

Определение ЦПД на культуре клеток *VERO B* в двух пассажах. В 4 матраса емкостью 250 мл вносят по 25 мл культуры клеток *VERO B* (посевная концентрация 100 000 клеток в 1 мл ростовой среды Игла с добавлением 8 % эмбриональной телячьей сыворотки), инкубируют до образования монослоя при температуре 37 °С в течение 24 - 48 ч. Затем сливают ростовую среду и дважды промывают раствором Хэнкса (40 -50 мл на промывку одного матраса). Раствор сливают.

Проведение первого пассажа. В два матраса вносят испытуемый образец по 10 % от объема среды, в оставшиеся два матраса - ростовую среду Игла с добавлением 8 % эмбриональной телячьей сыворотки. Матрасы инкубируют при температуре 37 °С в течение 5 сут, с ежедневным микроскопированием с целью выявления возможного ЦПД. Затем матрасы с содержимым подвергают однократному замораживанию при температуре -20 °С оттаиванию при комнатной температуре, затем выдерживают при температуре 6- 8 °С в течение 20 - 24 ч. Образовавшиеся надосадочные жидкости из матрасов сливают и объединяют в трех отдельных емкостях, по одной на каждый штамм ВПГ -1, ВПГ -2 и контроль.

Проведение второго пассажа. Из каждой емкости с объединенным материалом первого пассажа отбирают пробу по 10 % от объема ростовой среды и проводят второй пассаж при тех же условиях.

Учет результатов проводят путем микроскопии монослоя клеток (окуляр ×10, объектив ×20). В контрольных пробах клетки *VERO B* должны образовывать монослой, иметь прозрачную цитоплазму, дифференцированные ядра и четко выраженные признаки контактной ингибиции. Клеточный монослой в матрасах с испытуемыми пробами 1 и 2 пассажей не должен отличаться от монослоя в контроле.

Определение ЦПД проводят на белых мышах массой 8-10 г.

Первый пассаж. После замораживания, оттаивания и осаждения монослоя клеток, отделяют надосадочную культуральную жидкость и по 0,03 мл вводят интрацеребрально 10-ти животным опытной группы.