

Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія

COLIFORM COW MASTITIS, CONTROL AND TREATMENT MEASURES

Bobos S. F., Radinovic M. Z., Pajic M. J.

Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad

This mastitis is common called enterobacterial mastitis. This term includes the perakute or severe acute - less chronic or subclinic - inflammation, which occurs in some animals during the period of high lactation and develop rapidly. Relatively rarely leads to the spread of disease to a greater number of cows in herd. On the contrary, quite often occurring udder infections without clinical symptoms. In animals that are held in stabled infection in most countries, more numerous than in animals that are held freely in pasture. In the case of perakute course of the disease cow is in danger of death or the occurrence of udder quarters of decline. Coli-mastitis occurs in cow herds where hygienic conditions are not satisfactory. In recent years it has been found to increase the spread of disease, which is caused by inadequate stable holding the cow with high milk production. Coli infections in the spectrum are different causes of mastitis take a percentage, which in many countries moving up to a maximum of 25 %.

Etiology: The primary cause of the enterobacterial mastitis is *E. coli*. This state of affairs often leads to the term coli-mastitis mainly used for all udder inflammation caused by Enterobacteria. After *E. coli*, are: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter diversus*, *Serratia marcescens*, *Serratia odorifera*, *Proteus*. Of all gramnegativ bacteria cause mastitis, Enterobacteria are the main group - about 90 %. The remaining 10 % are micro-organisms genus *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Pasteurella*, *Acinetobacter*. *E. coli*, as represented in the greatest cause of percentage in comparison to other bacteria such gramnegativne Alkaf and Bergmann (1990) say that it makes 72,2 %, McDonald et al (1977) 59,0 %, Bidaud et al (2008) 66,0 %. *E. coli* represents the physiological flora of the digestive tract of humans and animals. In terms of virulence, it shows very large differences. Increase of virulent factor in different animal species leads to increasing the number of different diseases, for example. enteritis, septicemia, arthritis and mastitis.

Pathogenesis: The appearance of mastitis caused by Enterobacteria depends on the number of agents in the body, for example, appearance of gastroenteritis, or around the animals and the various stressful situations that reduce the immune system. Representatives of Enterobacter that are present in large numbers around or in the digestive tract of cattle, or galaktogenim hematogenim through due to udder, and it is possible to reach the milk gland and limfogenim way.

Weigt and Dreist (1988) after determining Endotoxin, according to the gastrointestinal system disturbances Endotoxin penetration into the blood at the beginning without clinical signs and endotoxin entering the udder and not necessarily to cause disturbances in blood-udder barrier. When it comes to disorders of body defense mechanisms, especially when not working detoxification of toxins through the liver and disrupts the ability of polymorphonuclear leukocyte phagocytosis, and when you come to a halt in the production of milk ejection.

Endotoxin by milking stops, leading to increased penetration of coli-microorganisms and to clinical manifestations.

According to the above findings, the factors that cause these disorders are as follows:

30 % - complications during calving;

30 % - infection of certain organs or general infection;

30 % - udder injury or tits;

10 % - no more mastitis diagnosis, often due to inadequate hygiene during milking.

Phenomena that precede the coli-mastitis may include: enteritis, intestinal disorders after changing diet (overly diet, poor diet), or rotten food, insufficient amounts of vitamins. Metabolic disorders, puerperalne interference, especially metritis, traumatic retikulitis, peritonitis, panaricijum, pneumonia, nephritis, caesarean section, injuries suck, vagina or pelvic injury during birth, adverse climatic conditions (high humidity, low temperature substrates, draft) as well as physical damage to the udder (inadequate when lying on the ground, injuries during walking). In particular, the endangered animals with high efficiency in the production of milk (1-4 months post partum), cows with big udders hanging and expressed peripartal edema, the animals that live in areas with inadequate ventilation or where the draft, as well as animals that live in the vicinity of wet and cold walls. In summer months, large differences in temperature during the night and day (open doors and windows) or after weather disasters, caused by a cold and withdrew with her coli-mastitis. On certain farms evident a clear correlation with the appearance of disease in early periods of eating fresh (green) foods.

