МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32808— 2014

Средства лекарственные для ветеринарного применения

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Технические условия

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 июня 2014 г. № 45-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 01 августа 2014 г № 879-ст ГОСТ 32808—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 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, 2014

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

Поправка к ГОСТ 32808—2014 Средства лекарственные для ветеринарного применения. Вакцины против бруцеллеза животных. Технические условия

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Предисловие. Таблица согласования	—	Узбекистан | UZ | Узстандарт

(ИУС № 2 2019 г.)

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 БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Технические условия

Medicine remedies for veterinary use. Vaccines against brucellose of animals. Specifications

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на вакцины против бруцеллеза животных (далее – вакцины), содержащие живые аттенуированные или инактивированные культуры вакцинных штаммов бруцелл, предназначенные для профилактической иммунизации крупного и мелкого рогатого скота.

Примечания

1 Вакцины представляют собой лиофилизированную массу живых аттенуированных культур вакцинных штаммов бруцелл в защитной среде (10 % сахарозы и 1,5 % желатина) или инактивированные бактерии, смешанные с адъювантом.

2 При выпуске вакцин используют производственные штаммы бруцелл в *S*-, *SR*- и *R*-форме.

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 12.1.004–91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

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 17.2.3.02–78 Охрана природы. Атмосфера. Правила установления допустимых выбросов вредных веществ промышленными предприятиями

ГОСТ 4919.1–77 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления растворов индикаторов

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

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

ГОСТ ISO 7864–2011 Иглы инъекционные однократного применения стерильные

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

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

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

ГОСТ 9284–75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 9293–74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 10157–79 Аргон газообразный и жидкий. Технические условия

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

ГОСТ 12301–2006 Коробки из картона, бумаги и комбинированных материалов. Общие технические условия

ГОСТ 12303–80 Пачки из картона, бумаги и комбинированных материалов. Общие технические условия

ГОСТ 14192–96 Маркировка грузов

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

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

ГОСТ 18300–87 Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 20730–75 Питательные среды. Бульон мясо-пептонный (для ветеринарных целей). Технические условия

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

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

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

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 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 31927–2012 Вакцины против сальмонеллеза животных живые. Общие технические условия

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 термины по ГОСТ 31927, а также следующие термины с соответствующими определениями:

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

3.1.2 **выживаемость бруцелл [при выпуске вакцины]:** Отношение количества живых бруцелл, определенное при выпуске вакцины, к значению показателя концентрации бруцелл, выраженное в процентах.

3.1.3 **концентрация бруцелл:** Показатель общего количества живых и убитых бруцелл, определяемый путем визуального сравнения мутности исследуемой взвеси со стандартом мутности.

3.1.4 **стандарт мутности:** Стеклянная запаянная пробирка, содержащая взвесь бактерий или мельчайших частиц стекла пирекс, соответствующих по величине бактериям, и служащая эталоном

для прямого визуального определения концентрации бактерий путем сравнения мутности бактериальных взвесей.

3.1.5 **выживаемость бруцелл [в конце срока годности вакцины]:** Отношение количества живых бруцелл, определенное в конце срока годности вакцины, к их количеству при выпуске, выраженное в процентах.

3.1.6 **агглютиногенность:** Количество *S*-агглютининов в сыворотке крови морских свинок, иммунизированных вакцинами против бруцеллеза, выраженное в международных единицах (МЕ/см^3).

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

3.1.8 **адъювант:** Вещество или комплекс веществ, входящие в состав вакцины, используемые для усиления иммунного ответа.

3.1.9 **линейные мыши (гомозиготные):** Мыши, полученные путем многократного близкородственного скрещивания (имбридинга).

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

МППГГБ – мясопептонный печеночный глюкозо-глицериновый бульон;

МППГГА – мясопептонный печеночный глюкозо-глицериновый агар;

ПМХА – печеночно-мартеновский агар с добавлением перевара Хоттингера;

МПА – мясо-пептонный агар;

МПБ – мясо-пептонный бульон;

МЕ – международная единица агглютинирующих антител в 1 см^3;

РА – реакция агглютинации;

РСК – реакция связывания комплемента;

РДСК – реакция длительного связывания комплемента.

4 Условия выполнения испытаний и требования безопасности

4.1 Условия выполнения испытаний

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

4.1.2 Общие требования к помещениям – по ГОСТ ISO 7218.

4.1.3 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.

4.2 Требования безопасности

4.2.1 По биологической безопасности вакцины должны соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.008.

4.2.2 Организация производственного процесса должна соответствовать требованиями ГОСТ 12.3.002, производственное оборудование – ГОСТ 12.2.003.

4.2.3 Требования к обучению персонала безопасности труда и пожарной безопасности – по ГОСТ 12.0.004 и ГОСТ 12.1.004.

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

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

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

5 Технические требования

5.1 Вакцины должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и изготавливаться в соответствии с технологическим регламентом производства.

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

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма	
	Живая вакцина (сухая форма)	Инактивированная вакцина (жидкая форма)
Внешний вид	Сухая масса светло-серого или светло-коричневого цвета	Вязкая жидкость белого цвета с сероватым оттенком
Время регидратации, мин	1 – 2	–
Массовая доля влаги, %	От 1,5 до 3,0	–
Стабильность	–	В процессе хранения допускается отслоение адъюванта слоем 0,5 – 1,0 см
Наличие вакуума в ампулах	Должен быть вакуум	–
Стерильность	–	Должна быть стерильной
Контаминация посторонней микрофлорой	Должна отсутствовать	–
Количество бруцелл в *S*-, *R*-или *SR*-форме, %, не более	5	–
Выживаемость бруцелл, %: - при выпуске вакцины - в конце срока годности вакцины	 75 ± 15 65 ± 15	 – –
Безвредность в тест-дозе на мышах и морских свинках	Должны быть безвредными	
Агглютиногенность после иммунизации вакциной из штаммов бруцелл, МЕ/см^3: - в *S*-форме - *SR*-форме	 Не менее 100 Не более 40	
Иммуногенная активность	–	Должны быть иммуногенными
Примечание – Иммуногенную активность живых вакцин при выпуске не проверяют, поскольку для их производства используют вакцинные штаммы бруцелл с проверенными иммуногенными свойствами.		

5.3 Фасование и лиофилизация

5.3.1 Живые вакцины расфасовывают по 2 — 10 см^3 в стерильные флаконы или по 2 — 5 см^3 в стерильные ампулы соответствующей вместимости и лиофилизируют. После лиофилизации флаконы с вакцинами заполняют азотом особой чистоты по ГОСТ 9293 или газообразным аргоном особой чистоты по ГОСТ 10157, укупоривают (в сублиматоре) резиновыми пробками и закатывают алюминиевыми колпачками. Ампулы запаивают под вакуумом.

5.3.2 Инактивированные вакцины расфасовывают по 10 – 100 см^3 в стерильные флаконы соответствующей вместимости, укупоривают (в сублиматоре) резиновыми пробками и закатывают алюминиевыми колпачками.

Примечание – Допускаются другие объемы расфасовки вакцин.

5.3.3 Погрешность фасования в зависимости от объема составляет:
- для одного флакона (ампулы), содержащего до 5 см^3 – 8 %, для десяти флаконов – 2,5 %;
- одного флакона, содержащего от 5 до 25 см^3 – 5 %, для десяти флаконов – 1,6 %;
- для одного флакона, содержащего от 25 до 100 см^3 – 3 %, для десяти флаконов – 0,9 %.

5.4 Упаковка

5.4.1 Флаконы (ампулы) с вакциной упаковывают в картонные коробки по ГОСТ 12301 или пачки по ГОСТ 12303, или блистеры из полистирола, или другого полимерного материала с наличием гнезд или перегородок, обеспечивающих их неподвижность и целостность.

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

5.4.2 Коробки (пачки, блистеры) с вакцинами упаковывают в ящики из гофрированного картона по ГОСТ 9142 массой брутто не более 15 кг, которые при соблюдении правил транспортирования и хранения должны обеспечивать сохранность вакцин.

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

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

Примечание – Допускается не вкладывать упаковочный лист в транспортную тару.

5.5 Маркировка

5.5.1 На флаконы (ампулы) с вакцинами наклеивают этикетки со следующей информацией:

- наименованием организации-производителя;
- наименованием вакцины;
- номером серии;
- датой выпуска (месяц и год);
- сроком годности (месяц, год);
- дозировкой;
- объемом вакцины ($см^3$);
- числом доз;
- надписью: «Для ветеринарного применения».

На этикетку может быть нанесена дополнительная информация.

5.5.2 На коробки (пачки, блистеры) с вакциной наклеивают этикетку со следующей информацией:

- наименованием организации-производителя и товарного знака;
- адресом, телефоном организации-производителя;
- наименованием вакцины;
- номером серии;
- датой выпуска (месяц и года);
- сроком годности (месяц и года);
- способом применения;
- дозировкой;
- объемом в флаконе (ампуле), $см^3$;
- числом доз в флаконе (ампуле);
- числом флаконов (ампул) в упаковке;
- лекарственной формой;
- условием отпуска;
- условиями хранения;
- обозначением настоящего стандарта;
- номером регистрационного удостоверения;
- штрих-кодом;
- информацией о подтверждении соответствия;
- надписью: «Для ветеринарного применения».

Этикетка может содержать дополнительную информацию.

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

5.5.4 Маркировка, характеризующая упакованную продукцию, должна содержать следующие данные:

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

5.5.5 Совмещение транспортной маркировки и маркировки, характеризующей данные об упако-

ванной продукции, на одной стороне транспортной тары не допускается.

6 Правила приемки

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

6.2 После проверки вакцины каждую серию снабжают документом о качестве, в котором указывают:

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

6.3 Для контроля качества вакцины от каждой серии отбирают выборку в соответствии с ГОСТ 31929. Из выборки отбирают 40 флаконов (ампул). 20 флаконов (ампул) с вакциной используют для проведения испытания по показателям качества, указанным в таблице 1, а оставшиеся 20 флаконов (ампул) направляют в архив отдела, отвечающего за контроль качества готовой продукции организации-производителя. После проведения испытаний по показателям качества пробы также направляют в архив и хранят в течение срока годности.

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

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

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

6.6 В случае неудовлетворительных результатов повторного испытания серию вакцины считают не соответствующей требованиям настоящего стандарта, ее бракуют и уничтожают в соответствии с 4.2.4.

7 Методы испытаний

7.1 Средства измерений, реактивы, посуда и материалы

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

- весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с наибольшим пределом взвешивания 200 г, ценой поверочного деления 0,1 мг и пределом допускаемой погрешности в эксплуатации ± 0,15 мг;
- термостат с температурой нагрева 37 °С – 38 °С;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709 или разбавитель для живых сухих вакцин против бруцеллеза сельскохозяйственных животных (разбавитель);
- раствор натрия хлорида 0,9 % -ный изотонический (физиологический раствор);
- пипетки стеклянные выдувные 2-го класса точности вместимостью 1 – 10 $см^3$ по ГОСТ 29230;

- часы наручные или карманные механические по ГОСТ 10733 или секундомер;
- микроскоп биологический стереоскопический любого типа по ГОСТ 8074 или лупу бинокулярную;
- холодильник бытовой с диапазоном температур от 0 °С до 10 °С;
- прибор для подсчета изолированных колоний бруцелл;
- шприцы медицинские по ГОСТ ISO 7886-1 или ГОСТ 22967;
- иглы инъекционные по ГОСТ ISO 7864 или ГОСТ 25377;
- чашки Петри по ГОСТ 25336;
- пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;
- штативы для пробирок;
- стекла предметные по ГОСТ 9284;
- среда Сабуро плотная по ГОСТ 29112;
- мясо-пептонный агар (МПА) по ГОСТ 29112;
- мясо-пептонный бульон (МПБ) по ГОСТ 20730;
- среда Китт-Тароцци (МППБ);
- бульон мясо-пептонный печеночный глюкозо-глицериновый (МППГГБ);
- агар мясо-пептонный печеночный глюкозо-глицериновый (МППГГА);
- агар печеночно-мартеновский с добавлением перевара Хоттингера (ПМХА);
- агар сывороточно-декстрозный с перевaром Хоттингера (ПМХ);
- агар триптозный обогащенный, содержащий в составе, г/дм^3:

1) триптозу – 10,0;
2) мясной экстракт – 3,0;
3) натрия хлорид – 5,0;
4) агар-агар – 15,0;
5) аминопептид – 5 % – 10 % по объему;

- перевар Хоттингера по ГОСТ 29112;
- мышей линейных (самок) линии C_{57}Блек/6 массой 12 – 14 г или мышей белых беспородных массой 18 – 20 г;
- свинок морских массой 350 – 400 г;
- кристаллический фиолетовый по ГОСТ 4919.1;
- раствор фенола 3 %-ный;
- раствор хлорамина 5 %-ный;
- стандарт мутности оптический, эквивалентный 10 международным единицам (10 ЕД);
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 18300;
- набор компонентов для диагностики бруцеллеза животных в РА, РСК, РДСК;
- культуры контрольного вакцинного штамма *Brucella abortus*.

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

7.2 Определение внешнего вида

Определение внешнего вида [цвета, наличия посторонней примеси, изменения консистенции, следов оттаивания (для живых вакцин), неразбивающихся конгломератов (для инактивированных вакцин)] проводят визуально, просматривая каждый флакон (ампулу) с вакциной до и после регидратации. Одновременно проверяют целостность флаконов (ампул), плотность укупорки флаконов, качество запайки ампул и правильность маркировки.

7.3 Определение времени регидратации

7.3.1 В три флакона (ампулы) с вакциной вносят разбавитель или дистиллированную воду, или физиологический раствор в объеме, соответствующем объему живой вакцины до лиофилизации. После этого флаконы (ампулы) встряхивают и определяют время регидратации вакцины с помощью часов или секундомера.

7.4 Определение массовой доли влаги

Массовую долю влаги в живых вакцинах определяют по ГОСТ 24061.

7.5 Определение стабильности

Для определения стабильности эмульсии не менее двух флаконов инактивированной вакцины выдерживают в термостате в течение 14 сут при температуре 37 °С – 38 °С.

7.6 Определение вакуума в ампулах

Определение наличия вакуума в ампулах проводят по ГОСТ 28083.

7.7 Определение стерильности

Стерильность инактивированной вакцины определяют в соответствии с ГОСТ 28085.

7.8 Определение контаминации посторонней микрофлорой

7.8.1 Проведение испытания

Определение контаминации живой вакцины посторонней микрофлорой проводят в соответствии с ГОСТ 28085 со следующим дополнением.

Вакцину в трех флаконах (ампулах) регидратируют по 7.3.1, а затем содержимое каждого флакона (ампулы) переносят во флакон соответствующей вместимости с предварительно внесенным разбавителем или дистиллированной водой, или физиологическим раствором в соотношении 1:3.

7.8.2 Оценка результатов

На средах МПА и МПБ должен быть рост только чистой культуры бруцелл. Наличие посторонней микрофлоры не допускается. В мазках, окрашенных по Граму, должны быть грамотрицательные мелкие кокки, короткие или овоидной формы палочки.

7.9 Определение количества бруцелл в *S*-, *R*-или *SR*-форме

7.9.1 Подготовка к испытанию

7.9.1.1 Для проведения испытания готовят объединенную пробу вакцины из трех флаконов (ампул), которую выдерживают в холодильнике при температуре 4 °С – 8 °С в течение 30 мин.

7.9.1.2 Приготовление исходного раствора кристаллического фиолетового (красителя)

Исходный раствор кристаллического фиолетового (разведение 1:200) готовят растворением 0,5 г кристаллического фиолетового в 10 $см^3$ 96 %-ного этилового ректификованного спирта при тщательном растирании в ступке. К спиртовому раствору кристаллического фиолетового постепенно добавляют 90 $см^3$ стерильной дистиллированной воды и переносят во флакон. Готовый раствор тщательно перемешивают.

Срок годности исходного раствора красителя при хранении в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С – не более 6 мес.

7.9.2 Проведение испытания

Пробу вакцины, приготовленную по 7.9.1.1, перемешивают и делают последовательные десятикратные разведения от 10^{-1} до 10^{-9}, используя для каждого разведения отдельную пипетку. Вакцину из разведения 10^{-8} или 10^{-9} (в зависимости от концентрации бруцелл) высевают отдельными пипетками на МППГГА или ПМХА по 0,1 или 0,2 $см^3$ соответственно в пять чашек Петри и равномерно распределяют по поверхности питательной среды. Чашки помещают в термостат при температуре 37 °С – 38 °С, затем через один час их переворачивают агаром вверх и инкубируют в течение четырех – пяти суток. Выросшие колонии окрашивают раствором кристаллического фиолетового в разведении 1:2000, который готовят из исходного раствора красителя по 7.9.1.2 непосредственно перед определением. Для окрашивания полученный раствор красителя осторожно с помощью пипетки вносят в чашки Петри с посевами, через 30 с таким же образом отбирают его и сливают в дезинфицирующую жидкость (3 %-ный раствор фенола или 5 %-ный раствор хлорамина). Колонии просматривают под микроскопом или бинокулярной лупой при 16 – 20-кратном увеличении.

7.9.3 Оценка результатов

Колонии бруцелл в *S*-форме не окрашиваются раствором кристаллического фиолетового. Колонии круглые, выпуклые, блестящие желтого цвета с тонким синим или фиолетовым ободком.

Колонии бруцелл в *SR*-форме окрашиваются в синий или фиолетовый цвет неравномерно, окрашенные участки чередуются с неокрашенными, ободок – широкий, интенсивно окрашенный.

Колонии бруцелл в *R*-форме окрашиваются в различные оттенки синего или фиолетового цвета, иногда с исчерченностью окрашенной поверхности и имеют широкий, интенсивно окрашенный ободок.

7.9.4 Обработка результатов

Количество колоний бруцелл в *S, R* или *SR*-форме *K*, %, рассчитывают по формуле

$$K = \frac{X}{n} 100, \quad (1)$$

где X – сумма колоний бруцелл во всех чашках в *S, R* или *SR*-форме;

100 – коэффициент пересчета в проценты;

n – общее количество колоний бруцелл во всех чашках.

7.10 Определение выживаемости бруцелл

7.10.1 Подготовка к испытанию

7.10.1.1 Получение вакцины в разведении 1:10

Вакцину из трех флаконов (ампул) регидратируют по 7.3.1. Содержимое всех трех флаконов (ампул) переносят во флакон с разбавителем или дистиллированной водой, или физиологическим раствором, предварительно внесенным с учетом объема вакцины во флаконах (ампулах) для получения разведения вакцины 1:10, который затем помещают в холодильник при температуре 4 °С – 8 °С на 30 мин.

7.10.1.2 Определение концентрации бруцелл в вакцине

Вакцину, полученную по 7.10.1.1, в объеме 0,2 см^3 вносят в пробирку такого же диаметра, как и оптический стандарт мутности на 10 ЕД и разводят физиологическим раствором до точного соответствия стандарту мутности, что будет соответствовать концентрации 1,7 или 2,0 млрд микробных клеток в 1 см^3 для культур бруцелл, выращенных на твердой питательной среде, и для культур бруцелл, выращенных на жидкой питательной среде, соответственно.

Концентрацию бруцелл в вакцине *K*, млрд/см^3, рассчитывают по формуле

$$K = (A + B) \cdot 5 \cdot 10 \cdot C, \quad (2)$$

где A – объем вакцины в разведении 1:10, равный 0,2 см^3;

B – объем физиологического раствора для получения разведения вакцины, соответствующего по мутности 10 ЕД оптического стандарта мутности, см^3;

5 – коэффициент пересчета объема вакцины на 1 см^3;

10 – степень разведения;

C – концентрация бруцелл, эквивалентная по мутности 10 ЕД оптического стандарта мутности, равная 1,7 млрд/см^3 для бруцелл, выращенных на плотной питательной среде, и 2 млрд/см^3 для бруцелл, выращенных на жидкой питательной среде.

7.10.2 Проведение испытания

7.10.2.1 Высев вакцины на питательные среды

Вакцину в разведении 1:10 (10^{-1}) по 7.10.1.1 перемешивают и разводят последовательно десятикратно до разведения 10^{-9}, используя для каждого разведения отдельную пипетку. Взвесь из двух последних разведений (10^{-8} и 10^{-9}) высевают отдельными пипетками по 0,1 см^3 на поверхность триптозного агара или СДХА, или другой питательной среды для выращивания бруцелл соответственно в три и пять чашек Петри и равномерно распределяют по поверхности питательной среды. Посевы культивируют по 7.9.2 и затем подсчитывают количество выросших колоний.

7.10.2.2 Определение количества живых бруцелл

Количество живых бруцелл в вакцине *X*, млрд/см^3, рассчитывают по формуле

$$X = \left[\left(\frac{\sum K_1}{3} R_1 \cdot 10 \right) + \left(\frac{\sum K_2}{5} R_2 \cdot 10 \right) \right] / 2, \quad (3)$$

где K_1, K_2 – количество колоний, выросших при посеве вакцины разведений 10^{-8} и 10^{-9};

R_1, R_2 – степени разведения вакцины;

3 и 5 – число чашек Петри, засеваемых вакциной в разведениях 10^{-8} и 10^{-9} соответственно;

10 – коэффициент пересчета объема вакцины на 1 см^3.

Примечание – Для определения количества доз вакцины во флаконе (ампуле) количество живых бруцелл в вакцине, рассчитанное по формуле (3), умножают на первоначальный объем вакцины во флаконе (ампуле) и делят на количество бруцелл, эквивалентное одной иммунизирующей дозе вакцины. Количество бруцелл в дозе живой или инактивированной вакцины зависит от штамма, использованного для производства вакцины.

7.10.3 Обработка результатов

7.10.3.1 Выживаемость бруцелл при выпуске вакцины X_1, %, рассчитывают по формуле

$$X_1 = \frac{X \cdot 100}{K}, \quad (4)$$

где X – количество живых бруцелл при выпуске вакцины, рассчитанное по формуле (3), млрд/см^3;

K – концентрация бруцелл в вакцине, рассчитанная по формуле (2), млрд/ см^3.

7.10.3.2 Выживаемость бруцелл в конце срока годности (и в процессе хранения) вакцины X_2, %, рассчитывают по формуле

$$X_2 = \frac{Y \cdot 100}{X}, \quad (5)$$

где Y – количество живых бруцелл в конце срока годности (и в процессе хранения) вакцины, рассчитанное по формуле (3), млрд/см^3;

X – количество живых бруцелл при выпуске вакцины, рассчитанное по формуле (3), млрд/см^3.

7.11 Определение безвредности

7.11.1 Общие принципы определения безвредности – по ГОСТ 31926.

7.11.2 Подготовка к испытанию

Сухую форму вакцины регидратируют по 7.3.1.

7.11.3 Проведение испытания

Безвредность каждой серии живых и инактивированных вакцин проверяют на десяти белых мышах и пяти морских свинках.

Регидратированную по 7.3.1 живую вакцину из трех флаконов смешивают в равных объемах в одном стерильном флаконе и разводят физиологическим раствором или разбавителем или дистиллированной водой из расчета 1 млрд/см^3 микробных клеток по стандарту мутности. Вакцину перемешивают до получения гомогенной взвеси и вводят подкожно: мышам в область спины возле корня хвоста в объеме 0,25 см^3, морским свинкам в область паха в объеме 1 см^3.

Инактивированную вакцину из трех флаконов переносят стерильной пипеткой по 10 см^3 в стерильный стеклянный флакон. Смесь вакцины перемешивают и вводят подкожно белым мышам в область спины возле корня хвоста в объеме 0,2 см^3 и морским свинкам в область паха в объеме 0,5 см^3. Наблюдение за животными ведут в течение 10 сут.

7.11.4 Обработка результатов

Вакцина не должна вызывать гибели белых мышей в течение 10 сут, морских свинок – в течение 20 – 25 сут. У морских свинок в месте введения вакцины допускается формирование умеренно выраженной припухлости.

После эвтаназии через 20 – 25 сут у морских свинок не должно быть видимых патологических изменений в месте введения вакцины (разлитое геморрагическое воспаление подкожной клетчатки, мышечной ткани, некроз мышц, абсцессы) и (или) в лимфатических узлах и внутренних органах (очаги некроза в виде серовато-матовых точечных узелков, мелкие абсцессы).

7.12 Определение агглютиногенности

7.12.1 Агглютиногенные свойства живых и инактивированных вакцин устанавливают на морских свинках, использованных для определения безвредности.

7.12.2 Подготовка к испытанию

Кровь у морских свинок берут из сердца перед эвтаназией через 20 – 25 сут после введения вакцины. Для получения сыворотки кровь выдерживают в термостате при температуре 37 °С — 38 °С в течение 30 мин, затем обводят стальной спицей по стенке пробирки и выдерживают в холодильнике при температуре 2 °С– 8 °С в течение 18–20 ч. После извлечения пробирок из холодильника сыворотку крови осторожно сливают в чистые сухие пробирки. При необходимости, полученную сыворотку крови центрифугируют при 2500–3000 об/мин в течение 10 мин.

7.12.3 Проведение испытания

Сыворотку крови исследуют в РА с антигеном бруцеллезным единым для РА, РСК и РДСК (*S*-форма бруцелл).

Сыворотку крови морских свинок после введения живых агглютиногенных вакцин (*S*-форма бруцелл) исследуют в разведениях 1:50, 1:100, 1:200 и 1:400, а после введения живых слабоагглютиногенных (*SR*- форма бруцелл), неагглютиногенных и инактивированных вакцин (*R*-форма бруцелл) – в разведениях 1:10, 1:20, 1:40 и 1:80. Количество агглютининов в сыворотке крови соответствует ее

наибольшему разведению, в котором получена агглютинация интенсивностью в «++», и выражается в международных единицах (МЕ).

7.12.4 Обработка результатов

Количество *S*-агглютининов в сыворотке крови морских свинок после введения вакцин из штаммов бруцелл в *S*-форме должно составлять не менее 100 МЕ/см^3; вакцин из штаммов бруцелл в *SR*-форме не должно превышать 40 МЕ/см^3; вакцин из штаммов бруцелл в *R*-форме – наличие агглютининов не допускается.

7.13 Определение иммуногенной активности

7.13.1 Иммуногенную активность инактивированных вакцин при выпуске проверяют на мышах.

7.13.2 Подготовка к испытанию

Инактивированную вакцину вводят шести белым мышам в объеме 0,04 см^3 под кожу в области паха.

Шесть мышей контрольной группы не вакцинируют, им вводят по 0,04 см^3 физиологического раствора под кожу в область паха.

7.13.3 Проведение испытания

Через 20 – 25 сут после введения инактивированной вакцины и физиологического раствора мышам внутрибрюшинно вводят культуру контрольного вакцинного штамма *Brucella abortus* в дозе 5000 микробных клеток в объеме 0,2 см^3.

Через 12 – 15 сут мышей убивают и проводят бактериологическое исследование селезенки. Селезенку растирают в гомогенизаторе с 1 см^3 физиологического раствора. Гомогенат высевают по 0,2 см^3 в пять чашек Петри и равномерно распределяют по поверхности МППГГА.

Посевы инкубируют при температуре 37 °С – 38 °С в течение 4 – 5 сут и учитывают среднее количество колоний бруцелл контрольного штамма, выросших при посеве гомогената селезенок вакцинированных и контрольных мышей.

7.13.4 Обработка результатов

Вакцину считают иммуногенной, если количество бруцелл контрольного штамма в селезенке иммунизированных мышей в 50 и более раз меньше, чем количество бруцелл в группе контрольных (невакцинированных) животных.

8 Транспортирование и хранение

8.1 Вакцины транспортируют всеми видами транспорта в соответствии с ГОСТ 17768. Допускается транспортирование живых вакцины при температуре не более 20 °С в течение семи суток.

8.2 Вакцины хранят в упаковке производителя или транспортной таре при температуре от 2 °С до 8 °С в пределах срока годности.

8.3 Срок годности вакцин – 12 мес с даты выпуска. Датой изготовления живых вакцин считают дату окончания процесса лиофилизации, датой изготовления инактивированных вакцин – дату расфасовки. Датой выпуска вакцин считают дату подписания документа о качестве.

УДК 619:616.98:579.841.93:615.371/.372 МКС 11.220

Ключевые слова: вакцины против бруцеллеза животных, аттенуированные штаммы бруцелл, безвредность, реактогенность, иммуногенность

Подписано в печать 01.12.2014. Формат 60x84 1/8.

Усл. печ. л. 1,86. Тираж 36 экз. Зак. 4962

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
123995 Москва, Гранатный пер., 4.

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

gost.e-ecolog.ru