

2.1 Исследование в клеточных культурах

Если испытуемый материал вызывает в культуре цитопатогенное или гемадсорбирующее действие, используют предварительную нейтрализацию вируса иммунной сывороткой. Для получения иммунной сыворотки используют животных, ткани которых не применяют при приготовлении клеточных культур-продуцентов вакцины. Антиген для иммунизации животных готовят в клеточных культурах, не используемых для проведения контроля. Сыворотка не должна оказывать ингибирующего/токсического действия на ход анализа.

Испытуемый материал (не менее 50 мл вируссодержащей жидкости, если в нормативной документации нет других указаний) смешивают с иммунной сывороткой, взятой в количестве, достаточном для полной нейтрализации содержащегося в пробе вируса. Смесь инкубируют при заданной температуре в течение времени (обычно 1-2 ч), необходимого для нейтрализации вакцинного штамма вируса (если нет других указаний в нормативной документации), затем вносят во флаконы с тремя указанными выше видами клеточных культур. Для каждого вида культуры клеток оставляют один контрольный флакон с незараженной клеточной культурой.

Культуры клеток выдерживают при температуре $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 14 сут со сменой среды на 4 - 6 сут (если это необходимо). По истечении 14 сут опытные и контрольные клеточные культуры просматривают под микроскопом на наличие цитопатических изменений, трижды замораживают и оттаивают, после чего производят пассаж на одноименной культуре, внося в нее не менее 25 мл неосветленной культуральной жидкости. Разведение вносимого материала поддерживающей средой не должно превышать четырехкратного. Если для испытания используют перевиваемую клеточную линию, то по истечении указанного срока инкубации возможно проведение субпассажа клеток.

После проведения пассажа опытные и контрольные культуры клеток инкубируют при температуре $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 14 сут со сменой среды на