Opinion udder experimentally infected with *E. coli*, electron microscopy showed already after one hour post infection the presence of necrosis and changes in epithelial cells and milk sucking channel. After two hours the changes were more visible and lead to the appearance of neutrophil granulocytes. These granulocytes were settled on the surface epithelium, creating a large block of. At that point, granulocytes counted in the secretions can lead to significant underestimation of the cells. Reducing the concentration of leukocytes in the blood started from 1.5 to 3 hours post infection and at the end of the experiment led to a high degree of leukopenia. Changes in udder secretions proved to be already one hour post infection. Samples of secretions, which were taken 2 hours post infection, but also showed changes typical of mastitis in a high number of cells, albumin, globulin, and increased conductivity and pH, and reducing the alpha s1-casein and beta kazeinskih fraction and Soxhlet -Henkelovog number. Disorders of the general health status reported to 2 hours post infection. Simptomatika acute mastitis fully developed 5 hours post infection. Epithelium defensive ability is based on the complex interaction PKL, macrophages, lymphocytes, plasma cells and fat cells as well as the ability apikal epithelium cells to take in case of inflammation of infectious material from the lumen of vacuole (Sterba et al., 1990). Resistance of certain strains

Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія

of *E. coli* to bactericidal action of blood serum and milk is the cause of pathogenicity for the udder, and on the basis of complement-dependent antibodies. The effect of this system depends on bactericidal permeability barrier between blood and milk, which increases the weight of the mastitis. O-antigen or somatic antigen of *E. coli* induces the production of these natural antibodies. Characteristics of antibodies are acting on gram-negative pathogens, their thermostability (56°C destroy them for 30 minutes) and complement-dependent effect, directed against the cell wall fraction lipopolysaccharide bacteria and belong to the classes IgM and IgG. The development of mastitis in the infected udder prior bactericidal activity appears in the milk. Bactericidal activity to enhance the mastitis is secreted a serous serum albumin and immunoglobulin concentration in the blood is the same. Lactocin, added to serum, is in a position to increase *E. coli* lysis, and Lysozyme and complement are still ineffective in the absence of antibodies. Lactoperoxidase-system-vodonioperoxid thiocyanate can slow or *E. coli* infection that was prevented by killing pathogens, and the concentration of thiocyanate in the udders of milk varies depending on the content of thiocyanate in foods. The combination of Lactoferrin and specific antibodies to *E. coli* had a better bacteriostatic effect against *E. coli*. Effective concentrations of Lactoferrin could be created but mainly in the dry off period. Lactoferrin bacteriological properties were confirmed against *Pseudomonas* and *Proteus*.

Clinical picture and course of the disease: If peracute or acute mastitis coli-developed severe symptoms within just a few hours. The udder is diffusely increased (powerful edema) of the test by rough and hard consistency, painful and heated. The skin can not be separated from the surface and shows red surface. Basically it is about a quarter, usually the back. In addition, there are collateral edema and swelling of lymph nodes large udder. It is often affected and sucking. Milk rapidly losing its character. Fourth secretion is significantly reduced. Depending on the strong activity exudative inflammation becomes aqueous discharge, serous or bloody serous receives gray color, partially filled with fibrin clots and purulent flakes and becomes mushy advancing necrotic process.



