МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33459— 2015

Средства лекарственные для ветеринарного применения

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ДЕРМАТОФИТОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Общие 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 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

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 августа 2015 г. № 79-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
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 04 сентября 2015 г. № 1270-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33459–2015 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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Классификация 2
4 Технические требования 2
5 Требования безопасности 5
6 Правила приемки 6
7 Методы испытаний 6
8 Транспортирование и хранение 10
9 Указания по применению 11

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 ДЕРМАТОФИТОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Общие технические условия

Medicine remedies for veterinary use. Vaccines against dermatophytosis of animals. General specification.

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на живые и инактивированные вакцины против дерматофитозов животных (далее – вакцины), предназначенные для профилактики и терапии дерматофитозов животных.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие 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 Правила установления допустимых выбросов загрязняющих 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 9142–2014 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

ГОСТ 10733–98 Часы наручные и карманные механические. Общие технические условия

ГОСТ 10782– 85 Бутылки стеклянные для крови трансфузионных и инфузионных препаратов. 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

Издание официальное

ГОСТ 14192–96 Маркировка грузов

ГОСТ ИСО/МЭК 17025–2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

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

ГОСТ 18300–87[1] Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 21240–89 Скальпели и ножи медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

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 29112–91 Среды питательные плотные (для ветеринарных целей). Общие технические условия

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 Классификация

3.1 Вакцины подразделяют:

- на живые;
- инактивированные.

3.2 В зависимости от формы выпуска вакцины подразделяют:

- на жидкие;
- лиофилизированные.

3.3 В зависимости от назначения вакцины подразделяют:

- на вакцины для сельскохозяйственных животных (крупного рогатого скота, лошадей, верблюдов, овец и коз);
- пушных зверей;
- кроликов;
- непродуктивных животных (кошек, собак).

4 Технические требования

4.1 Вакцины должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и производиться по технологическим регламентам производства.

4.2 Вакцины представляют собой взвесь грибной биомассы (инактивированной или живой) или лиофилизированную массу аттенуированных культур грибов-дерматофитов с защитной средой.

[1] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 55878–2013 «Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный. Технические условия».

4.3 В состав вакцин в зависимости от назначения могут входить следующие виды грибов: *Trichophyton verrucosum, Trichophyton eguinum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton sarkisovii, Microsporum gypseum, Microsporum canis, Microsporum eguinum.*

Примечание – В зависимости от эпизоотической ситуации возможны изменения в видовом составе грибов, входящих в вакцины.

4.4 По показателям качества вакцины должны соответствовать требованиям, указанным в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Требования к качеству живых лиофилизированных вакцин

Наименование показателя	Характеристика и норма
Внешний вид и цвет	Сухая однородная масса пористой структуры от светло-серого до бежевого цвета
Наличие посторонней примеси, изменение консистенции, нарушение целостности и укупорки ампул (флаконов)	Не допускается
Массовая доля влаги, %	1,0–4,0
Время ресуспензирования, мин	2–4
Контаминация бактериальной и посторонней грибной микрофлорой	Не допускается
Общая концентрация микроконидий, млн/см^3	30–60
Концентрация жизнеспособных микроконидий[1], млн/см^3	20–60
Безвредность: - на белых мышах в тест-дозе 0,1 см^3 или - морских свинках в тест-дозе 0,5 см^3, или - кроликах в тест-дозе 1,0 см^3	Должны быть безвредными
Иммуногенная активность	Должны быть иммуногенными
[1] К концу срока годности допускается снижение концентрации жизнеспособных микроконидий до 10 млн/см^3, что соответствует минимальной иммунизирующей дозе вакцины.	

Таблица 2 – Требования к качеству жидких инактивированных вакцин

Наименование показателя	Характеристика и нормы
Внешний вид, цвет	Однородная взвесь серовато-белого или желтовато-коричневого цвета
Наличие механической примеси и других посторонних включений	Не допускается
Стерильность	Должны быть стерильными
Концентрация водородных ионов, ед. pH	7,0–7,6
Концентрация микроконидий или грибных элементов[1], млн/см^3	20–120
Безвредность	Должны быть безвредными
Иммуногенная активность	Должны быть иммуногенными
[1] Грибные элементы – фрагменты мицелия, артроспоры, хламидоспоры и другие элементы гриба.	

