Вписано прил. № 1 ИУС 3-87

16446-78
Изм. 1,2

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

КОМПЛЕМЕНТ СУХОЙ ДЛЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

ГОСТ 16446—78

Издание официальное

Цена 3 коп.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СТАНДАРТОВ
СОВЕТА МИНИСТРОВ СССР
Москва

gost.e-ecolog.ru

РАЗРАБОТАН Всесоюзным государственным научно-контрольным институтом ветеринарных препаратов

Директор **Д. Ф. Осидзе**
Руководитель темы **А. Н. Шаров**
Исполнители: **А. Н. Шаров, А. М. Силаев, М. К. Шевченко, Л. Я. Телишевская, А. А. Гринев, М. Х. Демченко**

ВНЕСЕН Министерством сельского хозяйства СССР

Член Коллегии **А. Д. Третьяков**

ПОДГОТОВЛЕН К УТВЕРЖДЕНИЮ Всесоюзным научно-исследовательским институтом стандартизации (ВНИИС)

Директор **А. В. Гличев**

УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 9 марта 1978 г. № 635

УДК 612.398.12 : 619 : 006.354 Группа Р31

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

КОМПЛЕМЕНТ СУХОЙ ДЛЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

Технические условия

Lyophilizated compliment for the compliment fixation test. Specification

ГОСТ 16446—78

Взамен ГОСТ 16446—70

Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 9 марта 1978 г. № 635 срок действия установлен

с 01.01.1979 г.
до 01.01.1984 г.

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на сухой комплемент, представляющий собой сыворотку крови морских свинок, стабилизированную сернокислым магнием и высушенную методом лиофилизации.

Сухой комплемент предназначен для применения в качестве компонента реакции связывания комплемента (РСК) в ветеринарии.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Сухой комплемент для реакции связывания комплемента готовят в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическим правилам, утвержденным в установленном порядке.

1.2. По физико-химическим и биологическим свойствам сухой комплемент для РСК должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в табл. 1.

Издание официальное Перепечатка воспрещена

©Издательство стандартов, 1978

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма
Внешний вид	Пористая однородная масса белого или розового цвета, без плесени и посторонней примеси
Растворимость препарата и прозрачность раствора	При добавлении в ампулу (флакон) физиологического раствора или дистиллированной воды в объеме, указанном на ампуле (флаконе), должен полностью раствориться в течение 2—3 мин. Раствор прозрачный, слегка опалесцирующий, желтовато-розового цвета
Массовая доля сернокислого магния, %	5,0±0,5
Влажность, %, не более	3,0
Безвредность	Не должен вызывать гемолиза эритроцитов барана в отсутствии гемолизина
Активность (титр) в гемолитической системе в разведении 1 : 20, не ниже	0,31

2. ПРАВИЛА ПРИЕМКИ

2.1. Сухой комплемент для РСК принимают сериями. Под серией следует понимать определенное количество препарата, изготовленное в результате одноразового (одновременного) смешивания в одной емкости исходного сырья, разлитое в течение одного рабочего дня по ампулам (флаконам), замороженное и высушенное в одном или нескольких сушильных вакуум-аппаратах при одном и том же режиме, получившее свой номер и оформленное одним документом о качестве.

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

2.3. Для контроля качества сухого комплемента от каждой серии отбирают 40 ампул (флаконов).

2.4. При получении неудовлетворительных результатов хотя бы по одному из показателей по нему проводят повторные испытания на удвоенном количестве ампул (флаконов), отобранных от той же серии сухого комплемента.

Результаты повторных испытаний распространяют на всю серию.

2.5. Контроль качества определенной серии сухого комплемента по требованию потребителя проводит государственный контролер на предприятии-изготовителе или Всесоюзный государственный научно-контрольный институт ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР.

3. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

3.1. Метод отбора проб

3.1.1. Ампулы (флаконы) отбирают из разных мест упаковки. 20 ампул (флаконов) используют для испытаний, а 20 ампул (флаконов) хранят в архиве государственного контролера.

3.2. Для определения внешнего вида, цвета, однородности, наличия или отсутствия постороннего примеси, плесени или изменения консистенции ампулы (флаконы) с сухим комплементом встряхивают и просматривают.