Figure 1 The appearance of clinical illness

It is often severe disorders occurring at the same time the general health status, high temperature (usually about 41°C), acceleration pulses over 100/min, superficial breathing, trembling of muscles (especially in the rear limbs), lack of appetite, inability to animals may rise, causing diarrhea to rapid loss of body weight, which ends with death if the animals survive and come to a complete atrophy of the affected districts. The clinical picture the occurrence of severe diarrhea, which is associated with resorption endotoxin. The amount of milk in districts with no noticeable clinical symptoms rapidly declines to complete his loss. In some cases where the process leads to generalized swelling of the joints. Coli-mastitis showed a different course. In subclinical form that is chronic there may be normalization of secretion and without treatment, if they are mild inflammatory changes. After treatment of acute mastitis, where the affected districts have increased and disturbed consistency, there is often a form of mastitis in subclinical which is revealed by rapid tests. When it comes to mastitis subclinical form where the cause is *E. coli* O157, although lacking clinical symptoms due to excretion of large amounts causes milk from diseased quarters there is a serious risk to human health. In peracute and acute mastitis-heavy coli is required to timely treatment in order to prevent lethal outcome. The reluctance of the introduction of treatment that causes inflammatory changes in the udder advance to form necrosis, so that recovery is often not possible. In the case of *Klebsiella*-mastitis is especially pronounced fever and strong disturbances of general condition, and physical weakness. Rare chronic inflammation of the general flow without reaction, the crude gland tissue-chunky, reduced milk production with the occurrence of clots of different sizes. In latent forms the presence of *K. pneumoniae* is found in udder. Peracute mastitis are reflected in very poor clinical symptoms, which is probably related to the slow diapyses neutrophil granulocytes in the udder and occur due to stress after the birth or early lactation. When mild mastitis general conditions may be very mild and may even completely absent, and mastitis can go after a short period of time. In the rare chronic form after the outbreak of infection in the form of intermittent catarrhal inflammation can be observed only transient increase of the affected districts and pronounced changes in secretion. *Klebsiella*-infection of milk glands latent less flow in the chronic form, and often in an acute or peracute. These latter forms are often associated with severe disabilities and the general rule with lethal outcome. In particular, care should be taken to spread quickly *K. pneumoniae* in Zapata, and that can cause enzooties. Mastitis caused by *Serratia marcescens* are very rare and are usually accompanied by symptoms of poor and often tend to relapse and chronic forms.

Therapy: Therapy should be introduced immediately, if possible immediately appear in the first acute clinical symptoms. In the case of peracute or acute mastitis and general reactions, it is recommended that:

- Removal of bacteria and toxins from the mammary glands thorough and frequent milking affected districts. Application intravenous oxytocin (10-15 IU) may facilitate the discharge of udder mioepitelium retained contractility. Secretion from the character may draw prognostic conclusions. It is recommended to thoroughly milking at intervals of 12 hours after each medication

- Antibacterial therapy: the antibiogramu, are effective against *E. coli* colistin, polymyxin B, gentamicin, trimethoprim, oxytetracycline, neomycin, and sulfonamides. In recent years, in vitro attempts against gramnegativnih agents have proved effective polypeptide antibiotics, polymyxin polymyxin B and E (colistin), which also showed the lowest rate of resistance. Gedek (1984) established the MHK values for *E. coli*; of 8-32 mg polymyxin-B-sulfate. Enterobacteria other than *E. coli* were sensitive to streptomycin. *Acinetobacter*

strains were sensitive to neomycin, and compared with Enterobacteriaceae strains showed greater resistance to streptomycin and oxytetracycline. Intracisternal therapy for acute mastitis typically used up to 3 million IU polimiksina B (up to 250 mg polimiksin B sulfate) three times at intervals of 12 hours. Against the possible causes of the present grampositive can be the first and second day of therapy to introduce 3 million IU of penicillin G. When mastitis is accompanied by fever, in addition to parenterally applied to 4 million IU polimiksin B sulfate, or up to 8 million IU polimiksin E-sulfate, three times at intervals of 12 hours of their Previously applied and parenteral streptomycin application (up to 5 g per cow) or a sulfonamide (0.1 g / kg KM).

Mastitis at coli often has to be treated and long-term sources of infection outside the udder. With polimiksin therapy Deneke et al (1988) scored at 84% of cases of microbiological cure, and in 76% and microbiological and clinical cure. Promises a high degree of healing and intramamarna applications (twice at intervals of 12-24 hours) 2 g neomycin or 5 million IU of colistin (polimiksin E), suspended in 1000 ml 5 % glucose solution. In addition, given intravenously 25 g sulfatmetoxazola. In addition there is a favorable effect on the glucose solution increased phagocyte activity and to better intramamar distribution of antibiotics. While the first step hemoterapeutic treatment must install as soon as possible, subsequent medication must be made only on the basis of the results of bacteriological tests and antibiograms. Additional applications γ -globulin products can support therapy. Following the introduction of hydrogen-yielding products, in doses of 8.0 g to 10 kg BW intravenously during 2-3 days, aplicated at intervals of 24 hours, there may be a cure in 67-89% of cases of acute mastitis different genesis - even those caused by E. coli. Inflammatory udder edema, lack of appetite and fever withdraw the treatment Rhodovetom intracisternalne faster than the application of antibiotics. In the case of chronic mastitis, compared with antibiotic therapy, the results of this preparation were weaker. The advantage of this therapy lies in the fact that the milk is ready for use immediately after the moment of clinical cure. General therapy depends on the item and takes 2-3 days and 3-4 days intracisternalna therapy.

