ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

АНТИГЕН САПНОЙ ДЛЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

ГОСТ 17405—81

Издание официальное

Цена 3 коп.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

РАЗРАБОТАН Министерством сельского хозяйства СССР

ИСПОЛНИТЕЛИ

А. Н. Шаров, Н. К. Букова, Н. Д. Насокина, А. А. Гринев, А. Н. Косякин

ВНЕСЕН Министерством сельского хозяйства СССР

Член Коллегии **А. Д. Третьяков**

УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 31 декабря 1981 г. № 5971

УДК 616—[illegible] . 619 : 006.354 Группа Р31

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

АНТИГЕН САПНОЙ ДЛЯ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

Технические условия

Qlanders antigen for use in the complement fixation test Specifications

ГОСТ 17405—81

Взамен ГОСТ 17405—72

ОКП 93 8863

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 31 декабря 1981 г. № 5971 срок введения установлен

с 01.01. 1983 г.
до 01.01. 1988 г.

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на сапной антиген, представляющий собой экстракт убитых сапных бактерий, предназначенный для реакции связывания комплемента (РСК) при диагностике сапа.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Сапной антиген должен изготовляться в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическим правилам, утвержденным в установленном порядке.

1.2. По физическим и биологическим свойствам сапной антиген должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в табл. 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма
Внешний вид	Прозрачная, слегка опалесцирующая жидкость светло-желтого цвета без осадка и механических примесей
Стерильность	Посевы на питательные среды должны быть стерильными
Активность (титр)	1 100 — 1 200

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

© Издательство стандартов, 1982

Продолжение табл. 1

Наименование показателя	Характеристика и норма
Специфичность	В смеси с сапной сывороткой должен вызывать задержку гемолиза эритроцитов в РСК и не вызывать ее в смеси с негативной сывороткой
Отсутствие антикомплементарных свойств	Без сапной сыворотки не должен вызывать задержки гемолиза эритроцитов
Отсутствие гемолитических свойств	Без сапной сыворотки и комплемента не должен вызывать гемолиза эритроцитов

2. ПРАВИЛА ПРИЕМКИ

2.1. Сапной антиген принимают сериями.

Под серией следует понимать любое количество сапного антигена, полученное за один технологический цикл, в одной емкости. Серия должна иметь свой номер, номер государственного контроля и оформлена одним документом о качестве.

2.2. Каждая серия сапного антигена должна быть принята на предприятии-изготовителе государственным контролем Всесоюзного государственного научно-контрольного института ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР.

2.3. Внешний вид сапного антигена определяют по каждой ампуле всей серии препарата.

2.4. Для контроля качества сапного антигена от каждой серии отбирают 40 ампул препарата.

2.5. При получении неудовлетворительных результатов испытаний хотя бы по одному из показателей по нему проводят повторные испытания удвоенного количества ампул с препаратом.

Результаты повторных испытаний распространяются на всю серию.

2.6. Контроль качества препарата по требованию потребителя проводит государственный контролер или Всесоюзный государственный научно-контрольный институт ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР.

3. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

3.1. Метод отбора проб

3.1.1. Ампулы отбирают из разных мест нескольких упаковок. 20 ампул используют для испытаний, а 20 оставляют в архиве государственного контролера на 3 года.

3.2. Для определения внешнего вида, отсутствия осадка и примесей ампулы с сапным антигеном встряхивают и просматривают в проходящем свете.

3.3. Определение стерильности

3.3.1. *Аппаратура, материалы и реактивы*

Термостат с температурой нагрева 37—38°С.

Автоклав.

Пипетки пастеровские.

Пробирки стеклянные по ГОСТ 10515—75.

Воронки стеклянные по ГОСТ 8613—75.

Пробки ватно-марлевые.

Фильтры бумажные.

Пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805—76.

Агар микробиологический по ГОСТ 17206—71 или агар пищевой по ГОСТ 16280—70.

Глицерин по ГОСТ 6259—75.

Масло вазелиновое по ГОСТ 3164—78.

Д-глюкоза по ГОСТ 6038—79.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.

3.3.2. *Подготовка к испытанию*

В соответствии с действующей рецептурой готовят мясопептонный агар (МПА), МПА с 2—4% глицерина, мясопептонный бульон (МПБ) по ГОСТ 20730—75, мясопептонный печеночный бульон (МППБ) под вазелиновым маслом (среда Китт-Тароцци) и среду Сабуро. Среды разливают по 8—10 см³ (МПА и среду Сабуро — по 5—6 см³) в пробирки, закрывают ватно-марлевыми пробками и стерилизуют в автоклаве при давлении 0,15 МПа в течение 30 мин. Плотные питательные среды перед применением скашивают.

