

Если в испытании используют высокочувствительную к коклюшным антигенам линию мышей, то заражающую дозу тест-штамма 18323 следует уменьшить до содержания 100–1000 LD₅₀ в объеме 0,03 мл.

Заражение иммунизированных животных

Мышам, иммунизированной испытуемой вакциной и референс-препаратом, через 14–17 сут интрацеребрально вводят по 0,03 мл рабочей суспензии живой культуры тест-штамма *B. pertussis* 18323 (пробирка 4) путем прокола лобной кости в точке, расположенной в 2 мм от средней линии и на 2 мм выше глаза. Для заражения используют туберкулиновые шприцы с ценой деления 0,01 мл, используя иглу № 27, имеющую короткий срез и муфту; длина свободного конца иглы от края муфты до среза должна составлять от 3 до 4 мм. Для определения величины LD₅₀ разведения заражающей дозы (пробирки 5, 6, 7, 8) вводят контрольным мышам соответствующих групп интрацеребрально по 0,03 мл.

Мышей, погибших в течение 3 сут после заражения, исключают из опыта (неспецифическая гибель); в каждой клетке оставляют по 16 мышей.

За зараженными животными наблюдают 14 сут с ежедневной регистрацией их гибели. В день учета результатов (14-е сут) в число погибших включают также всех парализованных мышей.

Вычисление величины LD₅₀ (табл. 4) культуры тест-штамма производят по формуле Кербера:

$$\lg LD_{50} = \lg D_N - \delta(\sum Li - 0,5),$$

где: D_N – максимальная из испытуемых доз;

δ – логарифм кратности разведения (отношение большей дозы к следующей за ней меньшей дозе);

Li – отношение числа животных, погибших при введении данной дозы культуры, к общему числу животных, которым эта доза была введена;

∑Li – сумма значений Li, найденных для всех испытанных доз.

Таблица 4 – Пример расчета величины LD₅₀ культуры тест-штамма *B. pertussis* 18323