МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

**ГОСТ 33280— 2015**

# Средства лекарственные для ветеринарного применения

# ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЛЕПТОСПИРОЗА ЖИВОТНЫХ

## Технические условия

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

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. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

**Сведения о стандарте**

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским государственным федеральным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ») и Федеральным казенным предприятием «Ставропольская биофабрика» (ФКП «Ставропольская биофабрика»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 29 мая 2015 г. № 77-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 |
|---|---|---|
| Беларусь | BY | Госстандарт Республики Беларусь |
| Казахстан | KZ | Госстандарт Республики Казахстан |
| Киргизия | KG | Кыргызстандарт |
| Россия | RU | Росстандарт |
| Таджикистан | TJ | Таджикстандарт |

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 5 июня 2015 г. № 557-ст введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном 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, 2015

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

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

**Средства лекарственные для ветеринарного применения**

# ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЛЕПТОСПИРОЗА ЖИВОТНЫХ

**Технические условия**

Medicine remedies for veterinary use. Vaccine against leptospirosis of animals. Specifications

**Дата введения — 2016—07—01**

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на вакцины против лептоспироза животных (далее — вакцины), предназначенные для профилактической иммунизации животных.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.0.004—90 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.008—76 Система стандартов безопасности труда. Биологическая безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.2.003—91 Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.3.002—75 Система стандартов безопасности труда. Процессы производственные. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.011—89 Система стандартов безопасности труда. Средства защиты работающих. Общие требования и классификация

ГОСТ 17.2.3.02—2014 Охрана природы. Атмосфера. Правила установления допустимых выбросов вредных веществ промышленными предприятиями

ГОСТ 6672—75 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ ISO 7218—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ ISO 7864—2011 Иглы инъекционные однократного применения стерильные

ГОСТ ISO 7886-1—2011 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

ГОСТ 8074—82 Микроскопы инструментальные. Типы, основные параметры и размеры. Технические требования

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

ГОСТ 9284—75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 9293—74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 10157—79 Аргон газообразный и жидкий. Технические условия

**Издание официальное**

ГОСТ 10733—98 Часы наручные и карманные механические. 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—96 Маркировка грузов

ГОСТ ИСО/МЭК 17025—2011 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ 17768—90 Средства лекарственные. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение

ГОСТ 18287—81 Алюминия гидрат окиси коллоидный. Технические условия

ГОСТ 24061—2012 Средства лекарственные биологические лиофилизированные для ветеринарного применения. Метод определения массовой доли влаги

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

ГОСТ 28085—2013 Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Метод бактериологического контроля стерильности

ГОСТ 29230—91 (ИСО 835-4—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 4. Пипетки выдувные

ГОСТ 31926—2013 Средства лекарственные для ветеринарного применения. Методы определения безвредности

ГОСТ 31929—2013 Средства лекарственные для ветеринарного применения. Правила приемки, методы отбора проб

Примечание — 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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. 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 Термины, определения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **производственный штамм:** Штамм, ведущий свое происхождение от колонии «*S*» формы, полученной на твердой питательной среде.

3.1.2 **инактивированная вакцина против лептоспироза животных:** Вакцина, содержащая в своем составе инактивированные штаммы патогенных лептоспир.

3.1.3 **темнопольная микроскопия:** Вид оптической микроскопии, в которой контраст изображения увеличивают за счет регистрации света, рассеянного изучаемым образцом.

3.1.4 **адъювант:** Вещество или комплекс веществ, входящее в состав вакцины или вводимое одновременно с вакциной, используемое для усиления иммунного ответа.

3.1.5 **серия вакцины:** Определенное количество вакцины, произведенной за один технологический цикл и оформленное одним документом о качестве.

3.1.6 **серогруппа:** Группа серологических вариантов (сероваров) лептоспир с родственной антигенной структурой.

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

РМА — реакция микроагглютинации.

ГОА — гидрат окиси алюминия.

## 4 Требования безопасности

4.2.1 По биологической безопасности вакцины должны соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.008.

4.2.2 Организация производственного процесса — в соответствии с требованиями ГОСТ 12.3.002, а производственное оборудование — в соответствии с ГОСТ 12.2.003.

4.2.3 Требования к обучению персонала безопасности труда — по ГОСТ 12.0.004.

4.2.4 Средства защиты работающих — по ГОСТ 12.4.011, воздух рабочей зоны должен соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.005.

4.2.5 Контроль за выбросами во внешнюю среду — в соответствии с ГОСТ 17.2.3.02.