3.3.3. *Проведение испытания*

Проводят высев по 0,2—0,3 см³ из смеси содержимого пяти ампул сапного антигена на МПБ, МПА, МПА с 2—4% глицерина, МППБ под вазелиновым маслом и среду Сабуро — по 3 пробирки каждой среды.

3.3.4. *Обработка результатов*

Посевы должны оставаться стерильными при выдерживании их в термостате в течение 10 сут при температуре 37—38°С, а на среде Сабуро — при 20—22°С.

3.4. Определение активности (титра), специфичности, отсутствия антикомплементарных и гемолитических свойств антигена

3.4.1. *Аппаратура и реактивы*

Холодильник бытовой.

Баня водяная с терморегулятором.

Центрифуга на 3 тыс. об/мин.

Пипетки пастеровские.

Пипетки мерные по ГОСТ 20292—74, вместимостью 1, 2, 5, 10 см³.

Пробирки стеклянные по ГОСТ 10515—75.
Цилиндры мерные по ГОСТ 1770—74.
Колбы стеклянные по ГОСТ 1770—74.
Штативы для пробирок.
Потенциометр ЭВ-74 или прибор того же класса точности.
Натрий хлористый по ГОСТ 4233—77.
Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.
Комплемент по ГОСТ 16446—78.
Гемолизин по ГОСТ 16445—78.
Сыворотка лошадей неспецифическая (негативная).
Эритроциты барана.
Антиген сапной контрольный.
Сыворотка сапная контрольная или
референс-препарат сыворотки с установленной активностью.

Примечания:

1. Под контрольной серией сапного антигена и контрольной серией сапной сыворотки понимают серии, апробированные для этой цели Всесоюзным государственным научно-контрольным институтом ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР и используемые в течение срока их годности.

2. Под референс-препаратом сыворотки понимают глобулиновую фракцию белков с известной биологической активностью в единицах действия, выделенную из сапной сыворотки.

3.4.2. *Подготовка к испытанию*

3.4.2.1. Готовят физиологический раствор pH 6,8—7,2.

3.4.2.2. Готовят разведения контрольной серии сапной сыворотки или референс-препарат сыворотки 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160 и негативной сыворотки 1 : 5 и инактивируют при 58—59°С в течение 30 мин.

3.4.2.3. Готовят разведения на физиологическом растворе испытуемого антигена 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 300, 1 : 400 и контрольной серии антигена 1 : 100.

3.4.2.4. В соответствии с требованиями ГОСТ 16446—78 на комплемент готовят гемолитическую систему, состоящую из равных объемов 2,5%-ной взвеси эритроцитов и раствора гемолизина в рабочем разведении. Полученную гемсистему помещают в водяную баню при 37°С на 20 мин для сенсибилизации эритроцитов.

3.4.2.5. Устанавливают титр комплемента в соответствии с требованиями ГОСТ 16446—78.

Для применения в реакции комплемент берут в количестве на два интервала большем его титра. Так, например, при титре комплемента 0,19 его рабочая доза будет 0,25.

Затем готовят 40 $см^3$ комплемента в рабочей дозе, для чего наливают в колбу нативный комплемент в объеме, равном показателю его рабочей дозы, умноженному на 4 (в примере — 1,00 $см^3$) и добавляют физиологический раствор до общего объема жидкости 40 $см^3$.

3.4.3. *Проведение испытания*

Разведения антигена, сывороток и комплемент разливают в указанной последовательности по 0,5 см³ в пробирки и одновременно ставят контрольные пробирки в соответствии с требованиями табл. 2. В контрольные пробирки вместо недостающих компонентов вносят по 0,5 см³ физиологического раствора.

Таблица 2

Схема и результаты постановки РСК (пример)

Разведения сывороток		Разведения испытуемой серии антигена					Контроль		
		1:50	1:100	1:200	1:300	1:400	контрольная серия антигена 1:100	без антигена	без антигена и комплемента
Негативная сыворотка 1:5		100	100	100	100	100	100	100	0
Контрольная сапная сыворотка или референс-препарат сыворотки	1:5	0	0	0	0	0	0	100	0
	1:10	0	0	0	0	0	0	100	0
	1:20	10	0	0	0	20	0	100	0
	1:40	20	0	0	10	40	0	100	0
	1:80	40	0	0	30	90	0	100	0
	1:160	60	40	30	60	100	30	100	0
Контроль: Без сыворотки		100	100	100	100	100	100	100	0
Контроль: Без сыворотки и комплемента		0	0	0	0	0	0	0	

Штативы с пробирками встряхивают и помещают в водяную баню при 37°С на 20 мин. Затем в каждую пробирку вносят гемолитическую систему в объеме 1 см³ и снова помещают в баню на 20 мин.

