ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 58569— 2019

НАБОР КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ МЕТОДОМ ИММУНОДИФФУЗИИ

Технические условия

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Федеральным казенным предприятием «Курская биофабрика — фирма «БИОК» (ФКП «Курская биофабрика») и Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 454 «Охрана жизни и здоровья животных и ветеринарно-санитарная безопасность продуктов животного происхождения и кормов»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 1 октября 2019 г. № 855-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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 (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2019

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 Термины, определения и сокращения 2
4 Условия выполнения испытаний и требования безопасности 2
5 Оборудование, материалы, реактивы 3
6 Технические требования 3
7 Правила приемки 5
8 Методы испытаний 6
9 Транспортирование и хранение 9
Библиография 10

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

НАБОР КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ МЕТОДОМ ИММУНОДИФФУЗИИ

Технические условия

Kit for the animal's brucellosis diagnosis by method of immunodiffusion. Specifications

Дата введения — 2020—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на набор компонентов для диагностики бруцеллеза животных (крупного и мелкого рогатого скота, свиней, северных оленей) методом иммунодиффузии (далее — набор). Набор предназначен для выявления в сыворотке крови указанных животных антител к специфическому антигену *S*-бруцелл.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

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

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

ГОСТ 12.4.009 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

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

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

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9142 Ящики из гофрированного картона. Общие технические условия

ГОСТ 14192 Маркировка грузов

ГОСТ ISO/IEC 17025 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ 17206 Агар микробиологический. Технические условия

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

Издание официальное

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

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

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

ГОСТ 33781 Упаковка потребительская из картона, бумаги и комбинированных материалов. Общие технические условия

ГОСТ 34105—2017 Животные. Лабораторная диагностика бруцеллеза. Серологические методы

ГОСТ Р 51314 Колпачки алюминиевые и комбинированные для укупорки лекарственных средств. Общие технические условия

ГОСТ Р 52682 Средства лекарственные для ветеринарного применения. Термины и определения

ГОСТ Р 52683 Средства лекарственные для ветеринарного применения. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение

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 заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если изменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ 34105, ГОСТ Р 52682, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **Международная стандартная бруцеллезная сыворотка:** Бруцеллезная сыворотка, принятая Всемирной организацией здравоохранения животных (МЭБ) в качестве международного стандарта для калибровки национальных стандартных сывороток.

3.1.2 **стандартный образец сыворотки антибруцелла абортус:** Лиофилизированная бруцеллезная сыворотка, откалиброванная по активности относительно Международной стандартной бруцеллезной сыворотки.

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

ОПС антиген — бруцеллезный олигополисахаридный антиген;

РИД — реакция иммунодиффузии в геле агара;

СБП — сыворотка бруцеллезная преципитирующая;

ОБТК — отдел биологического и технологического контроля.

4 Условия выполнения испытаний и требования безопасности

4.1 Условия выполнения испытаний

4.1.1 Требования к персоналу — по ГОСТ ISO/IEC 17025.

4.1.2 Персонал должен владеть правилами работы в лаборатории, знать санитарно-гигиенические нормы, правила охраны труда, пожарной безопасности и электробезопасности.

4.2 Требования безопасности

4.2.1 Общие требования безопасности при проведении работ — согласно ГОСТ 12.1.008.

4.2.2 Средства защиты работающих должны соответствовать требованиям ГОСТ 12.4.011.

4.2.3 Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

4.2.4 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и должно быть оснащено средствами пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

4.2.5 Обучение персонала безопасности труда — в соответствии с ГОСТ 12.0.004.

4.2.6 Утилизация наборов, не прошедших контроль, а также с истекшим сроком годности не требует специальных мер безопасности.

5 Оборудование, материалы, реактивы

5.1 Требования к оборудованию — по ГОСТ ISO/IEC 17025.