4.3 Фасование и лиофилизация

4.3.1 Жидкую вакцину расфасовывают по 1 – 4 см^3 в стерильные стеклянные (полимерные) флаконы или ампулы, по 10 – 250 см^3 – в стерильные стеклянные (полимерные) флаконы, по 450 – 500 см^3 – в стерильные стеклянные градуированные бутылки по ГОСТ 10782 или стерильные полимерные флаконы соответствующей вместимости.

Флаконы и бутылки укупоривают резиновыми пробками и обжимают алюминиевыми колпачками, ампулы запаивают.

4.3.2 Для лиофилизации жидкую вакцину расфасовывают по 1 – 10 см^3 (от 1 до 40 доз) в стерильные стеклянные флаконы (ампулы) соответствующей вместимости. Расфасованную вакцину замораживают и лиофилизируют.

Примечание – Количество доз во флаконе (ампуле) может меняться по согласованию с потребителем.

После лиофилизации флаконы (ампулы) заполняют инертным газом (азотом по ГОСТ 9293 или аргоном по ГОСТ 10157) или стерильным осушенным воздухом. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и обжимают алюминиевыми колпачками, а ампулы запаивают.

Погрешность фасования в зависимости от объема составляет для одной упаковочной единицы, содержащей:

- до 4 $см^3$ – 8 %, для десяти упаковочных единиц – 2,5 %;
- от 10 до 25 $см^3$ включ. – 5 %, для десяти упаковочных единиц – 1,6 %;
- от 25 до 100 $см^3$ включ. – 3 %, для десяти упаковочных единиц – 0,9 %;
- от 100 до 250 $см^3$ включ. – 1,5 %, для десяти упаковочных единиц – 0,5 %;
- от 450 до 500 $см^3$ включ. – 1,0 %, для десяти упаковочных единиц – 0,3 %.

4.6 Упаковка

4.6.1 Флаконы (ампулы), содержащие вакцину до 50 $см^3$ включительно, упаковывают в картонные коробки по ГОСТ 12301 или пачки из картона по ГОСТ 12303, или полистироловые коробки с разделительными перегородками, обеспечивающими сохранность вакцин при транспортировании и хранении. В каждую упаковочную единицу вкладывают инструкцию по применению вакцины.

Примечания

1 Вакцина может быть упакована в комплекте с разбавителем для вакцин против дерматофитозов животных в количестве, соответствующем числу доз вакцины во флаконе.

2 Флаконы (ампулы), содержащие вакцину до 50 $см^3$ включительно, могут быть упакованы в блистеры.

4.6.2 Коробки, пачки, блистеры, а также флаконы, содержащие не менее 50 $см^3$ вакцины, упаковывают в ящики из гофрированного картона по ГОСТ 9142 или другие ящики, обеспечивающие сохранность вакцины при транспортировании и хранении. В каждый ящик вкладывают упаковочный лист с указанием:

- наименования организации-производителя;
- наименования вакцины;
- числа коробок в ящике;
- номера или фамилии упаковщика.

Масса ящиков с вакциной – не более 15 кг.

4.7 Маркировка

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

4.7.2 На ампулы и флаконы, содержащие до 20 $см^3$ включительно, наносят маркировку с указанием:

- наименования и товарного знака организации-производителя;
- наименования вакцины;
- объема вакцины;
- числа доз во флаконе;
- номера серии;
- даты выпуска;
- срока годности;
- надписи «Для ветеринарного применения».

Примечание – Маркировка может содержать дополнительную информацию.

4.7.3 На флаконы, содержащие от 20 до 500 $см^3$ вакцины, наносят маркировку с указанием:

- наименования организации-производителя, ее адреса и товарного знака;
- наименования вакцины;
- номера серии;
- даты выпуска;
- лекарственной формы;
- обозначения настоящего стандарта;
- номера регистрационного удостоверения;

- срока годности;
- способа применения;
- числа доз во флаконе;
- объема вакцины во флаконе;
- условий отпуска;
- условий хранения;
- штрихового кода;
- информации о подтверждении соответствия;
- предупредительных надписей;
- надписи «Для ветеринарного применения».

Примечание – Маркировка может содержать дополнительную информацию.

4.7.4 На коробки (пачки, блистеры) с вакциной наносят маркировку с указанием:
- наименования организации-производителя, ее адреса и товарного знака;
- наименования вакцины;
- номера серии;
- даты выпуска;
- лекарственной формы;
- обозначения настоящего стандарта;
- номера регистрационного удостоверения;
- срока годности;
- способа применения;
- числа доз во флаконе (ампуле);
- объема вакцины во флаконе (ампуле);
- числа флаконов (ампул) в коробке (пачке, блистере);
- условий отпуска;
- условий хранения;
- штрихового кода;
- информации о подтверждении соответствия;
- предупредительных надписей;
- надписи «Для ветеринарного применения».

