МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 16445— 2012

СЫВОРОТКА ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ ДЛЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

Технические условия

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2– 2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Порядок разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 54-П от 3 декабря 2012 г. № 54-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 ВЗАМЕН ГОСТ 16445–78

5 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 июня 2013 г. № 316-ст введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2014 года

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2014

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

МКС 11.220

Поправка к ГОСТ 16445—2012 Сыворотка гемолитическая для реакции связывания комплемента. Технические условия

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 6.2	сухом	—

(ИУС № 2 2025 г.)

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

СЫВОРОТКА ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ ДЛЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

Технические условия

Serum haemolitic for the complement fixation test.
Specification

Дата введения – 2014 – 07 – 01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на гемолитическую сыворотку для реакции связывания комплемента (далее – сыворотка), представляющую собой консервированную глицерином сыворотку крови кролика, иммунизированного эритроцитами барана.

Сыворотка предназначена для применения в качестве компонента реакции связывания комплемента (далее – РСК) в ветеринарии.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 6709 —72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9142—90 Ящики из гофрированного картона. Общие технические условия

ГОСТ 12301—2006 Коробки из картона, бумаги и комбинированных материалов. Общие технические условия

ГОСТ 12303— 80 Пачки из картона, бумаги и комбинированных материалов. Общие технические условия

ГОСТ 14192—90 Маркировка грузов

ГОСТ 16446-2012 Комплемент сухой для реакции связывания комплемента. Технические условия

ГОСТ 22524—77 Пикнометры стеклянные. Технические условия.

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

ГОСТ 28085—89 Препараты биологические. Метод бактериологического контроля стерильности

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования и методы испытаний.

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования.

П р и м е ч а н и е – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части не затрагивающей эту ссылку.

3 Технические требования

3.1 Сыворотка должна соответствовать требованиям настоящего стандарта и производиться по технологическому регламенту.

3.2 По физико-химическим и биологическим свойствам сыворотка должна соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма
Внешний вид	Прозрачная, слегка опалесцирующая жидкость желтого цвета с розовым оттенком без хлопьев, осадка и посторонней примеси
Массовая доля глицерина, %	50 ± 5
Стерильность	Посевы на питательные среды не должны давать роста бактериальной микрофлоры в течение 10 сут при выдерживании в термостате при температуре (37,5 ± 0,5) °С и грибов при температуре (21 ± 1) °С
Гемолитические свойства	Не должна вызывать гемолиза эритроцитов барана
Активность, титр, не менее	1:1000

3.3 Упаковывание, маркирование

3.3.1 Сыворотку расфасовывают по 1 $см^3$ в стерильные ампулы из нейтрального стекла и запаивают.

На ампулы наносят маркировку с указанием:

- наименования организации-производителя;
- наименования сыворотки;
- номера серии;
- даты выпуска;
- количества сыворотки в ампуле, $см^3$;
- срока годности;
- надписи: «Для ветеринарного применения».

3.3.2 Ампулы с сывороткой упаковывают в картонные коробки по ГОСТ 12301 или пачки по ГОСТ 12303 с разделительными перегородками (прокладками), обеспечивающими их сохранность при транспортировании и хранении.

3.3.3 На каждую коробку наклеивают этикетку, на которой указывают:

- наименование организации-производителя и ее товарный знак;
- наименование сыворотки;
- количество ампул в коробке;
- количество сыворотки в ампуле, $см^3$;
- количество доз в ампуле;
- номер серии;
- дату выпуска;
- срок годности;
- титр;
- условия хранения;
- надпись: «Для ветеринарного применения»;
- обозначение настоящего стандарта;
- штриховой код;
- информацию о подтверждении соответствия;
- предупредительную надпись: «Разводить без учета содержания глицерина!».

3.3.4 Коробки с сывороткой упаковывают в картонные ящики по ГОСТ 9142 или аналогичные массой брутто не более 15 кг. Внутрь каждого ящика вкладывают контрольный лист с указанием:

- наименования сыворотки,
- номера серии,
- даты упаковки,
- фамилии или номера упаковщика.