3.3. Для определения растворимости препарата и прозрачности раствора в ампулу (флакон) с сухим комплементом при помощи пипетки или шприца вливают физиологический раствор или дистиллированную воду в количестве, указанном на ампуле (флаконе). После встряхивания препарат должен полностью раствориться в течение 2—3 мин. Прозрачность раствора определяют визуально в проходящем свете при периодическом встряхивании.

3.4. Определение массовой доли сернокислого магния

3.4.1. *Оборудование и реактивы*

Для проведения испытания применяют:

колбы мерные вместимостью 100, 250 и 1000 мл по ГОСТ 1770—74;

колбы плоскодонные вместимостью 200 мл, стаканы лабораторные по ГОСТ 10394—72;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72;

аммиачный буферный раствор;

трилон Б, 0,1 н. раствор;

хромовые индикаторы: кислотный хром темно-синий или хромовый черный специальный;

фиксанал $MgSO_4 \cdot 7H_2O$—0,01 г-экв или $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ по ГОСТ 4523—77, х. ч., ч. д. а.

3.4.2. *Подготовка к испытанию*

3.4.2.1. Приготовление аммиачного буферного раствора.

Берут 2 г хлористого аммония и растворяют в дистиллированной воде, добавляют 10 мл 25%-ного водного раствора аммиака и доводят объем дистиллированной водой до 100 мл.

3.4.2.2. Приготовление растворов хромовых индикаторов.

0,5 г индикатора растворяют в 20 мл аммиачного буферного

раствора и доводят до 100 мл этиловым спиртом.

3.4.2.3. Приготовление 0,1 н. раствора трилона Б.

Берут навеску 18,6 г трилона Б, растворяют в дистиллированной воде, доводят объем до 1 л, перемешивают и фильтруют, если раствор получился мутным.

3.4.2.4. Установка титра трилона Б.

Готовят 0,01 н. раствор соли магния: растворяют содержимое фиксанала $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ или навеску 1,2325 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ в 1 л дистиллированной воды. В колбу вместимостью 200 мл вносят 100 мл 0,01 н. раствора соли магния, 5 мл аммиачного буферного раствора, 5—7 капель индикатора, смесь медленно титруют при интенсивном перемешивании 0,1 н. раствором трилона Б до отчетливого изменения цвета раствора.

Поправочный коэффициент к титру трилона Б ($K_{тр}$) вычисляют по формуле

$$K_{тр} = \frac{10 \cdot K_{Mg}}{v},$$

где v — количество 0,1 н. раствора трилона Б, израсходованное на титрование 100 мл 0,01 н. раствора $MgSO_4$, мл;

K_{Mg} — поправочный коэффициент к титру 0,01 н. раствора $MgSO_4$.

3.4.3. *Проведение испытания*

Сухой комплемент из пяти ампул растворяют в дистиллированной воде, переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят объем до метки. Затем берут 50 мл раствора, прибавляют к нему 5 мл аммиачного буферного раствора, 5—6 капель раствора хромового индикатора и титруют при энергичном перемешивании 0,1 н. раствором трилона Б до изменения цвета раствора.

3.4.4. *Обработка результатов*

Массовую долю сульфата магния в препарате (X) вычисляют по формуле

$$X = \frac{v_1 \cdot K_{тр} \cdot 0{,}01232 \cdot 100}{2},$$

где v_1 — количество 0,1 н. раствора трилона Б, израсходованное на титрование пробы, мл;

$K_{тр}$ — поправочный коэффициент к титру 0,1 н. раствора трилона Б;

0,01232 — количество $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора трилона Б, г;

2 — количество комплемента в ампуле, мл.

3.5. Определение влажности

3.5.1. *Аппаратура, материалы и реактивы*

Для проведения испытания применяют:

весы аналитические;

шкаф сушильный лабораторный на 105°С;

стаканчики для взвешивания с притертыми крышками (бюксы) по ГОСТ 7148—70 диаметром 2,5 см, высотой 3,5 см;

эксикатор по ГОСТ 6371—73.