5.2 Для проведения испытаний применяют следующее средства измерений, оборудование, вспомогательные материалы и реактивы:

- набор одноканальных пипеточных дозаторов с варьируемыми объемами доз: 0,005—0,040; 0,020—0,200; 0,040—0,200; 0,1—1,0; 0,2—1,0 $см^3$;
- наконечники для дозаторов вместимостью 0,2 и 1,0 $см^3$;
- пипетки градуированные по ГОСТ 29230;
- холодильник, обеспечивающий поддержание температуры от 2 °С до 10 °С;
- термостат, обеспечивающий поддержание температуры от 20 °С до 50 °С;
- баня водяная;
- насос вакуумный (в том числе водоструйный);
- игла препаровальная;
- осветитель настольный с пределом поворота фонаря вокруг горизонтальной и вертикальной осей 0°—360° и источником света — лампой В/Ватт—8/20;
- цилиндры мерные по ГОСТ 1770;
- колбы стеклянные по ГОСТ 1770;
- чашки биологические (Петри) размером 100 мм с крышками ЧБН-2 по ГОСТ 25336 или одноразовые;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
- штамп-пробойник для формирования лунок в агаре;
- сыворотка антибруцелла абортус, стандартный образец (см. [1]);
- 0,9 %-ный раствор хлористого натрия;
- сыворотка иерсиниозная;
- сыворотка крупного рогатого скота нормальная;
- сыворотка мелкого рогатого скота нормальная;
- сыворотка свиней нормальная.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками не ниже указанных. Допускается использование посуды одноразового применения.

6 Технические требования

6.1 Набор должен соответствовать требованиям настоящего стандарта и изготавливаться в соответствии с технологическим регламентом производства, утвержденным организацией-производителем в установленном порядке.

6.2 Комплектация набора

6.2.1 В состав набора входят следующие компоненты:

- ОПС антиген — два флакона, содержащие по 3 $см^3$ антигена;
- СБП — три флакона, содержащие по 8 $см^3$ сыворотки;
- агар — один флакон, содержащий 9,6 г;
- хлористый натрий — четыре флакона, содержащие по 25,5 г.

Набор рассчитан на проведение 1000 исследований.

6.2.2 Возможны другие варианты комплектации набора, в зависимости от объема (массы) расфасованных компонентов. При этом независимо от числа флаконов с компонентами их общее количество (объем, масса) должно соответствовать указанному в 6.2.1.

6.3 Набор компонентов по органолептическим, физическим, химическим и биологическим свойствам должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма	Метод испытания
ОПС антиген		
Внешний вид	Прозрачная жидкость с допустимым желтоватым оттенком и незначительной опалесценцией	По 8.2.1
Стерильность	Должен быть стерильным	По 8.2.2
Активность	ОПС антиген должен давать в РИД четкую линию преципитации со стандартным образцом сыворотки антибруцелла абортус в разведении не менее 1:2	По 8.2.3
Специфичность	ОПС антиген должен давать положительную РИД с сывороткой бруцеллезной преципитирующей и отрицательную РИД с иерсиниозной сывороткой и нормальными сыворотками крови крупного рогатого скота, мелкого рогатого скота и свиней	По 8.2.4
СБП		
Внешний вид	Опалесцирующая жидкость светло-желтого цвета или с розоватым оттенком. Допускается наличие небольшого осадка белка, легко разбивающегося при встряхивании	По 8.3.1
Активность	СБП должна иметь в РИД активность не ниже 1:4 и при этом формировать с ОПС антигеном линии преципитации, которые в течение 48 ч не соединяются между собой при наличии между лунками с СБП лунки, заполненной нормальной сывороткой крупного рогатого скота	По 8.3.2
Агар		По 8.4
Хлористый натрий		По 8.5

6.4 Упаковка

6.4.1 ОПС антиген расфасовывают по 1—6 $см^3$ в стеклянные флаконы вместимостью от 1 до 10 $см^3$, СБП — по 4—24 $см^3$ в стеклянные флаконы вместимостью от 5 до 25 $см^3$ с расчетом, что извлекаемый объем жидкости должен быть не менее указанного. Агар расфасовывают по 0,8—9,6 г в стеклянные флаконы вместимостью от 2 до 20 $см^3$. Хлористый натрий расфасовывают по 8,5—102 г в стеклянные флаконы вместимостью от 8 до 100 $см^3$. Флаконы плотно закрывают резиновыми пробками и обкатывают алюминиевыми колпачками по ГОСТ 51314. Допускается упаковка агара и хлористого натрия во флаконы из непрозрачного полиэтилена с винтовой горловиной соответствующей вместимости.

