

(определение LD₅₀ культуры) из этой же партии животных формируют 4 группы по 10 мышей в каждой.

Необходимо соблюдать принцип случайного распределения животных по группам, случайными должны быть и расположение клеток на полках, и порядок введения разрешающей дозы.

Иммунизация мышей

Готовят по 3 пятикратных разведения испытуемого и референс-препаратов. В качестве растворителя используют 0,9 % раствор натрия хлорида, рН (7,1 ± 0,2). В интервале используемых разведений каждого образца должна содержаться средняя эффективная доза ED₅₀.

В ампулу с референс-препаратом вносят стерильный растворитель из такого расчета, чтобы в 1 мл содержалась 1 МЕ (разведение I). Из разведения I делают 2 последующих пятикратных разведения по схеме (табл. 1).

Таблица 1– Пример разведения референс-препарата

Разведение	Объем вносимого разведения I референс-препарата, мл	Объем вносимого растворителя, мл	Разведения референс-препарата (в 0,5 мл)	Иммунизирующая доза– 0,5мл	
				Количество исходного референс-препарата, мл	Количество МЕ
I	15	0	1:60	0,0167	0,5
II	2,5	10,0	1:300	0,0033	0,1
III	0,5	12,0	1:1500	0,00066	0,02

Образец испытуемой вакцины разводят в 14 раз (разведение I). Из разведения I делают 2 последующих пятикратных разведения по схеме (табл. 2). Если полученное в опыте значение ED₅₀ испытуемой вакцины будет больше значений использованных доз, необходимо изменить разведение I (например, 1:10). Последующие 2 разведения делают по вышеприведенной схеме.

Приготовленные разведения вакцины и референс-препарата хранят при температуре от 2 до 8 °С и используют в течение не более 4 ч.

Таблица 2 – Пример разведения испытуемой вакцины