

rzęta przed inwazją much, bezpiecznych w stosowaniu. Stąd też celowe wydaje się wprowadzenie Insektinu do masowej terenowej praktyki weterynaryjnej. Konsekwentne zastosowanie preparatu w okresie występowania much pozwoli na ograniczenie strat ekonomicznych w chowie zwierząt.

Prosty sposób stosowania Insektinu, długi okres skutecznego działania przy jednoczesnym powszechnym występowaniu much wskazują na konieczność wprowadzenia preparatu do szerokiej praktyki weterynaryjnej.

#### Piśmiennictwo -

1. Tarczyński S., Malczewski A.: Życie wet. 60, 100, 1985.

Adres autora: doc. dr hab. Jerzy Lech Gundlach, ul. Sowińskiego 8/37, 20-040 Lublin

Гундлах Е. Л., Садзиковский А., Ухач С., Гженда М. — Исследования эффективности и безопасности применения инсектоубийственного препарата Insektin

В лабораторных и местных условиях определяли инсектоубийственные и репелентные свойства препарата Insektin и безопасность его применения. Препарат оказался средством, удобным для применения, безопасным для животных различного вида. Препарат показывает в течение 2—3 недель отпугивающее действие по отношению к насекомым и их личинкам, а часть их также убивает. В связи с этим он должен найти повсеместное применение в борьбе с множеством мух, атакующих мух в помещениях и на пастбищах.

Gundlach J. L., Sadzikowski A., Uchacz S., Grzęda M. — Studies on the efficacy and safety of the insecticide Insektin

The insecticidal properties, safety and repellent activity of Insektin have been examined in laboratory and field trials. Insektin appeared to be easy to use and safe when used in various species of animals. It reveals repellent activity against insects and their larvae for 2—3 weeks, and acts also as an insecticide. Therefore, Insektin can be commonly used for the control of flies attacking domestic animals in stables and on a pasture.

JANUSZ A. MADEJ, CZESŁAW KASZUBKIEWICZ

## Skład aminokwasów w surowicy i hydrolizatach z narządów wewnętrznych myszy z przeszczepialną białaczką limfatyczną L 1210

Katedra Anatomii Patologicznej i Weterynarii Sądowej Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. C. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Zmiany szybkości syntezy i degradacji metabolitów w komórkach nowotworowych w porównaniu z aktywnością tych procesów w komórkach prawidłowych wskazują, że transformacja nowotworowa wpływa na zmianę mechanizmów regulujących aktywność poszczególnych dróg metabolicznych. W najlepiej poznanych pod względem regulacji metabolizmu wątrobiaku Reubera szczurów obserwuje się przyspieszenie procesów glikolizy, syntezy kwasów tłuszczowych, cholesterolu, kwasów nukleinowych i aminokwasów (3).

Aminokwasy są kluczowymi związkami metabolizmu komórek. Ich aktywacja i synteza odbywa się w cytoplazmie podstawowej komórki, natomiast przemiany kataboliczne aminokwasów zachodzą w mitochondriach (3). Pomiedzy aminokwasami obecnymi w komórkach a wolnymi aminokwasami osocza występuje dynamiczna równowaga, która może być zachwiana przez różne procesy patologiczne, m.in. przez proces nowotworowy (1, 3—5, 7, 11, 13).

Z wcześniej wykonanych badań własnych wynika (9, 10), że w przeszczepialnej białaczce limfatycznej u myszy dochodzi do zmian niektórych mechanizmów regulujących metabolizm komórek. Można zatem oczekiwać także zmian w zakresie aminokwasów w komórkach ulegających transformacji białaczkowej. Celem niniejszej pracy było wykonanie analizy jakościowej i ilościowej aminokwasów w surowicy i hydrolizatach z narządów wewnętrznych my-

szy z przeszczepialną białaczką limfatyczną L 1210 i wykazanie ewentualnych różnic metabolicznych w zakresie aminokwasów między komórkami prawidłowymi i komórkami ulegającymi transformacji nowotworowej.