• Symptomatic therapy: general treatment in terms of therapy is recommended to protect the liver, for example. 150 ml methionine pro inj.i.v. or 250 ml 20% glucose solution iv. To ease inflammation, toxic and allergic symptoms have proven preparations suprarenalne crust, for example. Prednisolon 10.0 ml (corresponding to 100 ml Prednisolonacetata), iv Similar effect is achieved by applying the ACTH preparation, 20 kg BW im IJ/100 In addition, the possible application of diuretics, vitamin C, calcium and fosfor drugs and (because of its opsonising effects) beef coli-antisera (100 ml iv). Inhibition of the inflammatory process is possible and Novocaine-blockade with medium or Baschkirowa Magde. These techniques can be achieved by re-establishment of vital functions, reduce pain, better secretion and improved blood supply of tissue. In the case of peracute flow can be applied iv application of the electrolyte solution, in order to prevent dehydration and to facilitate the excretion of toxic metabolites. Multiple treatments are suffering the fourth cold water for 30 minutes improves the chances intracisternal therapy. Adstringent rubbing cream that cooled or packs of acetat mixture prevents the development of acute inflammatory symptoms. Later it can be applied antifleqmon cream. With the appearance of mastitis caused by Klebsiella peracute, it is necessary that before the introduction of therapy, for example. colistin, streptomycin, tetracycline or neomycin. Therapy which lasts for several days must be applied in accordance with the result of antibiograms.

Prophylaxis: Mastitis caused by agents Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, or other close branches of the family Enterobacteriaceae may take up to 5% of all diseases of the udder in Zapata. Sinking suck should be done prior to milking. Therapy in dry stage has no influence on mastitis caused by microorganisms, Escherichia, Klebsiella, or Enterobacter Katic et al (1990), Bobos et al (1989).

As prophylaxis, we recommend the following:

• Avoid creating dust Detritus (eg, sawdust or peat). In case of mastitis may reduce the contamination of sucking Detritus Review. The Detritus is generally a small number of Enterobacteria. By keeping the animals without Detritus, it is necessary to ensure a clean litter. If necessary, apply 2% solution of soda for 10 minutes in duration.

• Avoid over-population of animals because of possible injuries or blows to each other wade and reduce opportunities for exposure to infection enterobacteria cleaning stables, as well as reduce the stay of animals in stable terms of least amount of time. If there is doubt on the possibility of enzootic course of the disease, it is necessary to move the cows after calving to other facilities, which are not contaminated and there is no potential carrier.

• Ensure optimal hygiene at caleing and veterinary care in the postpartal period.

• Maintain hygiene milking, thoroughly cleaning and disinfecting the udder and sucking.

• A sufficient amount of crude fiber in order to prevent metabolic disorders, especially ketosis.

• Careful introduction of the feeding of green food, if it comes to herd in which the coli mastitis persist. Avoid sudden changes of food, maintain hygiene and nutrition to provide a sufficient amount of vitamins, especially A and B.

• Control equipment for milking, as well as the milking process to avoid penetration of bacteria through teat channels

• Lowering the level of new infections using shutter for tits (eg, acrylic-latex film), which is used as teath-deep. In this way, achieving a significant reduction (76 %) in the degree of infection coliform bacteria.

