27146-86

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

АНТИГЕН ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ЭПИДИДИМИТА БАРАНОВ, ВЫЗЫВАЕМОГО БРУЦЕЛЛОЙ ОВИС

ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ И МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

ГОСТ 27146—86
(СТ СЭВ 5157—85)

Издание официальное

Цена 3 коп.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 616—097:619:006.354 Группа Р31

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

АНТИГЕН ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ЭПИДИДИМИТА БАРАНОВ, ВЫЗЫВАЕМОГО БРУЦЕЛЛОЙ ОВИС

Технические требования и методы испытаний

Antigen revealing infectious sheep's epididymitis caused by Brucella ovis. Technical requirements and test methods

ГОСТ 27146—86

(СТ СЭВ 5157—85)

ОКСТУ 9382

Срок действия с 01.01.88
до 01.01.93

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на антиген, предназначенный для диагностики инфекционного заболевания овец, вызываемого Бруцеллой овис, методом реакции длительного связывания комплемента (РДСК).

Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 5157—85.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Антиген по своим физическим и биологическим свойствам должен соответствовать характеристикам и нормам, указанным в табл. 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма
1. Внешний вид	Прозрачная, слегка опалесцирующая жидкость зеленовато-желтого цвета
2. Наличие посторонней примеси, плесени, хлопьев, осадка, трещин флаконов	Не допускается
3. Стерильность	В посевах из антигена на питательные среды не должно быть роста микрофлоры после выдерживания в течение 10 дней при температуре (37±0,5)°С, на агаре Сабуро при температуре (22±2)°С

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

© Издательство стандартов, 1987

Продолжение табл. 1

Наименование показателя	Характеристика и норма
4. Активность в РДСК	Титр не ниже 1 : 200 с оценкой «три-четыре креста»; рабочий титр 1 : 100
5. Специфичность в РДСК	Антиген в разведении 1 : 50 и выше не должен вызывать задержки гемолиза эритроцитов с *S*-бруцеллезной и нормальными сыворотками
6. Антикомплементарные свойства	Антиген в разведении 1 : 50 и выше не должен обладать антикомплементарными свойствами
7. Гемотоксичность	Антиген в разведении 1 : 50 и выше не должен обладать гемотоксическими свойствами

2. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

2.1. Отбор проб

2.1.1. Для проведения испытания от каждой серии отбирают десять флаконов. Пять флаконов используют для анализа, а пять — хранят в архиве государственного контролера в течение 18 мес.

2.1.2. Флаконы, предназначенные для хранения, сопровождают документом с указанием:

наименования препарата;

даты изготовления;

номера серии;

номера контроля;

даты отбора пробы;

общего количества упаковочных единиц и объема серии;

должности и подписи лица, отобравшего пробу;

обозначения настоящего стандарта.

2.2. Определение внешнего вида, цвета и наличия посторонней примеси

Для определения внешнего вида, цвета, наличия посторонней примеси, плесени, хлопьев, осадка каждый флакон с препаратом встряхивают и просматривают в проходящем свете.

2.3. Определение стерильности

Сущность метода заключается в определении роста бактериальной и грибковой микрофлоры в посевах из проб антигена на питательных средах.

2.3.1. *Аппаратура, материалы и реактивы*

Для проведения испытания применяют:

термостаты с температурой нагрева (22±2)°С и (37±0,5)°С;

пипетки мерные вместимостью 1 и 2 см³ по ГОСТ 20292—74;

пробирки по ГОСТ 25336—82;
флаконы стеклянные вместимостью 100 см³;
бульон мясо-пептонный (МПБ) по ГОСТ 20730—75;
бульон мясо-пептонный печеночный (МППБ) под вазелиновым маслом;
агар мясо-пептонный (МПА);
пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805—76;
агар микробиологический по ГОСТ 17206—84 или агар пищевой по ГОСТ 16280—70;
масло вазелиновое по ГОСТ 3164—78;
раствор физиологический, pH 7,0—7,2;
агар Сабуро;
натрий хлористый по ГОСТ 4233—77.

