

Определение проводят на 6-7 суточных РКЭ со скорлупой белого цвета. Для испытания используют 2 ампулы с вакциной, восстановленной в 5 мл фосфатного забуференного физиологического раствора рН (7,0±0,2). Полученная суспензия содержит живой компонент вакцины в разведении 10^{-1} (учитывается доза розлива вакцины 0,5 мл и её исходное разведение по возбудителю в среде высушивания 1:2). Далее готовят ряд последовательных десятикратных разведений вакцины от 10^{-2} до 10^{-11} . Разведения вакцины 10^{-7} - 10^{-11} , являющиеся рабочими для данного испытания, вводят в полость желточного мешка РКЭ в объеме 0,5 мл. На каждое разведение вакцины используют по 10 куриных эмбрионов, которые после введения вакцины инкубируют при температуре 35-37 °С и относительной влажности воздуха 40-60 % в течение 13 сут. Эмбрионы, погибшие с 5 по 13 сут, вскрывают в день гибели, оставшиеся живыми – на 13 сут. С помощью стерильных анатомических пинцетов из каждого эмбриона извлекают кусочек оболочки желточного мешка, который после промывания в фосфатном забуференном физиологическом растворе (рН 7,0±0,2) тщательно растирают на хорошо обезжиренном предметном стекле. Мазки высушивают на воздухе, фиксируют смесью Никифорова, состоящей из равных объемов спирта этилового и эфира диэтилового и окрашивают по методу Романовского-Гимзы.

Примечания

Окраска по методу Романовского-Гимзы.

Приготовление фосфатно-буферного раствора (ФБС): ФБС готовят в соответствии с инструкцией по применению красителя Азур – Эозин по Романовскому (в растворе). Для приготовления ФБС допускается использование готовых наборов «Фосфатный буфер» с рН 6,8 – 7,2. Полученный раствор используют для разведения красителя и промывки стекол. Фосфатный буферный раствор хранят в плотно закрытом флаконе при температуре 2 – 8 °С в течение 3 мес, при комнатной температуре - не более 1 мес.

Приготовление рабочего раствора красителя. Смешивают краситель Азур - Эозин с буферным раствором в соотношении 1:5 - 1:10 и фильтруют через двойной бумажный фильтр. Степень разбавления красителя устанавливают опытным путем. Рабочий раствор красителя готовят непосредственно перед окраской мазков, хранят при комнатной температуре в течение 6 - 8 ч.

Краситель Азур-Эозин по Романовскому (сухой). При отсутствии готового красителя Азур – Эозин по Романовскому в растворе, допускается приготовление раствора красителя из Азур - Эозин по Романовскому сухого (далее -