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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33275— 2015

Средства лекарственные для ветеринарного применения

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ОСПЫ ПТИЦ

Технические условия

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—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 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 (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 18 июня 2015 г. № 47)

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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 31 августа 2015 г. № 1219-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33275—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, 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, определения и сокращения 2
4 Технические требования 2
5 Требования безопасности 4
6 Правила приемки 5
7 Методы испытаний 6
8 Транспортирование и хранение 10

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

Средства лекарственные для ветеринарного применения

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ОСПЫ ПТИЦ

Технические условия

Biological medicine remedies for veterinary use. Vaccines against fowl pox. Specifications

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

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

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 Правила установления допустимых выбросов загрязняющих веществ промышленными предприятиями

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 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

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

ГОСТ 10733—79 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

Издание официальное

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

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

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—82 Иглы инъекционные многократного применения. Технические условия

ГОСТ 28083—2012 Средства лекарственные биологические лиофилизированные для ветеринарного применения. Метод контроля вакуума в ампулах и флаконах

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

ГОСТ 29230—91 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 **СПФ-эмбрионы [цыплята]:** Эмбрионы [цыплята], свободные от специфических патогенных микроорганизмов.

3.1.2 **аттенуированный штамм:** Штамм патогенного микроорганизма, подвергшийся любому воздействию, полностью лишенный вирулентности либо сохранивший остаточную вирулентность, способный вызывать формирование иммунитета у животных.

3.1.3 **реверсибельность штамма:** Способность штамма аттенуированного микроорганизма к возврату вирулентности.

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

$ЭИД_{50/см^3}$ — 50 %-ная эмбриональная инфекционная доза для куриных эмбрионов.

$ИД_{50/см^3}$ — 50 %-ная инфекционная доза для цыплят.

ПЦР — полимеразная цепная реакция.

ИФА — иммуноферментный анализ.

РТГА — реакция торможения гемагглютинации.

ХАО — хориоаллантоисная оболочка эмбрионов.

4 Технические требования

4.1 Вакцины представляют собой лиофилизированный гомогенат хориоаллантоисных оболочек СПФ-эмбрионов кур или лиофилизированную суспензию культуры клеток куриных эмбрионов, инфицированных аттенуированным штаммом вируса оспы птиц, с защитной средой.

В состав вакцин входят аттенуированные генетически стабильные вакцинные штаммы, которые не обладают остаточной вирулентностью при внутрикожном введении птице, не обусловливают вирусоносительство и вирусовыделение, а также не обладают реверсибельностью.

4.2 Вакцины должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и производиться в соответствии с технологическими регламентами производства.

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

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристики и нормы
Внешний вид и цвет	Сухая однородная пористая масса бежевого цвета
Наличие посторонней примеси, изменение цвета, нарушение целостности ампул (флаконов)	Не допускается
Массовая доля влаги, %, не более	5
Время ресуспензирования, мин	1—5
Наличие вакуума в ампулах	Должен быть вакуум
Контаминация бактериальной и грибной микрофлорой	Не допускается
Контаминация микоплазмами	Не допускается
Контаминация посторонними вирусами	Не допускается
Безвредность	Должны быть безвредными
Инфекционная активность, не менее: - для эмбрионов - цыплят	 5,5 lg $ЭИД_{50/см^3}$ 5,0 lg $ИД_{50/см^3}$
Иммуногенная активность	Должны быть иммуногенными

4.4 Фасование и лиофилизация

Вируссодержащую суспензию (гомогенат) с защитной средой расфасовывают по 1—5 $см^3$ в стерильные ампулы или по 2—20 $см^3$ в стерильные флаконы соответствующей вместимости, замораживают и лиофилизируют.

После лиофилизации ампулы запаивают под вакуумом, флаконы укупоривают стерильными резиновыми пробками и обжимают алюминиевыми колпачками.

