МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МАЛЛЕИН

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

Издание официальное

БЗ 9—98

ИПК ИЗДАТЕЛЬСТВО СТАНДАРТОВ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 616—074:619:006.354 Группа Р31

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МАЛЛЕИН

Технические условия

Mallein. Specifications

ГОСТ 14109—82*

Взамен ГОСТ 14109—76

ОКП 93 8751

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 06.04.82 № 1436 дата введения установлена

01.07.83

Ограничение срока действия снято по протоколу № 2—92 Межгосударственного Совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 2—93)

Настоящий стандарт распространяется на маллеин, представляющий собой стерильный культуральный фильтрат, полученный в результате выращивания возбудителя сапа на мясопептонном глицериновом бульоне.

Маллеин предназначается для диагностики сапа у животных.

Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 4317—83.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Маллеин должен изготовляться в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическим правилам, утвержденным в установленном порядке.

1.2. Маллеин по физико-химическим и биологическим свойствам должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в табл. 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма
Внешний вид	Прозрачная слегка маслянистая жидкость светло-желтого цвета без примесей
Концентрация водородных ионов (pH)	6,8—7,0
Стерильность	Посевы на питательные среды должны оставаться стерильными
Безвредность	Не должен вызывать изменений в месте инъекции и гибели мышей после подкожного введения препарата
Реактогенность	У здоровых лошадей при нанесении на конъюнктиву не должен вызывать ее воспаления
Активность в сравнении с референс-препаратом, %	(100±20)

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

★

* *Переиздание (март 1999 г.) с Изменением № 1, утвержденным в октябре 1985 г. (ИУС 1—86)*

© Издательство стандартов, 1982
© ИПК Издательство стандартов, 1999

1.3. В качестве референс-препарата используют РРД-маллеин в лиофилизированном виде, изготовленный и апробированный Всесоюзным государственным научно-контрольным институтом ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР.

1.4. Активность референс-препарата устанавливают на лошадях, больных сапом, или на искусственно сенсибилизированных животных.

1.5. Срок годности референс-препарата не менее 5 лет.

1.2—1.5. **(Введены дополнительно, Изм. № 1).**

2. ПРАВИЛА ПРИЕМКИ

2.1. Маллеин принимают сериями. Под серией следует понимать определенное количество препарата, полученное в результате одноразового смешивания в одной емкости исходных материалов и специальной обработки их в одних производственных условиях. Серия должна быть оформлена одним документом о качестве, иметь свой номер и номер государственного контроля.

2.2. Каждая серия маллеина должна быть принята на предприятии-изготовителе государственным контролером Всесоюзного государственного научно-контрольного института ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР.

2.3. Внешний вид маллеина определяют по каждой ампуле (флакону) всей серии маллеина.

2.4. Для контроля качества маллеина от каждой серии методом случайного отбора отбирают 40 ампул (флаконов)

2.5. При получении неудовлетворительных результатов испытаний хотя бы по одному из показателей по нему проводят повторные испытания удвоенного количества ампул (флаконов) с препаратом.

Результаты повторных испытаний распространяют на всю серию.

2.6. Контроль качества препарата по требованию потребителя проводит государственный контролер или Всесоюзный государственный научно-контрольный институт ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР.

3. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

3.1. Отбор проб

3.1.1. Из ампул (флаконов), отобранных по п. 2.4, 20 используют для испытаний, 20 оставляют в архиве государственного контролера в течение 5,5 лет.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.2. Для определения внешнего вида маллеина ампулы (флаконы) с препаратом просматривают визуально.

3.3. Концентрацию водородных ионов (pH) определяют потенциометром ЭВ-74 или другим прибором того же класса точности по правилам, приложенным к потенциометру.

3.4. Определение стерильности

3.4.1. *Аппаратура, материалы и реактивы*

Термостат с температурой нагрева 37—38 °С.

Автоклав.

Пипетки пастеровские.

Пробирки стеклянные по ГОСТ 25336—82.