2.3.2. *Проведение испытания*

Посев проводят из каждого отобранного для испытания флакона в объеме 0,2—0,3 см³ в пробирки с МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом, агаром Сабуро и по 0,5—1 см³ во флаконы с МПА и МППБ под вазелиновым маслом. Посевы проводят в две пробирки и два флакона с каждой средой. Питательные среды с посевами выдерживают при температуре (37±0,5)°С, а на агаре Сабуро при температуре (22±2)°С в течение 10 дней. В посевах на питательных средах не должно быть роста бактериальной микрофлоры и грибов.

2.4. Определение активности, специфичности, гемотоксичности и антикомплементарных свойств

Сущность метода заключается в способности антигена образовывать комплекс со специфическими антителами, выявляемый в РДСК.

2.4.1. *Аппаратура и материалы*

Для проведения испытания применяют:
баню водяную с температурой 38°С и 62—64°С;
холодильник, поддерживающий температуру 2—4°С;
пробирки по ГОСТ 25336—82;
штативы;
пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5 и 10 см³ по ГОСТ 20292—74;
колбы мерные вместимостью 100, 200 и 1000 см³ по ГОСТ 20292—74;
воронки стеклянные по ГОСТ 25336—82;
полиглобулин для стандартизации овисных антигенов или референтную овисную сыворотку с титром в РДСК 1:20 четыре креста (++++);
две нормальные сыворотки крови баранов разных серий;
S-бруцеллезную сыворотку с титром в РДСК 1:40 четыре креста (++++);

Таблица 2

Титрация овисного антигена

Компоненты реакции	Разведения антигена								Контрольный овисный антиген	Контрольный бруцеллезный антиген	Без антигена
	1:50	1:100	1:150	1:200	1:250	1:300	1:350	1:400			
Разведения полиглобулина или референтной овисной сыворотки, $см^3$	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0
	Выдерживают в водяной бане при температуре 62—64°С в течение 30 мин										
Испытуемый и контрольный антиген, $см^3$	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—
Комплемент в разведении по титру, $см^3$	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	Выдерживают при температуре 2—4°С в течение 16—18 ч, затем при комнатной температуре в течение 20 мин										
Гемолитическая система в рабочем титре (см. табл. 4), $см^3$	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	Выдерживают в водяной бане при температуре 37—38°С в течение 20 мин										

Таблица 3

Титрация овисного антигена и примерный результат

Компоненты реакции	Разведения	Разведения антигена								Контрольный овисный антиген	Контрольный бруцеллезный антиген	Без антигена
		1:50	1:100	1:150	1:200	1:250	1:300	1:350	1:400			
Полиглобулин или референтная овисная сыворотка	1:10	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+++	++	+	—	++ ++	—	—
S-бруцеллезная сыворотка	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++ ++	—
	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++ ++	—
Негативная сыворотка 1-я	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Негативная сыворотка 2-я	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Антикомплементарность антигена	(В двойной дозе)	—	—	Реакцию не проводят						—	—	—
Гемотоксичность антигена	(В двойной дозе)	++ ++	++ ++	То же						++ ++	++ ++	Реакцию не проводят

Таблица 4

Титрация гемолитической системы для реакции длительного связывания комплемента

Компоненты	Дозы компонентов в пробирках, см³									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Негативная сыворотка в разведении 1 : 5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	Выдерживают в водяной бане при температуре 62—64°С в течение 30 мин									
Антиген в рабочем титре	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Комплемент (в том же разведении, как для главного опыта)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	Выдерживают при температуре 2—4°С в течение 16—18 ч, затем в течение 20 мин при комнатной температуре 16—24°С									
Гемолитическая система	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0
	Выдерживают в водяной бане при температуре 37—38°С в течение 20 мин									
Результат	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ЧГ	ЧГ	ЧГ	ЗГ

Общий титр гемолитической системы — 1,2 см³
Рабочий титр — 1,0 см³

Примечание. ПГ — полный гемолиз, ЧГ — частичный гемолиз, ЗГ — задержка гемолиза. Опыт проводится параллельно с двумя негативными сыворотками.

антиген бруцеллезный для РА, РСК (РДСК);
комплемент для РСК;
сыворотку гемолитическую для РСК;
эритроциты барана, 3—4%-ную взвесь в физиологическом растворе;
физиологический раствор, pH 7,0—7,2.

2.4.2. *Проведение испытания*

Определение активности, специфичности, гемотоксичности и антикомплементарных свойств антигена проводят в РДСК по табл. 2 и 3.

Для испытания в РДСК испытуемый антиген разводят физиологическим раствором в соотношении 1 : 50, 1 : 100, 1 : 150, 1 : 200, 1 : 250, 1 : 300, 1 : 350, 1 : 400; полиглобулин или референтную овисную сыворотку — в разведении 1 : 10; *S* — бруцеллезную сыворотку — в разведении 1 : 5 и 1 : 10; две нормальные сыворотки крови баранов разных серий — в разведении 1 : 5.

Контрольный овисный и бруцеллезный антигены используют в рабочих титрах.

Комплемент разводят физиологическим раствором 1 : 20— : 30 в зависимости от титра.

Гемолитическую систему готовят из равных объемов взвеси эритроцитов барана в физиологическом растворе (из осадка эритроцитов, отмытых 2—3 раза центрифугированием с частотой вращения 2500—3000 мин$^{-1}$ в течение 10—12 мин) и разведени гемолитической сыворотки в утроенном-учетверенном титре. Определение рабочего титра гемолитической системы для РДСК проводят по табл. 4.

При испытании антигена на антикомплементарность вместо сывороток вносят равный объем антигена в том же разведении, а при испытании на гемотоксические свойства физиологическим раствором заменяют комплемент и сыворотку.

Реакцию оценивают по четырехбальной системе в крестах
четыре креста (++++) — гемолиз эритроцитов от 0 до 0%;
три креста (+++) — гемолиз эритроцитов св. 10 до 40%
два креста (++) — гемолиз эритроцитов св. 40 до 70%;
один крест (+) — гемолиз эритроцитов св. 70 до 90%;
отрицательная реакция (—) — гемолиз эритроцитов св. 9 до 100%.

Титром антигена считают наибольшее его разведение, вызывающее полную задержку гемолиза эритроцитов с полиглобулином или референтной овисной сывороткой в разведении 1 : 10

3. ПРОТОКОЛ ИСПЫТАНИЯ

Для каждой проверенной серии антигена составляют протокол испытания, который должен содержать следующие данные:

наименование штамма;
использованный метод;
результат испытания показателей качества;
дату изготовления;
подпись лица, проводившего испытания;
обозначение настоящего стандарта.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Госагропромом СССР

ИСПОЛНИТЕЛИ:

К. В. Шумилов, канд. вет. наук (руководитель темы); **У. Э. Ниязов**, канд. вет. наук; **Т. И. Малахова**, канд. вет. наук

2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 11 декабря № 3761

3. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

4. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта, подпункта, перечисления, приложения
ГОСТ 3164—68	2.3.1
ГОСТ 4233—77	2.3.1
ГОСТ 13805—76	2.3.1
ГОСТ 16280—70	2.3.1
ГОСТ 17206—84	2.3.1
ГОСТ 20292—74	2.3.1; 2.4.1
ГОСТ 20730—75	2.3.1
ГОСТ 25336—82	2.3.1; 2.4.1

Редактор *Т. П. Шашина*
Технический редактор *М. И. Максимова*
Корректор *Р. Н. Корчагина*

Сдано в наб. 30.12.86 Подп. в печ. 23.02.87 0,75 усл. п. л. 0,75 усл. кр.-отт. 0,48 уч.-изд. л.
Тир. 8000 Цена 3 коп.

gost.e-ecolog.ru

Издательство стандартов, 123840, Москва, ГСП, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник», Москва, Лялин пер., 6. Зак. 5