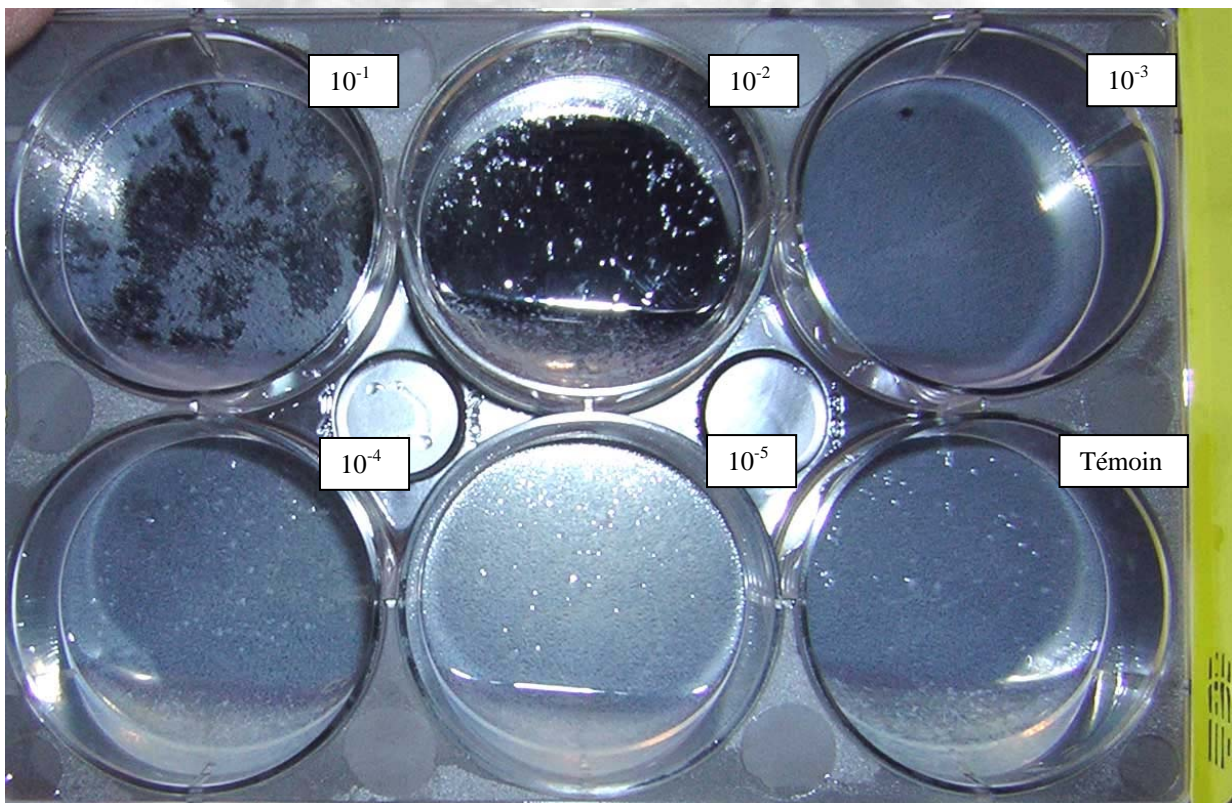


### Titration du virus de la rougeole dans un vaccin

- En plaque 6 puits, réaliser des dilutions de 10 en 10 de la suspension virale fournie (vaccin ROR) dans 500 µl/puits.
- Ajouter dans chaque puits  $5 \cdot 10^5$  cellules Véro dans 100 µl et incuber 2 heures à 37°C.
- Ajouter 1 ml de DMEM+SVF sans que la concentration finale en SVF dans les puits dépasse 2 %.
- Incuber à 37°C sans déplacer les plaques.
- Observer au microscope inversé la présence de plages de lyse ou d'effets cytopathogènes dans les jours qui suivent.
- S'il y a des plages, ôter le milieu de culture et le remplacer par 1 ml de formol à 10% dans l'eau et laisser fixer 1 heure. (Ou fixer 5 minutes par la paraformaldéhyde 4% en PBS pH 7.0), vider le fixateur et ajouter 0,5 à 1 ml de bleu de méthylène pendant 30 minutes (Bleu de méthylène saturé dans l'éthanol 10 ml, eau qsp 100 ml). Rincer à l'eau du robinet, les plages de lyse se comptent à l'œil nu

### Résultats – Titration du virus de la rougeole (vaccin ROR) sur cellules Véro :

Lecture à J+5-6, après fixation au méthanol (aucun effet visible à 72H).



100 µL de dilutions du vaccin ont été déposés dans chaque puits. On compte entre 0 et 3 plages à la dilution  $10^{-3}$ .



Une plage de lyse, observée au microscope inversé x 100