

($5,0 \pm 0,5$) % CO₂. Затем в каждую лунку с ИП и соответствующим СО вносят вирусную суспензию, содержащую рассчитанную заранее дозу индикаторного вируса – 100 ТЦД₅₀. В лунки контроля клеток вносят такой же объем поддерживающей среды.

Определение дозы вируса-индикатора

Определение дозы индикаторного вируса начинают с установления его активности.

Для определения активности вируса-индикатора готовят десятикратные разведения вируса в поддерживающей среде (от 10⁻¹ до 10⁻⁸). Из лунок 96-луночного планшета с клеточным монослоем удаляют ростовую среду. После этого в лунки планшета, используемые для определения дозы вируса, поддерживающую среду в объеме, равном объему испытуемого образца. Затем вносят приготовленные разведения индикаторного вируса (не менее, чем по 4 лунки на каждое разведение) в объеме, равном объему внесенной до этого поддерживающей среды. 96-луночный планшет с разведениями вируса инкубируют в течение 24-48 ч при температуре (37±1) °С в атмосфере с (5,0±0,5) % CO₂. За титр (активность) вируса принимают величину, обратную разведению вируса, при котором клеточный монослой в 50 % лунок оказался полностью пораженным цитопатическим действием. Титр вируса выражают в тканевых цитопатических дозах – ТЦД₅₀/мл.

Активность вируса вычисляют методом Спирмена-Кербера по формуле:

$$\lg ED_{50} = D_{\max} + \frac{d}{n} \cdot \left(p - \frac{n}{2} \right),$$

где: Lg ED₅₀ – десятичный логарифм титра вируса;

D_{max} – десятичный логарифм разведения, ниже которого произошла 100 % гибель клеток (+);

d – десятичный логарифм интервала между разведениями (=1,0);

n – число лунок, приходящееся на каждое разведение вируса (=4);