МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 25134– 2013

БРУЦЕЛЛИН ВИЭВ

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. Порядок разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации (ТК 454)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 июня 2013 г. № 57-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
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 31.10.13 № 1322-ст введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2015 года

5 ВЗАМЕН ГОСТ 25134—82

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и рассмотрен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

БРУЦЕЛЛИН ВИЭВ

Технические условия

Brucellin VIEV.
Specification

Дата введения – 2015 – 01 – 01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на бруцеллин ВИЭВ, предназначенный для аллергической диагностики бруцеллеза у свиней (далее – бруцеллин).

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 12.4.011–89 Система стандартов безопасности труда. Средства защиты работающих. Общие требования и классификация

ГОСТ 701–89 Реактивы. Кислота азотная концентрированная Технические условия

ГОСТ 1341–97 Пергамент растительный. Технические условия

ГОСТ 4233–77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328–77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4523–77 Реактивы. Магний сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 6038–79 Реактивы. D–глюкоза. Технические условия

ГОСТ 6259–75 Реактивы. Глицерин. Технические условия

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6824–96 Глицерин дистиллированный. Общие технические условия

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

ГОСТ 9142–90 Ящики из гофрированного картона. 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 технический. Технические условия

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

ГОСТ 24104–2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

ГОСТ 24861–91 (ИСО 7886–84) Шприцы инъекционные однократного применения

ГОСТ 25046–81 (ИСО 7864–81) Иглы инъекционные однократного применения. Основные размеры. Технические требования. Методы испытаний

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

ГОСТ 28085–2013 Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Методы бактериологического контроля стерильности

ГОСТ 29230–91 (ИСО 835-4–2009) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 4. Пипетки выдувные

ГОСТ 29311–92 Гидролизаты панкреатические для бактериологических питательных сред

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 и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **бруцеллин ВИЭВ:** Аллерген, представляющий собой стерильную жидкость, содержащую специфические вещества белковой и липополисахаридной природы, извлеченные из бруцелл.

3.2 **референс-препарат активности бруцеллезных аллергенов:** Сухой очищенный аллерген с активностью 1000 ЕА.

Примечание – ЕА – единица активности.

4 Условия выполнения исследований и требования безопасности

4.1 Условия выполнения исследований

4.1.1 Общие требования проведения микробиологического анализа – 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, [1].

К проведению исследований допускаются квалифицированные сотрудники, владеющие необходимыми микробиологическими методами исследования. Квалификация может быть установлена в пределах лаборатории с помощью внутреннего контроля качества.

4.2 Требования безопасности

4.2.1 Общие требования безопасности при работе с микроорганизмами и выполнения микробиологических исследований – по ГОСТ ISO 7218.

4.2.2 По биологической безопасности бруцеллин должен соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.008.

4.2.3 Обучение безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

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

4.2.5 Утилизация бруцеллина с истекшим сроком годности, серий, не выдержавших контрольных испытаний, а также флаконов, оставшихся после испытаний, не требует специальных мер безопасности.

5 Технические требования

5.1 Бруцеллин должен соответствовать требованиям настоящего стандарта и изготавливаться в соответствии с технологическим регламентом производства, утвержденным организацией-производителем в порядке, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

5.2 По показателям качества бруцеллин должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма
Внешний вид	Прозрачная жидкость с желтоватым оттенком, без посторонних примесей, осадка и опалесценции. На флаконах не должно быть трещин
Концентрация водородных ионов, ед. pH	7,0 ± 0,2
Массовая доля белка, мг/дм^3	300 ± 20
Стерильность	Должен быть стерильным
Безвредность	Должен быть безвредным
Специфичность	При внутрикожном введении в дозе 0,1 см^3 здоровым морским свинкам не должен вызывать аллергической реакции
Активность	При внутрикожном введении в дозе 0,1 см^3 сенсибилизированным культурой вакцинного штамма бруцелл морским свинкам должен вызывать аллергическую реакцию, аналогичную реакции на введение референс-препарата бруцеллезных аллергенов в дозе 200 ЕА

5.3 Упаковка, маркировка

5.3.1 Бруцеллин расфасовывают по 20 см^3 в стерильные флаконы из нейтрального стекла соответствующей вместимости. Флаконы укупоривают резиновыми пробками и обжимают алюминиевыми колпачками.

5.3.2 Флаконы с бруцеллином упаковывают в картонные коробки по ГОСТ 12301 или пачки по ГОСТ 12303 с разделительными перегородками или гнездами, обеспечивающими целостность флаконов. В каждую коробку вкладывают инструкцию по применению.

5.3.3 Коробки с бруцеллином упаковывают в картонные ящики по ГОСТ 9142 или другие аналогичные. Масса ящиков – не более 20 кг. В каждый ящик вкладывают упаковочный лист с указанием:

- наименования препарата;
- количества коробок в ящике;
- номера серии;
- даты упаковки;
- фамилии или номера упаковщика.

Примечание – Допускается не вкладывать упаковочный лист в транспортную тару.

5.3.4 На флакон наклеивают этикетку или несмываемой краской по стеклу наносят маркировку с указанием:

- наименования организации-производителя и (или) ее товарного знака;
- наименования препарата;
- номера серии;
- даты выпуска (месяца и года);
- срока годности (месяца и года);
- объема (см^3);
- количества доз;
- надписи: «Для ветеринарного применения».

5.3.5 На коробки (пачки) с бруцеллином (вторичная упаковка) наносят маркировку с указанием:

- наименования организации-производителя;
- наименования препарата;
- лекарственной формы;
- номера серии;
- даты выпуска (месяца и года);
- номера регистрационного удостоверения;
- срока годности;
- способа применения;
- количества доз в упаковке;

- условий отпуска;
- условий хранения;
- обозначения настоящего стандарта;
- надписи: «Для ветеринарного применения»;
- штрихового кода;
- информации о подтверждении соответствия.

5.3.6 На транспортную тару наносят маркировку с указанием:
- наименования организации-производителя, ее адреса (в том числе страны);
- наименования препарата;
- количества коробок (пачек) с препаратом в ящике;
- массы брутто;
- номера серии;
- даты выпуска;
- срока годности;
- условий хранения и перевозки;
- надписи: «Для ветеринарного применения».

5.3.7 Транспортную маркировку наносят на противоположную сторону транспортной тары по ГОСТ 14192 с указанием манипуляционных знаков: «Хрупкое. Осторожно» и «Ограничение температуры».

6 Правила приемки

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

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

6.3 В документе о качестве указывают:
- наименование организации-производителя;
- наименование препарата;
- номер серии;
- дату изготовления (месяц, год);
- объем серии;
- результаты испытания по показателям качества;
- срок годности (месяц, год);
- условия хранения;
- обозначение стандарта;
- номер и дату выдачи документа о качестве;
- заключение и подпись уполномоченного лица, выдавшего документ о качестве.

6.4 Для контроля качества бруцеллина от каждой серии методом случайного отбора в соответствии с ГОСТ 31929 отбирают выборку в количестве 20 флаконов, 10 из которых используют для испытания по показателям, указанным в таблице 1, а 10 (после проведения испытаний по показателям качества) направляют в архив отдела, отвечающего за проведение контроля качества готовой продукции. Пробы препарата хранят в архиве в течение срока годности.

6.5 Архивные пробы маркируют надписью «Архив», опечатывают и снабжают документом установленной формы с указанием:
- наименования препарата;
- номера серии;
- даты выпуска (месяца и года);
- даты отбора проб;
- объема серии;
- количества 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 по нему проводят повторные испытания на удвоенном количестве проб бруцеллина, взятых от той же серии, и на удвоенном количестве материалов. Результаты повторного испытания считают окончательными и распространяют на всю серию.

В случае неудовлетворительных результатов повторного испытания серию бруцеллина считают не соответствующей требованиям настоящего стандарта, ее бракуют и утилизируют.

7 Методы испытаний

7.1 Определение внешнего вида

Для определения внешнего вида все флаконы с бруцеллином встряхивают и просматривают визуально в проходящем свете, переворачивая вниз пробкой. Одновременно проверяют прочность укупорки, целостность флаконов и правильность маркировки.

7.2 Определение концентрации водородных ионов (pH)

Определения pH бруцеллина проводят потенциометрическим методом с помощью pH-метра, обеспечивающего измерение с точностью до 0,05 ед. pH и разрешением 0,01 ед. pH, оснащенного ручным или автоматическим определителем температуры. pH-метр используют в соответствии с инструкцией производителя.

7.3 Определение массовой доли белка

Сущность метода заключается в осаждении белка азотной кислотой и последующим измерении мутности раствора на фотоэлектрокалориметре.

7.3.1 Средства измерений, оборудование, материалы и реактивы

Фотоэлектроколориметр с цифровой индикацией результатов измерений и рабочей длины волны, со спектральным диапазоном длин волн 315 – 990 нм, с диапазонами измерений: коэффициента пропускания от 0,1 % до 100 %, оптической плотности (А) от 0 до 3 ед., пределом допускаемой абсолютной погрешности установки длины волны – 3 нм, погрешностью измерений ± 0,5 %, температурным режимом работы от 10 °С до 40 °С .

Весы лабораторные высокого или специального класса точности с наибольшим пределом однократного взвешивания 200 г и ценой деления 0,1 мг по ГОСТ 24104.

pH–метр, обеспечивающий измерение с точностью до ± 0,05 ед. pH, разрешением 0,01 ед. pH.

Пробирки стеклянные П1-14-120ХС или П1-16-150ХС по ГОСТ 25336.

Пипетки пастеровские.

Пипетки стеклянные мерные вместимостью 1, 5 и 10 $см^3$ по ГОСТ 29230.

Флаконы стеклянные с притертой пробкой.

Кислота азотная концентрированная по ГОСТ 701.

Магний сернокислый по ГОСТ 4523.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

Глюкоза по ГОСТ 6038.

Глицерин по ГОСТ 6824 или ГОСТ 6259.

Альбумин сывороточный бычий лиофилизированный марки Б.

Перевар Хоттингера по ГОСТ 29311.

Дрожжевой аутолизат.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Вода водопроводная.

Стерилизующие пластины типа СФ-1.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками не хуже, а также реактивов и материалов по качеству не ниже указанных выше.

7.3.2 Подготовка к испытанию

7.3.2.1 Приготовление питательной среды

В состав питательной среды для культивирования штаммов Brucella abortus входят следующие компоненты:

- перевар Хоттингера..... 20 % – 25 %;
- глицерин.....1 %;
- глюкоза.....1 %;
- натрий хлористый.....0,5 %;
- дрожжевой аутолизат.....3,4 %;
- вода водопроводная.....до 100 %.

Примечание – Вместо водопроводной воды можно использовать деминерализованную или дистиллированную воду.

Для приготовления питательной среды берут 20 – 25 $дм^3$ перевара Хоттингера, добавляют 500 г хлористого натрия и доводят объем водопроводной водой до 70 – 75 $дм^3$.

Для удаления остаточного хлороформа, присутствующего в переваре Хоттингера, питательную среду прогревают до температуры 50 °С – 60 °С в течение 30 мин, затем охлаждают до темпера-

туры 30 °С. После этого в среду добавляют 3,4 дм^3 дрожжевого аутолизата, профильтрованного через стерилизующие пластины, 1 кг глицерина, 1 кг глюкозы, перемешивают и устанавливают pH 6,8 – 7,1.

Содержание аминного азота в питательной среде должно быть в пределах 145 – 170 мг/%.

Питательную среду стерилизуют методом мембранной фильтрации или через стерилизующие пластины.

Срок хранения готовой питательной среды при температуре 2 °С – 8 °С – не более одной недели.

7.3.2.2 Приготовление реактива

Один объем концентрированной азотной кислоты смешивают с четырьмя объемами насыщенного раствора сернокислого магния. Раствор хранят в посуде с притертой пробкой неограниченное время.

7.3.2.3 Приготовление основного раствора белка в питательной среде

В 100 см^3 питательной среды по 7.3.2.1 растворяют 100 мг кристаллического бычьего альбумина. Из исходного раствора готовят разведения по схеме, приведенной в таблице 2.

Таблица 2

Номер пробирки	Объем, см^3		Концентрация белка, мг/дм^3
	исходного раствора	дистиллированной воды	
1	0,1	4,9	20
2	0,3	4,7	60
3	0,5	4,5	100
4	0,7	4,3	140
5	0,9	4,1	180
6	1,1	3,9	220
7	1,3	3,7	260
8	1,5	3,5	300
9	3,5	6,5	350
10	1,0	3,0	400
11	4,5	5,5	450
12	3,0	3,0	500

7.3.2.4 Построение градуировочной кривой

Каждое разведение белка по 1 см^3 вносят в три пробирки. Затем в пробирки добавляют по 1 см^3 реактива по 7.3.2.2. Через 15 мин проводят измерение плотности полученных растворов на фотоэлектроколориметре при длине волны 420 – 450 нм, используя кюветы с толщиной слоя 0,5 см.

Для построения градуировочной кривой на оси абсцисс откладывают средние показания экстинкций, а на оси ординат – концентрацию белка в мг/дм^3.

7.3.3 Проведение испытания

В пробирку вносят 1 см^3 исследуемого бруцеллина и 1 см^3 реактива по 7.3.2.2 и смешивают путем встряхивания. Через 15 мин помутневшую жидкость колориметрируют на фотоэлектроколориметре при длине волны 420 – 450 нм, используя кюветы с толщиной слоя 0,5 см, и записывают показания прибора.

7.3.4 Обработка результатов

Из трех параллельных определений находят среднее значение показателя оптической плотности и по градуировочной кривой определяют содержание белка в бруцеллине в мг/дм^3.

7.4 Определение стерильности

Стерильность бруцеллина проверяют по ГОСТ 28085.

7.5 Определение безвредности

Общие принципы определения безвредности – по ГОСТ 31926.

7.5.1 Материалы и реактивы

Шприц инъекционный вместимостью 5 см^3 по ГОСТ 22967 или ГОСТ 24861.

Иглы инъекционные по ГОСТ 25046.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 18300.

Тампоны ватные стерильные.

Пергаментная бумага по ГОСТ 1341.

Мыши белые клинически здоровые массой 18 – 20 г.

Допускается применение других реактивов и материалов по качеству не ниже вышеуказанных.

7.5.2 Подготовка к испытанию

Шприцы многократного применения стерилизуют кипячением в дистиллированной воде в течение 50 – 60 мин.

7.5.3 Проведение испытания

Металлический колпачок флакона с бруцеллином приоткрывают, резиновую пробку обрабатывают тампоном, смоченным 70 °-градусным спиртом, и шприцем набирают препарат. Бруцеллин вводят пяти здоровым белым мышам подкожно в области паха или спины в дозе 0,5 $см^3$.

7.5.4 Обработка результатов

Бруцеллин считают безвредным, если все животные остаются клинически здоровыми в течение 10 сут и в месте инъекции отсутствуют признаки воспаления.

7.6 Определение специфичности

7.6.1 Материалы и реактивы по 6.5.1 со следующим дополнением:

- штатив для пробирок;
- пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;
- пипетки мерные стеклянные вместимостью 1, 2 и 5 $см^3$ по ГОСТ 29230;
- раствор физиологический, pH (7,0 ± 0,2);
- референс-препарат активности бруцеллезных аллергенов;
- морские свинки-альбиносы или с белыми боками массой 350 – 600 г.

7.6.2 Подготовка к испытанию

За сутки до проведения испытания на боковой поверхности туловища морских свинок удаляют шерсть путем выщипывания. Содержимое ампулы референс-препарата бруцеллезных аллергенов разводят стерильным физиологическим раствором с таким расчетом, чтобы в 1 $см^3$ препарата содержалось 2000 ЕА. Раствор препарата готовят в день проведения испытания (хранение раствора недопустимо). Шприцы многократного применения готовят по 6.5.2.

7.6.3 Проведение испытания

Пяти здоровым морским свинкам бруцеллин вводят в участок кожи с удаленной шерстью внутрикожно в объеме 0,1 $см^3$. Одновременно на симметричном участке другой стороны туловища вводят референс-препарат активности бруцеллезных аллергенов в дозе 200 ЕА в объеме 0,1 $см^3$. Определение специфичности (наличие или отсутствие аллергической реакции) проводят через 24 ч.

7.7 Определение активности

7.7.1 Материалы и реактивы по 6.5.1 и 6.6.1 со следующим дополнением:

- культура вакцинного штамма Brucella abortus 19;
- оптический стандарт мутности на 10 МЕ (соответствует 1,7 млрд бруцелл).

7.7.2 Подготовка к испытанию

Подготовка к испытанию – по 7.6.2.

Здоровых морских свинок сенсибилизируют путем подкожного введения взвеси двухсуточной агаровой культуры вакцинного штамма Brucella abortus 19 в физиологическом растворе в дозе 1 – 2 млрд микробных клеток по оптическому стандарту мутности. Через 28 – 30 сут после иммунизации на морских свинках проводят определение активности бруцеллина. Животные могут быть использованы не более 6 мес с интервалом между испытаниями не менее 30 сут. При повторных испытаниях пробы ставят на участках кожи, не повергавшихся воздействию аллергена в предыдущих опытах.

7.7.3 Проведение испытания

Бруцеллин и референс-препарат активности бруцеллезных аллергенов в дозе 200 ЕА вводят 15 сенсибилизированным и пяти здоровым (контрольные животные) морским свинкам внутрикожно в участки кожи с удаленной шерстью в объеме 0,1 $см^3$ по две – пять инъекций с обеих сторон туловища.

Иглу вводят в складку кожи свинки, зажатую между большим и указательным пальцами, параллельно поверхности кожи с таким расчетом, чтобы не менее 3 мм иглы было погружено в кожу. Затем складку отпускают и нажимом на поршень вводят точно 0,1 $см^3$ препарата. В месте инъекции должна образоваться папула величиной с горошину. С целью предупреждения вытекания препарата иглу после введения задерживают на 2–3 с и затем извлекают.

Группа животных может использоваться для испытания до четырех серий препарата. При этом точки инъекций каждой серии бруцеллина и референс-препарата последовательно чередуют, обозначая цифрами.

Пример схемы введения трех серий бруцеллина морским свинкам представлен в приложении А.

7.7.4 Обработка результатов

На месте введения аллергенов у морских свинок появляется воспалительная реакция в виде различной отечной припухлости и гиперемии кожи. Учет интенсивности реакций проводят через 24 ч после введения препаратов путем измерения в миллиметрах среднего диаметра отека, образующегося в месте введения. Диаметр определяют следующим образом: авторучкой на боках животного

намечают контуры отека. Затем на боковую поверхность морской свинки накладывают целлофан и перерисовывают на него контуры отека с обозначением точек инъекций – 1, 2, 3, 4 и номера каждого животного. Целлофан подписывают лица, проводившие испытание препарата, с указанием даты учета реакции и номеров серий бруцеллина и подшивают в журнал учета активности препарата. Для оценки активности испытуемой серии бруцеллина целлофан накладывают на миллиметровую бумагу, определяют продольный и поперечный диаметры каждого отека и вычисляют его среднее значение с точностью до десятых. Затем определяют среднее значение реакции, полученное на два введения испытуемой серии препарата. Аналогично рассчитывают среднее значение реакции, полученное на введение референс-препарата активности бруцеллезных аллергенов. Результаты определения средних значений интенсивности реакций в миллиметрах заносят в ведомость учета интенсивности аллергических реакций (таблица 3) и сравнивают реакции, полученные на введение испытуемой серии бруцеллина и референс-препарата активности бруцеллезных аллергенов.

Т а б л и ц а 3 – Пример ведомости учета интенсивности аллергических реакций для одной серии бруцеллина

Номер животного	Средний диаметр отека, мм		Оценка реакции на бруцеллин в сравнении с референс-препаратом: бóльшая (+), меньшая (-), одинаковая (=)
	Референс-препарат	Испытуемая серия	
1	10,0	9,0	—
2	13,5	12,0	—
3	13,0	13,0	=
4	13,0	14,5	+
5	12,5	13,0	+
6	20,5	17,5	—
7	16,0	18,0	+
8	10,5	11,0	+
9	11,0	10,5	—
10	11,5	13,5	+
11	14,5	13,0	—
12	17,0	21,0	+
13	12,5	12,5	=
14	15,5	16,0	+
15	18,0	18,5	+

Более выраженную реакцию на бруцеллин обозначают знаком «+» (плюс), менее выраженную – знаком «—» (минус), аналогичную с референс-препаратом – знаком «=» (равенство).

По ведомости учета подсчитывают общее количество знаков «+» и «—», знак равенства «=» в расчет не берут и таким образом определяют показатель А, приведенный в таблице 4.

Т а б л и ц а 4 – Определение достоверности различия реакций на бруцеллин и референс-препарат

Показатель А*	Показатель Б**
6	6
7	7
8	8
9	8
10	9
11	10
12	11
13	11
14	12
15	12

* Общее количество знаков «+» и «—».

** Минимальное количество знаков «+» или «—», при котором различие достоверно с вероятностью 95 %.

Затем подсчитывают отдельно количество знаков «+» и знаков «—» и сравнивают полученные результаты с показателем Б, соответствующим установленному показателю А.

Для оценки достоверности различия сравниваемых значений применяют метод критерия знаков. Устанавливают минимальные значения, при которых соответствующие различия между контрольными и опытными пробами достоверны.

При анализе данных таблицы 3 сумма знаков «+» и «—» равна 13, соответствующий показатель Б таблицы 4 равен 11. Сумма знаков «+» равна 8, знаков «—» равна 5, т.е. меньше показателя Б (11), что означает отсутствие статистически достоверной разницы в активности бруцеллина и референспрепарата, т.е. активность испытуемого бруцеллина и референс-препарата одинаковая.

Испытуемую серию бруцеллина считают одинаковой по активности с референс-препаратом в случае, если не имеется различия в интенсивности вызываемых ими реакций.

8 Транспортирование и хранение

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

8.2 Допускается транспортирование бруцеллина при температуре не болеее 20 °С, при этом срок транспортирования не должен превышать 5 сут.

8.3 Бруцеллин хранят в сухом темном помещении в упаковке производителя при температуре от 2 °С до 8 °С в пределах срока годности.

8.4 Бруцеллин, подвергшийся замораживанию, для применения не пригоден.

8.5 Срок годности бруцеллина – два года с даты выпуска.

Датой изготовления бруцеллина считают дату окончания прогрева в автоклаве расфасованного во флаконы препарата. Датой выпуска считают дату подписания документа о качестве.

Приложение А
(справочное)

Схема введения трех серий бруцеллина морским свинкам

А.1 Схема введения трех серий бруцеллина морским свинкам приведена в таблице А.1.

Таблица А.1

Номер морской свинки	Обозначение точек инъекций аллергенов							
1	1	2	3	4	2	3	4	1
2	3	4	1	2	4	1	2	3
3	1	2	3	4	2	3	4	1
4	3	4	1	2	4	1	2	3
5	1	2	3	4	2	3	4	1
6	3	4	1	2	4	1	2	3
7	1	2	3	4	2	3	4	1
8	3	4	1	2	4	1	2	3
9	1	2	3	4	2	3	4	1
10	3	4	1	2	4	1	2	3
11	1	2	3	4	2	3	4	1
12	3	4	1	2	4	1	2	3
13	1	2	3	4	2	3	4	1
14	3	4	1	2	4	1	2	3
15	1	2	3	4	2	3	4	1

Примечание – В настоящей таблице приведены следующие условные обозначения точек инъекций:

- 1 – референс-препарат;
- 2 – серия № 1;
- 3 – серия № 2;
- 4 – серия № 3.

Библиография

[1] Правила производства лекарственных средств для человека и животных Европейского Союза

УДК 619:616.98:579.852.1:615371:006.354 МКС 11.220

Ключевые слова: бруцеллез, диагностика, активность, безвредность, специфичность, стерильность

Подписано в печать 01.04.2014. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 1,86. Тираж 31 экз. Зак. 763.

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