3.5.2. *Проведение испытания*

В высушенную до постоянной массы бюксу помещают содержимое одной ампулы сухого комплемента (вскрытие ампул и перенос вещества в бюксу производят быстро в связи с большой гигроскопичностью материала). Бюксу с навеской взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г. Пробу высушивают в сушильном шкафу при 100°С в течение 1 ч. Затем бюксу охлаждают в эксикаторе в течение 30 мин и снова взвешивают.

3.5.3. *Обработка результатов*

Влажность (X_1) в процентах вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m},$$

где m — первоначальная масса навески сухого комплемента до высушивания, г;

m_1 — масса навески после высушивания, г.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов трех параллельных определений. Допускаемые расхождения между результатами параллельных определений не должны превышать 0,5%.

3.6. Определение активности (титра) и безвредности

Активность сухого комплемента определяют по полному (100%-ному) гемолизу эритроцитов в гемолитической системе.

Титром комплемента называют наименьшее его количество (наибольшее разведение), при котором в течение 10 мин при 37—38°С наступает полный гемолиз 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана в присутствии 0,5 мл гемолитической сыворотки, взятой в удвоенном титре по ГОСТ 16445—78, в общем объеме жидкости 2,5 мл.

Безвредность комплемента характеризуется полным отсутствием гемолиза эритроцитов барана в пробирке без гемолитической сыворотки.

3.6.1. *Оборудование и реактивы*

Для проведения испытания применяют:

центрифугу;

баню водяную;

штативы для пробирок;

пробирки стеклянные по ГОСТ 10515—75;

флаконы вместимостью 250 мл;

колбы стеклянные вместимостью 50, 100 мл по ГОСТ 1770—74;

бусы стеклянные или металлические;

воронки стеклянные;

иглы для взятия крови;

пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5 и 10 мл по ГОСТ 20292—74;

физиологический раствор хлористого натрия pH 6,8—7,2;

марлю.

3.6.2. *Подготовка к испытанию*

3.6.2.1. Приготовление 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана.

Кровь у барана берут утром, до кормления, из яремной вены, во флакон со стеклянными или металлическими бусами или без них. Встряхивают 7—10 мин, затем фильтруют через марлю, эритроциты 3—5 раз отмывают физиологическим раствором путем центрифугирования при 2500 об/мин до полного обесцвечивания промывной жидкости. Из осадка эритроцитов готовят 2,5%-ную взвесь на физиологическом растворе.

3.6.3. *Проведение испытания*

Комплемент в разведении 1 : 20 на физиологическом растворе разливают в ряд пробирок дозами, начиная с 0,1 до 0,4 мл, увеличивая дозу в каждой следующей пробирке на 0,03 мл (0,10; 0,13; 0,16 мл и т. д. табл. 2). Затем в пробирки доливают физиологический раствор до 0,5 мл общего объема жидкости (0,40; 0,37; 0,34 мл и т. д.). После этого в каждую пробирку вносят по 1 мл физиологического раствора, по 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана и по 0,5 мл гемолизина в удвоенном титре. Одновременно в штатив устанавливают три пробирки для контроля. В первую пробирку контроля вносят 0,4 мл комплемента в разведении 1 : 20, 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана и 1,6 мл физиологического раствора; во вторую пробирку вносят 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана, 0,5 мл гемолизина в удвоенном титре и 1,5 мл физиологического раствора; в третью пробирку — 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана и 2,0 мл физиологического раствора (табл. 2). Первая пробирка служит для контроля безвредности комплемента без гемолизина, вторая — для контроля гемолизина и третья — устанавливает наличие резистентности эритроцитов барана.

Штатив с пробирками встряхивают и помещают в водяную баню при 37—38°С на 10 мин.

3.6.4. *Обработка результатов*

Штатив с пробирками извлекают из бани и проводят учет реакций в проходящем свете. Комплемент считают активным при титре не ниже 0,31 и безвредным при отсутствии гемолиза эритроцитов в первой пробирке контроля.

