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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33871— 2016

Средства лекарственные для ветеринарного применения

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Метод определения активности в реакции гемагглютинации (РГА)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным 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 июля 2016 г. № 89-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
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 8 сентября 2016 г. № 1096-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33871—2016 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2018 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 (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2016

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 Термины и определения 2
4 Метод определения активности в реакции гемагглютинации 2

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 ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Метод определения активности в реакции гемагглютинации (РГА)

Biological medicine remedies for veterinary use. Vaccines against viral diseases of animals.
Method of determination of activity

Дата введения — 2018—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на вакцины против вирусных болезней животных и устанавливает метод определения активности в реакции гемагглютинации.

Примечание — Метод может быть использован для обнаружения и идентификации вирусов.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 975—88 Глюкоза кристаллическая гидратная. Технические условия

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

ГОСТ 3145—84 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 6038—79 Реактивы. *D*-глюкоза. Технические условия

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 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 22280—76 Реактивы. Натрий лимоннокислый 5,5-водный. Технические условия

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

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

ГОСТ 25377—2015 Иглы инъекционные многократного применения. Технические условия

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

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.

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **гемагглютинация:** Способность вируса адсорбироваться на поверхности эритроцитов, сопровождающаяся их склеиванием.

3.2 **гемолиз эритроцитов:** Разрушение эритроцитов крови с выделением в окружающую среду гемоглобина.

4 Метод определения активности в реакции гемагглютинации

4.1 Сущность метода

Сущность метода заключается в способности гемагглютинирующих вирусов агглютинировать эритроциты определенных видов животных или человека в определенном диапазоне температуры и pH среды.

Примечание — Вид, возраст, пол донора, концентрация эритроцитов и температурный режим постановки реакции зависят от исследуемого вируса.

4.2 Аппаратура, реактивы, посуда, материалы и животные

4.2.1 Для определения активности в реакции гемагглютинации применяют:

- весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1;
- часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145;
- термостат, способный поддерживать температуру (37,0 ± 0,5) °С;
- центрифугу лабораторную;
- растворы антисептические;
- раствор натрия хлорида 0,9 %-ный изотонический с pH (7,2 ± 0,2) ед. pH;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- натрий лимоннокислый 3-замещенный по ГОСТ 22280;
- гепарин с активностью 5 тыс. ЕД/см^3;
- глюкозу по ГОСТ 975 или ГОСТ 6038;
- натрий хлористый по ГОСТ 4233;
- колбы мерные различной вместимости по ГОСТ 1770;
- пробирки вакуумные для взятия крови с антикоагулянтом;
- шприцы инъекционные однократного применения стерильные по ГОСТ ISO 7886-1 вместимостью 1 см^3 или шприцы многократного применения по ГОСТ 22967;
- иглы инъекционные однократного применения стерильные по ГОСТ ISO 7864 или иглы многократного применения по ГОСТ 25377;
- пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;
- пипетки стеклянные градуированные выдувные по ГОСТ 29230 вместимостью 1, 5 и 10 см^3;
- микродозаторы автоматические переменного объема;
- штатив для пробирок;
- планшет для иммунобиологических реакций;
- животных:
- петухов;
- цыплят;
- кур;
- мышей белых;
- крыс белых;
- свинок морских;
- кроликов;
- поросят;
- овец;
- телят.

Примечание — Для проведения исследований могут использоваться другие животные-доноры.

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

4.3 Подготовка к исследованию

4.3.1 Приготовление растворов антикоагулянтов

4.3.1.1 Приготовление раствора лимоннокислого натрия

Для приготовления 200 $см^3$ раствора 5 г натрия лимоннокислого 3-замещенного вносят в мерную колбу и доводят объем раствора 0,9 %-ным изотоническим раствором хлорида натрия до 200 $см^3$.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 8 °С не более 1 мес.

4.3.1.2 Приготовление раствора Альсевера

В мерной колбе растворяют 24,6 г глюкозы, 9,6 г натрия лимоннокислого 3-замещенного и 5,04 г натрия хлористого в 1,2 $дм^3$ дистиллированной воды.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 8 °С не более 3 мес.

4.3.2 Приготовление 0,9 %-ного изотонического раствора хлорида натрия

В мерной колбе растворяют 9 г хлорида натрия, доводя объем раствора водой для инъекций до 1 $дм^3$. Раствор фильтруют, разливают в стеклянные (полимерные) флаконы по 100 и 250 $см^3$ и стерилизуют при температуре 110 °С — 120 °С в течение 15—20 мин или текучим паром при температуре 100 °С в течение 30 мин. pH раствора после стерилизации от 5,0 до 7,0 ед. pH.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 8 °С не более 1 года.