4.2.6 Серии вакцин, не выдержавших контрольных испытаний, вакцин с истекшим сроком годности, а также вакцин, оставшихся во флаконах и ампулах после испытаний, обеззараживают автоклавированием в течение 1 ч при температуре (126 ± 2) °С и давлении 1,5 атм (151,99 кПа или 1,5 кгс/см$^2$) и утилизируют.

## 5 Технические требования

5.1 Вакцины представляют собой инактивированные формальдегидом производственные штаммы лептоспир, смешанные с гелем гидрата окиси алюминия в качестве адъюванта.

5.2 Вакцины выпускают в лиофилизированной или жидкой форме для иммунизации:

- свиней (содержит лептоспиры трех серогрупп);
- крупного рогатого скота, овец и коз (содержит лептоспиры четырех серогрупп)*.

5.3 Вакцины должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и изготавливаться по технологическому регламенту производства.

5.4 По показателям качества вакцины должны соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице 1.

Таблица 1

| Наименование показателя | Характеристика и норма | |
|---|---|---|
| | лиофилизированная форма | жидкая форма |
| Внешний вид, цвет | Сухая пористая масса от светло-желтого до белого цвета с серым оттенком | Прозрачная бесцветная жидкость с серо-белым осадком, легко разбивающимся при взбалтывании |
| Наличие посторонней примеси, изменение консистенции, нарушение целостности и укупорки ампул, флаконов | Не допускается | Не допускается |
| Время ресуспензирования, мин | 2—4 | — |
| Массовая доля влаги, % | От 1,0 до 4,0 | — |
| Концентрация водородных ионов, ед. pH | — | 7,4 ± 0,3 |
| Стерильность | Должны быть стерильными | |
| Безвредность:<br>- на белых мышах в тест-дозе 0,3 см$^3$<br>- морских свинках в тест-дозе 3,0 см$^3$ | Должны быть безвредными | |
| Антигенная активность | Должны быть активными | |

### 5.5 Фасование и лиофилизация

5.5.1 Вакцины, предназначенные для лиофилизации, расфасовывают по 5—10 см$^3$ в стерильные флаконы или по 4 см$^3$ в стерильные ампулы соответствующей вместимости. Вакцину замораживают и лиофилизируют. После лиофилизации ампулы с вакцинами заполняют азотом особой чистоты по ГОСТ 9293 или аргоном газообразным по ГОСТ 10157 (особой чистоты), или стерильным осушенным воздухом и запаивают. Флаконы с лиофилизированной вакциной укупоривают в сублиматоре резиновыми пробками и обжимают алюминиевыми колпачками.

Примечание — Допускаются другие объемы расфасовки вакцин.

* С учетом этиологической структуры лептоспироза в хозяйстве вакцины могут быть использованы для животных любого вида. Состав серогрупп лептоспир для изготовления вакцин может изменяться в соответствии с эпизоотической ситуацией.

5.5.2 Вакцину в жидкой форме расфасовывают по 50, 100 и 200 $см^3$ в стерильные флаконы соответствующей вместимости, которые плотно укупоривают резиновыми пробками и обжимают алюминиевыми колпачками.

5.5.3 Погрешность фасования в зависимости от объема вакцины составляет:

- для одного флакона (ампулы), содержащего до 5 $см^3$ включительно, — 8 %, для десяти флаконов — 2,5 %;
- для одного флакона, содержащего от 6 до 10 $см^3$, — 5 %, для десяти флаконов — 1,6 %;
- для одного флакона, содержащего 50, 100 и 200 $см^3$, — 3 %, для десяти флаконов — 0,9 %.

**5.6 Упаковка**

5.6.1 Флаконы (ампулы) с вакцинами упаковывают в картонные коробки по ГОСТ 12301 или пачки по ГОСТ 12303, или блистеры из полистирола или другого полимерного материала с наличием гнезд или перегородок, обеспечивающих сохранность вакцин при транспортировании.

В каждую коробку (пачку, блистер) вкладывают инструкцию по применению вакцины.

5.6.2 Коробки (пачки, блистеры) с вакцинами, а также флаконы, содержащие 50, 100 и 200 $см^3$, упаковывают в ящики из гофрированного картона по ГОСТ 9142 массой брутто не более 15 кг, которые при соблюдении правил транспортирования и хранения должны обеспечивать сохранность вакцин.

В каждый ящик вкладывают четыре — пять экземпляров инструкции по применению и упаковочный лист с указанием:

- наименования организации-производителя;
- наименования вакцины;
- количества коробок (флаконов, содержащих 50, 100 и 200 $см^3$) в ящике;
- номера серии;
- фамилии или номера упаковщика.