Таблица 2

Компоненты	Дозы компонентов, мл, для пробирок номеров													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Контрольные пробирки		
												1	2	3
1. Комплемент в основном разведении (1:20)	0,10	0,13	0,16	0,19	0,22	0,25	0,28	0,31	0,34	0,37	0,40	0,40	—	—
2. Физиологический раствор	0,40	0,37	0,34	0,31	0,28	0,25	0,22	0,19	0,16	0,13	0,10	0,10	—	—
3. 2,5%-ная взвесь эритроцитов барана на физиологическом растворе	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
4. Гемолизин в удвоенном титре	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	—	0,50	—
5. Физиологический раствор	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,50	1,50	2,00

4. УПАКОВКА, МАРКИРОВКА, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Комплемент фасуют по 2 мл в хорошо промытые стерильные ампулы БЦЖ или инсулиновые и пенициллиновые флаконы и подвергают лиофилизации. Ампулы запаивают под вакуумом, а флаконы заполняют азотом или сухим воздухом, закрывают пробками и закатывают алюминиевыми колпачками.

4.2. На ампулу (флакон) наклеивают этикетку или несмываемой краской по стеклу наносят:

наименование биопрепарата;

количество его в миллилитрах;

номер серии.

4.3. Ампулы (флаконы) с сухим комплементом по 10—20 шт. упаковывают в картонные коробки с разделительными перегородками. На каждую коробку наклеивают или наносят этикетку, на которой указывают:

наименование и товарный знак предприятия-изготовителя;

наименование препарата;

номер серии;

номер госконтроля;

дату изготовления;

титр в гемолитической системе;

количество ампул (флаконов) в коробке;

количество доз в ампуле по титру;

количество физиологического раствора, которое необходимо ввести в ампулу (флакон) для превращения сухого комплемента в состояние «нативной сыворотки»;

срок годности;

условия хранения;

фамилии и номер браковщика и укладчика;

обозначение настоящего стандарта.

4.4. Коробки с ампулами (флаконами) сухого комплемента упаковывают в деревянные, фанерные или полистироловые ящики массой брутто не более 15 кг. Внутрь каждого ящика вкладывают контрольный лист с указанием:

наименования препарата;

количества коробок в ящике;

номера серии;

даты упаковки;

фамилии или номера упаковщика.

4.5. Каждую транспортную единицу маркируют по ГОСТ 14192—77 с указанием следующих дополнительных данных:

наименования предприятия-поставщика и его адреса;

наименования организации-потребителя и его адреса;

наименования биопрепарата;

количества препарата в ящике;

массы брутто;
номера серии;
даты изготовления;
срока годности;
условий хранения;
обозначения настоящего стандарта.

4.6. Сухой комплемент транспортируют всеми видами транспорта при температуре 2—15°С.

Допускается транспортировать препарат при более высокой температуре, но не выше 20°С, при этом срок транспортирования должен быть не более 10 сут.

4.7. Сухой комплемент хранят в чистом, сухом и темном помещении при температуре 2—15°С.

4.8. Срок годности сухого комплемента — 2 года со дня изготовления. По истечении указанного срока годность препарата устанавливают по соответствию показателя титра комплемента в гемолитической системе требованиям настоящего стандарта. Титр определяется потребителем перед постановкой реакции связывания комплемента.

Группа Р31

Изменение № 1 ГОСТ 16446—78 Комплемент сухой для реакции связывания комплемента. Технические условия

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 15.12.86 № 3831 срок введения установлен

с 01.05.87

По всему тексту стандарта заменить единицу: мл на $см^3$.

Пункт 3.1.1. Заменить слово: «упаковки» на «упаковочных единиц».

Пункт 3.4.1. Заменить ссылку: ГОСТ 10894—72 на ГОСТ 25336—82.

Пункт 3.6.2.1. Заменить слова: «путем центрифугирования при 2500 об/мин» на «путем центрифугирования с частотой вращения 2500 $мин^{-1}$ по 10 мин».

Раздел 3 дополнить пунктом — 3.6.2.2: «3.6.2.2. *Приготовление гемолитической системы*

Готовят раствор гемолизина, взятого в удвоенном титре (при титре 1:1000 готовят разведение 1:500, для чего берут 0,1 $см^3$ гемолизина и разводят в 49,9 $см^3$ физиологического раствора, и т. д.) и смешивают с равным количеством взвеси эритроцитов путем медленного вливания его во взвесь эритроцитов при постоянном ее перемешивании. Гемолитическую систему выдерживают в водяной бане при температуре 37—38 °С в течение 30 мин.

Для использования в контроле оставляют в отдельных пробирках по 3—5 $см^3$ взвесь эритроцитов и раствора гемолизина».

