ГОСТ 28086—89

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ВАКЦИНА ПРОТИВ МИКСОМАТОЗА КРОЛИКОВ

ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ И МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ

Издание официальное

БЗ 1—2005

Москва
Стандартинформ
2007

gost.e-ecolog.ru

УДК 616.988—085.371:619:006.354 Группа Р31

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ВАКЦИНА ПРОТИВ МИКСОМАТОЗА КРОЛИКОВ

Технические требования и методы контроля

ГОСТ 28086—89

Vaccine for myxomatose of rabbits.
Technical requirements and
methods of control

МКС 11.220
ОКСТУ 9382

Дата введения 01.01.90

Настоящий стандарт распространяется на сухую вакцину против миксоматоза кроликов, содержащую живой аттенуированный вирус миксомы, предназначенную для профилактической иммунизации кроликов против миксоматоза.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Характеристики

1.1.1. Вакцину приготовляют из аттенуированного генетически стабильного вакцинного штамма, который не обладает остаточной вирулентностью при внутримышечном и внутрикожном введении животным, не обусловливает вирусоносительство и вирусовыделение, а также не обладает реверсибельностью.

1.1.2. Вакцина по физико-химическим и биологическим свойствам должна соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице.

Наименование показателя	Характеристика и норма
1. Внешний вид	Пористая сухая масса
2. Цвет	Желтовато-белый
3. Наличие посторонней примеси, плесени, изменения консистенции, трещин ампул (флаконов)	Не допускается
4. Массовая доля влаги, %	1—3
5. Растворимость	При добавлении растворителя в объеме, равном объему вакцины до высушивания, сухая масса должна раствориться в течение 1—2 мин без хлопьев и осадка
6. Наличие вакуума в ампулах	Фиолетово-синее свечение в ампулах при испытании
7. Контаминация бактериальной и грибковой микрофлорой	В посевах из вакцины на питательные среды не должно быть роста микрофлоры

Издание официальное Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1989
© Стандартинформ, 2007

Продолжение

Наименование показателя	Характеристика и норма
8. Безвредность	Введение вакцины кроликам внутримышечно в дозе 103,0 $ИД_{50/см^3}$ по 5 $см^3$ и внутрикожно в 12 точек по 0,25 $см^3$ в течение срока наблюдения (28 сут) не должно вызывать заболевания миксоматозом или другими инфекционными заболеваниями, а также локальных изменений в месте введения вакцины внутримышечным методом При внутрикожной инъекции в месте введения вакцины образуются фибромы, которые исчезают в течение срока наблюдения. У одного кролика из привитых могут появиться ринит, конъюнктивит, узелки на веках и ушах, которые исчезают в течение 28 сут наблюдения
9. Биологическая активность вакцины по титру инфекционности для кроликов ($ИД_{50/см^3}$), не менее	10^4
10. Иммуногенная активность	Вакцинация восьми кроликов внутримышечно по 1 $см^3$ или проколом уха по 0,015—0,02 $см^3$ должна предохранить от заболевания миксоматозом не менее шести животных после заражения их через 9 сут вирулентным вирусом в дозе 1000 $ИД_{50/см^3}$ подкожно и по одной капле в оба конъюнктивальных мешка. Два невакцинированных кролика, зараженных одновременно с вакцинированными, должны заболеть клинически миксоматозом в течение 21 сут наблюдения. При внутрикожном титровании вакцинного вируса на четырех кроликах на девятые сутки после вакцинации титр его должен быть ниже не менее чем на 3 lg по сравнению с титром вируса на невакцинированных кроликах

2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ

2.1. Отбор проб

2.1.1. Для проверки качества вакцины против миксоматоза кроликов из разных мест каждой серии отбирают 20 флаконов, из которых 10 используют для проведения испытаний, а 10 хранят в архиве государственного контроля в пределах срока годности препарата.

2.1.2. Предназначенные для хранения в архиве государственного контроля ампулы (флаконы) с вакциной опечатывают и снабжают документом с указанием:

наименования препарата;
даты изготовления;
номера серии;
номера контроля;
даты отбора пробы;
объема серии;
должности и подписи лица, отобравшего пробу;
срока годности;
обозначения настоящего стандарта.

2.2. Определение внешнего вида

Определение внешнего вида, цвета, наличия посторонней примеси, плесени, изменения консистенции, трещин ампул (флаконов) проводят визуально, просматривая каждую ампулу (флакон) с вакциной. Одновременно проверяют плотность укупорки флаконов, запайку ампул и правильность этикетирования.

2.3. Определение массовой доли влаги — по ГОСТ 24061.

2.4. Определение растворимости

Сущность метода заключается в определении времени, достаточного для полного растворения сухой вакцины в растворителе.

2.4.1. Аппаратура и материалы

Секундомер.

Пипетки мерные по НТД.

Растворитель для сухой вакцины.

2.4.2. Проведение испытания

В три ампулы (флакона) вносят растворитель в объеме, соответствующем объему вакцины до высушивания. После этого ампулы (флаконы) встряхивают и по секундомеру определяют время полного растворения вакцины.

2.4.3. Оценка результатов

Вакцина должна полностью раствориться в течение 1—2 мин без хлопьев и осадка.

2.5. Определение вакуума в ампулах — по ГОСТ 28083.

2.6. Определение контаминации бактериальной и грибковой микрофлорой — по ГОСТ 28085.

2.7. Определение безвредности

Сущность метода заключается в определении реакции кроликов на введение тест-дозы вакцины.

2.7.1. Аппаратура и материалы

Шприцы инъекционные по ГОСТ 22967.

Иглы инъекционные для внутримышечных и внутрикожных введений по ГОСТ 25377.*

Ножницы.

Растворитель для сухой вакцины.

2.7.2. Подготовка к испытанию

Вакцину из трех ампул (флаконов) растворяют в растворителе, объединяют в общую пробу и разводят до титра 10^3 $ИД_{50/см^3}$.

2.7.3. Проведение испытания

Пяти кроликам вводят по 5 $см^3$ растворенной вакцины внутримышечно в области бедра. Пяти другим кроликам вакцину вводят внутрикожно в 12 точек по 0,25 $см^3$ в выстриженные участки кожи спины и боков.

2.7.4. Оценка результатов

Вакцину считают безвредной, если в течение 28 сут после введения вакцины кролики не заболевают миксоматозом или другими инфекционными заболеваниями, а также не будет выявлено локальных изменений в месте внутримышечного введения вакцины. При внутрикожной инъекции в месте введения вакцины образуются фибромы, которые исчезают в течение срока наблюдения. У одного из привитых кроликов могут появиться узелки на веках, ушах, конъюнктивит и ринит, которые исчезают к 28-м суткам наблюдения.

2.8. Определение биологической активности вакцины по титру инфекционности для кроликов ($ИД_{50/см^3}$)

2.8.1. Сущность метода заключается в определении наибольшего разведения вируса, которое вызывает изменение кожи кролика.

2.8.2. Аппаратура и материалы

Шприцы инъекционные по ГОСТ 22967.

Иглы инъекционные для внутрикожного введения по ГОСТ 25377.

Ножницы.

Кутиметр.

Пипетки вместимостью 1 и 5 $см^3$.

Флаконы вместимостью 10 и 20 $см^3$.

Растворитель для вакцины.

2.8.3. Подготовка к испытанию

Вакцины в трех ампулах (флаконах) растворяют в растворителе, взятом в объеме, соответствующем объему вакцины перед высушиванием, объединяют в общую пробу, из которой готовят десятикратные разведения вакцины от 10^{-1} до 10^{-6}, применяя тот же растворитель.

2.8.4. Проведение испытания

Биологическую активность вакцины определяют путем титрования препарата внутрикожным заражением. Для заражения используют двух кроликов, клинически здоровых, живой массой 2—2,5 кг. Вакцину, начиная с разведения 10^{-6} до 10^{-2}, вводят внутрикожно в направлении от хвоста к голове в четыре точки по 0,25 $см^3$ по линиям, перпендикулярным к позвоночнику, по две инъекции с каждой стороны. Следующее разведение вводят на расстоянии 3—4 см от предыдущего и т. д. Таким образом, в кожу спины и боков каждого кролика делают 20 инъекций.

* ГОСТ 25377—82 действует только на территории Российской Федерации (здесь и далее).

Активность вируса определяют по наличию и размеру фибром, образующихся у кроликов на 6—10-е сутки на месте введения вакцины. При визуальном определении учитывают фибромы размером с гречневое зерно, горошину, боб и крупнее. При измерении кутиметром кожа на месте фибромы должны быть толще нормальной не менее чем на 3 мм.

2.8.5. Оценка результатов

Инфекционный титр для кроликов рассчитывают по методу Рида и Менча и выражают в $ИД_{50 \cdot см^3}$. Для пересчета результата на 1 $см^3$ к полученному результату прибавляют коэффициент 0,6 lg. Инфекционная активность должна быть не ниже $10^{4,0}$ $ИД_{50/см^3}$.

2.9. Определение иммуногенной активности

2.9.1. Определение иммуногенной активности с использованием вирулентного вируса миксомы

Сущность метода заключается в определении устойчивости здоровых вакцинированных кроликов против заражения вирулентным вирусом миксомы в стандартной дозе.

2.9.1.1. Аппаратура и материалы

Шприцы инъекционные вместимостью 1—2 $см^3$ по ГОСТ 22967.

Иглы инъекционные по ГОСТ 25377.

Двухигольный инъектор для прокалывания уха и введения вакцины в объеме 0,015—0,02 $см^3$

Пипетка глазная.

Растворитель для вакцины.

2.9.1.2. Проведение испытания

Вводят восьми клинически здоровым, невакцинированным кроликам живой массой 2—2,5 кг по 1 $см^3$ разбавленной вакцины внутримышечно в область бедра или по 0,015—0,02 $см^3$ прокалыванием уха двухигольным инъектором. Ухо прокалывают на уровне верхней трети на внутренней стороне так, чтобы отверстия игл проникали через ушную поверхность, но не повреждали бы крупных кровеносных сосудов. Через 9 сут восемь вакцинированных и двух контрольных, невакцинированных кроликов заражают вирулентным штаммом вируса миксомы подкожно по 1,0 $см^3$ в область лопатки в дозе 1000 $ИД_{50/см^3}$. Из этой дозы по одной капле вирулентной суспензии закапывают в конъюнктивальный мешок обоих глаз. За животными ведут наблюдение 21 сут.

2.9.1.3. Оценка результатов

Вакцину считают иммуногенной, если из восьми вакцинированных кроликов остаются здоровыми не менее шести, а два невакцинированных (контрольных) кролика заболевают в течение срока наблюдения с характерными клиническими симптомами миксоматоза.

2.9.2. Определение иммуногенной активности с использованием вакцинного вируса миксомы

Сущность метода заключается в определении устойчивости здоровых вакцинированных кроликов против внутрикожного заражения вакцинным вирусом миксомы в разных дозах для определения его индекса нейтрализации.

2.9.2.1. Аппаратура и материалы — по п. 2.9.1.1.

2.9.2.2. Проведение испытания

На восьми кроликах, вакцинированных по п. 2.9.1.2, и двух невакцинированных (контрольных) кроликах проводят титрование культурального вакцинного штамма. Для этого внутрикожно кроликам вводят вирус в разведениях, начиная с 10^{-6} до 10^{-1} по 0,25 $см^3$ в четыре точки бесшерстного участка кожи. Через 7 сут учитывают результаты заражения кроликов, обращая внимание на местную реакцию — образование фибром в местах введения вируса в разведениях.

2.9.2.3. Оценка результатов

В каждой группе (вакцинированной и контрольной) рассчитывают инфекционный титр вируса и выражают его в $ИД_{50/см^3}$ по п. 2.8.4.

Титр вакцинного вируса миксомы должен быть не менее чем на шести из восьми вакцинированных кроликах ниже не менее чем на 3 lg по сравнению с титром на контрольных животных.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Госагропромом СССР**

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 31.03.89 № 915**

3. **Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 6281—88**

4. **ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

5. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Определение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 22967—90	2.7.1; 2.8.1; 2.9.1.1
ГОСТ 24061—89	2.3
ГОСТ 25377—82	2.7.1; 2.8.1; 2.9.1.1
ГОСТ 28083—89	2.5
ГОСТ 28085—89	2.6

6. **Ограничение срока действия снято по протоколу № 4—93 Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 4—94)**

7. **ПЕРЕИЗДАНИЕ. Май 2007 г.**

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *Е.М. Капустина*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 05.06.2007. Подписано в печать 25.06.2007. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,60. Тираж 42 экз. Зак. 506.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6

gost.e-ecolog.ru