ГОСТ Р 50667—94

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОРМОНЫ ГОНАДОТРОПНЫЕ

ОБЩИЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

Издание официальное

БЗ 9—93/704

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским государственным научно-исследовательским институтом контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов (ВГИКИ) с участием специалистов Всероссийского научно-исследовательского института животноводства (ВИЖ), Всероссийского научно-исследовательского института разведения и генетики сельскохозяйственных животных (ВНИИРГЖ), Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии (ВНИВИПФ и Т)

ВНЕСЕН Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства Российской Федерации

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России № 133 от 27.04.94

3 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

© Издательство стандартов, 1994

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта России

СОДЕРЖАНИЕ

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Общие технические требования 2
4 Требования безопасности 4
5 Правила приёмки 5
6 Методы испытаний 5
7 Транспортирование и хранение 14
8 Гарантии изготовителя 14
Приложение А 15

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОРМОНЫ ГОНАДОТРОПНЫЕ

Общие технические условия

Gonadotropic Hormones. Specifications

Дата введения 1995-01-01

1 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий стандарт распространяется на гонадотропные гормоны — гонадотропный гормон сыворотки крови жеребых кобыл (ГСЖК), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ) — стандарты, предназначенные для определения гормональной активности гонадотропных гормонов, используемых для лечения некоторых форм бесплодия у сельскохозяйственных животных и пушных зверей, а также стимуляции суперовуляции у коров-доноров эмбрионов и повышения плодовитости у свиноматок.

2 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты и технические условия:

ГОСТ 4233—77 Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7625—86 Бумага этикеточная. Технические условия

ГОСТ 9284—75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 12301—81 Коробки из картона, бумаги и комбинированных материалов. Общие технические условия

ГОСТ 13357—87 Ящики дощатые для кондитерских изделий. Технические условия

ГОСТ 14192—77 Маркировка грузов

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 18510—87 Бумага писчая. Технические условия

ГОСТ 21241—89 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 22967—90 Шприцы медицинские инъекционные многократного применения. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 24061—89 Препараты биологические сухие. Метод определения влажности

ГОСТ 24104—88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 25377—82 Иглы инъекционные многократного применения. Технические условия

ГОСТ 28085—89 Препараты биологические. Метод бактериологического контроля стерильности

ОСТ 64—009—86 Колпачки и прокладки алюминиевые к флаконам и бутылкам для лекарственных средств, крови и кровезаменителей

ТУ 38.006—108—90 Пробка АБ резиновая

ТУ 38.106—293—78 Пробка резиновая для укупорки эндокринных и других лекарственных препаратов

ТУ 38.106—416—82 Пробка резиновая для лиофилизации биологических препаратов

ТУ 46—21—936—74 Сыворотка крови лошадей

ТУ 64—2—10—87 Флаконы из трубки стеклянной для лекарственных средств

ТУ 64—3—218—85 Гонадотропин хорионический для ветеринарии

3 ОБЩИЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

3.1 Гонадотропные гормоны — стандарты, полученные из сыворотки крови жеребых кобыл (ГСКЖ), гипофизов свиней — фолликулостимулирующий (ФСГ), передней доли гипофизов крупного рогатого скота — лютеинизирующий (ЛГ), должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и изготовляться по технологическим инструкциям, утвержденным в установленном порядке.

3.2 Срок годности лиофильно высушенных гонадотропных стандартов (ГСЖК, ФСГ и ЛГ) — 3 года с момента изготовления при температуре хранения 2—10°С.

3.3. Характеристика

3.3.1 Гонадотропные гормоны (ГСЖК, ФСГ и ЛГ) — стандарты по физико-химическим и биологическим показателям должны соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма		
	ГСЖК	ФСГ	ЛГ
Внешний вид	Сухая аморфная масса		
Цвет	Белый или серовато-белый	Белый или серовато-желтый	
Наличие механических примесей	Не допускается		
Растворимость	Растворяется полностью в дистиллированной воде или физиологическом растворе в течение 1—2 мин, образуя прозрачный раствор светло-желтого цвета		
Массовая доля влаги, %, не более	4	4	4
Стерильность	Должен быть стерильным		
Безвредность	Должен быть безвредным		
Анафилактогенность	Не должен вызывать анафилактогенной реакции у сенсибилизированных морских свинок		
Активность гормональная во флаконе, не менее:			
м.е. (мышиная единица)	1400	—	—
ИЕ (интернациональная единица)	500	500	1000
Соотношение ФСГ/ЛГ в условных единицах	2 : 1 — 3 : 1	—	—

3.4 Упаковка

3.4.1. Гонадотропный гормон (вместе с наполнителем) фасуют по 2 см³ во флаконы из нейтрального стекла вместимостью 5 см³ по ТУ 64—2—10 или по ТУ 64—0709—10, укупоривают стерильными пробками по ТУ 38.106—416 или по ТУ 38.106—293 и обкатывают алюминиевыми колпачками по ОСТ 64—009.

