

Следует избегать разведений испытуемых образцов, при которых наблюдается гибель или выживаемость 100 % иммунизированных животных.

Через 28 сут животным вводят по 50 LD<sub>50</sub> столбнячного токсина. Наблюдение проводят в течение 4 сут, регистрируя число выживших животных, и рассчитывают величины ED<sub>50</sub> (статистически определяемая доза вакцины или референс-препарата, защищающая от гибели 50 % иммунизированных животных в течение 4 сут) для вакцины (в мл) и референс-препарата (в МЕ). На основании полученных результатов определяют количество МЕ в 1 мл вакцины.

#### **Материалы и животные:**

– референс-препарат (стандартный образец активности адсорбированного столбнячного анатоксина, калиброванный в МЕ по соответствующему международному стандартному образцу);

– испытуемый образец;

– столбнячный токсин с предварительно установленной дозой LD<sub>50</sub> (статистически определяемая доза токсина, вызывающая гибель 50 % животных в течение 4 сут);

– белые мыши с массой тела 16–18 г.

#### **Примечания**

1. Приготовление разведений референс-препарата. Референс-препарат разводят стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида, рН (7,0±0,2), и готовят не менее 3 последовательных разведений с двойным шагом (например: 0,5, 1,0 и 2 МЕ/0,5 мл).

2. Приготовление разведений испытуемого образца вакцины. Разведения испытуемого образца готовят, соблюдая те же условия, что и при приготовлении разведений референс-препарата.

#### Иммунизация животных

Разведения референс-препарата и испытуемого образца анатоксина вводят по 0,5 мл мышам в соответствующих группах однократно под кожу в область внутренней поверхности верхней трети бедра.

#### Введение столбнячного токсина