

белых мышей, разводят до концентрации 10^3 м.к./мл. По 0,1 мл взвеси с концентрацией 10^3 м.к./мл (100 м.к.) высевают на 3 чашки Петри с одной из вышеперечисленных питательных сред и инкубируют при температуре (27 ± 1) °С в течение 48 ч. Количество выросших колоний на чашках учитывают при вычислении ED₅₀ испытуемой серии.

Подкожное заражение морских свинок проводят во внутреннюю поверхность правого бедра на 21 сут, мышей – в ту же область на 7 или 21 сут после иммунизации. Заражающая доза для иммунизированных вакциной животных составляет 200 Dcl (Dosis certa letalis = LD₁₀₀) вирулентного штамма чумного микроба, 1 Dcl которого не должна превышать 100 микробных клеток.

Подготовка заражающего штамма *Y. pestis* 231 должна быть указана в нормативной документации.

Для заражения неиммунизированных (контрольных) животных используют взвесь с концентрацией 50 м.к./мл в объеме 0,5 мл для морских свинок и 125 м.к./мл в объеме 0,2 мл для белых мышей, что соответствует 1 Dcl.

Для определения фактического содержания микробных клеток заражающего штамма по 0,1 мл взвеси культуры *Y. pestis* 231, содержащей 10^3 м.к./мл, высевают на 3 чашки Петри с агаром Хоттингера и равномерно распределяют по всей поверхности среды методом «обкатки» чашек. Посевы инкубируют при температуре (27 ± 1) °С в течение 48 ч, после чего подсчитывают количество выросших колоний.

Наблюдение за зараженными животными ведут в течение 20 сут. Все контрольные животные должны погибнуть от чумы в течение 10 сут. Погибших животных вскрывают, берут органы и ткани (у морских свинок берут пробы из места введения, регионарных паховых лимфатических узлов, печени, селезенки, легких, верхушки сердца; у белых мышей – из селезенки), высевают их методом отпечатков на чашки Петри с агаром Хоттингера с добавлением генцианвиолета и с агаром Хоттингера - с натрием сернисто-кислым.