4.5 Упаковка

4.5.1 Флаконы (ампулы) с вакцинами упаковывают в картонные коробки по ГОСТ 12301 или пачки из картона по ГОСТ 12303, или блистеры из полистирола с наличием гнезд или перегородок, обеспечивающих сохранность вакцин при транспортировании. В каждую коробку (пачку, блистер) вкладывают инструкцию по применению вакцин.

Примечание — Вакцины могут быть упакованы в комплекте с разбавителем для вакцин против оспы птиц в объеме, соответствующем числу доз вакцины во флаконе.

4.5.2 Коробки (пачки, блистеры) с вакциной упаковывают в ящики из гофрированного картона по ГОСТ 9142 или другие аналогичные, обеспечивающие сохранность вакцины при транспортировании. В каждый ящик вкладывают четыре-пять экземпляров инструкции по применению и упаковочный лист с указанием:

- наименования организации-производителя;
- наименования вакцины;
- числа коробок (пачек, блистеров) в ящике;
- номера серии;
- срока годности;
- фамилии или номера упаковщика.

Примечание — Допускается не вкладывать упаковочный лист в транспортную тару.

Масса ящиков с вакциной должна быть не более 15 кг.

4.6 Маркировка

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

4.6.2 На флаконы (ампулы) с вакциной наносят маркировку с указанием:

- наименования и товарного знака организации-производителя;
- наименования вакцины;
- числа доз вакцины во флаконе (ампуле);
- объема вакцины во флаконе (ампуле);
- дозировки (содержания вируса в вакцинальной дозе);
- номера серии;
- даты выпуска (месяца и года);
- срока годности (месяца и года);
- условий хранения;
- надписи: «Для ветеринарного применения».

На этикетку может быть нанесена дополнительная информация.

4.6.3 На коробку (пачку, блистер) с вакциной наносят информацию с указанием:

- наименования вакцины;
- наименования организации-производителя, ее адреса, телефона и товарного знака (в том числе страны);
- лекарственной формы;
- числа флаконов (ампул) в коробке (пачке, блистере);
- объема вакцины во флаконе (ампуле);
- числа доз во флаконе (ампуле);
- дозировки (содержания вируса в вакцинальной дозе);
- номера серии;
- даты выпуска (месяца и года);
- срока годности (месяца и года);
- условий хранения;
- условий отпуска;
- способа применения;
- обозначения настоящего стандарта;
- штрихкода;
- информации о подтверждении соответствия;
- номера регистрационного удостоверения;
- надписи: «Для ветеринарного применения»

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

4.6.5 Маркировка, характеризующая упакованную в транспортную тару продукцию, должна содержать следующие данные:

- наименование организации-производителя, ее товарный знак, адрес (в том числе страну), телефон;
- наименование вакцины;
- число коробок (пачек, блистеров) в ящике;
- номер серии;
- дату выпуска (месяц и год);
- срок годности (месяц и год);
- условия хранения и транспортирования;
- надпись: «Для ветеринарного применения».

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 по безопасности труда в соответствии с требованиями ГОСТ 12.0.004.

5.3 Организация процесса производства вакцины должна соответствовать требованиям ГОСТ 12.3.002, производственное оборудование — ГОСТ 12.2.003.

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

5.5 Контроль за выбросами во внешнюю среду должен быть организован в соответствии с ГОСТ 17.2.3.02.

5.6 Обеззараживание вакцин с истекшим сроком годности, серий, не выдержавших контрольных испытаний, а также флаконов (ампул) с вакциной и других материалов и инструментов, оставшихся после испытаний, проводят путем автоклавирования 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.

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 (число, месяц, год);
- объем серии в единицах объема или штуках;
- результаты испытания по показателям качества;
- срок годности (месяц и год);
- 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. Из выборки выделяют среднюю пробу в количестве 40 флаконов (ампул). 20 флаконов (ампул) с вакциной используют для проведения испытания по показателям качества, указанным в таблице 1, а 20 флаконов (ампул) после проведения испытаний по показателям качества направляют в архив отдела, отвечающего за контроль качества готовой продукции организации-производителя.