Reference

1. Sterba, P., Schulz, J., und Michel, G. (1990): Experimentelle Euterinfektionen Escherichia coli myth. 4th Mitt.: Diskussion zur Pathogenese akuter Mastitiden. Arch. Exper. Vet. Med. 44, 765-779.
2. Alkaff, ES, Liebermann, H., und Bergmann, A. (1991): Zum Vorkommen und zur Bedeutung von Enterotixinen bei Stämmen von Escherichia coli aus der Rinder Mastitiden. Arch. Exper. Vet.med. 45, 149-154.
3. Vera Katic, Bobos, S., speeding ahead, J.: The importance of preventive measures in combating mastitis. Vet.glasnik, 3-4, 1990.
4. Grieger, K.: Zum klinischen Verlauf und Spezielle Fragen zu der der Diagnostik der Eutermykobakteriose Rindes. Vet. Med. Diss., Berlin, 1982.
5. Bobos S., Katic Vera, speeding ahead J.: The importance of preventive measures in combating mastitis to increase production of quality milk. Plenary paper IV Symposium with international participation for the Suppression of mastitis in order to increase production and quality of milk, 29-36, Bled, 1989.
6. Anderson KL. 1989th Therapy for acute coliform mastitis. Comp Cont Ed Pract Vet. 7. Bidaud, O., Houffschmitt, P., Swinkels, J.: Bovine mastitis pathogens isolated from cubclinical mastitis in France, Buiatrics Jubilee World Congress 2008.
8. Jezdimirović, Milanka: Veterinary pharmacology. Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade, 2005.
9. Dodd, F.H. (1987): The role of therapy in mastitis control. Proc. Int. Mastitis Symposium, Canada, 161-175.
10. Funke, H (1982): Practical experiences in the treatment of clinical mastitis, Fat Symp Contr There, Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark. Proceedings 1-2.

КОЛІФОРМНИЙ МАСТИТ КОРІВ: ЗАХОДИ ЩОДО ПЕРЕВІРКИ ТА ЛІКУВАННЯ

Бобош С., Радінович М., Пажіч М.

Університет Нови Сад, Сербія

У статті представлено матеріали стосовно коліформного маститу корів. Визначено заходи щодо перевірки та лікування даного захворювання.

БІОБЕЗПЕКА ТА ЯКІСТЬ СУХОГО ОЧИЩЕНОГО ТУБЕРКУЛІНУ (ППД) ДЛЯ ССАВЦІВ

Білушко В.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Мікобактеріальні алергени для прижиттєвої діагностики туберкульозу тварин і птиці представляють собою багатокомпонентні препарати, основною діючою речовиною яких є туберкулопротеїд [1].

Найбільш складним етапом при виготовленні туберкуліну є його стандартизація за біологічною активністю. Міжнародні та національні стандарти біологічних препаратів застосовуються в тих випадках, коли неможливо отримати вичерпну інформацію про якість цих речовин за допомогою хімічних і фізичних методів. У такому випадку придатність препаратів перевіряється за допомогою біологічних тест-систем, в яких здійснюється оцінка дослідного препарату в порівнянні зі стандартом встановленої активності [2, 3].

Щодо препаратів, які застосовуються для виявлення хворих на туберкульоз тварин, як основний контроль, за вимогами МЕБ та ЄС передбачається тест на розвиток у тварин реакції гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ) при внутрішньошкірному введенні туберкуліну.

Однією з важливих характеристик для мікобактеріальних алергенів є визначення їх біологічної активності. Активність визначається порівнянням дослідних зразків туберкуліну з міжнародним стандартом або з національним стандартом, відкаліброваним відносно міжнародного стандарту [4].

Перший міжнародний стандарт для АТК був виготовлений у Лондоні й затверджений у 1928 році Організацією охорони здоров'я при Лізі Націй. Біологічна активність цього препарату складала 100 000 IU (*International Unit*) в 1,0 см³ алергену. В подальшому другий і третій міжнародні стандарти для АТК були виготовлені в Копенгагені (Данія) у 1935 і 1965 рр.

Впровадження в практику ППД-туберкуліну потребувало створення міжнародного стандарту цього препарату. За основу було взято серію туберкуліну, що виготовлена F. Seibert в 1940 р. з мікобактерій збудника туберкульозу виду *M. tuberculosis* шляхом осадження білка за допомогою сульфату амонію. Стандарт PPD-S був затверджений в 1951 році. За одиницю активності (туберкулінову одиницю – ТО, у подальшому – міжнародну одиницю (IU)) стандарту прийнято 0,000028 мг активної речовини. Цей стандарт туберкуліну виготовляють в ампулах, які вміщують по 500 000 IU (10,0 мг PPD і 4 мг % буферних солей) [5].

На сьогодні основною вимогою для стандартизації є біологічна реакція, інтенсивність якої залежить від кількості активної субстанції, що застосована. Таке співвідношення може бути вираженим графічно у вигляді кривої або підлягати статистичній обробці [4, 6].