#### Materiał i metody

Do badań użyto myszy hybryd CDF<sub>1</sub>, tj. krzyżówki BALB/c × DBA/2, samców, 8 tyg., pochodzących z Ośrodka Hodowli Zwierząt Wsobnych przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Komórki białaczki limfatycznej L 1210 pasażowano co 6—7 dni przeszczepiając myszom DBA/2 dootrzewnowo 10<sup>3</sup> komórek nowotworowych. Myszy doświadczalne zaszczepiono komórkami białaczki L 1210 podając im dootrzewnowo 10<sup>4</sup> komórek nowotworowych zawieszonych w 0,2 cm<sup>3</sup> PBS. Myszy zabijano przez wykrwawienie po 5 i 11 dniach od chwili zaszczepienia białaczki. Dokonano weryfikacji histopatologicznej narządów wewnętrznych, tj. węzłów chłonnych, śledziony, grasicy, wątroby i nerek.

Analiza aminokwasów: do badań pobrano wątrobę, nerki, śledzionę oraz surowicę krwi od myszy białaczkowych oraz myszy kontrolnych (zdrowych). Rozdrobnione nożyczkami narządy poddano kwaśnej hydrolizie 0,6 N HCl w temp. 382—386 K przez 24 godziny. Następnie materiał odparowano i przechowywano w buforze cytrynianowym o pH = 2,2. Analizę aminokwasów wykonano na analizatorze cieczowym Carlo-Erba typ 3 A—27. Wyniki oznaczeń aminokwasów w surowicy myszy podano w mol/m<sup>3</sup>, natomiast w hydrolizatach z narządów wewnętrznych w mol/kg. Analiza obejmowała: aminokwasy kwaśne (kwas asparaginowy), hydroksyaminokwasy (treonina i seryna), aminokwasy heterocykliczne (kwas glutaminowy i prolina), aminokwasy alifatyczne (glicyna, alanina, walina, izoleucyna i leucyna), aminokwasy

Tab. 1. Skład aminokwasów w hydrolizatach narządów wewnętrznych myszy z przeszczepialną białaczką limfatyczną L 1210 oraz myszy kontrolnych (w mol/kg)

Aminokwasy	Nerka			Wątroba			Śledziona		
	K	D		K	D		K	D	
		I	II		I	II		I	II
Kwas asparaginowy	0,12	0,12	0,11	0,18	0,16	0,15	0,12	0,12	0,12
Treonina	0,06	0,06	0,06	0,08	0,08	0,07	0,07	0,06	0,06
Seryna	0,08	0,08	0,07	0,10	0,09	0,09	0,09	0,09	0,08
Kwas glutaminowy	0,12*	0,16*	0,19*	0,20	0,20	0,19	0,16*	0,16	0,11*
Prolina	0,09*	0,06*	0,58*	0,08	0,07	0,07	0,06*	0,08*	0,04*
Glicyna	0,14	0,13	0,13	0,16*	0,15	0,10*	0,18*	0,17*	0,09*
Alanina	0,11	0,11	0,10	0,14	0,13	0,12	0,14	0,13	0,12
Walina	0,04	0,05	0,06	0,06	0,06	0,07	0,06	0,06	0,05
Izoleucyna	0,04	0,04	0,04	0,05*	0,06	0,09*	0,05*	0,06*	0,03*
Leucyna	0,11	0,10	0,10	0,14	0,14	0,14	0,13	0,12	0,11
Tyrozyna	0,03	0,03	0,03	0,05	0,05	0,04	0,02	0,03	0,03
Feniloalanina	0,04	0,05	0,04	0,06	0,06	0,06	0,05	0,04	0,04
Lizyna	0,08	0,08	0,07	0,12	0,12	0,12	0,12	0,11	0,10
Histydyna	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04
Arginina	0,06	0,06	0,06	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07	0,07

Objaśnienia: K — grupa kontrolna, D — grupa doświadczalna, I — 5 dzień po przeszczepieniu białaczki, II — 11 dzień po przeszczepieniu białaczki, \* — różnica istotna statystycznie przy  $p \leq 0,05$ .

aromatyczne (tyrozyna i feniloalanina) oraz aminokwasy zasadowe (histydyna i arginina).

### Wyniki i omówienie

Badaniem histopatologicznym stwierdzono, że u myszy, którym zaszczerpiono białaczkę limfatyczną L 1210, występuje w 5 dniu doświadczenia wyraźna kolonizacja narządów wewnętrznych, tj. węzłów chłonnych, śledziony i grasicy, słabsza w wątrobie, przez komórki białaczkowe. Kolonizacja ulegała wyraźnemu nasileniu w 11 dniu po przeszczepieniu nowotworu. W 5 dniu doświadczenia komórki białaczkowe badanych narządów stanowiły ok. 50% składu komórkowego, natomiast w 11 dniu po przeszczepieniu nowotworu prawie 100%. W nerkach pobranych od myszy białaczkowych nie stwierdzono komórek nowotworowych.