3.3.5 Каждый ящик (транспортная тара) маркируют по ГОСТ 14192 с указанием манипуляционных знаков: «Хрупкое. Осторожно», «Ограничение температуры».

3.3.6 Маркировка, характеризующая упакованную продукцию, должна содержать следующую информацию:

- наименование организации-производителя и ее адрес (в том числе страну);
- наименование сыворотки;
- число коробок в ящике;

- номер серии;
- дату выпуска;
- условия хранения и перевозки;
- массу брутто;
- надпись: «Для ветеринарного применения».

4 Правила приемки

4.1 Каждая серия сыворотки должна быть принята (проверена) отделом, отвечающим за контроль качества готовой продукции организации- производителя в соответствии с нормативными документами государства, принявшего стандарт.

4.2 Серией сыворотки считают определенное количество сыворотки, полученное за один технологический цикл, одновременно представленное на контроль и оформленное одним документом о качестве.

4.3 В документе о качестве указывают:

- наименование организации-производителя;
- наименование сыворотки;
- номер серии;
- дату изготовления (месяц и год);
- объем серии;
- результаты испытания по показателям качества;
- срок годности (месяц и год);
- условия хранения;
- обозначение стандарта;
- номер и дату выдачи документа о качестве;
- заключение и подпись лица, выдавшего документ о качестве.

4.4 Для контроля качества сыворотки от каждой серии отбирают выборку. Из выборки выделяют среднюю пробу в количестве 40 ампул. 20 ампул с сывороткой используют для проведения испытания по показателям качества, указанным в таблице 1, а 20 ампул направляют в архив организации-производителя. Пробы в архиве хранят в течение срока годности.

4.5 Архивные образцы маркируют надписью «Архив», опечатывают и снабжают документом установленной формы с указанием:

- наименования сыворотки;
- номера серии;
- даты выпуска (месяц и год);
- даты отбора проб;
- объема серии;
- числа отобранных образцов;
- должности и подписи лица отобравшего пробы;
- срока годности (месяц и год);
- обозначения настоящего стандарта;
- срока хранения проб в архиве.

4.6 При неудовлетворительных результатах испытаний хотя бы по одному из показателей по нему проводят повторные испытания на удвоенном количестве проб сыворотки, взятой от той же серии и на удвоенном количестве материалов. Результаты повторных испытаний считают окончательными и распространяют на всю серию.

В случае неудовлетворительных результатов повторной проверки серию сыворотки считают не соответствующей требованиям настоящего стандарта, ее бракуют и уничтожают путем раздавливания ампул с последующим разведением содержимого ампул водой в соотношении 1 : 100 и сливом образующегося раствора в промышленную канализацию, о чем составляют соответствующий акт.

4.7 Контроль качества сыворотки, поступающей по рекламации, проводит организация-производитель, а при разногласиях в оценке качества между производителем и потребителем контроль проводит организация, уполномоченная в порядке, действующем на территории государства, принявшего стандарт.

5 Методы испытаний

5.1 Для определения внешнего вида, наличия посторонней примеси, хлопьев и осадка ампулы с сывороткой встряхивают и просматривают в проходящем свете.

Содержимое ампул должно представлять собой прозрачную, слегка опалесцирующую жидкость желтого цвета с розовым оттенком без хлопьев, осадка и посторонней примеси.

5.2 Определение массовой доли глицерина

5.2.1 Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения испытания применяют:

- пикнометр вместимостью 1—2 $см^3$ по ГОСТ 22524;
- баню водяную или термостат;
- термометр технический стеклянный ртутный со шкалой от 0 °С до 100 °С и ценой деления 1 °С по ГОСТ 28498;
- весы лабораторные аналитические;
- эксикатор по ГОСТ 25336;
- пипетки градуированные для отбора жидкости по ГОСТ 29227;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709, кипяченую или бидистиллированную.

5.2.2 Подготовка к испытанию

Пикнометр тщательно очищают хромовой смесью, промывают водой, ополаскивают спиртом, затем эфиром, высушивают продуванием воздуха или в сушильном шкафу и охлаждают в эксикаторе.