Примечание – На этикетку может быть нанесена дополнительная информация.

4.7.5 На ящики с вакциной (транспортную тару) наносят маркировку с указанием:
- наименование и товарный знак организации-производителя, ее адрес (в том числе страну);
- наименования вакцины;
- номера серии;
- даты выпуска;
- срока годности;
- числа коробок (пачек, блистеров) в ящике;
- условий хранения и транспортирования;
- надписи: «Для ветеринарного применения».

4.7.6 На каждый ящик наносят транспортную маркировку по ГОСТ 14192 с указанием манипуляционных знаков: «Хрупкое. Осторожно», «Пределы температуры», «Верх».

4.7.7 Нанесение транспортной маркировки и маркировки, характеризующей упакованную продукцию, на одной стороне транспортной тары не допускается.

5 Требования безопасности

5.1 По биологической безопасности вакцина должна соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.008.

5.2 К работе по производству вакцины допускаются лица, прошедшие обучение безопасности труда в соответствии с требованиями ГОСТ 12.0.004.

5.3 Организация процесса производства вакцины должна соответствовать требованиям ГОСТ 12.3.002, а требования к производственному оборудованию должны соответствовать ГОСТ 12.2.003.

5.4 Средства защиты работающих – по ГОСТ 12.4.011, а воздух рабочей зоны должен соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.005.

5.5 Контроль за выбросами во внешнюю среду должен соответствовать требованиям ГОСТ 17.2.3.02.

5.6 Обеззараживание вакцины с истекшим сроком годности, серий, не выдержавших контрольных испытаний, а также вакцины, оставшейся во флаконах после испытаний, проводят автоклавированием в течение 1 ч при температуре (126 ± 2) °С и давлении 1,5 атм (151,99 кПа или 1,5 кгс/см^2). Утилизация обеззараженной вакцины не требует специальных мер безопасности.

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 Серией вакцины считают определенное количество вакцины, произведенное за один технологический цикл и оформленное одним документом о качестве.

6.3 В документе о качестве указывают:

- наименование организации-производителя;
- наименование вакцины;
- номер серии;
- дату изготовления;
- объем серии (в единицах объема или штуках);
- результаты испытания по показателям качества;
- срок годности;
- условия хранения;
- обозначение настоящего стандарта;
- номер и дату выдачи документа о качестве;
- заключение и подпись уполномоченного лица, выдавшего документ о качестве.

6.4 Для контроля качества вакцины от каждой серии отбирают выборку в соответствии с ГОСТ 31929. Половину отобранных флаконов (ампул) используют для проведения контроля качества, а другую половину направляют в архив отдела, отвечающего за контроль качества готовой продукции организации-производителя, после получения положительных результатов испытания по показателям качества и хранят в течение срока годности.

6.5 Архивные пробы маркируют надписью «Архив», и снабжают документом с указанием:

- наименования вакцины;
- номера серии;
- даты выпуска;
- даты отбора проб;
- объема серии;
- числа отобранных проб;
- должности и подписи лица, отобравшего пробы;
- срока годности;
- обозначения настоящего стандарта;
- срока хранения проб в архиве.

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

В случае неудовлетворительных результатов повторного испытания, серию вакцины считают не соответствующей требованиям настоящего стандарта, ее бракуют и уничтожают в соответствии с 5.6.

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 микробиологических работ.

7.2 Аппаратура, материалы, реактивы, посуда

7.2.1 Для проведения испытаний вакцины используют:

- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- иглы инъекционные однократного применения по ГОСТ ISO 7864;
- камеру счетную Горяева;
- кроликов массой от 2,0 до 2,5 кг;
- мышей белых беспородных массой от 20 до 25 г;
- пипетки Пастера;
- пипетки стеклянные градуированные выдувные по ГОСТ 29230 вместимостью 1, 5 и 10 $см^3$;
- пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;
- разбавитель для вакцин против дерматофитозов животных (далее разбавитель);
- раствор натрия хлорида изотонический 0,9 %-ный с pH (7,0±0,2);
- свинок морских массой от 300 до 350 г;
- скальпель по ГОСТ 21240 или металлическую щетку, или наждачную бумагу, или скальпель;
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 18300;
- стекла покровные для микропрепаратов по ГОСТ 6672;
- стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284;
- сусло-агар по ГОСТ 29112;
- телят возраста от 1 до 4 мес.
- флаконы стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 200 $см^3$;
- часы наручные или секундомер по ГОСТ 10733;
- шприцы инъекционные однократного применения стерильные по ГОСТ ISO 7886-1 вместимостью 1 и 5 $см^3$;
- штаммы возбудителей дерматофитозов вирулентные (контрольные): *T. verrucosum, T. equinum, M. canis, M. gypseum*;
- штатив для пробирок.