Примечание — Допускается не вкладывать упаковочный лист в транспортную тару.

**5.7 Маркировка**

5.7.1 Каждая упаковочная единица должна иметь маркировку, характеризующую вакцину и отвечающую требованиям нормативных документов, действующих на территории государства, принявшего стандарт.

5.7.2 На флаконы (ампулы) с вакцинами наклеивают этикетки с указанием:

- наименования и товарного знака организации-производителя;
- наименования вакцины;
- перечня серогрупп лептоспир, входящих в состав вакцины;
- объема вакцины во флаконе (ампуле), $см^3$;
- числа доз вакцины во флаконе (ампуле);
- лекарственной формы;
- номера серии;
- даты выпуска (месяца и года);
- срока годности (месяца, года);
- обозначения настоящего стандарта;
- надписи: «Для ветеринарного применения».

5.7.3 На флаконах с вакцинами, содержащими по 50, 100 и 200 $см^3$, дополнительно с информацией по 5.7.2 указывают:

- номер регистрационного удостоверения;
- способ применения;
- условия отпуска;
- условия хранения;
- штриховой код;
- информацию о подтверждении соответствия.

Примечание — На этикетку может быть нанесена дополнительная информация.

5.7.4 На коробки (пачки, блистеры) с вакцинами наносят маркировку с указанием:

- наименования и товарного знака организации-производителя, ее адреса (в том числе страны);
- наименования вакцины;
- перечня серогрупп лептоспир, входящих в состав вакцины;
- объема вакцины во флаконе (ампуле), $см^3$;
- числа доз вакцины во флаконе (ампуле);
- лекарственной формы;

- номера серии;
- даты выпуска (месяца и года);
- срока годности (месяца и года);
- обозначения настоящего стандарта;
- номера регистрационного удостоверения;
- способа применения;
- числа флаконов (ампул) в коробке (пачке, блистере);
- условий отпуска;
- условий хранения;
- штрихового кода;
- информации о подтверждении соответствия;
- надписи: «Для ветеринарного применения».

Примечание — Маркировка может содержать дополнительную информацию.

5.7.5 На ящики с вакциной (транспортную тару) наклеивают этикетку, на которой указывают:
- наименование и товарный знак организации-производителя, ее адрес (в том числе страну);
- наименование вакцины;
- номер серии;
- дату выпуска (месяц и год);
- срок годности (месяц и год);
- число коробок (пачек, блистеров) в ящике;
- число флаконов в ящике (для флаконов, содержащих 50, 100 и 200 $см^3$);
- условия хранения и транспортирования;
- обозначение настоящего стандарта;
- массу нетто;
- надпись: «Для ветеринарного применения».

5.7.6 На каждую единицу транспортной тары (ящик) наносят транспортную маркировку по ГОСТ 14192 с указанием манипуляционных знаков: «Хрупкое. Осторожно», «Пределы температуры», «Верх».

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

## 6 Правила приемки

6.1 Каждая серия вакцины должна быть принята (проверена) в организации-производителе отделом, отвечающим за проведение контроля качества продукции, в соответствии с ГОСТ 31929.

6.2 Каждую серию вакцины снабжают документом о качестве, в котором указывают:
- наименование организации-производителя, ее адрес и товарный знак;
- наименование вакцины;
- номер серии;
- дату изготовления (число, месяц и год);
- объем серии (в единицах объема или штуках);
- результаты испытания по показателям качества;
- срок годности (месяц, год);
- условия хранения;
- обозначение настоящего стандарта;
- номер и дату выдачи документа о качестве;
- заключение и подпись уполномоченного лица, выдавшего документ о качестве.

6.3 Для контроля качества вакцин от каждой серии отбирают выборку в соответствии с ГОСТ 31929. Из выборки в зависимости от объема расфасовки отбирают 30 флаконов (ампул), содержащих по 4—10 $см^3$ (лиофилизированная форма) и 10 флаконов, содержащих по 50,100 и 200 $см^3$ (жидкая форма), 15 и 5 шт. из которых соответственно используют для проведения испытания по показателям качества, указанным в таблице 1. Остальные 15 и 5 шт. при получении положительных результатов испытания по показателям качества направляют в архив отдела, отвечающего за контроль качества готовой продукции организации-производителя.