Воронки стеклянные по ГОСТ 25336—82.

Пробки ватно-марлевые.

Фильтры бумажные.

Пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805—76.

Агар пищевой по ГОСТ 16280—88.

Глицерин по ГОСТ 6259—75.

Вазелиновое масло по ГОСТ 3164—78.

Глюкоза кристаллическая гидратная по ГОСТ 975—88.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.4.2. *Подготовка к испытанию*

Готовят в соответствии с действующей рецептурой мясопептонный агар (МПА), МПА с 2—4 % глицерина, мясопептонный бульон (МПБ) по ГОСТ 20730—75, мясопептонный печеночный бульон (МППБ) под вазелиновым маслом (среда Китт-Тароцци) и среду Сабуро. Среды разливают по 8—10 $см^3$ (МПА и среду Сабуро по 5—6 $см^3$) в пробирки, закрывают ватно-марлевыми пробками и стерилизуют в автоклаве при давлении 0,15 МПа в течение 30 мин. Плотные питательные среды перед применением скашивают.

3.4.3. *Проведение испытания*

Проводят посев по 0,3—0,5 $см^3$ из трех ампул (флаконов) маллеина на МПБ, МПА, МПА с 2—4 % глицерина, а также на среду Китт-Тароцци и среду Сабуро — по 3 пробирки каждой среды на ампулу (флакон) маллеина.

3.4.4. *Обработка результатов*

Посевы должны оставаться стерильными при выдерживании их в термостате в течение 10 сут при температуре 37—38 °С, а на среде Сабуро — при 20—22 °С.

3.5. Определение безвредности

3.5.1. *Аппаратура, материалы и реактивы*

Шприцы стеклянные вместимостью 1—2 $см^3$.

Иглы инъекционные № 0612—0625.

Спирт этиловый 70 %-ный.

Тампоны ватные.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.5.2. *Проведение испытания*

Пяти здоровым белым мышам массой 18—20 г каждая вводят подкожно по 0,5 $см^3$ маллеина. При тех же условиях содержат пять контрольных мышей.

3.5.3. *Обработка результатов*

Мыши должны оставаться клинически здоровыми в течение 10 сут и в месте инъекции у опытных животных не должно быть никаких изменений.

3.6. Определение реактогенности

3.6.1. Для проведения испытания применяют пипетки глазные.

3.6.2. *Проведение испытания*

Пяти здоровым лошадям, не бывшим в эксплуатации в течение суток, наносят пипеткой на конъюнктиву глаза 3—4 капли испытуемого маллеина.

3.6.3. *Обработка результатов*

Реакцию учитывают каждые 3 ч после нанесения маллеина в течение 12 ч и через 24 ч.

Серию считают нереактогенной, если она не вызывает воспаления конъюнктивы. Допускается кратковременное слезотечение с незначительным выделением слизистого секрета.

3.7. Определение активности

Активность маллеина устанавливают в процентах к активности референс-препарата в аллергической пробе на морских свинках, сенсибилизированных сапной культурой в смеси с минеральным маслом и ланолином (сапной эмульсин-антиген).

3.7.1. *Аппаратура, материалы и реактивы*

Термостат с температурой нагрева 37—38 °С.

Автоклав.

Баня водяная с терморегулятором.

Весы аналитические.

Центрифуга на 6000—8000 об/мин.

Гомогенизатор на 5000 об/мин.

Потенциометр ЭВ-74 или прибор того же класса точности.

Холодильник бытовой.

Пипетки пастеровские.

Пробирки стеклянные по ГОСТ 25336 82.

Воронки стеклянные по ГОСТ 25336—82.

Флаконы для медицинских препаратов вместимостью 10—20 $см^3$.

Матрацы стеклянные посевные.

Шприцы стеклянные вместимостью 1 $см^3$.

Иглы инъекционные № 0415.

Иглы инъекционные №№ 0612—0625.

Пробки ватно-марлевые.