Погрешность фасования должна составлять:

- при расфасовке компонентов до 5 $см^3$ включительно: для одной упаковки — ±8 %, для 10 упаковок — ±2,5 %;
- при расфасовке компонентов свыше 5 до 25 $см^3$: для одной упаковки — ±5 %, для 10 упаковок — ±1,6 %;
- при расфасовке компонентов до 5 г включительно: для одной упаковки — ±4 %, для 10 упаковок — ±1,3 %;
- при расфасовке компонентов свыше 5 до 100 г включительно: для одной упаковки — ±2 %, для 10 упаковок — ±0,6 %;
- при расфасовке компонентов свыше 100 г: для одной упаковки — ±0,6 %, для 10 упаковок — ±0,2 %.

6.4.2 Флаконы с компонентами укладывают в картонные коробки или пачки по ГОСТ 33781 с разделительными перегородками, обеспечивающими их сохранность. В каждую коробку вкладывают инструкцию по применению набора. Допускаются иные виды упаковки, обеспечивающие сохранность и целостность компонентов.

6.4.3 Картонные коробки (пачки) упаковывают в ящики по ГОСТ 9142 или другие аналогичные. Упаковку осуществляют в соответствии с ГОСТ Р 52683. Масса брутто — не более 15 кг. Каждый ящик должен быть снабжен перегородками или прокладками, обеспечивающими неподвижность и целостность

коробок (пачек). Внутрь каждого ящика вкладывают инструкцию по применению и упаковочный лист с указанием:

- наименования организации-производителя, ее адреса и товарного знака;
- наименования набора;
- числа коробок в ящике;
- номера серии набора;
- даты упаковки;
- фамилии и номера упаковщика.

6.5 Маркировка

6.5.1 Флаконы с компонентами набора маркируют несмываемой краской по стеклу или наклеивают этикетки с указанием:

- наименования организации-производителя, ее адреса и товарного знака;
- наименования компонента;
- номера серии;
- даты производства (месяца и года);
- срока годности (надписи: «годен до»),
- количества компонента во флаконе ($см^3$ или г);
- надписи «Для ветеринарного применения».

6.5.2 На каждую коробку (пачку) наносят маркировку с указанием:

- наименования, адреса, телефона и товарного знака организации-производителя;
- наименования набора;
- числа компонентов в наборе;
- количества каждого компонента во флаконе;
- числа исследований;
- номера серии;
- даты производства (месяца и года);
- срока годности (надписи: «годен до»);
- условий применения;
- условий отпуска;
- условий хранения;
- надписи «Для ветеринарного применения»;
- штрихового кода (при наличии);
- обозначения настоящего стандарта.

На коробку (пачку) с набором может быть нанесена дополнительная информация.

В каждую коробку (пачку) вкладывают инструкцию по применению.

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

6.5.4 Маркировка ящика (транспортной упаковки), характеризующая упакованную продукцию, должна содержать:

- наименование и адрес организации-производителя;
- товарный знак организации-производителя;
- наименование набора;
- номер серии;
- дату производства (месяц, год);
- срок годности (надписи: «годен до»);
- условия хранения и транспортирования;
- надпись «Для ветеринарного применения»;
- массу брутто.

7 Правила приемки

7.1 Каждая серия набора должна быть принята в организации-производителе отделом, отвечающим за контроль качества готовой продукции в соответствии с ГОСТ 31929.

7.2 После проведения испытаний по показателям качества каждую серию набора снабжают документом о качестве, в котором указывают:

- наименование и адрес организации-производителя, товарный знак;
- наименование набора;
- номер серии;
- объем серии (в штуках);
- дату производства (месяц, год);
- состав набора;
- количество каждого компонента ($см^3$ или г);
- результаты испытаний по показателям качества;
- срок годности (надпись: «годен до»);
- обозначение настоящего стандарта;
- номер документа о качестве и дату его выдачи;
- подпись уполномоченного лица организации-производителя, выдавшего документ о качестве.

7.3 Для контроля качества от каждой серии методом случайного отбора отбирают шесть наборов: для архивных образцов ОБТК — четыре набора, для проведения испытаний по показателям качества — два набора. Пробы направляют в архив после получения положительных результатов испытаний по показателям качества и хранят в течение срока годности набора.