Національний інститут біологічних стандартів і контролю (NIBSC) у Вейбриджі (Великобританія) забезпечує для калібровки національних зразків діагностичних препаратів міжнародними стандартами інші країни, в тому числі й туберкуліном очищеним (ППД) для ссавців. У кожній країні, де отримують міжнародний стандарт, створюють власний національний стандарт туберкуліну [7, 8].

На сьогодні в Україні, в якості стандартного зразку туберкуліну для ссавців використовують спеціально відібрану серію рідкого «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині», яку виготовляють за технологією ННЦ «ІЕКВМ» на Державній Сумській біологічній фабриці. Тому з метою отримання національного стандарту туберкуліну для ссавців з більш стабільними властивостями в ННЦ «ІЕКВМ» розроблено технологію виготовлення сухого (ліофілізованого) туберкуліну для ссавців, який зберігає біологічну активність і специфічність впродовж тривалого часу. Метою даної роботи і було дослідження якості та біологічної безпеки виготовлених серій сухого очищеного туберкуліну (ППД) для ссавців.

Матеріали та методи: На базі відділу вивчення туберкульозу ННЦ «ІЕКВМ» проведено випробування якості 3-х серій (С-1, С-2, С-3) сухого очищеного туберкуліну (ППД) для ссавців (СОТ), виготовленого в умовах відділу. Дослідження проводили за показниками згідно з ТУ У «Туберкулін очищений (ППД) для ссавців у стандартному розчині». Для контролю використовували комерційну серію «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині» (С-95), термін придатності до 24.04.2010 р., виготовлену Сумською біофабрикою, а також комплексний алерген із атипичних мікобактерій (КАМ) (С-6), Курської біофабрики (Росія).

Дослідження якості туберкуліну проводили за наступними показниками: зовнішній вигляд, концентрація водневих іонів (рН), кількість загального білка (мг/см³), стерильність, повнота інактивації, реактогенність, відсутність сенсibiliзуючих властивостей, біологічна активність (МО), специфічність.

Вивчення біологічної активності та специфічності туберкуліну проводили на 42-х клінічно здорових не реагуючих на ППД-туберкулін для ссавців морських свинках живою вагою 350–450 г, що раніше не використовувались у дослідах і попередньо сенсibiliзованих зависсо живої культури БЦЖ (гомологічна система) та сумішню культур атипичних мікобактерій видів *M. scrofulaceum* і *M. intracellulae* (гетерологічна система) у дозі 1,0 мг бактеріальної маси в 1,0 см³ стерильного ізотонічного розчину. Реактогенність і сенсibiliзуючі властивості вивчали на 27-ми несенсибилюваних до туберкуліну морських свинках.

Алергени вводили внутрішньошкірно в депільовані й оброблені 70°-ним етиловим спиртом ділянки шкіри з лівого та правого боку тварин в об'ємі 0,1 см³ у розведеннях 1000 і 100 МО. Облік алергічних реакцій у морських свинок проводили через 24 години після введення алергенів шляхом вимірювання середнього діаметру папули, що створювалась у місці ін'єкції препарату.

Стерильність визначали за ДСТУ 4483-2005.

Маніпуляції з тваринами проводили керуючись принципами біоетики.

Результати досліджень. Зовнішній вигляд виготовлених серій СОТ (С1, С2, С3) представляє суху пористу масу світло-коричневого кольору з сіруватим відтінком.

Концентрація водневих іонів (рН) розчиненого СОТ, визначена потенціометром і становить: С1 – 7,0; С2 – 7,1; С3 – 7,1.

Масова частка білка (мг/см³), визначена за методом Кельдаля, становить: С1 – 0,83; С2 – 0,79 і С3 – 0,84.

Визначення повноти інактивації: при проведенні обліку висіву на живильному середовищі на повноту інактивації препарату встановлена відсутність росту мікобактерій.

Реактогенність кожної серії визначали на 3-х морських свинках, яким з лівого боку вводили дослідну серію, а з правого – контрольну серію туберкуліну. Через 24 год. на місці введення туберкулінів реакцій запалення не було, що свідчить про нереактогенність дослідних серій туберкуліну.

Відсутність сенсibiliзуючих властивостей визначали по кожній серії на 6 морських свинках. Трьом із них вводили СОТ триразово з інтервалом 5 діб, після чого через 15 діб проводили алергічне дослідження 6 тварин (дослідних і контрольних).