6.4 Архивные пробы маркируют надписью «Архив» и снабжают документом с указанием:
- наименования организации-производителя;
- наименования вакцины;

- номера серии;
- даты выпуска (месяца и года);
- даты отбора проб;
- объема серии (в единицах объема или штуках);
- числа отобранных проб;
- должности и подписи лица отобравшего пробы;
- срока годности (месяца и года);
- обозначения настоящего стандарта;
- срока хранения проб в архиве (месяца и года).

6.5 При неудовлетворительных результатах испытаний хотя бы по одному из показателей, проводят повторные испытания по этому показателю на удвоенном количестве проб вакцины, отобранных от той же серии и на удвоенном количестве материалов и животных. Результаты повторного испытания считаются окончательными и распространяются на всю серию.

6.6 В случае неудовлетворительных результатов повторного испытания серию вакцины считают не соответствующей требованиям настоящего стандарта, ее бракуют и уничтожают в соответствии с 4.2.6.

## 7 Методы испытаний

### 7.1 Условия выполнения испытаний

7.1.1 Общие требования проведения микробиологического анализа и работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности — по ГОСТ ISO 7218.

7.1.2 Общие требования к помещениям — по ГОСТ ISO 7218.

7.1.3 Требования к персоналу — по ГОСТ ISO 7218, ГОСТ ИСО/МЭК 17025.

К проведению испытаний допускаются квалифицированные сотрудники, имеющие опыт работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности, изучившие методики выполнения микробиологических работ.

### 7.2 Средства измерений, реактивы, посуда, материалы и животные

7.2.1 При проведении испытаний используют следующие средства измерений, реактивы, посуду и материалы:

- pH-метр любой марки, обеспечивающий измерение с точностью до 0,05 ед. pH, с разрешением 0,01 ед. pH, оснащенный ручным или автоматическим определителем температуры;
- часы наручные и карманные механические по ГОСТ 10733 или секундомер;
- термостат с температурой нагрева (37,0 ± 0,5) °С;
- термостат с температурой нагрева (28,0 ± 0,5) °С или термальная комната для культивирования лептоспир;
- микроскоп биологический марки МБИ по ГОСТ 8074;
- конденсор «темное поле»;
- осветитель с точечной лампой;
- шприцы инъекционные по ГОСТ ISO 7886-1;
- иглы инъекционные по ГОСТ ISO 7864;
- пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;
- штативы для пробирок;
- стекла предметные по ГОСТ 9284;
- стекла покровные по ГОСТ 6672;
- петлю бактериологическую;
- флаконы стеклянные различной вместимости;
- пипетки стеклянные мерные различной вместимости по ГОСТ 29230;
- пипетки одноканальные и многоканальные различного объема;
- пипетки пастеровские;
- наконечники для пипеток;
- пластины из органического стекла с лунками для постановки РМА;
- планшеты полистироловые 96-луночные с *U*-образным дном;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- раствор натрия хлорида 0,9 %-ный изотонический;
- алюминия гидрат окиси коллоидный 6 %-ный по ГОСТ 18287;
- штаммы лептоспир производственные;

- свинок морских массой от 350 до 400 г;
- мышей белых беспородных массой от 15 до 18 г;
- кроликов массой от 2,5 до 3,5 кг, ранее не иммунизированных вакцинами против лептоспироза животных.

Примечание — Недопустимо использование кроликов массой менее 2,5 кг и беременных самок.

7.2.2 Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками, а также реактивов, посуды и материалов по качеству не ниже указанных.

**7.3 Определение внешнего вида, цвета, наличия посторонней примеси, изменения консистенции, нарушение целостности и укупорки флаконов (ампул)**

Определение внешнего вида, цвета, наличия посторонней примеси и изменения консистенции (для лиофилизированных вакцин до и после ресуспензирования) проводят визуально, просматривая каждый флакон (ампулу) с вакциной. Одновременно проверяют нарушение целостности флаконов (ампул), плотность укупорки флаконов, качество запайки ампул и правильность маркировки.

**7.4 Определение времени ресуспензирования**

Для определения времени ресуспензирования в три флакона (ампулы) с лиофилизированной вакциной вносят дистиллированную воду или 0,9 %-ный изотонический раствор хлорида натрия в объеме, соответствующем объему вакцины до лиофилизации. После этого флаконы (ампулы) встряхивают и определяют время ресуспензирования вакцины с помощью наручных часов или секундомера. В течение 2—4 мин во флаконах (ампулах) должна образоваться однородная взвесь.

**7.5 Определение массовой доли влаги**

Массовую долю влаги в лиофилизированных вакцинах определяют по ГОСТ 24061.