4.3.3 Приготовление 1 %-ной суспензии эритроцитов

4.3.3.1 Забор крови

Кровь берут, соблюдая правила антисептики у здоровых животных из благополучных по инфекционным болезням пунктов выращивания. Кровь берут шприцами однократного или многократного применения из сердца взрослых лабораторных животных, из яремной вены у крупных животных, из подкрыльцовой вены петухов. Кровь переносят в пробирки с антикоагулянтами. Кровь можно брать в вакуумные пробирки с антикоагулянтом.

Антикоагулянты добавляют в пробирку (или шприц) перед взятием крови из расчета: раствора лимоннокислого натрия и крови — в соотношении 1:2; раствор Альсевера и крови — в соотношении 1:1 соответственно.

Гепарин используют из расчета 0,2 $см^3$ жидкого гепарина (с активностью 5 тыс. ЕД/$см^3$) или 0,2 мг сухого гепарина на 100 $см^3$ крови.

Эритроциты с растворами антикоагулянтов можно хранить при температуре от 2 °С до 4 °С до появления признаков гемолиза.

4.3.3.2 Приготовление суспензии эритроцитов

Для получения суспензии эритроцитов их за 2—4 ч до использования отмывают 0,9 %-ным изотоническим раствором хлорида натрия. Обработку повторяют 3—4 раза, каждый раз осаждая эритроциты центрифугированием по 10 мин при 1,5—2 тыс. об/мин. После последнего отмывания надосадочная жидкость должна быть бесцветной и прозрачной. Из осадка эритроцитов, который принимают за 100 %-ную суспензию, готовят суспензию соответствующей концентрации (чаще 1 %-ной) на 0,9 %-ном изотоническом растворе хлорида натрия.

Для получения 1 %-ной суспензии смешивают одну часть (по объему) осадка эритроцитов с 99 частями 0,9 %-ного изотонического раствора хлорида натрия.

Концентрация суспензии эритроцитов зависит от вируса, с которым ставится реакция.

Хранят приготовленную суспензию эритроцитов при температуре от 2 °С до 8 °С до появления признаков гемолиза эритроцитов.

4.4 Проведение исследования

В лунки планшета для иммунологических реакций вносят по 0,25 $мм^3$ 0,9 %-ного изотонического раствора хлорида натрия и готовят двукратные разведения вакцины (вируса), начиная с 1:2 до 1:4096 и более. Для этого в первую лунку автоматическим дозатором вносят 0,25 $мм^3$ вакцины (вируса), трижды перемешивают с помощью пипетки и переносят 0,25 $мм^3$ во вторую лунку и так далее до необходимого разведения. Из последней лунки удаляют 0,25 $мм^3$ раствора в антисептический раствор. В каждую лунку добавляют 0,25 $мм^3$ суспензии эритроцитов. Одновременно ставят контроль эритроцитов на спонтанную агглютинацию. Для этого в четыре лунки вносят 0,25 $мм^3$ 0,9 %-ного изотонического раствора хлорида натрия и 0,25 $мм^3$ суспензии эритроцитов. Планшет осторожно встряхивают и выдерживают при комнатной температуре в течение 1—2 ч.

4.5 Учет результатов

Учет результатов проводят, если во всех лунках, использованных для контроля спонтанной агглютинации, эритроциты осели в виде «пуговки».

Реакцию оценивают положительно при оседании эритроцитов в виде выраженного «зонтика», отрицательно — в виде «пуговки».

За активность вакцины (вируса) принимают ее наибольшее разведение, дающее четко выраженную агглютинацию в виде «зонтика». Активность выражают в $\log_2$ (логарифм по основанию 2).

Примечание — Получение сомнительных результатов может быть связано с индивидуальными особенностями эритроцитов доноров.

УДК 619:616.98:578.8:615.371:006.354

МКС 11.220
65.020.30

Ключевые слова: средства лекарственные для ветеринарного применения, вакцины против вирусных болезней животных, активность, реакция гемагглютинации, гемолиз эритроцитов

Редактор *А.Э. Попова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 12.09.2016. Подписано в печать 14.09.2016. Формат $60^1/_8$. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,70. Тираж 31 экз. Зак. 2153.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта.

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

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

gost.e-ecolog.ru