7.2.2 Указанные в 7.2.1 животные должны быть ранее не иммунизированными вакцинами против дерматофитозов животных, не болевшими дерматофитозами и не имеющими признаков заболевания.

7.2.3 Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, а также аппаратуры, реактивов и материалов по качеству не ниже указанных.

7.3 Определение внешнего вида

7.3.1 Для определения внешнего вида все флаконы (ампулы) с вакциной просматривают визуально. Наличие механической примеси и других посторонних включений в лиофилизированных вакцинах проверяют в ресуспензированном виде. Флаконы (ампулы) с ресуспензированной вакциной встряхивают и просматривают в проходящем свете. Одновременно проверяют прочность укупорки, целостность флаконов (ампул) и правильность маркировки.

7.4 Определение времени ресуспензирования

7.4.1 Проведение испытания

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 высушивания, указанному на маркировке ампулы (флакона). После этого флаконы (ампулы) встряхивают и определяют время ресуспензирования вакцины с помощью наручных часов или секундомера по ГОСТ 10733.

7.5 Определение массовой доли влаги

Массовую долю влаги определяют в лиофилизированных вакцинах согласно ГОСТ 24061.

7.6 Определение стерильности живых вакцин или наличия контаминации микробной и грибной микрофлорой инактивированных вакцин

Стерильность живых вакцин или наличие бактериальной и грибной контаминации в инактивированных вакцинах проверяют согласно ГОСТ 28085.

7.7 Определение общей концентрации микроконидий или грибных элементов (для инактивированных вакцин)

7.7.1 Проведение испытания

Общую концентрацию микроконидий (общую концентрацию элементов грибов) определяют в трех флаконах (ампулах) с вакциной путем подсчета их в камере Горяева. Подсчет проводят в вакцине без разведения, либо разводят стерильно из расчета одна доза в 5–10 $см^3$ разбавителя или дистиллированной воды для удобства подсчета с соответствующим пересчетом.

После тщательного перемешивания вакцину набирают пипеткой Пастера и заполняют обе сетки камеры Горяева. Подсчет проводят в пяти больших квадратах каждой сетки камеры: четырех угловых и центральном. Количество микроконидий (элементов грибов) определяют в двух сетках камеры. Если между значениями, полученными в обеих сетках, наблюдается разница более чем 30 микроконидий (элементов грибов), то вновь заполняют камеру и проводят повторный подсчет.

Примечание – При подсчете микроконидий фрагменты мицелия не учитывают.

7.7.2 Учет результатов

Общую концентрацию микроконидий (элементов грибов) X, млн/$см^3$, подсчитывают по формуле

$$X = \frac{\overline{X}}{0{,}02} \cdot 10^3 \cdot k, \qquad (1)$$

где $\overline{X}$ – среднеарифметическое число микроконидий по двум сеткам камеры Горяева, шт.;

0,02 – объем заполнения камеры Горяева, $мм^3$;

10^3 – пересчет объема вакцины на 1 $см^3$;

k – коэффициент, учитывающий степень разведения вакцины.

За результат принимают среднеарифметическое значение, полученное по трем флаконам (ампулам) с вакциной.

7.8 Определение концентрации жизнеспособных микроконидий

7.8.1 Проведение испытаний

Концентрацию жизнеспособных микроконидий определяют в трех флаконах (ампулах) с вакциной. При проверке количества жизнеспособных микроконидий используют вакцину, подготовленную по 7.7.1. Испытания проводят через 30–40 мин после ресуспензирования.