Погрешность фасовки должна составлять ±5%.

3.4.2. На каждый флакон наклеивают этикетку из бумаги по ГОСТ 7625 или ГОСТ 18510 или несмываемой краской по стеклу наносят надпись с указанием: наименования предприятия-изготовителя, наименования препарата, номера серии, гормональной активности препарата в мышиных единицах (м.е.), интернациональных единицах (ИЕ), даты изготовления (месяц, год), срока годности.

3.4.3 Флаконы с препаратом укладывают в картонные коробки с наличием гнезд или перегородок по ГОСТ 12301, обеспечивающих целостность препарата (стандарта).

В каждую коробку с гонадотропным гормоном вкладывают наставление по применению препарата .

На каждую коробку наклеивают этикетку с указанием: наименования предприятия-изготовителя, наименования препарата, обозначения «Стандарт», количества флаконов в коробке, даты изготовления (месяц, год), срока годности, условий хранения, гормональной активности препарата во флаконе в мышиных единицах (м.е.) и интернациональных единицах (ИЕ,) номера серии, номера контроля, обозначения настоящего стандарта.

3.4.4 Коробки с гонадотропным гормоном упаковывают в дощатые ящики по ГОСТ 13357 массой брутто не более 20 кг, которые при соблюдении условий транспортирования должны обеспечивать сохранность и целостность флаконов с препаратом.

Внутрь каждого ящика вкладывают контрольный лист с указанием: наименования препарата и его количества, номера серии, даты упаковки, фамилии или номера упаковщика.

3.5. Маркировка

3.5.1 На каждое грузовое место наносят транспортную маркировку по ГОСТ 14192 с указанием манипуляционных знаков: «Осторожно, хрупкое!», «Боится нагрева» и предупредительную надпись «Биопрепараты»».

Маркировка, характеризующая данные об упакованной продукции, должна содержать следующие обозначения: наименование предприятия-изготовителя, наименование препарата, его количество в ящике, срок годности, дату изготовления, условия хранения, номер серии, обозначение настоящего стандарта.

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

4 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

4.1 Гормоны гонадотропные относятся к группе Б.

4.2 Требования безопасности, производственной санитарии и санитарно-противоэпидемического режима выполняются в соответствии с «Правилами техники безопасности, производственной санитарии и санитарно-противоэпидемического режима для предприятий по производству бактерийных и вирусных препаратов», утвержденными Минздравом СССР 30 августа 1979 г., и «Правилами безопасности, производственной санитарии, охранно-карантинного и ветеринарно-санитарного режимов на предприятиях биологической промышленности», утвержденными Главным управлением ветеринарии Госагропрома СССР 14 июля 1989 г.

5 ПРАВИЛА ПРИЕМКИ

5.1 Гонадотропные гормоны принимают сериями.

Под серией понимают любое количество гонадотропного препарата (ГСЖК, ФСГ или ЛГ), полученное за один технологический цикл и оформленное одним документом о качестве (паспорт).

5.2 Каждая серия гонадотропных стандартов (ГСЖК, ФСГ, ЛГ) должна быть принята контролером предприятия-изготовителя.

5.3 Для контроля качества гонадотропного гормона составляют выборку из упаковочных единиц, отобранных в разных местах серии, в количестве, определяемом по формуле $n=0{,}4\sqrt{N}$, где n — отобранное для испытания препарата количество упаковочных единиц (объем выборки), N — количество упаковочных единиц в серии, 0,4 — постоянный коэффициент выборки. Из выборки методом случайного отбора берут 20 флаконов.

5.4 При получении неудовлетворительных результатов испытаний хотя бы по одному показателю по нему проводят повторные испытания на удвоенном количестве флаконов с препаратом.

Результаты повторных испытаний распространяют на всю серию.

