

3. МИДэ (минимальная инфицирующая доза риккетсий для развивающихся куриных эмбрионов) должна соответствовать разведению вакцины  $10^{-6}$  -  $10^{-8}$ , что определяет содержание в одной прививочной дозе вакцины от 1000 до 100000 МИДэ. Определение проводят биологическим и бактериоскопическим методом.

Определение МИДэ проводят на 6 - 7 суточных интактных РКЭ, которым в полость желточного мешка вводят вакцину в разведениях от  $10^{-3}$  до  $10^{-8}$  в объеме 0,5 мл. Для испытания используют 2 образца (ампулы) вакцины. Содержимое каждой ампулы растворяют в 5 мл стерильной 20 % молочно-буферной изотонической смеси (МБС) и объединяют. Полученная суспензия содержит живой компонент вакцины в разведении  $10^{-3}$ . Далее готовят ряд последовательных десятикратных разведений от  $10^{-4}$  до  $10^{-8}$ . Каждым разведением вакцины заражают по 10 РКЭ, которые после введения вакцины инкубируют при температуре 34 - 36 °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 стерильного анатомического пинцета из каждого эмбриона извлекают кусочек желточной оболочки, который после промывания в стерильном 0,9 % растворе натрия хлорида рН 6,8-7,2 тщательно растирают на обезжиренном предметном стекле. Мазки высушивают на воздухе, фиксируют смесью Никифорова, состоящей из равных объемов спирта этилового и эфира диэтилового, затем окрашивают по методу Романовского – Гимза.

#### Примечания

Окраска по методу Романовского – Гимза.

1.Краситель Азур-Эозин по Романовскому (в растворе)

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

Приготовление раствора красителя. Непосредственно перед окраской мазков готовят раствор красителя: смешивают краситель Азур - Эозин с фосфатно-буферным раствором в соотношении 1:5 – 1:20 и фильтруют через двой-