Тампоны ватные.

Марля бытовая хлопчатобумажная по ГОСТ 11109—90.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026—76.

Кутиметр или линейка.

Пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805—76.

Агар пищевой по ГОСТ 16280—88.

Глицерин по ГОСТ 6259—75.

Масло вазелиновое по ГОСТ 3164—78.

Масло легкое минеральное для вакцин.

Ланолин безводный

Натрий хлористый х.ч. по ГОСТ 4233—77.

Фенол по НТД.

Глюкоза кристаллическая гидратная по ГОСТ 975—88.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.

3.6.2—3.7.1. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

3.7.2. *Подготовка к испытанию*

3.7.2.1. *Получение бактериальной массы возбудителя сапа для изготовления эмульсин-антигена*

Для получения бактериальной массы культуру возбудителя сапа выращивают на МПА с 2—4 % глицерина в плоских матрацах. pH среды 6,8—7,0. Посев проводят суспензией двухсуточной культуры возбудителя сапа, выращенной в пробирках на МПА с 2—4 % глицерина и смытой стерильным физиологическим раствором в количестве 10—12 $см^3$. Суспензией культуры из каждой пробирки засевают по одному матрацу, для чего над пламенем горелки переливают содержимое пробирки в матрац, затем покачиванием его распределяют суспензию по всей поверхности питательной среды.

Выращивание культуры проводят при 37 °С в течение 4 сут, затем все матрацы просматривают визуально в проходящем и отраженном свете. Матрацы со слабым ростом культуры или загрязненные посторонней микрофлорой на используют.

В матрацы с чистой культурой вносят над пламенем горелки по 50—60 $см^3$ стерильного физиологического раствора, содержащего 0,5 % фенола, и выдерживают 30 мин в наклонном положении, обеспечивающем смачивание всей поверхности посева. Затем покачиванием матраца смывают культуру с поверхности агара и сливают в отдельный чистый матрац через воронку с одним слоем марли. Полученную взвесь культуры стерилизуют автоклавированием при давлении 0,2 МПа в течение 30 мин.

Суспензию культуры возбудителя сапа проверяют на стерильность посевом по 0,3—0,5 $см^3$ на МПА, МПА с 2—4 % глицерина, МПБ, среду Китт-Тароцци и среду Сабуро — по 3 пробирки каждой среды, и выдерживают в течение 10 сут при 37 °С, а посевы на среду Сабуро — при 20—22 °С.

Стерильная суспензия культуры должна храниться при 6—8 °С и может быть использована для изготовления сапного эмульсин-антигена в течение года.

При получении бактериальной массы возбудителя сапа должны соблюдаться правила техники безопасности, утвержденные в установленном порядке.

3.7.2.2. *Изготовление сапного эмульсин-антигена*

Легкое минеральное масло для вакцин и ланолин безводный стерилизуют автоклавированием при давлении 0,2 МПа в течение 2 ч.

Для изготовления антигена смешивают в стакане гомогенизатора 85 $см^3$ минерального масла с 15 $см^3$ ланолина, разогретого до жидкого состояния. Затем добавляют 50 $см^3$ взвеси бактериальной массы возбудителя сапа, содержащей 37,5 г культуры.

Взвесь сапной культуры готовят следующим образом: в стерильную центрифужную пробирку, предварительно взвешенную на аналитических весах, вносят бактериальную массу, полученную в соответствии с п. 3.7.2.1, и центрифугируют при 6000—8000 об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость сливают и пробирку вновь взвешивают. Осадок разводят стерильным физиологическим раствором с таким расчетом, чтобы в 1 $см^3$ взвеси содержалось 0,75 г культуры.

Смесь масла, ланолина и взвеси сапной культуры гомогенизируют при 5000 об/мин в течение 5 мин и переливают в стерильные флаконы для медицинских препаратов.

Всю работу по изготовлению эмульсин-антигена проводят с соблюдением условий стерильности.