При получении неудовлетворительных результатов повторной проверки испытуемую серию бракуют.

5.5 По требованию потребителя проверку качества стандарта гонадотропных препаратов проводит комиссионно на предприятии-изготовителе Всероссийский государственный научно-исследовательский институт контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов (ВГНКИ).

6 МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

6.1 Метод отбора проб

6.1.1 Из проб, отобранных по 3.3, 10 флаконов используют для испытания, а остальные 10 флаконов хранят в архиве предприятия-изготовителя в течение 3,5 лет.

6.2 Для определения внешнего вида, цвета, наличия или отсутствия механической примеси флаконы с препаратом подвергают визуальному осмотру. Одновременно проверяют прочность упаковки (укупорки).

6.3 Растворимость стандартов гонадотропных препаратов определяют путем добавления в 2 флакона по 10 см^3 физиологического раствора или дистиллированной воды.

6.4 Определение массовой доли влаги

Определение массовой доли влаги проводят по ГОСТ 24061.

6.5 Определение стерильности

Стерильность гормона определяют по ГОСТ 28085.

6.6 Определение безвредности

6.6.1 *Аппаратура, материалы, реактивы*

Шприцы вместимостью 1 и 10 см³ по ГОСТ 22967.

Иглы инъекционные по ГОСТ 25377.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Мыши белые массой 18—20 г.

Свинки морские массой 350—400 г.

6.6.2 *Проведение испытаний*

Содержимое двух флаконов растворяют в 10 см³ стерильного физиологического раствора. Пяти клинически здоровым морским свинкам живой массой 300—400 г подкожно в область паха вводят по 1,0—1,5 см³ раствора препарата и по 0,5 см³ раствора препарата пяти здоровым белым мышам массой 18—20 г подкожно в область спины. Наблюдение за животными ведут в течение 10 сут.

6.6.3 *Обработка результатов*

Все подопытные животные должны оставаться клинически здоровыми в течение 10 сут. При гибели одной морской свинки или мыши проверку препаратов повторяют на удвоенном количестве животных. При гибели хотя бы одного животного в повторном опыте препарат бракуют.

6.7 Проверка на анафилактогенность

6.7.1 *Аппаратура, материалы, реактивы*

Шприцы вместимостью 1 и 2 см³ по ГОСТ 22967.

Иглы инъекционные по ГОСТ 25377.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Спирт этиловый технический по ГОСТ 18300.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Сыворотка крови лошадей по ТУ 46—23—936.

Свинки морские массой 300—400 г.

6.7.2 *Проведение испытания*

Для сенсибилизации шести морским свинкам однократно подкожно вводят 0,15—0,20 см³ сыворотки крови лошадей. Через 14—21 сут трем морским свинкам (опытная группа) внутрисердечно вводят 1,5—2,0 см³ предварительно растворенного в 10 см³ физиологического раствора гонадотропного гормона ГСЖК, ФСГ или ЛГ. Оставшимся трем морским свинкам (контрольная группа) внутрисердечно вводят 1,5—2,0 см³ сыворотки крови лошадей.

6.7.3 *Обработка результатов*

Наблюдения за животными обеих групп ведут в течение 1 ч. Как правило, морские свинки контрольной группы гибнут от ана-

филаксического шока или у них проявляется сильная аллергическая реакция (парез конечностей, непроизвольное мочеиспускание, боковое положение, учащенное дыхание).

Анафилаксическая реакция у сенсибилизированных морских свинок опытной группы должна отсутствовать.

При проявлении анафилаксических реакций у животных опытной группы серию гонадотропного гормона считают анафилактогенной и бракуют.

6.8 Определение гормональной активности гонадотропного стандарта — ГСЖК в мышиных единицах (м.е./см³) и гонадотропного стандарта — ГСЖК, ФСГ и ЛГ в интернациональных единицах

6.8.1 *Определение гормональной активности стандарта ГСЖК в мышиных единицах (м.е./см³)*

6.8.1.1 Аппаратура, материалы, реактивы

Весы торсионные.

Весы лабораторные с наибольшим пределом взвешивания 200 г второго класса точности по ГОСТ 24104.

Шприцы вместимостью 1 см³ по ГОСТ 22967.

Иглы инъекционные по ГОСТ 25377.

Пинцеты медицинские по ГОСТ 21241.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Раствор физиологический.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Мыши белые — самки массой 7,0—9,0 г в возрасте 17—21 сут.