**7.6 Определение концентрации водородных ионов (pH)**

Определение pH проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

**7.7 Определение стерильности**

Стерильность вакцин определяют в соответствии с ГОСТ 28085.

**7.8 Определение безвредности**

**7.8.1 Общие принципы**

Общие принципы определения безвредности — по ГОСТ 31926.

**7.8.2 Подготовка к испытанию**

7.8.2.1 Приготовление 1,2 %-ного раствора гидрата окиси алюминия

Для приготовления 1,2 %-ного раствора гидрата окиси алюминия берут 8 $см^3$ 0,9 %-ного изотонического раствора хлорида натрия и добавляют 2,0 $см^3$ 6 %-ного раствора гидрата окиси алюминия.

Срок хранения раствора при температуре 18°С—20 °С — не более одного месяца.

7.8.2.2 Получение объединенной пробы

Для испытания лиофилизированной вакцины берут три флакона (ампулы), ресуспензируют 1,2 %-ным раствором гидрата окиси алюминия, приготовленного по 7.8.2.1 до первоначального объема и переносят в стерильный флакон.

Из объединенной пробы в стеклянный флакон вместимостью 50 $см^3$ вносят 1 $см^3$ вакцины и добавляют 9 $см^3$ 1,2 %-ного раствора гидрата окиси алюминия по 7.8.2.1.

Для испытания жидкой вакцины берут три флакона. Из каждого флакона отбирают по 15—20 $см^3$ вакцины, переносят в стерильный флакон и перемешивают.

**7.8.3 Проведение испытания**

Из подготовленной по 7.8.2.2 объединенной пробы вакцины вводят по 0,3 $см^3$ внутрибрюшинно пяти белым мышам и по 3,0 $см^3$ подкожно трем морским свинкам. Наблюдают за животными в течение 10 сут.

**7.8.4 Обработка результатов**

Вакцину считают безвредной, если все животные остаются живыми и клинически здоровыми в течение срока наблюдения. На месте введения допускается образование ограниченного уплотнения.

**7.9 Определение антигенной активности**

**7.9.1 Подготовка к испытанию**

7.9.1.1 Получение культур лептоспир (антигенов)

Для получения антигенов берут производственные штаммы лептоспир и культивируют в течение пяти — десяти суток в термостате при температуре (28,0 ± 0,5) °С или в термальной комнате до накопления 60—100 подвижных лептоспир в поле зрения микроскопа при просмотре на предметном стекле капли культуры, накрытой покровным стеклом. При просмотре используют окуляры 8× или 10×, бинокулярную насадку 1,5× и объектив 40×. При этом общее увеличение составляет 480× или 600×. Допускается просматривать культуры без использования бинокулярной насадки, при этом увеличение составляет 320×—400×.

7.9.1.2 Получение сыворотки

Антигенную активность вакцин проверяют на пяти кроликах. Из подготовленной по 7.8.2.2 объединенной пробы вакцины однократно вводят в ушную вену кроликов: вакцину против лептоспироза свиней в объеме 0,60 см$^3$; вакцину против лептоспироза крупного рогатого скота, овец и коз — в объеме 0,75 см$^3$. Через 25 сут после введения вакцины у кроликов из ушной вены берут 5,0—8,0 см$^3$ крови и получают сыворотку.

### 7.9.2 Определение антигенной активности в РМА

Готовят разведения сыворотки, полученной по 7.9.1.2, в пробирках по схеме, приведенной в таблице 2.

Таблица 2 — Схема разведения сыворотки для РМА

| Номер пробирки | Объем, см$^3$ | | Разведение сыворотки | |
|---|---|---|---|---|
| | 0,9 %-ного раствора натрия хлорида | сыворотки | до смешивания с антигеном | после смешивания с антигеном |
| 1 | 4,8 | 0,2 | 1:25 | 1:50 |
| 2 | 1,0 | 1,0 из разведения 1:25 | 1:50 | 1:100 |
| 3 | 1,0 | 1,0 из разведения 1:50 | 1:100 | 1:200 |
| 4 | 1,0 | 1,0 из разведения 1:100 | 1:200 | 1:400 |
| 5 | 1,0 | 1,0 из разведения 1:200 | 1:400 | 1:800 |
| 6 | 1,0 | 1,0 из разведения 1:400 | 1:800 | 1:1600 |
| 7 | 1,0 | 1,0 из разведения 1:800 | 1:1600 | 1:3200 |

РМА ставят на пластинах из оргстекла с лунками. 0,1 см$^3$ каждого разведения сыворотки вносят в отдельный ряд лунок, состоящий из трех или четырех лунок (в зависимости от числа антигенов), и смешивают с 0,1 см$^3$ антигена, полученного по 7.9.1.1.