Готовый антиген проверяют на стерильность посевом по 0,3—0,5 $см^3$ на МПА, МПА с 2—4 % глицерина, МПБ, среду Китт—Тароцци и среду Сабуро — по 3 пробирки каждой среды. Посевы инкубируют в течение 10 сут при 37 °С, а на среде Сабуро — при 20—22 °С.

Антиген может сохраняться при 6—8 °С в течение года. Перед применением антиген нагревают в водяной бане при 37 °С и тщательно взбалтывают.

3.7.2.3. *Сенсибилизация морских свинок*

Морских свинок-альбиносов или с белым окрасом на боках массой не менее 400 г каждая сенсибилизируют введением 0,1 $см^3$ антигена в заднебедренные мышцы. Через месяц животные могут быть использованы для контроля маллеина.

Морских свинок используют 5—6 раз с месячным интервалом при условии сохранения у них при предыдущем испытании хорошо выраженной чувствительности к маллеину в разведении 1:50. Животных, не имеющих или утративших чувствительность к этой дозе препарата, уничтожают.

3.7.3. *Проведение испытания*

Испытуемую серию маллеина берут в разведении 1:5 и 1:50 стерильным физиологическим раствором.

Готовят основной раствор референс-препарата в соответствии с указанием, имеющимся на этикетке ампулы (флакона), затем разводят его стерильным физиологическим раствором 1:5 и 1:50.

У морских свинок удаляют с боков шерсть выщипыванием или выбриванием, затем в депилированные участки кожи вводят внутрикожно по 0,1 $см^3$ референс-препарата в разведении 1:5 (доза 1) и в разведении 1:50 (доза 2), а также испытуемую серию маллеина в разведении 1:5 (доза 3) и в разведении 1:50 (доза 4) в условные точки инъекций а, б, в, г по скользящей схеме в соответствии с требованиями табл. 2.

Таблица 2

Схема введения маллеина морским свинкам

Метка	Дозы маллеина, вводимые в условные точки инъекций			
	слева, от головы		справа, от головы	
	а	б	в	г
Без метки	1	2	3	4
Голова	2	3	4	1
Спина	3	4	1	2
Крестец	4	1	2	3
Без метки	1	2	3	4
Голова	2	3	4	1
Спина	3	4	1	2

Для проверки каждой серии маллеина берут 10—12 морских свинок. Для введения маллеина и референс-препарата используют шприцы вместимостью 1 $см^3$ и иглы № 0415, используемые только для этой цели.

Каждую дозу испытуемой серии маллеина и референс-препарата вводят отдельным шприцем, маркированным в соответствии с дозой препарата (1, 2, 3, 4). Расстояние между точками инъекций с одной стороны тела животного должно быть не менее 5 см. Морских свинок метят несмываемой краской. Свинок с одинаковым местом введения доз маллеина метят одной меткой.

3.7.4. *Обработка результатов*

Через 24 ч после введения маллеина реакцию оценивают в миллиметрах по среднему диаметру папулы, образующейся в месте инъекции препарата. Для этого измеряют продольный и поперечный диаметры папулы, полученные данные суммируют и делят на 2. Результаты измерений заносят в графу табл. 3, указывающую соответствующую дозу маллеина.

Таблица 3

Результаты учета реакции

Интенсивность реакции на введение доз препарата, мм			
референс-препарата		испытуемой серии маллеина	
1	2	3	4
19,5	14,5	19,0	11,5
18,5	12,5	21,5	13,0
17,5	5,5	11,5	8,5
18,5	15,5	20,5	16,0
18,5	11,0	27,5	8,0
Итого: 92,5	59,0	90,0	57,0
$A = 151,5$		$B = 147,0$	

При обработке полученных данных для определения активности маллеина учитывают результаты испытания только у тех свинок, которые реагируют на все дозы референс-препарата и испытуемой серии маллеина. При этом средний диаметр папулы должен быть не менее 5 мм. Средний диаметр папулы менее 5 мм считается как отсутствие реакции.