7.4 Архивные пробы маркируют надписью «Архив» и снабжают документом установленной формы по ГОСТ 31929 с указанием:

- наименования организации-производителя;
- наименования набора;
- номера серии;
- даты производства (месяца и года);
- даты отбора проб,
- объема серии (в штуках);
- числа отобранных проб;
- должности и подписи лица, отобравшего пробы;
- срока годности (надписи: «годен до»);
- обозначения настоящего стандарта.

7.5 При неудовлетворительных результатах испытания хотя бы по одному из показателей проводят повторные испытания по этому показателю на удвоенном числе проб набора, взятых от той же серии. Результаты повторных испытаний считают окончательными и распространяют на всю серию.

7.6 В случае неудовлетворительных результатов повторных испытаний серию набора считают не соответствующей требованиям настоящего стандарта, ее бракуют и утилизируют. Утилизация набора не требует специальных мер безопасности.

8 Методы испытаний

8.1 Принцип реакции иммунодиффузии и схема постановки

Принцип реакции иммунодиффузии заключается в том, что помещенные в лунки, вырезанные в геле агара, растворимый ОПС антиген и антитела положительной сыворотки диффундируют и при взаимодействии образуют нерастворимый комплекс, который визуально проявляется в виде линии преципитации в геле агара.

Для повышения чувствительности метода РИД-диагностики общепринята схема постановки, предусматривающая возможность слияния полос преципитации, образуемых испытуемыми сыворотками крови животных, с контрольными полосами преципитации, образуемыми контрольными положительными сыворотками (см. рисунок 1). Поэтому в две противоположные периферические лунки розетки вносят СБП, а пробы исследуемых сывороток (1, 2, 3 и 4) вносят в оставшиеся четыре периферические лунки розетки (см 8.2.4). ОПС антиген вносят в центральную лунку розетки.

Реакция считается положительной, если между лункой с испытуемой сывороткой и лункой с ОПС антигеном образуется полоса преципитации, которая соединяется с контрольной линией преципитации (исследуемая сыворотка 3), или контрольная линия преципитации образует изгиб, формирующий начало линии преципитации испытуемой сыворотки с ОПС антигеном (исследуемая сыворотка 2).

Реакция считается отрицательной, если между лункой с испытуемой сывороткой и лункой с ОПС антигеном полоса преципитации не образуется (исследуемые сыворотки 1 и 4).

В соответствии с ГОСТ 34105—2017 (пункт 7.6.4) при получении положительного результата в РИД животное признают больным бруцеллезом.

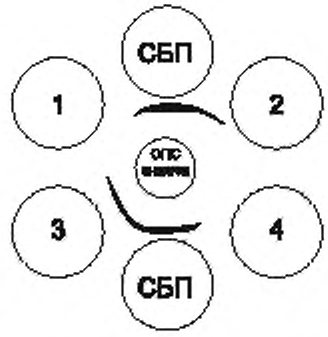

Рисунок 1 — Схема постановки и учет результатов РИД

8.2 Контроль ОПС антигена

8.2.1 Определение внешнего вида

Для определения внешнего вида ОПС антигена, наличия примесей каждый флакон просматривают визуально в проходящем свете.

ОПС антиген должен представлять собой прозрачную жидкость с допустимым желтоватым оттенком и незначительной опалесценцией. Одновременно определяют целостность флаконов, качество укупорки, правильность этикетирования. Флаконы должны быть без посторонних примесей, прочно укупорены, без трещин.

8.2.2 Определение стерильности

Определение стерильности проводят по ГОСТ 28085.

В питательных средах с посевами не должно быть визуальных признаков роста микрофлоры. ОПС антиген должен быть стерильным.

8.2.3 Определение активности ОПС антигена

Сущность метода заключается в выявлении в реакции иммунодиффузии специфических антител к ОПС антигену в стандартном образце сыворотки антибруцелла абортус, предварительно разведенном в два раза. В качестве стандартной сыворотки допускается использовать Международную стандартную бруцеллезную сыворотку (см. [2]).

8.2.3.1 Подготовка 0,8 %-ного агара

Взвешивают 8,5 г хлористого натрия и 0,8 г агара, смесь переносят в стеклянную колбу по ГОСТ 1770 вместимостью 500 см^3, приливают 100 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709, отмеренной цилиндром по ГОСТ 1770. Смесь кипятят на водяной бане до полного расплавления агара.

8.2.3.2 Подготовка чашек Петри

Чашки Петри располагают на горизонтальной поверхности, установленной по уровню.