После бани штатив с пробирками выдерживают при 4—12°С в течение 15—18 ч.

3.4.4. *Обработка результатов*

Реакцию оценивают по степени гемолиза эритроцитов в процентах по шкале гемолиза. Для приготовления шкалы гемолиза из реакции отбирают 5 пробирок с полным гемолизом эритроцитов (100%) и содержимое их сливают вместе. Затем смесь разливают в пробирки в количестве, указанном в табл. 3.

Титром антигена считают наибольшее его разведение, вызывающее полную задержку гемолиза эритроцитов с наибольшим количеством разведений сапной сыворотки (референс-препарата

Таблица 3

Схема составления шкалы гемолиза

Номер пробирки	Компоненты, см³		Процент гемолиза
	гемолизированные эритроциты	физиологический раствор	
1	0,0	2,0	0
2	0,2	1,8	10
3	0,4	1,6	20
4	0,6	1,4	30
5	0,8	1,2	40
6	1,0	1,0	50
7	1,2	0,8	60
8	1,4	0,6	70
9	1,6	0,4	80
10	1,8	0,2	90
11	2,0	0,0	100

сыворотки). Титр антигена должен быть 1 : 100 — 1 : 200, при этом полная задержка гемолиза эритроцитов должна быть до разведения контрольной сыворотки или референс-препарата сыворотки не менее чем 1 : 80.

Антиген считают специфичным, не обладающим антикомплементарными и гемолитическими свойствами, если в контрольных пробирках с негативной сывороткой и без сапной сыворотки эритроциты полностью гемолизируются (100% гемолиза), а в контрольных пробирках без сапной сыворотки и комплемента наступает полная задержка гемолиза эритроцитов (отсутствие гемолиза).

4. УПАКОВКА, МАРКИРОВКА, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Сапной антиген должен фасоваться в стерильные ампулы вместимостью 1 см³. Ампулы должны быть запаяны.

4.2. На ампулах должны быть следующие обозначения:

сокращенное наименование препарата — «сапантиген»;

количество препарата, см³;

номер серии.

4.3. По 10 ампул с сапным антигеном должно быть упаковано в картонные коробки с разделительными перегородками. На каждой коробке должна быть этикетка, на которой указывают:

наименование и товарный знак предприятия-изготовителя;

наименование препарата;

количество ампул;

количество препарата в ампуле, см³;

номер серии;

номер госконтроля;

дату изготовления;

срок годности;
«Рабочее разведение 1 : 100»;
условия хранения;
номер браковщика;
обозначение настоящего стандарта.

4.4. Коробки с ампулами сапного антигена упаковывают в деревянные или фанерные ящики массой брутто не более 15 кг. Внутрь каждого ящика вкладывают контрольный лист с указанием:

наименования препарата;
наименования предприятия-изготовителя и его товарного знака;
количества коробок в ящике;
номера серии;
даты упаковки;
фамилии или номера упаковщика.

4.5. Маркировку грузов проводят по ГОСТ 14192—77 с указанием следующих данных:

наименования предприятия-изготовителя и его товарного знака;
наименования потребителя и его адреса;
наименования препарата;
количества ампул в ящике;
номера серии препарата;
срока годности;
массы брутто;
условий хранения и транспортирования;
даты изготовления;
обозначения настоящего стандарта;
предупредительной надписи: «Биопрепараты» и манипуляционных знаков «Осторожно, хрупкое», «Боится нагрева», «Боится сырости», «Боится мороза», «Верх, не кантовать».

4.6. Сапной антиген транспортируют всеми видами транспорта при температуре 2—8°С с соблюдением правил перевозки грузов, действующих на данном виде транспорта. Допускается транспортировать сапной антиген при более высокой температуре, но не выше 25°С, при этом срок транспортирования должен быть не более 10 сут.

4.7. Сапной антиген хранят в сухом темном помещении при температуре 2—8°С.

5. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

5.1. Изготовитель гарантирует соответствие выпускаемого сапного антигена требованиям настоящего стандарта при соблюдении условий применения, хранения и транспортирования.

5.2. Гарантийный срок хранения антигена — 2 года со дня его изготовителя.