Заключение об активности маллеина делают не менее чем по 7 свинкам.

Активность маллеина (K) в процентах вычисляют по формуле

$$K = \frac{B \cdot 100}{A},$$

где A — сумма средних диаметров папул на введение референс-препарата в дозах 1 и 2;

B — сумма средних диаметров папул на введение испытуемой серии маллеина в дозах 3 и 4;

100 — активность референс-препарата, %.

В данном примере активность испытуемой серии равна

$$\frac{147,0 \times 100}{151,5} = 97,0 .$$

3.7.2.3—3.7.4. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

4. УПАКОВКА, МАРКИРОВКА, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Маллеин фасуют в хорошо промытые ампулы вместимостью 5 см^3 — по 5 см^3 препарата или во флаконы вместимостью 10 см^3 — по 10 см^3, изготовленные из нейтрального стекла. Ампулы запаивают, а флаконы закрывают резиновыми пробками, которые закатывают металлическими колпачками. Затем ампулы и флаконы стерилизуют в соответствии с правилами по приготовлению препарата.

4.2. На ампулы (флаконы) наклеивают или несмываемой краской по стеклу наносят с помощью клише этикетку с указанием наименования препарата и номера серии.

4.3. По 20 ампул (флаконов) должно быть упаковано в картонные коробки с разделительными перегородками, обеспечивающими неподвижность и целостность ампул (флаконов) в коробке.

В каждую коробку должно быть вложено наставление по применению препарата.

На коробке должна быть этикетка, на которой указывают:

- наименование и товарный знак предприятия-изготовителя;
- наименование препарата;
- количество ампул (флаконов);
- количество маллеина в ампуле (флаконе);
- номер серии;
- номер госконтроля;
- дату изготовления;
- гарантийный срок хранения;
- обозначение настоящего стандарта.

4.4. Коробки с маллеином упаковывают в дощатые ящики по ГОСТ 10131—93 массой брутто не более 15 кг.

Внутрь каждого ящика вкладывают контрольный лист с указанием:

- наименования предприятия-изготовителя и его товарного знака;
- наименования препарата;
- количества коробок в ящике;
- номера серии;
- даты упаковки;
- фамилии или номера упаковщика.

4.5. На каждое грузовое место наносят транспортную маркировку по ГОСТ 14192—96 с указанием манипуляционных знаков: «Хрупкое. Осторожно», «Беречь от нагрева», «Ограничение температур» и предупредительную надпись «Биопрепараты». Маркировка, характеризующая данные об упакованной продукции, должна содержать следующие обозначения:

- наименование препарата;
- количество препарата в ящике;
- срок годности;
- условия хранения;
- обозначение настоящего стандарта.

Нанесение транспортной маркировки и маркировки, характеризующей данные об упакованной продукции, на одной стороне транспортной тары не допускается.

4.6. Транспортируют препарат транспортом всех видов в соответствии с правилами перевозок скоропортящихся грузов и багажа, действующих на транспорте данного вида.

4.7. Маллеин хранят в сухом темном месте при температуре 4—15 °С.

4.3—4.7. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

5. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

5.1. Изготовитель гарантирует соответствие маллеина требованиям настоящего стандарта при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

5.2. Гарантийный срок хранения маллеина — 5 лет со дня изготовления.

Редактор *В.Н.Копысов*
Технический редактор *В.Н.Прусакова*
Корректор *Н.Л.Шнайдер*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Изд. лиц. № 021007 от 10.08.95. Сдано в набор 23.02.99. Подписано в печать 17.03.99. Усл.печ.л. 0,93. Уч.-изд.л. 0,90.
Тираж 119 экз. С 2280. Зак. 235.

ИПК Издательство стандартов, 107076, Москва, Колодезный пер., 14
Набрано в Издательстве на ПЭВМ
Филиал ИПК Издательство стандартов — тип. "Московский печатник", Москва, Лялин пер., 6
Плр № 080102

gost.e-ecolog.ru