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

- наименования организации-производителя;
- наименования вакцины;
- номера серии;
- даты изготовления (числа, месяца и года);
- даты отбора проб;
- объема серии;
- числа отобранных проб;
- должности и подписи лица, отобравшего пробы;
- срока годности (месяца и года);
- обозначения настоящего стандарта;
- срока хранения проб в архиве.

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

6.7 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 выполнения микробиологических работ.

7.2 Средства измерения, аппаратура, материалы, реактивы и посуда

7.2.1 Для проведения испытаний вакцин используют:

- часы наручные по ГОСТ 10733 или секундомер;
- термостат, способный поддерживать температуру (37,0 ± 0,5) °С;
- овоскоп;
- титратор объемометрический для определения влаги по Карлу Фишеру;
- инъектор игольный перфорирующего типа;
- цыплят возраста 1—4 мес;
- СПФ-цыплят в возрасте 15 сут;
- СПФ-эмбрионы кур семи-, десятисуточной инкубации;
- штамм вируса оспы кур вирулентный с инфекционной активностью не менее 4,4 $lgИД_{50/см^3}$ *;
- наборы диагностические для постановки ИФА и РТГА для выявления в сыворотках крови цыплят наличия антител к вирусам;
- тест-системы для постановки ПЦР;
- раствор антисептический;
- раствор натрия хлорида 0,9 %-ный изотонический с pH (7,0 ± 0,2) или разбавитель для сухих вакцин против оспы птиц;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- парафин стерильный;
- 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 $см^3$;
- флаконы пенициллиновые;
- штатив для пробирок.

7.2.2 Указанная в 7.2.1 птица должна быть ранее не иммунизирована вакцинами против оспы птиц.

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

7.3 Определение внешнего вида

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

7.4 Определение массовой доли влаги

Массовую долю влаги определяют по ГОСТ 24061 или с применением автоматического оборудования типа объемометрического титратора. Определение массовой доли влаги проводят в соответствии с инструкцией к прибору.

7.5 Определение вакуума в ампулах

Определение наличия вакуума в ампулах проводят по ГОСТ 28083.

---

* Подходящим штаммом служит вирулентный штамм вируса оспы птиц «Кучинский». Данная информация является рекомендуемой и приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

7.6 Определение времени ресуспензирования

7.6.1 Проведение испытания

Для определения времени ресуспензирования в три флакона (ампулы) с лиофилизированной вакциной вносят разбавитель для живых сухих вакцин против оспы птиц или дистиллированную воду, или 0,9 %-ный раствор натрия хлорида изотонический в объеме, соответствующем объему вакцины до лиофилизации. Флаконы встряхивают и определяют время ресуспензирования вакцины с помощью наручных часов по ГОСТ 10733 или секундомера.

7.6.2 Обработка результатов

Содержимое флаконов (ампул) должно ресуспензироваться в течение от 1 до 5 мин с образованием гомогенной взвеси.

7.7 Определение контаминации бактериальной и грибной микрофлорой

Определение контаминации бактериальной и грибной микрофлорой проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 28085.

7.8 Определение контаминации микоплазмами

Определение контаминации микоплазмами проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 28085.

7.9 Определение контаминации посторонними вирусами

7.9.1 Определение контаминации посторонними вирусами с использованием ПЦР

7.9.1.1 Проведение испытания

Проверку контаминации вакцины посторонними вирусами проводят с использованием метода ПЦР по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт, или с использованием соответствующих тест-систем.

7.9.1.2 Обработка результатов

Проведенные исследования методом ПЦР должны иметь отрицательные результаты, т. е. в вакцине не должны обнаруживаться фрагменты геномов вирусов ньюкаслской болезни, инфекционной бурсальной болезни, инфекционного бронхита кур, синдрома снижения яйценоскости, инфекционного ларинготрахеита птиц, инфекционной анемии цыплят, инфекционного энцефаломиелита и реовирусов птиц.