На каждый флакон (ампулу) берут пять пробирок, в каждую из которых бюреткой или пипеткой вносят по 4,5 $см^3$ разбавителя или 0,9 %-ного раствора натрия хлорида. Содержимое флакона (ампулы) с ресуспензированной вакциной тщательно перемешивают встряхиванием, затем новой пипеткой отбирают 0,5 $см^3$ взвеси и переносят в первую пробирку, затем таким же образом во вторую и т. д., т. е. готовят ряд последовательных разведений от 10^{-1} до 10^{-5}. Из пятой пробирки пипеткой отбирают 1,0 $см^3$ взвеси и засевают в две чашки Петри с сусло-агаром по 0,5 $см^3$ в каждую. Посев из каждого флакона делают в трех повторностях, то есть по шесть чашек Петри на каждый флакон. Легким покачиванием чашек Петри засеянную дозу вакцины распределяют равномерно по поверхности питательной среды. Засеянные чашки помещают в термостат при температуре (26 ± 1) °С на 7 – 12 сут и подсчитывают количество выросших колоний.

7.8.2 Обработка результатов

Концентрацию жизнеспособных микроконидий в вакцине *Y*, млн/см^3, рассчитывают по формуле

$$Y = \frac{\sum n}{6 \cdot 0,5} \cdot 10^5 \cdot z, \quad (2)$$

где Σn – число колоний, выросших в шести чашках Петри, шт.;

6 – число засеянных чашек Петри;

0,5 – объем засеваемой вакцины, см^3;

10^5 – степень разведения вакцины;

z – пересчет на одну иммунизирующую дозу, равную 1 см^3.

За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение по трем флаконам (ампулам).

7.9 Определение безвредности

7.9.1 Общие принципы испытания безвредности – по ГОСТ 31926.

7.9.2 Подготовка к испытанию

7.9.2.1 Подготовка проб жидких вакцин

Из флаконов (ампул) с жидкой вакциной готовят объединенную пробу, объемом достаточным для проведения испытания. Число отобранных для испытания ампул (флаконов) зависит от содержания в них вакцины и выбранного вида животного.

7.9.2.2 Подготовка проб лиофилизированных вакцин

Для проведения испытания лиофилизированных вакцин их ресуспензируют до рабочего разведения из расчета одна доза вакцины в 1 см^3 разбавителя. Далее готовят объединенную пробу, отбирая из каждого флакона (ампулы) равные объемы вакцины.

7.9.3 Проведение испытания

Подготовленную объединенную пробу вакцины вводят подкожно в область спины десяти белым мышам в дозе 0,1 см^3 или шести морским свинкам внутримышечно с наружной стороны бедра в дозе 0,5 см^3, или трем кроликам внутримышечно с наружной стороны бедра в дозе 4,0 см^3. За животными наблюдают в течение десяти суток.

7.9.4 Обработка результатов

Вакцину считают безвредной, если все животные остаются живыми и клинически здоровыми в течение срока наблюдения.

7.10 Определение иммуногенной активности

7.10.1 Иммуногенную активность вакцин проверяют путем вакцинации животных с последующим заражением вирулентным штаммом и учетом числа заболевших и незаболевших животных. Для инактивированных вакцин допускается применение альтернативного метода контроля иммуногенной активности по содержанию антигена (элементов гриба).

7.10.2 Подготовка к испытанию

7.10.2.1 Вакцину для испытания готовят по 7.9.2.

7.10.2.2 Подготовка культур вирулентных штаммов для заражения

Для заражения используют культуры вирулентных штаммов, выращенные в пробирках со скошенным сусло-агаром в течение 12–30 сут при температуре 37 °С – 38 °С. Культуру смывают, внося в пробирку 5 см^3 стерильной дистиллированной воды, интенсивно встряхивают для получения споровой взвеси. Из пробирки берут пробу и подсчитывают концентрацию спор в камере Горяева по 7.7.1.

7.10.3 Проведение испытаний

7.10.3.1 Иммуногенную активность проверяют в каждой первой серии вакцины, произведенной из первой рабочей расплодки[1], полученной из главного посевного материала производственного

[1] Рабочая расплодка (*Production seed*) представляет собой культуру гриба, предназначенную только для производства серий вакцины.

штамма[1], а затем периодически в каждой десятой серии вакцины. Проверку иммуногенной активности вакцин проводят на морских свинках или кроликах, или телятах.

7.10.3.2 Проверка иммуногенной активности на морских свинках

Вакцину вводят десяти морским свинкам внутримышечно с наружной стороны бедра в объеме 0,1 $см^3$ (шерсть на месте инъекции не выстригают, а обрабатывают 70° этиловым спиртом). Десять морских свинок используют в качестве контроля.

Через 10–14 сут инъекцию повторяют в той же дозе в бедренные мышцы другой конечности. Через 20–30 сут после второй инъекции иммунизированных и контрольных животных заражают гомогенизированной вирулентной культурой штамма *T.verrucosum* или другой (в зависимости от испытуемой вакцины), подготовленной по 7.10.1.2, накожно в пояснично-крестцовую область. Шерсть на месте аппликации культуры предварительно выстригают на площади 4 × 4 см и кожу скарифицируют металлической щеткой или наждачной бумагой, или скальпелем. Заражающая доза – 5 × 105 споровой взвеси. Для заражения используют пипетку или шприц. Нанесенную культуру тщательно втирают в кожу шпателем. Срок наблюдения за животными – 20–25 сут.

7.10.3.3 Проверка иммуногенной активности на кроликах

Вакцину вводят двукратно четырем кроликам в дозе 1,0 $см^3$ с интервалом 10–14 сут. Трех кроликов не иммунизируют и используют в качестве контроля. Через 20 –30 сут после второй инъекции опытных и контрольных животных кроликов заражают гомогенизированной вирулентной культурой *T.verrucosum* или другой (в зависимости от испытуемой вакцины), подготовленной по 7.10.1.2, накожно в область лопатки или спины. Участок кожи для заражения готовят по 7.10.2.2. Заражающая доза – 1×10^6 споровой взвеси. Для заражения используют пипетку или шприц. Нанесенную культуру тщательно втирают в кожу шпателем. Срок наблюдения за животными – 20–25 сут.

7.10.3.4 Проверка иммуногенной активности на телятах

Вакцину вводят двукратно пяти телятам внутримышечно в область ягодичных мышц в дозе 1,0 $см^3$ с интервалом 10–14 сут. Два теленка используют в качестве контроля.

Через 10–14 сут после второй инъекции на месте введения вакцины на поверхности кожи телят должна образоваться специфическая локализованная корочка. Через один месяц после второй инъекции пять опытных (иммунизированных) и двух контрольных (не иммунизированных) телят заражают гомогенизированной вирулентной культурой *T.verrucosum* или другой (в зависимости от испытуемой вакцины), подготовленной по 7.10.1.2, путем втирания в предварительно выстриженный и скарифицированный участок кожи площадью 5 × 5 см в дозе 5×10^6 споровой взвеси. Наблюдение за животными ведут в течение 30–35 сут.

7.10.4 Обработка результатов

Вакцину считают выдержавшей испытания, если после заражения из десяти иммунизированных морских свинок не заболели трихофитозом восемь, из четырех кроликов не заболели три, а из пяти иммунизированных телят не заболели четыре при условии заболевания всех контрольных животных.

Примечание – У иммунизированных животных допускается слабое шелушение в виде перхоти, гиперемия, выпадение волоса и последующая более темная пигментация кожного покрова.

Клиническое проявление болезни подтверждается лабораторными исследованиями патологического материала из очага: микроскопией и выделением субкультуры дерматофита. Субкультуру выделенного дерматофита высевают на сусло-агар и чашки Петри уколом одновременно с культурой, которая была использована для заражения в целях подтверждения их идентичности.

8 Транспортирование и хранение

8.1 Вакцины транспортируют всеми видами транспортам в соответствии с ГОСТ 17768.

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

8.3 Срок годности вакцин – 18 мес с даты выпуска. Датой выпуска вакцин считают дату подписания документа о качестве. Датой изготовления вакцин считают дату расфасовки (для лиофилизированных вакцин – дату окончания лиофилизации).

[1] Главный посевной материал (*Master seed*) представляет собой лиофилизированную в ампулах исходную генерацию производственного штамма, предназначенную для длительного хранения и обладающую проверенными стабильными свойствами на протяжении всего срока хранения.

9 Указания по применению

Вакцины применяют в ветеринарной практике для профилактики и терапии дерматофитозов животных в соответствии с инструкциями по применению, утвержденными в порядке, установленном на территории государства, принявшего стандарт.

УДК 619:616.98:579.834.115:006.354 МКС 11.220

Ключевые слова: вакцины против дерматофитозов, безвредность, иммуногенная активность, заражение, концентрация микроконидий и грибных элементов

Редактор *М.Ж. Будажапова*
Технический редактор *А.Б. Заварзина*
Корректор *В.Г. Смолин*
Компьютерная верстка *Д.Е. Першин*

Сдано в набор 24.09.2015. Подписано в печать 8.10.2015. Формат 60x841/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,70. Тираж 31 экз. Зак. 3388.

Набрано в ООО «Академиздат»
enin@academizdat.ru

Издано и отпечатано во
ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

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