5.2.3 Проведение испытания

Пикнометр взвешивают на аналитических весах с погрешностью не более 0,0002 г. Наполняют его дистиллированной водой до метки, выдерживают на водяной бане или в термостате при температуре 20 °С в течение 20— 30 мин и вновь корректируют заполнение водой до метки. Затем пикнометр обтирают и взвешивают на аналитических весах. Освобождают пикнометр от воды, сушат, как указано выше, и заполняют испытуемой гемолитической сывороткой. Дальнейшие процедуры проводят так же, как при определении массы воды.

5.2.4 Обработка результатов

Плотность гемолитической сыворотки *d,* содержащей глицерин, г/$см^3$, вычисляют по формуле

$$d = \frac{m}{m_1}, \qquad (1)$$

где m — масса пробы сыворотки в объеме пикнометра, г;

m_1 — масса пробы воды в объеме пикнометра, г.

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое результатов трех параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,0008 г/$см^3$.

Плотность гемолитической сыворотки d должна составлять 1,115—1,145 г/$см^3$, что соответствует 45 % — 55 % массовой доли глицерина в сыворотке.

5.3 Определение стерильности

Стерильность сыворотки определяют по ГОСТ 28085.

Сыворотка должна быть стерильной.

5.4 Определение активности (титра) и гемолитических свойств

Активность гемолитической сыворотки определяют по показателю 100 %-ного гемолиза эритроцитов барана в гемолитической системе. Титрование гемолитической сыворотки производится комплементом для реакции связывания комплемента ГОСТ 16446 с титром 0,08 — 0,14 в гемолитической системе.

Титром гемолитической сыворотки следует считать наибольшее ее разведение (наименьшее количество), при котором в течение 10 мин при температуре 37 °С – 38 °С наступает полный (100 %-ный) гемолиз 0,2 $см^3$ 2,5 %-ной взвеси эритроцитов барана в присутствии 0,2 $см^3$ комплемента в разведении 1:20 в общем объеме жидкости 1,0 $см^3$.

Сыворотка должна характеризоваться полным отсутствием гемолиза эритроцитов барана в пробирке без комплемента.

5.4.1 Оборудование и реактивы

Для проведения испытания применяют:

- штативы;
- пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;
- стаканы лабораторные, колбы по ГОСТ 25336;
- колбы мерные вместимостью 100, 500 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770;
- пипетки вместимостью до 10 $см^3$ с ценой деления 0,1 $см^3$ по ГОСТ 29227;

- пипетки вместимостью 1 см^3 с ценой деления 0,01 см ^{3} по ГОСТ 29227 или дозаторы пипеточные;
- баню водяную;
- маркеры по стеклу;
- физиологический раствор pH 6,8—7,2.

5.4.2 Подготовка к испытанию

5.4.2.1 Подготовка разведений гемолитической сыворотки

Готовят исходное разведение гемолитической сыворотки 1:100 (0,1 см^3 гемолитической сыворотки и 9,9 см^3 физиологического раствора), из которого готовят разведения от 1:500 до 1:2000 (см. таблицу 2).

Таблица 2

Объем исходного разведения, см^3	Объем физиологического раствора, см^3	Общий объем, см^3	Получаемое разведение
0,2	0,8	1,0	1:500
0,2	1,3	1,5	1:750
0,2	1,8	2,0	1:1000
0,2	2,3	2,5	1:1250
0,2	2,8	3,0	1:1500
0,2	3,3	3,5	1:1750
0,2	3,8	4,0	1:2000

Разведения сыворотки приготовлены с учетом массовой доли в ней глицерина (50 %), поэтому при расчете количества сыворотки для постановки РСК следует исходить из ее титра, не учитывая содержание глицерина, то есть при титре сыворотки 1:1000 ее удвоенный титр будет 1:500, для приготовления которого следует взять 0,1 см^3 сыворотки и 49,9 см^3 физиологического раствора; при титре 1:1500 удвоенный титр 1:750 (0,1 см^3 сыворотки и 74,9 см^3 физиологического раствора) и т. д.