6.8.1.2 Подготовка к испытанию

Содержание флакона растворяют в 10 см³ стерильного физиологического раствора. Из полученного раствора делают разведения стерильным физиологическим раствором 1 : 23, 1 : 27, 1 : 31, которые соответствуют гормональной активности 120; 140; 160 мышиных единиц в 1 см³ (м.е./см³).

6.8.1.3 Проведение испытания

На каждое разведение берут пять белых мышей, которым подкожно в область спины вводят по 0,2 см³ испытуемого раствора гонадотропного стандарта. Пяти белым мышам препарат не вводят (контрольная группа). Через 76 ч мышей усыпляют, вскрывают брюшную полость, извлекают матку с яичниками, тщательно очищают от соединительной и жировой ткани и взвешивают на торсионных весах. Исследования проводят в 3-кратной повторности.

6.8.1.4 Обработка результатов

Реакцию считают положительной при увеличении массы матки с яичниками не менее чем в два раза по отношению к контроль

ной группе при разведении стандарта 1 : 27 (140 м.е./см³) и отрицательной при разведении 1 : 23 или 1 : 31.

Учитывая разведение стандарта в 10 см³ физиологического раствора, полученные результаты испытаний умножают на 10. Гормональная активность должна быть не менее 1400 мышиных единиц (м.е.) во флаконе.

6.8.2 *Определение гормональной активности стандарта — ГСЖК и ФСГ в интернациональных единицах (ИЕ)*

6.8.2.1 Аппаратура, материалы, реактивы

Весы торсионные.

Весы лабораторные второго класса точности с пределом взвешивания до 200 г по ГОСТ 24104.

Пинцеты медицинские по ГОСТ 21241.

Ножницы медицинские.

Колбы стеклянные вместимостью 50, 100, 250 см³ по ГОСТ 25336.

Шприцы вместимостью 1 и 2 см³ по ГОСТ 22967.

Пипетки вместимостью 5 и 10 см³.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233, изотонический раствор.

Эфир серный (наркозный) по ГФ-X.

Чашки Петри по ГОСТ 25336.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Международный стандарт гонадотропного гормона сыворотки крови жеребых кобыл — ГСЖК или национальные стандарты ГСЖК (Россия, Германия, США, Франция, Голландия) с активностью 1000 ИЕ во флаконе.

Гонадотропин хорионический (ХГ) по ТУ 64—3—218—85.

Крысы белые — самки массой 40—45 г в возрасте 18—21 сут.

6.8.2.2 Подготовка к испытанию

Приготовление раствора гонадотропина хорионического (ХГ)

Два флакона по 1000 ЕД хорионического гонадотропина растворяют в 25 см³ стерильного физиологического раствора до получения раствора препарата с активностью 80 ЕД/см³, который используют для приготовления рабочих растворов хорионического гонадотропина для обработки 50 крыс.

Приготовление раствора стандарта

Рабочий раствор (10 ИЕ/см³) готовят разведением одного флакона (1000 ИЕ) международного стандарта или национальных стандартов по 6.8.2.1 в 100 см³ стерильного физиологического раствора.

Далее разведение рабочего раствора стандарта до необходимой концентрации гормона для введения инфантильным самкам крыс готовят, как указано в таблице 2.

Таблица 2

Разведение испытуемого препарата, стандарта	Предполагаемая активность во флаконе, ИЕ	Доза на животное, активность ИЕ/см³	Объем, см³		
			рабочего раствора препарата, стандарта ГСЖК, ФСГ	рабочего раствора ХГ (хорионического гонадотропина)	физиологического раствора
1-е разведение	400	2,8 7,0	2,8 7,0	5,0 5,0	32,2 28,0
2-е разведение	500	2,8 7,0	2,8 7,0	5,0 5,0	32,2 28,0
3-е разведение	600	2,8 7,0	2,8 7,0	5,0 5,0	32,2 28,0
Стандарт	1000	2,8 7,0	2,8 7,0	5,0 5,0	32,2 28,0

Приготовление раствора испытуемого стандарта.

Содержание флакона (или ампулы) испытуемого стандарта разводят в 50 см³ стерильного физиологического раствора (10 ИЕ/см³).

Рабочие растворы получают разведением 0,83; 1,0 и 1,25 см³ исходного раствора стерильным физиологическим раствором до 10 см³.

Рабочие растворы испытуемого стандарта применяют для введения инфантильным самкам белых крыс по схеме, приведенной в таблице 2.

6.8.2.3 Проведение испытания

Каждую дозу проверяемого препарата стандарта (А) по отношению к известному стандарту (В) испытывают на 10 инфантильных самках белых крыс. Животным два раза в день с интервалом 7 ч в течение 4 сут вводят подкожно в область спины 0,350 (малая доза — A_1^1, B^1) и 0,875 ИЕ (большая доза — A^2, B^2) гонадотропного гормона сыворотки крови жеребых кобыл — ГСЖК или ФСГ и 5,0 ЕД гонадотропина хорионического, содержащихся в 0,5 см³ изотонического раствора.

На пятые сутки крыс усыпляют, взвешивают массу тела с точностью до 0,5 г, вскрывают брюшную полость, извлекают оба яичника и тщательно освобождают от жировой и соединительной ткани, не допуская нарушения целостности фолликула и подсыха-

ния яичников. Оба очищенных яичника взвешивают на торсионных весах с точностью до 0,5 мг.

6.8.2.4 Обработка результатов

Расчет значений A и B

Для расчета используют полученные средние значения массы яичников и массы тела в каждой группе.

$$A,\ B_{(1\ldots n)}=\frac{\text{масса яичников крысы}}{\text{масса тела крысы}}\cdot 100.$$

Расчет критерия

Для этого выборку всех значений для малой и большой доз испытуемого и известного стандарта (A^1 и B^1, A^2 и B^2) упорядочивают по рангам, при этом минимальное и максимальное значения (A и B) получают наименьшие ранги. Если число наблюдений нечетное, то среднее наблюдение не получает никакого ранга, а если четное — оно получает наивысший ранг.

Для каждой выборки (состоящей из данных, полученных при расчете действия одной дозы испытуемого и известного стандарта) определяется сумма ранговых чисел Ип и Ис (где Ип — сумма ранговых чисел испытуемого стандарта, Ис — сумма ранговых чисел известного стандарта при применении одной дозы).

Принадлежность данных к одной общей совокупности, критерий (Z), рассчитывают по формуле

$$Z=\frac{2И-П^{п}(П^{п}+С^{п}+1)+1}{\sqrt{П^{п}\,(П^{п}+С^{п}+1)\cdot\dfrac{П^{с}}{3}}},$$

где $И$ — меньшая сумма рангов;

$П^{п}$ — число животных в соответствующей группе при обработке определенной дозой испытуемого стандарта;

$С^{п}$ — число животных в соответствующей группе при обработке определенной дозой стандарта;

$П^{с}$ — число животных в соответствующей группе при обработке определенной дозой известного стандарта.

При всех значениях критерия ($Z=1{,}96$), независимо от знака, считается, что число выборки принадлежит к одной гормональной активности испытуемого стандарта ($A_{и}$) и рассчитывается по формуле

$$A_{и}=ИА\ \text{анти}\log\frac{0{,}4(A^2+A^1-B^2-B^1)}{A^2-A^1+B^2-B^1},$$

где $ИА$ — предполагаемая гормональная активность испытуемого стандарта в 1 флаконе (ИЕ);

A^1 — среднее арифметическое значений отношения массы яичников к массе тела крыс в группе с малой дозой испытуемого стандарта; A^2 — среднее арифметическое значений отношения массы яичников к массе тела крыс в группе с большой дозой известного стандарта; B — среднее арифметическое значений отношения массы яичников к массе тела крыс в группе с малой дозой испытуемого стандарта; B^2 — среднее арифметическое значений отношения массы яичников к массе тела крыс в группе с большой дозой известного стандарта; 0,4 — логарифм отношения между дозами (log).

В случае, когда экспериментальные выборки испытуемого стандарта и известного стандарта не принадлежат к одной совокупности, когда нет разницы в реакции яичников на малую и большую дозу вводимого стандарта, опыт повторяют. При получении аналогичных результатов в повторном опыте проводят новое определение при изменении предполагаемой активности испытуемого стандарта.

6.8.2.5 Обработка результатов

Реакцию считают положительной, если по каждой дозе испытуемого и известного стандартов выборки $A^1(1 \ldots n)$ и $B^1(1 \ldots n)$, $A^2(1 \ldots n)$ и $B^2(1 \ldots n)$ принадлежат к одной совокупности ($Z = 1{,}96$).