В чашки Петри ЧБН-2 вносят стеклянной пипеткой по ГОСТ 29230 по 20—22 см^3 расплавленного агара для получения слоя толщиной 2,8—3,2 мм.

Примечание — При использовании других чашек Петри (например, одноразовых) количество вносимого расплавленного агара должно обеспечивать получение слоя толщиной 2,8—3,2 мм.

После окончательного застывания агара чашки Петри закрывают крышками и помещают в холодильник с температурой от 2 °С до 10 °С, хранят не более 5 сут.

В геле агара в чашке Петри делают отверстия (лунки) с использованием штампа-пробойника, не допуская отслоения геля от дна чашки, прорезают две розетки, каждая из которых состоит из семи лунок: одна лунка в центре диаметром 3 мм, остальные шесть лунок диаметром 5 мм по окружности, расстояние между центральной и периферическими лунками — 3 мм. Образовавшиеся диски геля удаляют из лунок канюлей, соединенной с вакуумным (водоструйным) насосом, или препаровальной иглой.

8.2.3.3 Подготовка предварительных разведений стандартного образца сыворотки антибруцелла абортус

Содержимое одной ампулы стандартного образца сыворотки антибруцелла абортус растворяют в 0,9 %-ном растворе хлористого натрия в соответствующем объеме, указанном на этикетке ампулы. Затем стандартный образец сыворотки антибруцелла абортус разводят в два раза 0,9 %-ным раствором хлористого натрия.

Пример — К 0,2 см^3 стандартного образца сыворотки антибруцелла абортус добавляют 0,2 см^3 0,9 %-ного раствора хлористого натрия (получают разведение 1:2).

8.2.3.4 Постановка реакции

В центральные лунки розеток вносят 0,02 см^3 ОПС антигена. В три периферийные лунки, расположенные через одну, вносят по 0,04 см^3 сыворотки: цельную СБП; стандартный образец сыворотки антибруцелла абортус и стандартный образец сыворотки антибруцелла абортус, разведенный в два раза. В оставшиеся три свободные лунки (через одну) вносят по 0,04 см^3 0,9 %-ного раствора хлористого натрия. Чашку Петри после внесения компонентов помещают во влажную камеру (эксикатор) на 48 ч при температуре от 18 °С до 26 °С.

8.2.3.5 Учет результатов

Учет результатов РИД проводят визуально с использованием осветителя в косом проходящем свете через 24 и 48 ч после постановки реакции.

В обеих розетках СБП и стандартный образец сыворотки антибруцелла абортус должны образовывать линии преципитации с ОПС антигеном через 24 ч. Линия преципитации между лунками с ОПС антигеном и стандартным образцом сыворотки антибруцелла абортус, разведенным в два раза, должна образовываться через 24 или 48 ч.

8.2.4 Определение специфичности ОПС антигена

Сущность метода заключается в выявлении в РИД специфических антител к ОПС антигену в СБП при отсутствии реакции ОПС антигена с заведомо отрицательными (нормальными) сыворотками крови животных и с иерсиниозной сывороткой.

8.2.4.1 Подготовка 0,8 %-ного агара по 8.2.3.1.

8.2.4.2 Подготовка чашки Петри по 8.2.3.2.

8.2.4.3 Постановка реакции

В центральные лунки розеток вносят 0,02 см^3 ОПС антигена. В две противоположные периферийные лунки вносят по 0,04 см^3 СБП. В остальные четыре периферийные лунки вносят по 0,04 см^3 иерсиниозной сыворотки и нормальных сывороток крупного рогатого скота, мелкого рогатого скота и свиней. Чашку Петри после внесения компонентов помещают во влажную камеру (эксикатор) на 48 ч при температуре от 18 °С до 26 °С.

8.2.4.4 Учет результатов

Учет результатов РИД проводят визуально с использованием осветителя в косом проходящем свете через 24 и 48 ч после постановки реакции.

В обеих розетках линии преципитации между лунками с ОПС антигеном и СБП должны образовываться через 24 ч. Между лунками с ОПС антигеном и иерсиниозной сывороткой, а также между лунками с ОПС антигеном и нормальными сыворотками крупного рогатого скота, мелкого рогатого скота и свиней линии преципитации должны отсутствовать при учете реакции через 24 и 48 ч.