Контролем реакции служат лунки, содержащие смесь 0,1 см$^3$ каждого антигена с 0,1 см$^3$ 0,9 %-ного раствора натрия хлорида изотонического (три или четыре лунки), в которых лептоспиры должны оставаться подвижными без видимых изменений морфологии, признаков агглютинации и лизиса.

### 7.9.3 Определение антигенной активности в РМА микрометодом

7.9.3.1 Проведение испытания

РМА микрометодом ставят в 96-луночных полистироловых планшетах с *U*-образным дном. Готовят двукратные разведения сыворотки, полученной по 7.9.1.2, начиная с разведения 1 : 25. Для этого в первый ряд лунок вносят по 0,096 см$^3$ 0,9 %-ного раствора хлорида натрия изотонического и добавляют по 0,004 см$^3$ сыворотки. В лунки со второго по седьмой ряд вносят по 0,05 см$^3$ 0,9 %-ного раствора натрия хлорида изотонического. Из разведения сыворотки 1 : 25 после 4—5 кратного перемешивания вносят по 0,05 см$^3$ во второй ряд лунок. Затем после 4—5 кратного перемешивания вносят по 0,05 см$^3$ разведения сыворотки из второго ряда лунок в третий и т. д. Из последнего (седьмого) ряда лунок после добавления и перемешивания сыворотки удаляют 0,05 см$^3$. Наконечники на пипетках меняют при переходе от меньшего разведения к большему. Все разведения сыворотки вносят в три или четыре лунки в зависимости от числа антигенов.

После приготовления двукратных разведений сыворотки в каждую лунку вносят по 0,05 см$^3$ антигена, входящего в состав вакцины. Разведения сыворотки до и после смешивания с антигеном представлены в таблице 2.

Контролем реакции служит смесь 0,05 см$^3$ каждого антигена с 0,05 см$^3$ 0,9 %-ного изотонического раствора хлорида натрия, в которой лептоспиры должны оставаться подвижными без видимых изменений морфологии признаков агглютинации и лизиса.

Пластины (планшеты) с поставленной РМА по 7.9.2 или 7.9.3 осторожно встряхивают, помещают в термостат и выдерживают в течение одного часа при температуре (37,0 ± 0,5) °С.

**7.9.4 Учет результатов**

Реакцию учитывают на предметных стеклах под микроскопом с конденсором «темного поля», используя окуляр 10$^\times$, бинокулярную насадку 1,5$^\times$ и объектив 20$^\times$. При этом суммарное увеличение составляет 300$^\times$. Возможно использование окуляра 15$^\times$, тогда увеличение составит 450$^\times$.

Капли из лунок наносят на предметное стекло бактериологической петлей от большего разведения к меньшему и просматривают их без покровного стекла. После каждого антигена петлю прокаливают и охлаждают.

Реакцию оценивают в крестах по четырех балльной системе:

- четыре креста — агглютинированы 100 % лептоспир;
- три креста — агглютинированы 75 % лептоспир;
- два креста — агглютинированы 50 % лептоспир;
- один крест — агглютинированы 25 % лептоспир;
- минус — агглютинация отсутствует.

**7.9.5 Обработка результатов**

Вакцину считают активной, если не менее чем у четырех из пяти вакцинированных кроликов титр антител в сыворотке крови к лептоспирам всех серогрупп будет не ниже 1 : 400. Титром считают наибольшее разведение сыворотки, в котором реакция оценена не менее чем на два креста.

## 8 Транспортирование и хранение

8.1 Вакцину транспортируют всеми видами транспорта в соответствии с ГОСТ 17768.

8.2 Вакцины хранят при температуре от 2 °С до 8 °С в пределах срока годности.

8.3 Срок годности вакцины — 18 мес с даты выпуска. Датой выпуска вакцин считают дату подписания документа о качестве. Датой изготовления жидкой вакцины считают дату расфасовки, а лиофилизированной — дату окончания лиофилизации.

УДК 619:616.98:579.834.115:006.354 МКС 11.220

Ключевые слова: вакцины против лептоспироза животных, производственные штаммы лептоспир, антигенная активность, реакция микроагглютинации

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 25.08.2015. Подписано в печать 17.09.2015. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,30. Тираж 37 экз. Зак. 2993.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru