sporogenes* i braku pokrewieństwa antygenowego *Cl. bifermentans* — *Cl. sordelli* i *Cl. sporogenes* poczyniono próby opracowania prostej metody diagnostycznej rozpuszczalnych antygenów proteolitycznych, zarodnikujących laseczek beztlenowych. Posługiwano się w tym celu odczynem precypitacji w żelu agarowym z użyciem wieloważnej antytoksyny jadu kiełbasianego oraz diagnostycznej surowicy anty *Cl. bifermentans*. Metoda precypitacji żelowej w przeciwiwzajemnie do klasycznej metody precypitacji próbówkowej pozwala na dokładniejsze badanie struktury antygenowej i wnioskowanie o pełnej lub częściowej identyczności antygenowej ewentualnie odmienności antygenowej szczepów.

Materiał i metody

Szczepy bakteryjne. Do doświadczenia użyto 5 szczepów *Cl. botulinum* A, 5 szczepów *Cl. botulinum* B, 13 szczepów *Cl. bifermentans* i 6 szczepów *Cl. sporogenes*. Szczepy pochodziły z kolekcji Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie oraz zbiorów własnych. Przed przystąpieniem do doświadczenia stwierdzono prawidłowe cechy morfologiczne i biochemiczne użytych szczepów.

Antygeny. Czyste kultury badanych szczepów wysiewano na odłuszczone mleko z dodatkiem wątroby i nawarstwoną parafiną. Inkubację prowadzono w temp. 37°C przez 10 dni. W trzecim dniu inkubacji sprawdzano metodą bakterioskopowa i hodowlaną czystość kultur. Obserwowano proces wzrostu drobnoustrojów i proteolizę mleka, która dobiegała końca około 10 dnia inkubacji. Jako antygenów do odczynu precypitacji żelowej używano sproteolizowanego mleka. Natomiast do produkcji surowicy precypitacyjnej anty *Cl. bifermentans* używano zagęszczonego antygeny. Zagęszczony antygen uzyskiwano z 30 dniowej hodowli na mleku o pH 6,8 z dodatkiem wątroby, szczepu *Cl. bifermentans* 1155. Sproteolizowane mleko dekantowano i sączone przez bibułę filtracyjną, następnie wysalano z klarownego roztworu siarczanem amonu wg. Ziemiańskiej i Samsonowej (17), które stosowały tę metodę do wysalania toksyny *Cl. perfringens* typu E. Wysalanie prowadzono w prostopadłościennych stojach dializacyjnych na łaźni wodnej w temp. 37°C przez 2 godziny, używając 600 g siarczanu amonu na 1 l filtratu. Po rozpuszczeniu soli w roztworze obserwowano początkowe jednolite zmetnienie, a następnie zbieranie się na powierzchni — warstwy wysolonego antygeny. Antygen ten zbierano szpatułą i wirowano w próbówce wirówkowej przez 20 min. przy

szybkości 3 tys. obrotów na minutę. Po zakończeniu wirowania obserwowano oddzielenie się 2 warstw wysolonego antygeny — jednej na powierzchni i drugiej na dnie próbówki. Warstwy te oddzielało klarowne, sproteolizowane mleko. Usuwano je strzykawką, strąć natomiast rozpuszczano do 1/10 objętości wyjściowej hodowli roztworem wodnym mieszaniny 0,3% fenolu i 1:5000 mertiolatu. Próby biologiczne z zakonserwowanym i nieodsolonym antygenem wykazały pełną tolerancję królików na obecność siarczanu amonu w związku z czym zaniechano kłopotliwego odsalania antygeny. Sporządzony w ten sposób antygen okazał się w kontroli bakteriologicznej jałowy.

Surowice. Do badań użyto 2 rodzajów surowic — stosowanej w lecznictwie antytoksyny jadu kiełbasianego AB i wyprodukowanej w naszym Zakładzie króliczej surowicy precypitującej rozpuszczalne antygeny *Cl. bifermentans*. Antytoksyna jadu kiełbasianego AB, produkcji Warszawskiej Wytwórni Surowic i Szczepionek, posiadała miano 400 j.a.n. A i 200 j.a.n. B w 1 ml. Surowicę diagnostyczną anty — *Cl. bifermentans* wyprodukowano na królikach rasy belgijskiej o wadze ok. 2,5 kg., drogą immunizacji antygenem skoncentrowanym. Dawki antygeny od 0,5 do 1,5 ml. wstrzykiwano dożylnie trzykrotnie w jednodniowych odstępach, po czym następowała tygodniowa przerwa. Cykl ten powtarzano czterokrotnie, co w sumie stanowiło 12 iniekcji o łącznej objętości 11,5 ml. W 12 dniu od ostatniej iniekcji pobierano krew i oddzielano surowicę. Surowicę, podobnie jak antygen konserwowano 0,3% fenolem i 1:500 mertiolatem.

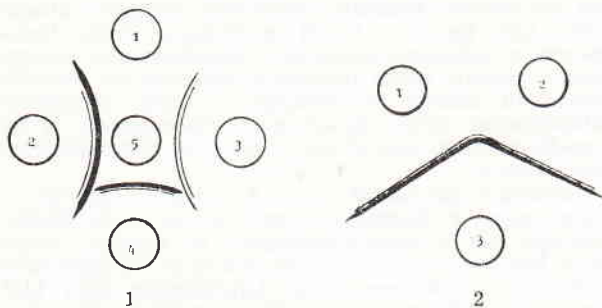
Żel agarowy. Posługiwano się metodą dyfuzji podwójnej wg Ouchterlony. Do sporządzania żelu używano 2% agar Difco-Bacto, rozpuszczony w roztworze fizjologicznym NaCl o pH 7,2 z dodatkiem mertiolatu 1:10 000. W przeprowadzanym odczynie stosowano dwa rodzaje układów baseników: w układzie pierwszym wycinano w żelu 5 otworów, a w drugim 3 otwory o średnicy 6 mm i głębokości 2,5 mm. Odległości między basenikami z antygenami i basenikiem z surowicą wynosiły 5 mm, a ich pojemność ok. 0,07 ml. Przy tej objętości koncentracja przeciwciał w antytoksynie jadu kiełbasianego wynosiła ok. 30 j.a.n. A i ok. 15 j.a.n. B w baseniku. Odczyn przeprowadzano na płytках Petriego w temp. 37°C przez 2 dni, a przez następnych 5 dni w temp. pokojowej. Odczytu wyników dokonywano po 7 dniach.

Wyniki i dyskusja

Wyniki badań serologicznych ilustrują załączone schematy. W doświadczeniu wykazano możliwość różnicowania rozpuszczalnych antygenów *Cl. botulinum* A i B, *Cl. sporogenes* i *Cl. bifermentans* metodą precypitacji żelowej przy użyciu leczniczej antytoksyny jadu kiełbasianego AB oraz surowicy anty-*Cl. bifermentans* wyprodukowanej na królikach. Różnicowanie oparto na swoistym reagowaniu w odczynie precypitacyjnym w żelu agarowym antygenów *Cl. botulinum* A i B i nieswoistym reagowaniu antygenów *Cl. sporogenes* z antytoksyną jadu kiełbasianego AB. Szczepy *Cl. bifermentans* nie wytwarzały antygenów reagujących z tą surowicą (schemat nr 1).

W doświadczeniu posługiwano się wzorcowym szczepem *Cl. sporogenes* 1039, w stosunku do którego porównywano pozostałe badane szczepy. Analiza rozpuszczalnych antygenów metodą precypitacji żelowej pozwalała w wypadku reakcji identyczności antygenowej za-

liczyć badany szczep do grupy *Cl. sporogenes*, zaś w wypadku reakcji braku identyczności lub częściowej identyczności antygenowej do grupy *Cl. botulinum* AB (schemat nr 2, 3, 4).

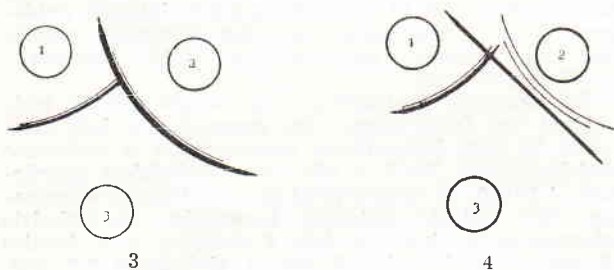


Schemat nr 1.

Basenik nr 1 — antygen *Cl. bifermentans* 1155
 „ „ 2 — „ *Cl. botulinum* A 72
 „ „ 3 — „ *Cl. botulinum* B 364
 „ „ 4 — „ *Cl. sporogenes* 1039
 „ „ 5 — antytoksyna jadu kielbasianego AB.

Schemat 2.

Basenik nr 1 — antygen *Cl. sporogenes* 1039
 „ „ 2 — „ *Cl. sporogenes* 120
 „ „ 3 — antytoksyna jadu kielbasianego AB.



Schemat nr 3.

Basenik nr 1 — antygen *Cl. sporogenes* 1039
 „ „ 2 — „ *Cl. botulinum* A 72
 „ „ 3 — antytoksyna jadu kielbasianego AB.

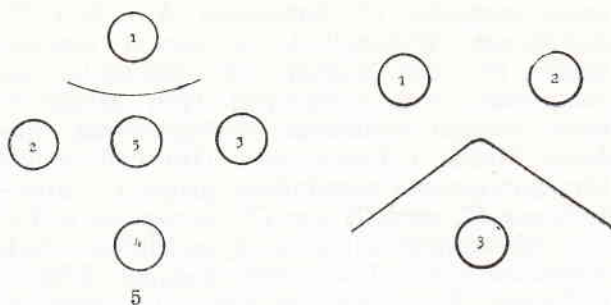
Schemat nr 4.

Basenik nr 1 — antygen *Cl. sporogenes* 1039
 „ „ 2 — „ *Cl. botulinum* B 1084
 „ „ 3 — antytoksyna jadu kielbasianego AB.

Antygeny nie reagujące z antytoksyną jadu kielbasianego AB kontrolowano w odczynie precypitacji żelowej z surowicą anty-*Cl. bifermentans*. Surowica ta precypitowała wyłącznie antygeny *Cl. bifermentans*, reakcji nieswoistych z antygenami *Cl. botulinum* A i B i *Cl. sporogenes* nie stwierdzano. Wszystkie antygeny szczepów *Cl. bifermentans* użytych do doświadczenia wykazywały identyczność antygenową w stosunku do antygenów wzorcowego szczepu *Cl. bifermentans* 1155 (schematy nr 5, 6).

Interpretację układów linii precypitacyjnych opierano na pracach Albrycht i Rymkiewicz (1), Björklunda i Berengo (2), Porębskiej i Zęburowej (11) oraz Zilbera i Abieliewa (18).

Analizowane antygeny rozpuszczalne szczepów proteolitycznych laseczek beztlenowych uzyskiwano na podłożu mlecznym. Podłoże to służyło więc do wykazania cech proteolitycznych szczepów i równoczesnej produkcji antygenów.



Schemat nr 5.

Basenik nr 1 — antygen *Cl. bifermentans* 1155
 „ „ 2 — „ *Cl. botulinum* A 72
 „ „ 3 — „ *Cl. botulinum* B 364
 „ „ 4 — „ *Cl. sporogenes* 1039
 „ „ 5 — surowica anty — *Cl. bifermentans*.

Schemat nr 6.

Basenik nr 1 — antygen *Cl. bifermentans* 1155
 „ „ 2 — „ *Cl. bifermentans* 1213
 „ „ 3 — surowica anty — *Cl. bifermentans*.

Podana powyżej metoda diagnostyki proteolitycznych laseczek beztlenowych jest prosta, mało pracochłonna i możliwa do przeprowadzenia w usługowych laboratoriach bakteriologicznych. Wymaga jednak praktycznego potwierdzenia na szerszym materiale doświadczalnym.

Piśmiennictwo

1. Albrycht H., Rymkiewicz D.: Post. Hig. i Med. Dośw. 16, 881, 1962.
2. Björklund B., Berengo A.: Acta Path. et Microbiol. Scand. 34, 79, 1954.
3. Ellner P. D., Green S. S.: J. Bact. 4, 86, 1084, 1963.
4. Ellner P. D., Green S. S.: J. Bact. 4, 86, 1098, 1963.
5. Gonzalez C., Sierra G.: Nature, 189, 601, 1961.
6. Kafel S.: Medycyna Wet. 3, 153, 1964.
7. Kafel S.: Materiały II Kongresu Nauki i Technologii Żywności. 373, 1966.
8. Kaufman i wsp.: J. Bacter. 2, 119, 1959.
9. Meisel H.: Zeszyty Problemowe Nauki Polskiej, 10, 341, 1957.
10. Meisel H., Rymkiewicz D.: Med. Dośw. i Mikrobiol. 1, 1, 1959.
11. Porębska A., Zęburowa K.: Post. Hig. i Med. Dośw., 1, 17, 1963.
12. Sierra G.: Leeuwenhoek, 23, 15, 1957.
13. Strzelecka B., Strzelecki E.: prace doktorskie, WSR we Wrocławiu, 1966.
14. Walker P.: J. Path. and Bact.; 85, 41, 1963.
15. Willis A. T.: J. Path. and Bact., 80, 379, 1960.
16. Willis A. T.: Anaerobic bacteriology in clinical medicine, 62, 1964.
17. Ziemljanickaja E. P., Samsonowa B. C.: Żur. Mikrobiol. Epid. i Immunobiol., 6, 94, 1965.
18. Zilber A. L., Abieliew I. G.: Wirusologia i Immunologia raka, 200, 1962.

Adres autora: dr Jerzy Zahaczewski, Rzeszów, ul. Nowotki 12 a.

Захачевски Е., Коморовски А. — Проблема диагностики анаэробных бациллов.

Установили экспериментальным путем что растворимые антигены штаммов *Cl. botulinum* А и В, *Cl. sporogenes* и *Cl. bifermentans* появляются во время протеолиза молока. Анализ в.н. растворимых антигенов провели методом жель-преципитации. В реакции с антитоксинами колбасного яда А и В, установили отсутствие или частичную идентичность антигенов штаммов *Cl. botulinum* А и В с образцовым штаммом *Cl. sporogenes*. Антигены всех исследованных штаммов *Cl. sporogenes* оказались идентичными с антигенами образцового штамма *Cl. sporogenes*. Растворимые антигены штаммов *Cl. bifermentans* непрещипитирующие с антитоксиной *Cl. botulinum* А и В реагировали специфически с сывороткой анти-*Cl. bifermentans*. Не установили перекрестных реакций между сывороткой анти-*Cl. bifermentans* а растворимыми антигенами *Cl. botulinum* А и В и *Cl. sporogenes*.

Zahaczewski J., Komorowski A. — **The problem of anaerobic Bacillae diagnostics.**

During the experiment the presence was found of soluble antigens of A and B Cl. sporogenes and Cl. bifermentans strains which were the result of milk proteolysis. The analysis of the above mentioned soluble antigens was made by precipitation in gel. In the reaction of precipitation in gel with AB botuline antitoxine the lack of or the partial antigenic identity

was stated of A and B Cl. botulinum strains in relation to standard Cl. sporogenes strain.

The antigens of all investigated strains of Cl. sporogenes showed the identity reactions with the standard strain of Cl. sporogenes. The soluble antigens of Cl. bifermentans nonprecipitating with AB Cl. botulinum antitoxine, reacted specifically with anti-Cl. bifermentans serum. No cross reactions were found among anti-Cl. bifermentans serum and the soluble antigens of Cl. botulinum A and B and Cl. sporogenes.

ANTONI SPRYSZAK, STANISŁAW KRAUSS, ELWIRA ZALEWSKA

Wpływ żywienia zimowego i letniego na alergię tuberkulinową u bydła

Pracownia Immunologii Gruźlicy
Kierownik: prof. dr A. SPRYSZAK

Zakład Epizootiologii Ogólnej
Kierownik: prof. dr S. KRAUSS

Materiał i metody

Alergia tuberkulinowa ma zasadnicze znaczenie dla przyżyciowego rozpoznawania gruźlicy u bydła. Zakażenie prątkami gruźlicy uruchamia mechanizmy immunologiczne, których wyrazem, między innymi, jest powstawanie swoistych przeciwciał warunkujących uczulenie zwierzęcia na tuberkulinę. Powstałe uczulenie nie utrzymuje się na jednakowym poziomie. U zwierzęcia chorego na gruźlicę obserwuje się wahania w nasileniu wrażliwości na tuberkulinę, a nawet niekiedy czasowy jej zanik.

Przebieg procesu chorobowego i kształtowanie się odporności ma niewątpliwy wpływ na alergię tuberkulinową. Warunki środowiskowe, wpływające na procesy regulacyjne ustroju, mogą również wzmacniać lub obniżać uczulenie na tuberkulinę. Poddubskij i wsp. (5) zwracają uwagę, że reaktywność alergiczna zwierząt gruźliczych bywa najwyższa w miesiącach letnich i obniża się do minimum pod koniec zimy względnie na początku wiosny, szczególnie gdy niedostateczne są warunki utrzymania i żywienia zwierząt. Najżywiej dyskutowane jest zagadnienie wpływu na alergię tuberkulinową witaminy C ze względu na jej związek z produkcją hormonów kory nadnerczy (1, 2, 8). Należy przy tym nadmienić, że, jakkolwiek dużo uwagi poświęcono badaniom nad syntezą kwasu askorbinowego i jego rolą u przeżuwaczy, dotychczas nie zdołano całkowicie wyjaśnić tego zagadnienia (3, 4, 7).

Badania tuberkulinowe przeprowadza się w różnych porach roku, w okresie zimy i wczesnej wiosny, gdy zawartość kwasu askorbinowego w paszach może być niska, a także w okresie lata i wczesnej jesieni, gdy bydło korzysta z pastwiska i otrzymuje paszę zieloną.

Podjęliśmy badania dla sprawdzenia czy rodzaj żywienia, a w szczególności żywienie zimowe i letnie, ma wpływ na alergię tuberkulinową u bydła gruźliczego.

Badaniem objęto 71 krów gruźliczych w trzech Państwowych Gospodarstwach Rolnych: 20 krów w gosp. N. (woj. katowickie), 30 krów w gosp. P. (woj. poznańskie) i 21 krów w gosp. S. (woj. bydgoskie). Krowy były mniej więcej wyrównane pod względem kondycji i produkcji mleka.

Krowy badano dwukrotnie: we wczesnym okresie wiosennym, gdy były jeszcze na żywieniu zimowym i pod koniec okresu letniego, gdy korzystały jeszcze z pastwiska względnie otrzymywały zieloną paszę.

W każdym przypadku przed rannym odpasem zwierząt pobierano próby krwi do badania na zawartość kwasu askorbinowego, a następnie krowy poddawano tuberkulinizacji, używając tuberkuliny PPD dla ssaków produkcji Biowet. Kwas askorbinowy oznaczano w pełnej krwi kolorymetrycznie stosując metodę Roe i Kuethera w modyfikacji Schafferta i Kingsley'a (6). Jako standard użyto kwas L-askorbinowy cz.d.a. produkcji węgierskiej.

Dzienna dawka pokarmowa dla każdej krowy w okresie żywienia zimowego (listopad—maj) zawierała:

Pasze	W gospodarstwie		
	N	P	S
parzonka	20 kg	—	—
wywar z gorzelnii	20 „	—	35—40 kg
słoma jara	10 „	7 kg	6,7 „
mieszanka „B”	1,5 „	1 „	1,5 „
wysłodki	—	5 „	—
śruta zbożowa	0,5 „	0,5 „	1,7 „
kiszonka (50% słonecznika i 50% liści bur.)	—	40 „	—
siano mieszane (łąkowe i lucerna)	—	3 „	—

W okresie żywienia letniego (maj—listopad) krowy wypasano na pastwiskach — łąkach z porostem słodkich traw średniej jakości. Krowy gosp. P. i S. otrzymywały codziennie dodatek ok. 0,8 kg mieszanki „B”. Krowy gosp. N. pozostawały wyłącznie na paszy zielonej; niezależnie od przebywania na pastwisku otrzymywały koniczynę, lucernę i kukurydzę.

Wyniki

Wyniki badania zawartości kwasu askorbinowego (wit. C) we krwi krów i wielkości odczynów tuberkulinowych (OT) w okresie żywienia zimowego („z”) i letniego („l”) zestawiono sumarycznie w tabeli 1.