Analizę aminokwasów w hydrolizatach z narządów wewnętrznych myszy doświadczalnych i kontrolnych (zdrowych) przedstawiono w tab. 1, zaś w surowicy w tab. 2. U myszy, którym przeszczepiono białaczkę limfatyczną L 1210 stwierdzono statystycznie istotny wzrost ilości kwasu glutaminowego w nerkach (spadek natomiast w śledzionie), wzrost poziomu izoleucyny w wątrobie (spadek natomiast w śledzionie). Stwierdzono również wzrost ilości proliny w nerkach (spadek natomiast w śledzionie) oraz spadek poziomu glicyny w wątrobie i śledzionie. W surowicy krwi tych myszy zaobserwowano wzrost ilości kwasu glutaminowego, glicyny, proliny i izoleucyny. Z reguły wzrostowi ilości aminokwasów w surowicy towarzyszył spadek ich poziomu w hydrolizatach narządów wewnętrznych: W ilości pozostałych, badanych aminokwasów i to zarówno w hydrolizatach z narządów wewnętrznych, jak i surowicy nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między myszami białaczkowymi i zdrowymi.

Tab. 2. Skład aminokwasów w surowicy myszy z przeszczepialną białaczką limfatyczną L 1210 oraz myszy kontrolnych (w mol/m<sup>3</sup>)

Aminokwasy	Grupa kontrolna	Grupa doświadczalna	
		I	II
Kwas asparaginowy	0,96	0,95	0,99
Treonina	0,64	0,61	0,64
Seryna	0,65	0,68	0,70
Kwas glutaminowy	1,28*	1,38	1,51*
Prolina	0,47*	0,52	0,70*
Glicyna	0,40*	0,55	0,61*
Alanina	0,79	0,79	0,83
Walina	0,50	0,51	0,50
Izoleucyna	0,25*	0,30	0,38*
Leucyna	0,98	0,98	0,99
Tyrozyna	0,32	0,33	0,37
Feniloalanina	0,48	0,48	0,48
Lizyna	0,78	0,78	0,78
Histydyna	0,28	0,28	0,27
Arginina	0,38	0,31	0,31

Objaśnienia: I — 5 dzień po przeszczepieniu białaczki, II — 11 dzień po przeszczepieniu białaczki, \* — różnica istotna statystycznie przy  $p \leq 0,05$ .

Stwierdzono, że w tkankach, w których nie obserwowano komórek białaczkowych (krew, nerki) poziom badanych aminokwasów ulegał wzrostowi w miarę rozwoju procesu białaczkowego. Natomiast w narządach mięszo- wych, ulegających kolonizacji przez komórki białaczkowe, poziom niektórych aminokwasów ulegał obniżeniu, za wyjątkiem poziomu izoleucyny w wątrobie.

Dane na temat zachowania się aminokwasów w surowicy, jak i narządach wewnętrznych u ludzi i zwierząt chorych na różne postaci białaczki są rozbieżne. Baker i wsp. (1) stwierdzili u ludzi, że znakowana izotopami walina i leucyna jest wbudowywana znacznie intensywniej *in vitro* i *in vivo* w leukocyty białaczki granulocytarnej przewlekłej niż w leukocyty osób zdrowych. Podobnie Winzler

(15) stwierdził nasilenie inkorporacji  $C^{14}$  — glicyny do białek w leukocytach białaczkowych u ludzi. Obserwacje te potwierdzili Sejc i Ługanowa (12). Weisberger i Levine (14) wykazali, że leukocyty białaczkowe białaczki mieloblastycznej u ludzi intensywniej włączają alaninę, cystynę oraz metioninę niż komórki prawidłowe. Szajd i wsp. (13) obserwowali w białaczkach granulocytarnych u ludzi spadek ilości histydyny, lizyny, treoniny, ornityny, tryptofanu, wzrost natomiast ilości argininy, metioniny, proliny i kwasu glutaminowego. Wzrost ilości kwasu beta-aminoizomasłowego (BAIBA) w białaczkach u ludzi obserwowali Mazurik i Rabinkowa (11).