Средние величины A^1, A^2 и B^1, B^2 по группам с дозой соответственно 2,8 и 7,0 ИЕ не должны превышать значений A^2 и B^2.

Средняя расчетная величина гормональной активности испытуемого стандарта по трем исследованиям должна составлять не менее 90 и не более 110% предполагаемой активности (ИА).

Гормональную активность выражают в интернациональных единицах во флаконе.

6.9. Определение лютеинизирующей активности стандарта

6.9.1 *Аппаратура, материалы, реактивы*

Микроскоп бинокулярный стереоскопический МБС-9 (или другой аналогичный по своей разрешающей способности микроскоп).

Пипетки вместимостью 1,0, 5,0 и 10,0 см³.

Колбы стеклянные вместимостью 50, 100 и 250 см³ по ГОСТ 25336.

Стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284.

Ножницы медицинские.

Пинцеты медицинские по ГОСТ 21241.

Шприцы вместимостью 1 см³ по ГОСТ 22967.

Флаконы вместимостью 10 см³ по ТУ 64—2—10

Пробки резиновые по ТУ 38 (00) 108.

Лейкопластырь.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Стандарт лютеинизирующего гормона в интернациональных единицах (США или Голландия), в дальнейшем можно использовать отечественный стандарт; препарат ГСЖК.

6.9.2 *Подготовка к испытанию*

6.9.2.1 Приготовление раствора препарата ГСЖК

Один или два флакона ГСЖК с общей активностью 2500 м.е. $см^3$ растворяют в 50 $см^3$ стерильного физиологического раствора, который используют в последующем в качестве исходного раствора (50 м.е./$см^3$).

Для приготовления 10 $см^3$ рабочего раствора, содержащего 3 м.е. в 0,2 $см^3$, необходимо 3 $см^3$ исходного раствора с активностью 15 м.е./$см^3$ разбавить до 10 $см^3$ стерильным физиологическим раствором.

Исходный раствор ГСЖК разливают по 3 $см^3$ во флаконы, закрывают резиновыми пробками и хранят при температуре минус 20 °С в течение 1 мес.

Рабочий раствор ГСЖК готовят непосредственно перед употреблением.

6.9.2.2 Приготовление рабочего раствора испытуемого стандарта

Содержимое ампулы (1000 ИЕ лютеинизирующего гормона) растворяют до 10 $см^3$ стерильным физиологическим раствором, который используют в качестве исходного раствора (100 ИЕ/$см^3$)

Для приготовления рабочего раствора с активностью 10 ИЕ/$см^3$ необходимо 0,6 $см^3$ исходного раствора разбавить до 0,6 $см^3$ стерильным изотоническим раствором.

Из рабочего раствора делают разведения стерильным физиологическим раствором 1 : 14, 1 : 6,5, 1 : 4, 1 : 2,75 и 1 : 2, которые соответствуют гормональной активности в 0,3 $см^3$ раствора — 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0 ИЕ — вводимого одному животному в соответствии с таблицей 3.

6.9.2.3 Приготовление раствора стандарта

Рабочий раствор (10 ИЕ) готовят из исходного раствора стандарта (100 ИЕ $см^3$) путем разведения исходного раствора 1 : 9.

В последующем из рабочего раствора готовят ряд разведений для введения мышам, как указано в таблице 3.

6.9.3 *Проведение испытания*

На каждое разведение испытуемого и известного стандарта берут пять мышей, которым подкожно в область спины вводят 3 м.е. ГСЖК в объеме 0,2 $см^3$ стерильного физиологического раствора. Контрольным пяти мышкам вводят ГСЖК в той же дозе.

Таблица 3

Разведение стандарта	Активность ИЕ в 0,3 см³	Объем рабочего раствора стандарта, см³	Объем стерильного физиологического раствора, см³
1-е разведение	0,2	0,2	2,8
2-е »	0,4	0,4	2,6
3-е »	0,6	0,6	2,4
4-е »	0,8	0,8	2,2
5-е »	1,0	1,0	2,0

Через 48 ч мышам опытной группы подкожно в область спины вводят по 0,3 см³ раствора испытуемого стандарта из каждого разведения.

Пяти мышкам контрольной группы препарат не вводят.

Через 16—18 ч мышей усыпляют, вскрывают брюшную полость, извлекают матку с яичниками и помещают в растянутом положении между двумя предметными стеклами, которые соединяют по краям полоской лейкопластыря.