5.4.2.2 Подготовка 2,5 %-ной взвеси эритроцитов барана

Кровь у барана берут с утра до кормления из яремной вены во флакон со стеклянными (керамическими) бусами и интенсивно перемешивают круговыми движениями флакона в процессе взятия и в течение 7 мин после. Затем фильтруют через марлю и отмывают физиологическим раствором путем центрифугирования при 2500 — 3000 об/мин по 15 – 10 мин до полного обесцвечивания промывной жидкости, но не более четырех раз. Из осадка эритроцитов готовят 2,5 %-ную взвесь на физиологическом растворе.

5.5 Проведение испытания

5.5.1 По 0,2 см^3 каждого разведения сыворотки переносят в серологические пробирки с указанием разведений, начиная с наибольшего разведения (1:2000). Во все пробирки вносят по 0,2 см^3 комплемента в разведении 1:20, по 0,4 см^3 физиологического раствора и по 0,2 см^3 2,5 %-ной взвеси эритроцитов барана.

Одновременно в этот же штатив ставят три пробирки для контроля.

В пробирки вносят:

в первую:
- 0,2 см^3 гемолитической сыворотки в разведении 1:100;
- 0,6 см^3 физиологического раствора;
- 0,2 см^3 2,5 %-ной взвеси эритроцитов барана;

во вторую:
- 0,2 см^3 комплемента в разведении 1:20;
- 0,6 см^3 физиологического раствора;
- 0,2 см^3 2,5 %-ной взвеси эритроцитов барана;

в третью:
- 0,2 см^3 2,5 %-ной взвеси эритроцитов барана;
- 0,8 см^3 физиологического раствора.

В первой контрольной пробирке определяют гемолитические свойства сыворотки, во второй – гемолитические свойства комплемента, в третьей – резистентность эритроцитов барана (таблица 3).

Таблица 3

Компоненты	Дозы компонентов при разведении гемолитической сыворотки, $см^3$								Номера контрольных пробирок		
	1:100	1:500	1:750	1:1000	1:1250	1:1500	1:1750	1:2000	1	2	3
Гемолизин	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	–	–
Комплемент 1 : 20	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	–	0,2	–
Физиологический раствор	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,6	0,6	0,8
Эритроциты барана (2,5 %-ная взвесь)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Водяная баня 37 °С – 38 °С – 10 мин											
Примерный результат	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ЧГ	ЧГ	ОГ	ОГ	ОГ
Примечание – ПГ–полный гемолиз; ЧГ– частичный гемолиз; ОГ– отсутствие гемолиза.											

Штатив встряхивают и переносят в водяную баню на 10 мин при температуре 37°С – 38 °С. Штатив с пробирками извлекают из бани и немедленно проводят учет результатов реакций в проходящем свете.

5.5.2 Учет результатов

Сыворотку считают активной при титре не менее 1:1000 и при отсутствии гемолиза эритроцитов в контрольных пробирках.

6 Транспортирование и хранение

6.1 Гемолитическую сыворотку транспортируют всеми видами крытого транспорта.

Допускается транспортирование гемолитической сыворотки при температуре не выше 20 °С, при этом срок транспортирования не должен превышать более 5 сут.

6.2 Гемолитическую сыворотку хранят в чистом, сухом, темном помещении при температуре от 2 °С до 8 °С.

6.3 Срок годности гемолитической сыворотки – три года с даты изготовления. Датой изготовления считают дату расфасовки. Датой выпуска гемолитической сыворотки считают дату подписания документа о качестве.

УДК 612.398.12: 619. 006.354 МКС 11.220

Ключевые слова: сыворотка гемолитическая для реакции связывания комплемента, технические требования, правила приемки, методы испытаний, транспортирование и хранение

Подписано в печать 01.04.2014. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 1,40. Тираж 31 экз. Зак. 762

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

МКС 11.220

Поправка к ГОСТ 16445—2012 Сыворотка гемолитическая для реакции связывания комплемента. Технические условия

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 6.2	сухом	—

(ИУС № 2 2025 г.)

gost.e-ecolog.ru