7.9.2 Определение контаминации посторонними вирусами с использованием иммунологических методов

7.9.2.1 Проведение испытания

Определение контаминации посторонними вирусами с использованием иммунологических методов (ИФА и РТГА) проводят в случае получения положительного или сомнительного результата при ПЦР.

Вакцину из трех флаконов (ампул) ресуспензируют по 7.6.1, содержимое флаконов (ампул) объединяют. Берут 15 СПФ-цыплят, десять из которых вакцинируют внутрикожно в перепонку крыла инъектором и окулярно в объеме 0,03 $см^3$ однократно, а пять цыплят оставляют невакцинированными (контрольные птицы). Через 14 сут от вакцинированных и контрольных птиц получают пробы сывороток крови, которые исследуют на присутствие антител к посторонним вирусам согласно инструкциям, прилагаемым к диагностическим наборам.

7.9.2.2 Обработка результатов

В сыворотках крови вакцинированных и контрольных цыплят антитела к посторонним вирусным контаминантам должны отсутствовать.

7.10 Определение безвредности

7.10.1 Общие требования по определению безвредности — по ГОСТ 31926.

7.10.2 Проведение испытания

Вакцину из трех флаконов (ампул) ресуспензируют по 7.6.1, содержимое объединяют и вводят внутрикожно четырем цыплятам в три точки перепонки крыла с помощью инъектора. За птицей наблюдают в течение 21 сут.

7.10.3 Обработка результатов

У всех цыплят на месте введения должна проявляться местная реакция (узелки, оспины в месте укола). Отсутствие заболевания и генерализации оспенного процесса на коже и слизистых оболочках рта и верхних дыхательных путей, а также конъюнктивита указывает на безвредность вакцины.

7.11 Определение инфекционной активности

7.11.1 Определение инфекционной активности на куриных эмбрионах

7.11.1.1 Подготовка к испытанию

Вакцину из трех флаконов (ампул) ресуспензируют по 7.6.1, содержимое объединяют. Из объединенной пробы готовят десятикратные разведения вакцины от 10^{-1} до 10^{-6}, для чего берут шесть пенициллиновых флаконов или пробирок, в каждый (ую) из которых пипеткой вносят по 4,5 см^3 0,9 %-ного раствора натрия хлорида изотонического. Содержимое флакона (пробирки) с ресуспензированной вакциной тщательно перемешивают встряхиванием, затем другой пипеткой отбирают 0,5 см^3 вакцины, переносят в первую пробирку и перемешивают, затем из первой пробирки берут 0,5 см^3 полученной взвеси и переносят во вторую пробирку и т. д.

7.11.1.2 Проведение испытания

Инфекционную активность вакцины оценивают на СПФ-эмбрионах. Для испытания каждого разведения вакцины используют не менее пяти эмбрионов и не менее двух эмбрионов используют для контроля. Заражение эмбрионов проводят на ХАО в искусственно созданную (боковую) воздушную камеру.

Для этого эмбрионы овоскопируют и отмечают на скорлупе графитным карандашом границу воздушной камеры и бессосудистый участок ХАО с боковой стороны эмбриона. Скорлупу эмбриона обрабатывают антисептическим раствором. В скорлупе образуют два отверстия диаметром 1—2 мм в отмеченных участках: одно — со стороны естественной воздушной камеры, другое — сбоку (не повреждая при этом целостность ХАО). Эмбрионам придают горизонтальное положение, обращая второе отверстие вверх. Через первое отверстие в естественной воздушной камере эмбриона кратковременно создают отрицательное давление (отбирая резиновой грушей около 0,2 см^3 воздуха), что в свою очередь приводит к проникновению воздуха через второе отверстие, отслаиванию ХАО от скорлупы и образованию искусственной воздушной камеры. Далее в искусственную воздушную камеру вводят инъекционную иглу (на глубину не более 2—3 мм) и вносят определенное разведение вакцины в объеме 0,2 см^3. После этого оба отверстия в скорлупе заливают стерильным расплавленным парафином.

Инфицированные эмбрионы в течение 24 ч сохраняют в горизонтальном положении.

Аналогичную операцию проводят и в контрольной группе эмбрионов, где вместо разведения вакцины в искусственную воздушную камеру на ХАО вносят 0,9 %-ный раствор натрия хлорида изотонического в объеме 0,2 см^3.

Инфицированные и контрольные эмбрионы инкубируют при температуре (37,0 $\pm$ 0,5) °С и относительной влажности воздуха 60 %—70 % в течение семи суток, ежедневно овоскопируя.

Эмбрионы, погибшие в первые 36 ч после заражения, считают неспецифически павшими и исключают из дальнейшей работы. Овоскопию эмбрионов, инкубируемых свыше 36 ч, проводят ежедневно. Во время просмотра оценивают степень развития инфекционного процесса, обусловленного вакцинным вирусом оспы птиц. Определяют изменения сосудистого русла и структуры ХАО эмбриона (возникновение характерных пятен или узелков, имеющих большую оптическую плотность сравнительно с нормальной тканью ХАО). При необходимости картину воспалительного процесса ХАО на месте внесения вируссодержащего материала сравнивают с контролем.

На седьмые сутки после заражения эмбрионы охлаждают до температуры 2 °С—6 °С и проводят их вскрытие, делая отверстие в скорлупе со стороны острого конца яйца с целью обнаружения признаков размножения вакцинного вируса оспы птиц в ткани ХАО. Установленные у эмбриона (живого или погибшего) специфические для вируса оспы птиц поражения ХАО (локализованные на месте введения материала или генерализованные) считают положительной реакцией.

7.11.1.3 Обработка результатов

Оценку величины инфекционной активности вируса оспы птиц для эмбрионов проводят по методу Кербера в модификации Ашмарина.

Предварительно вычисляют инфекционную активность для эмбрионов в дозе для инъекции 0,2 см^3 lg $ЭИД_{50/0,2\ см^3}$ по формуле

$$\lg ЭИД_{50/0,2\ см^3} = \lg D + d\ (\Sigma L_i - 0,5), \quad (1)$$

где D — разведение вакцины, вызывающее 100 %-ное специфическое поражение ХАО;

d — логарифм кратности разведения;

L — отношение числа эмбрионов, погибших (пораженных) при заражении дозой D_n, к общему числу зараженных этой дозой эмбрионов;

i — порядковый номер разведения вакцины (минимальное разведение принимают за первое);

0,5 — постоянный коэффициент.

Вычисляют инфекционную активность для эмбрионов в 1,0 см^3 lg ЭИД$_{50/см^3}$ по формуле

$$\lg ЭИД_{50/см^3} = \lg ЭИД_{50/0,2\ см^3} + 0,7, \quad (2)$$

где lg ЭИД$_{50/0,2\ см^3}$ — инфекционная активность для эмбрионов в 0,2 см^3;

0,7 — постоянный коэффициент.

Инфекционная активность вакцины для эмбрионов должна быть не менее 5,5 lg ЭИД$_{50/см^3}$.

7.11.2 Определение инфекционной активности на цыплятах

7.11.2.1 Проведение испытания

Вакцину подготавливают по 7.11.1.1, используя вместо 0,9 %-ного раствора натрия хлорида изотонического разбавитель для сухих вакцин против оспы птиц, разведения готовят с 10^{-1} до 10^{-4}. Для испытания каждого разведения вакцины формируют опытные группы цыплят, а также контрольную группу, состоящие не менее чем из четырех голов.

Разведения вакцины 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} и 10^{-4} вводят внутрикожно в перепонку крыла инъектором. При этом объем внутрикожной инъекции, вводимой инъектором определенной вместимости, принимают за дозу. Реакцию на введение вакцины учитывают с седьмых — десятых суток. Положительная реакция характеризуется образованием оспин в месте укола.

7.11.2.2 Обработка результатов

Инфекционную активность вакцины для цыплят рассчитывают по методу Кербера в модификации Ашмарина.