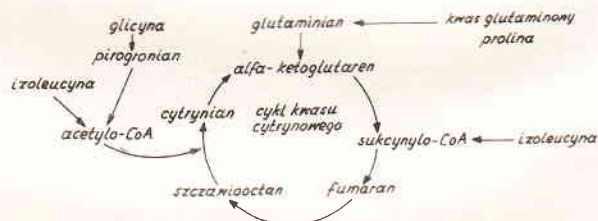
Kądziołka i Kostarz (4) obserwowali w surowicy bydła białaczkowego wzrost ilości BAIBA i asparaginy, spadek natomiast metioniny. W późniejszych obserwacjach Kądziołki i wsp. (5) oraz Kostarza (7) stwierdzono, że u krów białaczkowych ilość BAIBA wynosi od 5,2 do 13,8%, podczas gdy u zwierząt zdrowych obserwowano tylko śladowe ilości lub zupełny brak tego aminokwasu. Autorzy (5, 7) stwierdzili także u krów białaczkowych zanik glutaminy i hydroksyproliny. Leśnik i Vrtiak (8) podają, że w surowicy krwi i tkankach zmienionych białaczkowo u krów dochodzi do wzrostu ilości glicyny, alaniny, lizyny, tauryny i tryptofanu przy równoczesnym spadku poziomu glutaminy, metioniny, proliny i hydroksyproliny. Blecher i White (2) stwierdzili, że inkorporacja glicyny- $2-C^{14}$  u szczurów jest czterokrotnie wolniejsza w komórkach *lymphosarcoma*, aniżeli w komórkach prawidłowych.

W badaniach własnych stwierdzono w hydrolizatach większości narządów mięsowych u myszy — nosicieli przeszczepialnej białaczki limfatycznej L 1210 — wyraźny spadek ilości kwasu glutaminowego, izoleucyny, proliny i glicyny. W surowicach tych zwierząt obserwowano wzrost poziomu wszystkich czterech wymienionych aminokwasów. Na tej podstawie można przyjąć, że u myszy białaczkowych dochodzi do wyraźnego zaburzenia dynamicznej równowagi pomiędzy opisanymi aminokwasami w relacji komórka — surowica krwi. Dokonane obserwacje upoważniają także do przypuszczenia, że myszy z białaczką L 1210, u których stwierdzono wzrost ilości kwasu glutaminowego w narządach może dochodzić do zwiększenia liczby grup aminowych dla reakcji transaminacji. Kwas glutaminowy bowiem, obok kwasu asparaginowego, jest najważniejszym dawcą grup aminowych dla reakcji transaminacji. Należy także wspomnieć, że kwas glutaminowy służy również jako koenzym acetylazy cholinowej, która w warunkach beztlenowych bardzo szybko syntetyzuje z choliny acetylcholinę. Wzrost ilości kwasu glutaminowego w narządach myszy białaczkowych może prawdopodobnie nasilać tę reakcję.

Obserwowany w badaniach własnych wyraź-

ny wzrost ilości izoleucyny w narządach i surowicy krwi, w porównaniu ze zwierzętami zdrowymi, przemawia za rozkojarzeniem u myszy białaczkowych fizjologicznej równowagi pomiędzy tym aminokwasem a leucyną.

Poziom prolina jest jednym z czynników regulujących syntezę kolagenu w ustroju i uwarunkowany jest w budowywaniem tego aminokwasu do tworzącego się łańcucha polipeptydowego oraz jego hydroksylacją do hydroksyproliny (6). Spadek poziomu prolina obserwowany u myszy z przeszczepialną białaczką limfatyczną L 1210 znajduje swe odzwierciedlenie w obniżeniu ilości tkanki kolagenowej w porównaniu do tkanek narządów prawidłowych, np. węzłów chłonnych czy śledziony.