Изменение № 1 ГОСТ 17405—81 Антиген сапной для реакции связывания комплемента. Технические условия

Утверждено и введено в действие Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 27.05.87 № 1711

Дата введения 01.10.87

Пункт 1.2. Таблица 1. Графа «Наименование показателя» после показателя «Активность (титр)» дополнить абзацем: «Разрешающая способность единицы активности референс-препарата (ЕАрп)»;

графу «Характеристика и норма» после значения 1:100 — 1:200 дополнить значением: 0,6±0,2.

Пункты 2.2, 2.6. Заменить слова: «Министерства сельского хозяйства СССР» на «Госагропрома СССР».

Пункт 3.1.1. Заменить слово: «упаковок» на «упаковочных единиц».

Пункт 3.3.1. Заменить ссылки и слова: ГОСТ 10515—75, ГОСТ 8613—75 на ГОСТ 25336—82; ГОСТ 17206—71 на ГОСТ 17206—84; «Фильтры бумажные» на «Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026—76»; «Д-глюкоза по ГОСТ 6038—79» на «Глюкоза кристаллическая гидратная по ГОСТ 975—75».

Пункт 3.4 изложить в новой редакции: «3.4. Определение активности (титра), специфичности, разрешающей способности, отсутствия антикомплементарных и гемолитических свойств антигена».

Пункт 3.4.1. Заменить ссылку: ГОСТ 10515—75 на ГОСТ 25336—82;

восемнадцатый, девятнадцатый абзацы изложить в новой редакции: «Референс-препарат сапной сыворотки с установленной активностью»;

примечания изложить в новой редакции: «Примечания:

1. Под контрольной серией сапного антигена понимают серию, апробированную для этой цели Всесоюзным государственным научно-контрольным институтом ветеринарных препаратов Госагропрома СССР и используемую в течение срока ее годности

2. Под референс-препаратом сапной сыворотки понимают апробированную Всесоюзным государственным научно-контрольным институтом ветеринарных препаратов Госагропрома СССР серию сапной сыворотки или полиглобулин, выделенный из этой сыворотки, с установленной биологической активностью по содержанию единиц активности (ЕАрп), используемую в пределах установленного срока годности».

Пункт 3.4.2.2 изложить в новой редакции: «3.4.2.2. Готовят последовательным разведением раствора референс-препарата сапной сыворотки с содержанием в 1 см^3 12,8; 6,4; 3,2; 1,6; 0,8, 0,4 ЕА и разведение негативной сыворотки 1:5 и инактивируют при температуре 58—59 °С в течение 30 мин»

(Продолжение см. с. 330)

Пункт 3.4.3. Таблицу 2 изложить в новой редакции:

Таблица 2

Схема и результаты постановки РСК (пример)

Доза референс-препарата сапной сыворотки, ЕАрп		Степень задержки гемолиза эритроцитов при разведении испытуемой серии антигена, %				Контроль		
		1:50	1:100	1:200	1:400	Контрольная серия антигена 1:100	Без антигена	Без антигена и комплемента
6,4		0	0	0	0	0	100	0
3,2		0	0	0	10	0	100	0
1,6		0	0	0	30	0	100	0
0,8		20	0	0	60	0	100	0
0,4		60	40	30	90	40	100	0
0,2		100	90	90	100	100	100	0
Контроль	Негативная сыворотка 1:5	100	100	100	100	100	100	0
	Без сыворотки	100	100	100	100	100	100	0
	Без сыворотки и комплемента	0	0	0	0	0	0	0

Пункт 3.4.4. Второй абзац изложить в новой редакции: «Титром антигена считают наибольшее его разведение, при котором наблюдается полная задержка гемолиза эритроцитов с наибольшим количеством разведения референс-препарата сапной сыворотки. Титр антигена должен быть 1:100—1:200.

Разрешающей способностью антигена считают способность его в разведении 1:100 выявлять минимальное количество единиц активности референс-препарата сапной сыворотки при 0—10 %-ном гемолизе эритроцитов Разрешающая способность испытуемой серии антигена, как и контрольной серии, должна быть равна (0,6±0,2) ЕАрп».

(ИУС № 8 1987 г.)

Редактор *Н. А. Аргунова*
Тенхический редактор *В. Н. Малькова*
Корректор *В. И. Варенцова*

gost.e-ecolog.ru

12 Подп. к печ. 10.03.82 0,625 п. л. 0,51 уч.-изд. л. Тир. 8000 Цена 3 коп.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123557, Москва, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник». Москва, Лялин пер., 6. Зак. 153