(Продолжение см. с. 394)

Таблица 2

Компоненты	Дозы компонентов, см³, для пробирок номеров											Контрольные пробирки		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	1	2	3
1. Комплемент в разведении 1:20	0,10	0,13	0,16	0,19	0,22	0,25	0,28	0,31	0,34	0,37	0,40	0,50	—	—
2. Физиологический раствор	0,40	0,37	0,34	0,31	0,28	0,25	0,22	0,19	0,16	0,13	0,10	—	—	—
3. Гемолитическая система	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	—	—	—
4. Взвесь эритроцитов	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,50	0,50	0,50
5. Раствор гемолизина	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,50	—
6. Физиологический раствор	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,50	1,50	2,00

(Продолжение см. с. 395)

(Продолжение изменения к ГОСТ 16446—78)

Пункт 3.6.3. и таблицу 2 изложить в новой редакции: (*см. с. 394*): «3.6.3. Комплемент в разведении 1:20 на физиологическом растворе разливают в ряд пробирок в дозах с 0,1 см³ до 0,4 см³, увеличивая дозу в каждой следующей пробирке на 0,03 см³ (0,10; 0,13; 0,16 см³ и т. д. в соответствии с табл. 2). Затем в пробирки доливают физиологический раствор до 0,5 см³ общего объема жидкости (соответственно 0,40; 0,37; 0,34 см³ и т. д.). После этого в каждую пробирку вносят по 1 см³ физиологического раствора и по 1 см³ гемолитической системы. Одновременно в штатив устанавливают три пробирки контроля. В первую пробирку контроля вносят 0,5 см³ комплемента в разведении 1:20, 0,5 см³ взвеси эритроцитов и 1,5 см³ физиологического раствора; во вторую

(Продолжение см. с. 396)

(Продолжение изменения к ГОСТ 16446—78)

пробирку вносят 0,5 см³ взвеси эритроцитов, 0,5 см³ раствора гемолизина и 1,5 см³ физиологического раствора; в третью пробирку — 0,5 см³ взвеси эритроцитов и 2 см³ физиологического раствора (табл. 2). Первая пробирка является контролем безвредности комплемента, вторая пробирка — контролем безвредности гемолизина, третья — резистентности эритроцитов.

Штатив с пробирками встряхивают и помещают в водяную баню при температуре 37—38 °С на 10 мин».

Раздел 4. Наименование. Заменить слово: «Упаковка» на «Упаковывание»

Пункт 4.4. Пятый абзац. Заменить слово: «упаковки» на «упаковывания»

(ИУС № 3 1987 г.)

Изменение № 2 ГОСТ 16446—78 Комплемент сухой для реакции связывания комплемента. Технические условия

Утверждено и введено в действие Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 06.07.88 № 2629

Дата введения 01.01.89

По всему тексту стандарта заменить единицу и слова: мл на $см^3$, л на $дм^3$, «0,1 н. раствор трилона Б» на 0,1 моль/$дм^3$ (0,1 н.), «0,1 н. раствора $MgSO_4$» на «0,005 моль/$дм^3$ (0,01 н.).

(Продолжение см. с. 344)

(Продолжение изменения к ГОСТ 16446—78)

Пункт 2.5. Заменить слова: «Министерство сельского хозяйства СССР» на «Госагропром СССР».

Пункты 3.4.2.4 (третий абзац), 3.4.4, 4.2 (третий абзац). Заменить слово: «количество» на «объем».

Пункт 3.5.1. Заменить ссылки: ГОСТ 7148—70 и ГОСТ 6371—73 на ГОСТ 25336—82.

Пункт 3.6.1. Заменить ссылку: ГОСТ 10515—75 на ГОСТ 25336—82.

(ИУС № 11 1988 г.)

Редактор *Л. Б. Аграновская*
Технический редактор *В. Ю. Смирнова*
Корректор *А. Г. Старостин*

gost.e-ecolog.ru

Сдано в наб. 21.03.78 Подп. в печ. 02.06.78 0,75 п. л. 0,52 уч.-изд. л. Тир. 10000 Цена 3 коп.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов. Москва, Д-557, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник». Москва, Лялин пер., 6. Зак. 453