Ryc. 1. Przemiana aminokwasów w amfibolicznej łańcuchu pośrednim

Kwas glutaminowy, prolina, glicyna i izoleucyna, podobnie jak i inne aminokwasy, ulegając przemianom metabolicznym w organizmie przekształcają się ostatecznie w amfiboliczne łańcuchy pośrednie z tworzeniem albo glikogenu (aminokwasy „glikogenne” — tj. glicyna, prolina i kwas glutaminowy), albo glikogenu i lipidów (aminokwasy „glikogenne” i „ketogenne” — tj. izoleucyna). Przemiany tych aminokwasów w amfibolicznej łańcuchu pośrednim przedstawiono na ryc. 1. Opierając się na prezentowanej rycinie można przyjąć, że u myszy — nosicieli przeszczepialnej białaczki limfatycznej L 1210 — dochodzi do wyraźnych zmian w poziomie niektórych aminokwasów „glikogennych” oraz aminokwasów „glikogennych” i „ketogennych”, co może znajdować odbicie w zaburzeniu cyklu Krebsa.

#### Piśmiennictwo

1. Baker W. H., Zamenik P. C., Stephenson M. L.: Blood 12, 822, 1957.
2. Blecher M., White A. J.: J. Biol. Chem. 233, 1161, 1959.
3. Criss W. E., Pradham T. K.: Regulation of tumor cell metabolism by the adenylate and guanylate energy charges. W: Control mechanism in cancer. Red. W. E. Criss T., Ono J. R. Sabine, 401—410, Raven Press, New York 1976.
4. Kądziołka A., Kostarz T.: Medycyna Wet. 25, 328, 1969.
5. Kądziołka A., Kostarz T., Grundboeck M.: Medycyna Wet. 26, 472, 1970.
6. Kershenbich D., Fierro F. J., Rejkind N. J.: Clin. Invest. 49, 2246, 1970.
7. Kostarz T.: Poziom aminokwasów osocza i limfocytów krwi obwodowej krów rasy nizinnej czarno-białej i czarwonej ze stad białaczkowych oraz ze stada wolnego od białaczki. Praca hab., Zesz. nauk. AR Lublin, 1975.
8. Leśnik F., Vrtiak J.: Nadorové ochorenia zvierat. Priroda, Bratislava 1979.
9. Madej J. A., Kuryszko J., Kaszubkiewicz C., Mazurkiewicz M.: Expl. Path. (w druku).
10. Madej J. A., Bereżecka J., Sobtech K. A., Kaszubkiewicz C., Jopek Z., Klimentowski S.: Arch. Immun. Ther. 3, 429, 1985.

11. Mazurik V. K., Rabinkova E. V.: Vop. med. chimii 11, 3, 1965.
12. Sejc J. E., Eganova J. S.: Biochimija kletok krvi i kost-noga mozga v normie i pri lejkozach. Izdat. „Medicina” 1967.
13. Sznajd J., Listewicz J., Pajdak W., Nasklaski J.: Prz. lek. 25, 472, 1969.
14. Weisberger A. S., Levine B.: Blood 9, 1082, 1954.
15. Winzler R. J.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 75, 37, 1958.

Adres autora: doc. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskego 4/5, 50-345 Wrocław

Мадей Я. А., Кашубкевич Ч. — АИМНОКИСЛОТНЫЙ состав в сыворотке и гидролизатах из внутренних органов мышцей с трансплантируемым лимфатическим лейкозом L1210

Мышам-гибридам CDF<sub>1</sub>, самцам 8 недель, ввели во внутривенную инъекцию 10<sup>4</sup> клеток лимфатического лейкоза L1210. На 5 и 11 дни опыта выполнили качественный и количественный анализы аминокислот в сыворотке и внутренних органах, т.е. в печени, почках и селезенке животных. У лейкемических мышцей отметили статистически существенный рост количества глутаминовой кислоты и печени. Наблюдала также понижение количества в селезенке, а также количества глицина в

печени и селезенке. В сыворотке этих мышцей наблюдали рост количества глутаминовой кислоты, глицина, пролина и изолейцина. Приняли, что у лейкемических мышцей происходит отчетливое нарушение динамического равновесия между аминокислотами в реляции клетка — сыворотка крови.

Мадей Я. А., Кашубкевич Ч. — The content of aminoacids in the serum and hydrolysates from internal organs of mice with transplanted lymphatic leukaemia L 1210

Mice — hybrides CDF<sub>1</sub>, males, 8 weeks old, were given intraperitoneally 10<sup>4</sup> lymphatic cells L 1210. At the day 5 and 11 qualitative and quantitative analysis of aminoacids in the serum and internal organs (liver, kidneys, spleen) were performed. In lymphatic mice there was found a statistically significant increase of glutaminic acid and proline in the kidneys, and the level of isoleucine in the liver. A decrease of the concentration of proline in the spleen and glycine in the liver and spleen was observed as well. In the serum of those mice an increase of glutaminic acid, proline and isoleucine was noted. It was assumed that in lymphatic mice a distinct dynamic disturbances among aminoacids in the relation to a cell — serum took place.

ZYGMUNT DEMBIŃSKI

## Witamina A w hipokarotenemii u krów ciężarnych

Zakład Ekologii Produkcji Zwierzęcej Instytutu Weterynarii,  
ul. Grunwaldzka 250, 60-956 Poznań

Biologiczna rola karotenów i witaminy A w żywieniu zwierząt jest znana. Jednak wzajemne zależności zachodzące między nimi w procesie wzrostu, rozwoju i rozmnażania nie zostały jeszcze całkowicie wyjaśnione. Badania licznych autorów (2, 3, 13, 23, 30) wykazały specyficzną rolę beta karotenu w syntezie progesteronu, którego w tym procesie nie może zastąpić witamina A. Wielu też autorów (1, 3, 25, 27, 31, 34) zwraca uwagę na wzajemne zależności między poziomem karotenów w surowicy krwi krów ciężarnych a zabezpieczeniem płodu w witaminę A. Niedobór karotenów w surowicy krwi krów ciężarnych w okresie żywienia zimowego jest zjawiskiem często sygnalizowanym w literaturze, zwłaszcza krajowej (3, 9, 18, 19—21, 27, 33). Podawanie samej witaminy A w tych przypadkach nie daje zadowalających efektów (15, 18, 20) — rodzą się cielęta mało vitalne, z niewielkim zasobem witaminy A w wątrobie (27, 31). W piśmiennictwie krajowym brak jest szczegółowych opracowań na ten temat, poza nielicznymi doniesieniami kazuistycznymi (18, 20, 28).

Celem pracy było określenie wpływu podawania witaminy A drogą parenteralną krowom ciężarnym o niskim poziomie karotenów w surowicy krwi na zawartość karotenów i witaminy A w surowicy krwi krów i ich siarce oraz surowicy krwi i wątrobie cieląt.

### Materiał i metody

Obserwacją objętą stado krów mlecznych liczące 800 sztuk. Ze stada losowo wybrano 60 wysokociężarnych krów, klinicznie zdrowych, będących w III trymestrze ciąży i utworzono trzy grupy I—III po 20 krów każda. Krowy z grupy I otrzymywały 212 ± 36 mg karotenoidów dziennie. W grupie II niedobór karotenoidów w dawce dziennej uzupełniano codziennie witaminą A w iniekcji do poziomu tych związków w grupie III. Ilość stosowanej witaminy A wyliczano wg założeń podanych przez Lebede i Pfikrylową (24). W grupie III zawartość karotenoidów w dawce dziennej wynosiła 522 ± 28 mg. Zawartość tę uzyskano poprzez wprowadzenie do dawki podstawowej (I) kisonki z traw i motylkowych oraz suszu z lucerny.

Badania prowadzono w okresie żywienia zimowego. W okresie tym stosowano kisonkę z kukurydzy, liści i wysłodków buraczanych, wywar ziemniaczany, melasę, paszę treściwą, siomę jęczmienną, dodatki mineralne. Stosowane w żywieniu krów w okresie doświadczalnym składniki dawki pokarmowej analizowano trzykrotnie laboratoryjnie określając w nich zawartość karotenów, składników mineralnych — wapnia, cynku, miedzi i magnezu, oceniając wartości podstawowych parametrów rzutuujących na jakość stosowanych pasz, głównie kisonek. Zawartość wapnia w suchej masie (sm) dawki wahała się od 0,68 do 0,71% w grupie I i II od 0,74 do 0,76% w grupie III. Zawartość magnezu wahała się od 0,29 do 0,32%, miedzi od 16,2 do 17,5 mg i cynku od 56 do 62 mg/kg sm dawki. Średnie spożycie sm w poszczególnych grupach wynosiło 12,90 ± 1,5, 13,0 ± 1,8 i 13,20 ± 1,8 kg.

Do badań pobierano: krew krów w odstępach dwutygodniowych, pierwszą siarę, krew cieląt przed podaniem i po 48 h po podaniu siary, wątroby padłych i poddanych ubojowi cieląt i krów. W surowicy krwi