8.3 Контроль СБП

8.3.1 Определение внешнего вида

Для определения внешнего вида компонента, наличия примесей каждый флакон просматривают визуально в проходящем свете.

СБП должна представлять собой опалесцирующую жидкость светло-желтого цвета или с розоватым оттенком. Допускается наличие небольшого осадка белка, легко разбивающегося при встряхивании. Одновременно определяют целостность флаконов, качество укупорки, правильность этикетирования. Флаконы должны быть без посторонних примесей, прочно укупорены, без трещин.

8.3.2 Определение активности СБП

Сущность метода заключается в определении титра специфических антител в СБП в РИД и контроле максимально допустимой активности СБП.

8.3.2.1 Подготовка 0,8 %-ного агара по 8.2.3.1.

8.3.2.2 Подготовка чашки Петри по 8.2.3.2.

8.3.2.3 Постановка реакции

В центральные лунки двух розеток вносят по 0,02 см^3 ОПС антигена.

В одной из розеток в четыре периферийные рядом расположенные лунки вносят по 0,04 см^3 СБП: цельную, разведенную в два раза, в четыре раза, в восемь раз. В оставшиеся две свободные лунки вносят по 0,04 см^3 0,9 %-ного раствора хлористого натрия.

Во второй розетке в две периферийные лунки, расположенные через одну, вносят по 0,04 см^3 цельной СБП. В периферийную лунку, находящуюся между заполненными СБП лунками, вносят 0,04 см^3 сыворотки крупного рогатого скота нормальной. В оставшиеся три свободные лунки вносят по 0,04 см^3 0,9 %-ного раствора хлористого натрия.

Чашку Петри после внесения компонентов помещают во влажную камеру (эксикатор) на 48 ч при температуре от 18 °С до 26 °С.

8.3.2.4 Учет результатов

Учет результатов РИД проводят визуально с использованием осветителя в косом проходящем свете через 24 и 48 ч после постановки реакции.

В первой розетке СБП в цельном виде и в разведении 1:2 должна давать четкую линию преципитации с ОПС антигеном, формируемую в течение 24 ч, СБП в разведении 1:4 должна формировать линию преципитации (или изгиб линии преципитации) в течение 48 ч. В разведении 1:8 СБП не должна формировать линию преципитации с ОПС антигеном при учете реакции через 48 ч.

Во второй розетке линии преципитации, формируемые СБП с ОПС антигеном, при наблюдении в течение 48 ч не должны соединяться между собой возле лунки с нормальной сывороткой крупного рогатого скота.

Не допускается к выпуску СБП, имеющая в РИД активность ниже 1:4 или избыточно активная СБП, формирующая с ОПС антигеном линии преципитации, которые в течение 48 ч соединяются между собой при наличии между лунками с СБП лунки, заполненной нормальной сывороткой крупного рогатого скота.

8.4 Контроль агара

Контроль агара выполняют по ГОСТ 17206.

8.5 Контроль хлористого натрия

Контроль хлористого натрия выполняют по ГОСТ 4233.

9 Транспортирование и хранение

9.1 Наборы транспортируют в соответствии с требованиями ГОСТ Р 52683 всеми видами транспорта с учетом правил перевозок, действующих на этих видах транспорта, при температуре от 2 °С до 8 °С.

9.2 Допускается транспортировать наборы при температуре не выше 25 °С в течение 15 сут.

9.3 Наборы хранят в темном помещении в упаковке производителя при температуре от 2 °С до 8 °С в пределах срока годности.

9.4 Срок годности набора — 2 года от даты производства. Датой производства считают дату комплектации.

9.5 Набор после вскрытия можно использовать в течение 30 сут при соблюдении условий хранения.

Библиография

[1] ТУ 9388-102-0044185-96 Сыворотка антибруцелла абортус, стандартный образец.

[2] Стандарты качества и руководства МЭБ для ветеринарных лабораторий: Инфекционные болезни (OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories: Infectious Diseases./OIE, 2nd ed.)

УДК 619:579.62:006.354 ОКС 11.220

Ключевые слова: диагностика, бруцеллез животных, реакция иммунодиффузии (РИД), ОПС антиген

БЗ 11—2019/12

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 03.10.2019. Подписано в печать 21.10.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,70.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru