ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

# АНТИГЕН ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ЭПИДИДИМИТА БАРАНОВ, ВЫЗЫВАЕМОГО БРУЦЕЛЛОЙ ОВИС

## ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ И МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

## ГОСТ 27146—86
## (СТ СЭВ 5157—85)

Издание официальное

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 616—097:619:006.354 Группа Р31

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

# АНТИГЕН ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ЭПИДИДИМИТА БАРАНОВ, ВЫЗЫВАЕМОГО БРУЦЕЛЛОЙ ОВИС

**Технические требования и методы испытаний**

Antigen revealing infectious sheep's epididymitis caused by Brucella ovis. Technical requirements and test methods

**ГОСТ 27146—86**

**(СТ СЭВ 5157—85)**

ОКСТУ 9382

**Срок действия с 01.01.88**
**до 01.01.93**

**Несоблюдение стандарта преследуется по закону**

Настоящий стандарт распространяется на антиген, предназначенный для диагностики инфекционного заболевания овец, вызываемого Бруцеллой овис, методом реакции длительного связывания комплемента (РДСК).

Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 5157—85.

## 1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Антиген по своим физическим и биологическим свойствам должен соответствовать характеристикам и нормам, указанным в табл. 1.

Таблица 1

| Наименование показателя | Характеристика и норма |
|---|---|
| 1. Внешний вид | Прозрачная, слегка опалесцирующая жидкость зеленовато-желтого цвета |
| 2. Наличие посторонней примеси, плесени, хлопьев, осадка, трещин флаконов | Не допускается |
| 3. Стерильность | В посевах из антигена на питательные среды не должно быть роста микрофлоры после выдерживания в течение 10 дней при температуре (37±0,5)°С, на агаре Сабуро при температуре (22±2)°С |

**Издание официальное**

**Перепечатка воспрещена**

© Издательство стандартов, 1987

*Продолжение табл. 1*

| Наименование показателя | Характеристика и норма |
|---|---|
| 4. Активность в РДСК | Титр не ниже 1 : 200 с оценкой «три-четыре креста»; рабочий титр 1 : 100 |
| 5. Специфичность в РДСК | Антиген в разведении 1 : 50 и выше не должен вызывать задержки гемолиза эритроцитов с *S*-бруцеллезной и нормальными сыворотками |
| 6. Антикомплементарные свойства | Антиген в разведении 1 : 50 и выше не должен обладать антикомплементарными свойствами |
| 7. Гемотоксичность | Антиген в разведении 1 : 50 и выше не должен обладать гемотоксическими свойствами |

## 2. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

2.1. Отбор проб

2.1.1. Для проведения испытания от каждой серии отбирают десять флаконов. Пять флаконов используют для анализа, а пять — хранят в архиве государственного контролера в течение 18 мес.

2.1.2. Флаконы, предназначенные для хранения, сопровождают документом с указанием:

наименования препарата;
даты изготовления;
номера серии;
номера контроля;
даты отбора пробы;
общего количества упаковочных единиц и объема серии;
должности и подписи лица, отобравшего пробу;
обозначения настоящего стандарта.

2.2. Определение внешнего вида, цвета и наличия посторонней примеси

Для определения внешнего вида, цвета, наличия посторонней примеси, плесени, хлопьев, осадка каждый флакон с препаратом встряхивают и просматривают в проходящем свете.

2.3. Определение стерильности

Сущность метода заключается в определении роста бактериальной и грибковой микрофлоры в посевах из проб антигена на питательных средах.

2.3.1. *Аппаратура, материалы и реактивы*

Для проведения испытания применяют:

термостаты с температурой нагрева (22±2)°С и (37±0,5)°С;
пипетки мерные вместимостью 1 и 2 см³ по ГОСТ 20292—74;

пробирки по ГОСТ 25336—82;
флаконы стеклянные вместимостью 100 см³;
бульон мясо-пептонный (МПБ) по ГОСТ 20730—75;
бульон мясо-пептонный печеночный (МППБ) под вазелиновым маслом;
агар мясо-пептонный (МПА);
пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805—76;
агар микробиологический по ГОСТ 17206—84 или агар пищевой по ГОСТ 16280—70;
масло вазелиновое по ГОСТ 3164—78;
раствор физиологический, pH 7,0—7,2;
агар Сабуро;
натрий хлористый по ГОСТ 4233—77.

2.3.2. *Проведение испытания*

Посев проводят из каждого отобранного для испытания флакона в объеме 0,2—0,3 см³ в пробирки с МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом, агаром Сабуро и по 0,5—1 см³ во флаконы с МПА и МППБ под вазелиновым маслом. Посевы проводят в две пробирки и два флакона с каждой средой. Питательные среды с посевами выдерживают при температуре (37±0,5)°С, а на агаре Сабуро при температуре (22±2)°С в течение 10 дней. В посевах на питательных средах не должно быть роста бактериальной микрофлоры и грибов.

2.4. Определение активности, специфичности, гемотоксичности и антикомплементарных свойств

Сущность метода заключается в способности антигена образовывать комплекс со специфическими антителами, выявляемый в РДСК.

2.4.1. *Аппаратура и материалы*

Для проведения испытания применяют:
баню водяную с температурой 38°С и 62—64°С;
холодильник, поддерживающий температуру 2—4°С;
пробирки по ГОСТ 25336—82;
штативы;
пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5 и 10 см³ по ГОСТ 20292—74;
колбы мерные вместимостью 100, 200 и 1000 см³ по ГОСТ 20292—74;
воронки стеклянные по ГОСТ 25336—82;
полиглобулин для стандартизации овисных антигенов или референтную овисную сыворотку с титром в РДСК 1:20 четыре креста (++++);
две нормальные сыворотки крови баранов разных серий;
*S*-бруцеллезную сыворотку с титром в РДСК 1:40 четыре креста (++++);

Таблица 2

**Титрация овисного антигена**

| Компоненты реакции | Разведения антигена | | | | | | | | Контрольный овисный антиген | Контрольный бруцеллезный антиген | Без антигена |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1:50 | 1:100 | 1:150 | 1:200 | 1:250 | 1:300 | 1:350 | 1:400 | | | |
| Разведения полиглобулина или референтной овисной сыворотки, см³ | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 1,0 |
| | Выдерживают в водяной бане при температуре 62—64°С в течение 30 мин | | | | | | | | | | |
| Испытуемый и контрольный антиген, см³ | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | — |
| Комплемент в разведении по титру, см³ | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| | Выдерживают при температуре 2—4°С в течение 16—18 ч, затем при комнатной температуре в течение 20 мин | | | | | | | | | | |
| Гемолитическая система в рабочем титре (см. табл. 4), см³ | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| | Выдерживают в водяной бане при температуре 37—38°С в течение 20 мин | | | | | | | | | | |

Таблица 3

**Титрация овисного антигена и примерный результат**

| Компоненты реакции | Разведения | Разведения антигена | | | | | | | | Контрольный овисный антиген | Контрольный бруцеллезный антиген | Без антигена |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1:50 | 1:100 | 1:150 | 1:200 | 1:250 | 1:300 | 1:350 | 1:400 | | | |
| Полиглобулин или референтная овисная сыворотка | 1:10 | ++<br>++ | ++<br>++ | ++<br>++ | ++<br>++ | +++ | ++ | + | — | ++<br>++ | — | — |
| *S*-бруцеллезная сыворотка | 1:5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ++<br>++ | — |
| | 1:10 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ++<br>++ | — |
| Негативная сыворотка 1-я | 1:5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Негативная сыворотка 2-я | 1:5 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Антикомплементарность антигена | (В двойной дозе) | — | — | Реакцию не проводят | | | | | | — | — | — |
| Гемотоксичность антигена | (В двойной дозе) | ++<br>++ | ++<br>++ | То же | | | | | | ++<br>++ | ++<br>++ | Реакцию не проводят |

Таблица 4

**Титрация гемолитической системы для реакции длительного связывания комплемента**

| Компоненты | Дозы компонентов в пробирках, см³ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Негативная сыворотка в разведении 1 : 5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| | Выдерживают в водяной бане при температуре 62—64°С в течение 30 мин | | | | | | | | | |
| Антиген в рабочем титре | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Комплемент (в том же разведении, как для главного опыта) | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| | Выдерживают при температуре 2—4°С в течение 16—18 ч, затем в течение 20 мин при комнатной температуре 16—24°С | | | | | | | | | |
| Гемолитическая система | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 0,8 | 1,0 | 1,2 | 1,4 | 1,6 | 1,8 | 2,0 |
| | Выдерживают в водяной бане при температуре 37—38°С в течение 20 мин | | | | | | | | | |
| Результат | ПГ | ПГ | ПГ | ПГ | ПГ | ПГ | ЧГ | ЧГ | ЧГ | ЗГ |

Общий титр гемолитической системы — 1,2 см³
Рабочий титр — 1,0 см³

Примечание. ПГ — полный гемолиз, ЧГ — частичный гемолиз, ЗГ — задержка гемолиза. Опыт проводится параллельно с двумя негативными сыворотками.

антиген бруцеллезный для РА, РСК (РДСК);
комплемент для РСК;
сыворотку гемолитическую для РСК;
эритроциты барана, 3—4%-ную взвесь в физиологическом растворе;
физиологический раствор, pH 7,0—7,2.

2.4.2. *Проведение испытания*

Определение активности, специфичности, гемотоксичности и антикомплементарных свойств антигена проводят в РДСК по табл. 2 и 3.

Для испытания в РДСК испытуемый антиген разводят физиологическим раствором в соотношении 1 : 50, 1 : 100, 1 : 150, 1 : 200, 1 : 250, 1 : 300, 1 : 350, 1 : 400; полиглобулин или референтную овисную сыворотку — в разведении 1 : 10; *S* — бруцеллезную сыворотку — в разведении 1 : 5 и 1 : 10; две нормальные сыворотки крови баранов разных серий — в разведении 1 : 5.

Контрольный овисный и бруцеллезный антигены используют в рабочих титрах.

Комплемент разводят физиологическим раствором 1 : 20— : 30 в зависимости от титра.

Гемолитическую систему готовят из равных объемов взвеси эритроцитов барана в физиологическом растворе (из осадка эритроцитов, отмытых 2 – 3 раза центрифугированием с частотой вращения 2500—3000 мин$^{-1}$ в течение 10—12 мин) и разведени гемолитической сыворотки в утроенном-учетверенном титре. Определение рабочего титра гемолитической системы для РДСК проводят по табл. 4.

При испытании антигена на антикомплементарность вместо сывороток вносят равный объем антигена в том же разведении, а при испытании на гемотоксические свойства физиологическим раствором заменяют комплемент и сыворотку.

Реакцию оценивают по четырехбальной системе в крестах
четыре креста (++++) — гемолиз эритроцитов от 0 до 0%;
три креста (+++) — гемолиз эритроцитов св. 10 до 40%
два креста (++) — гемолиз эритроцитов св. 40 до 70%;
один крест (+) — гемолиз эритроцитов св. 70 до 90%;
отрицательная реакция (—) — гемолиз эритроцитов св. 9 до 100%.

Титром антигена считают наибольшее его разведение, вызывающее полную задержку гемолиза эритроцитов с полиглобулином или референтной овисной сывороткой в разведении 1 : 10

## 3. ПРОТОКОЛ ИСПЫТАНИЯ

Для каждой проверенной серии антигена составляют протокол испытания, который должен содержать следующие данные:

наименование штамма;
использованный метод;
результат испытания показателей качества;
дату изготовления;
подпись лица, проводившего испытания;
сбозначение настоящего стандарта.

---

## ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

**1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Госагропромом СССР**

**ИСПОЛНИТЕЛИ:**

**К. В. Шумилов**, канд. вет. наук (руководитель темы); **У. Э. Ниязов**, канд. вет. наук; **Т. И. Малахова**, канд. вет. наук

**2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 11 декабря № 3761**

**3. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

**4. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

| Обозначение НТД, на который дана ссылка | Номер пункта, подпункта, перечисления, приложения |
|---|---|
| ГОСТ 3164—68 | 2.3.1 |
| ГОСТ 4233—77 | 2.3.1 |
| ГОСТ 13805—76 | 2.3.1 |
| ГОСТ 16280—70 | 2.3.1 |
| ГОСТ 17206—84 | 2.3.1 |
| ГОСТ 20292—74 | 2.3.1; 2.4.1 |
| ГОСТ 20730—75 | 2.3.1 |
| ГОСТ 25336—82 | 2.3.1; 2.4.1 |

---

**Редактор** *Т. П. Шашина*
Технический редактор *М. И. Максимова*
Корректор *Р. Н. Корчагина*

Сдано в наб. 30.12 86 Подп. в печ. 23 02.87 0,75 усл. п. л. 0,75 усл. кр.-отт. 0,48 уч.-изд. л.
Тир. 8000 Цена 3 коп.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123840, Москва, ГСП, Новопресненский пер., 3
Тип «Московский печатник», Москва, Лялин пер., 6. Зак. 5

gost.e-ecolog.ru