Предварительно вычисляют инфекционную активность для цыплят в дозе для инъекции lgИД$_{50/дозе}$ по формуле

$$\lg ИД_{50/дозе} = \lg D + d\ (\Sigma L_i - 0,5), \quad (3)$$

где D — разведение вакцины, вызывающее 100 %-ное специфическое поражение цыплят;

d — логарифм кратности разведения;

L — отношение числа цыплят, пораженных при заражении данной дозой, к общему числу зараженных этой дозой цыплят;

i — порядковый номер разведения вакцины (минимальное разведение принимают за первое).

Вычисляют инфекционную активность для цыплят в 1,0 см^3 lg ИД$_{50/см^3}$ по формуле

$$\lg ИД_{50/см^3} = \lg ИД_{50/дозе} + \lg \frac{1}{V}, \quad (4)$$

где lg ИД$_{50/дозе}$ — инфекционная активность для цыплят в дозе для инъекции;

1 — постоянный коэффициент;

V — объем внутрикожной инъекции (доза).

Инфекционная активность вакцины для цыплят должна быть не менее 5,0 lg ИД$_{50/см^3}$.

7.12 Определение иммуногенной активности

7.12.1 Определение иммуногенной активности с контрольным заражением

7.12.1.1 Проведение испытания

Берут три флакона (ампулы) с вакциной и ресуспензируют по 7.6.1 в соответствии с указанным количеством доз. Содержимое флаконов (ампул) объединяют. Одну дозу вакцины вводят десяти цыплятам внутрикожно методом укола в перепонку крыла. Цыплятам контрольной группы (10 цыплят) аналогичным способом проводят инъекцию 0,9 %-ным изотоническим раствором натрия хлорида.

Через 21 сут после иммунизации всех цыплят заражают вирулентным штаммом вируса оспы кур методом укола в перепонку крыла, в которое не вводилась вакцина. На протяжении 10 сут за птицами ведут клиническое наблюдение.

7.12.1.2 Обработка результатов

Вакцина считается иммуногенной, если у 80 % вакцинированных птиц отсутствуют оспины на месте введения вирулентного штамма, а в контрольной группе у 80 % птиц образуются оспины на месте введения с отеком прилегающей ткани.

7.12.2 Определение иммуногенной активности методом повторной вакцинации

7.12.2.1 Проведение испытания

Берут три флакона (ампулы) с вакциной и ресуспензируют по 7.6.1 в соответствии с указанным количеством доз. Содержимое флаконов (ампул) объединяют. Одну дозу вакцины вводят десяти цыплятам внутрикожно методом укола в перепонку крыла. Десяти цыплятам контрольной группы аналогичным способом проводят инъекцию 0,9 %-ным изотоническим раствором хлорида натрия.

Через 21 сут после иммунизации проводят повторную вакцинацию в подопытной и контрольной группах цыплят. Вакцинацию выполняют одной вакцинальной дозой внутрикожно в перепонку противоположного крыла. На протяжении 10 сут за птицами ведут клиническое наблюдение.

7.12.2.2 Обработка результатов

Вакцина считается иммуногенной, если у 80 % вакцинированных птиц отсутствуют оспины на месте повторного введения вакцины, а в контрольной группе у 80 % птиц образуются оспины на месте введения вакцины.

8 Транспортирование и хранение

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

8.2 Вакцины хранят в сухом, темном помещении при температуре от 2 °С до 8 °С в течение срока годности.

8.3 Срок годности вакцин — 12 мес с даты выпуска. Датой изготовления вакцины считают дату расфасовки. Датой выпуска вакцины считают дату подписания документа о качестве.

УДК 619:616.98:578.821.21:636.5:006.354 МКС 11.220

Ключевые слова: средства лекарственные биологические для ветеринарного применения, вакцины против оспы птиц, инфекционная активность

Редактор *М.Ж. Будажапова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 16.11.2015. Подписано в печать 08.02.2016. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,40. Тираж 35 экз. Зак. 3908.

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

gost.e-ecolog.ru