Гормональную активность испытуемого стандарта проверяют в соответствии со схемой, приведенной в приложении А. Реакцию учитывают под микроскопом при увеличении 1×40.

6.9.4 *Обработка результатов*

Реакцию считают положительной, когда у трех из пяти самок мышей при наибольшем разведении испытуемого стандарта по отношению к известному стандарту происходит овуляция и в ампулообразном расширении обнаружена одна или более яйцеклеток.

Гормональную активность выражают в интернациональных единицах (ИЕ) во флаконе.

Гормональная активность испытуемого стандарта по отношению к известному стандарту должна быть в пределах ±0,4 ИЕ.

При отклонении гормональной активности испытуемого стандарта по отношению к известному, выходящем за пределы ±0,4 ИЕ, проводят дополнительные исследования не менее чем в двухкратной повторности, уменьшая или увеличивая предполагаемую активность испытуемого стандарта.

Отклонения гормональной активности испытуемого стандарта по отношению к известному не должны превышать 10%.

6.10. Определение соотношения фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов в испытуемом ГСЖК

6.10.1 Соотношение ФСГ/ЛГ в испытуемом стандарте устанавливают делением общей активности, определяемой по 6.8, на лю-

тенизирующую активность, определяемую по 6.9. Например, общая гормональная активность составляет 2500 ИЕ, а активность лютеинизирующего гормона — 1000 ИЕ; следовательно, соотношение ФСГ/ЛГ в испытуемом стандарте соответствует 2,5 : 1, которое выражается в условных единицах (у.е.).

7 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

7.1 Стандарты гонадотропных препаратов хранят на предприятии-изготовителе и в организации-потребителе в сухом закрытом темном месте, в коробках заводской упаковки при температуре (2—10) °С.

7.2 Транспортируют стандарты (ГСЖК, ФСГ или ЛГ) всеми видами транспорта в соответствии с правилами перевозок скоропортящихся грузов и багажа, действующими на данном виде транспорта.

8 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

8.1 Изготовитель гарантирует соответствие качества гонадотропных гормонов требованиям настоящего стандарта при соблюдении условий хранения и транспортирования.

8.2 Гарантийный срок хранения гормонов — 3 года со дня изготовления.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)

Схема проведения проверки гормональной активности лютеинизирующего отечественного стандарта

Таблица 1А

Время обработки и дозы испытуемого и известного стандарта		Контроль (физиологический раствор)					Стандарт (10,0 МЕ в 1,0 см³ рабочего раствора)					Испытуемый стандарт (10 МЕ в 1,0 см³ предполагаемая активность рабочего раствора)				
Первые сутки (14)	ГСЖК, см³ активность, м е	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3	0,2 3
Третьи сутки (14)	физиологический раствор, см³	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3										
	Стандарт (объем, см³) в 0,3 см³, МЕ:															
	0,2						0,3	0,3	0,3	0,3	0,3					
	0,4						0,3	0,3	0,3	0,3	0,3					
	0,6						0,3	0,3	0,3	0,3	0,3					
	0,8						0,3	0,3	0,3	0,3	0,3					
	1,0						0,3	0,3	0,3	0,3	0,3					
	Испытуемый стандарт в 0,3 см³, МЕ:															
	0,2											0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
	0,4											0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
	0,6											0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
	0,8											0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
	1,0											0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Четвертые сутки (8)	Доза на 1 гол, МЕ:															
	0,2	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—
	0,4	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—
	0,6	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—
	0,8	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—
	1,0	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание — В таблице знак плюс (+) означает наличие яйцеклеток, знак минус (—) — отсутствие яйцеклеток.

УДК 636.085.3 : 006.354 Р31

Ключевые слова: гормоны гонадотропные, характеристика, упаковка, маркировка, требование безопасности, приемка, методы испытаний, транспортирование, хранение, гарантии изготовителя

ОКП 93 5813

Редактор **Т. И. Василенко**
Технический редактор **В. Н. Прусакова**
Корректор **М. С. Кабашова**

Сдано в набор 02.06.94. Подп. в печ. 28.06.94. Усл. печ. л. 1.16. Усл. кр.-отт. 1.16. Уч.-изд. л. 1.07. Тир. 210 экз. С 1429

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 107076, Москва, Колодезный пер., 14.
Тип. «Московский печатник», Москва, Лялин пер., 6. Зак. 183

gost.e-ecolog.ru