

27146-86



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ  
СОЮЗА ССР

**АНТИГЕН ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ  
ИНФЕКЦИОННОГО ЭПИДИДИМИТА  
БАРАНОВ, ВЫЗЫВАЕМОГО  
БРУЦЕЛЛОЙ ОВИС**

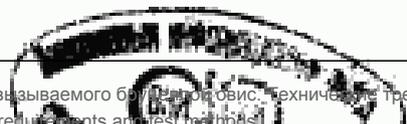
**ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ И МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ**

**ГОСТ 27146-86  
(СТ СЭВ 5157-85)**

Издание официальное

Цена 3 коп.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ  
Москва



**GOST**  
СТ СЭВ

ГОСТ 27146-86, Антiген для выявления инфекционного эпидидимита баранов, вызываемого бруцеллой овис. Технические требования и методы ...  
Antigene revealing infections sheep's epididymitis caused by Brucella ovis. Technical requirements and test methods

АНТИГЕН ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО  
ЭПИДИДИМИТА БАРАНОВ, ВЫЗЫВАЕМОГО  
БРУЦЕЛЛОЙ ОВИС

ГОСТ  
27146—86

Технические требования и методы испытаний

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

(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 Не допускается
2. Наличие посторонней примеси, плесени, хлопьев, осадка, трещин флаконов	
3. Стерильность	
	В посевах из антигена на питательные среды не должно быть роста микрофлоры после выдерживания в течение 10 дней при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ , на агаре Сабуро при температуре $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$

Издание официальное

Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1987

2—5

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  $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$  и  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ ;
- пипетки мерные вместимостью 1 и 2 см<sup>3</sup> по ГОСТ 20292—74;

пробирки по ГОСТ 25336—82;  
 флаконы стеклянные вместимостью 100 см<sup>3</sup>;  
 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, рН 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 см<sup>3</sup> в пробирки с МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом, агаром Сабуро и по 0,5—1 см<sup>3</sup> 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 см<sup>3</sup> по ГОСТ 20292—74;  
 колбы мерные вместимостью 100, 200 и 1000 см<sup>3</sup> 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 (++++);

2\*

Таблица 2

## Титрация овсяного антигена

Компоненты реакции	Разведение антигена						Контроль овсяного антигена	Контроль бруцеллезного антигена	Без антигена
	1:50	1:100	1:150	1:200	1:250	1:300			
Разведения по агглюбулина или референтной овсяной сыворотки, см <sup>3</sup>	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°C в течение 30 мин									
Испытуемый и контрольный антиген, см <sup>3</sup>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—
Комплемент в разведении по титру, см <sup>3</sup>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Выдерживают при температуре 2—4°C в течение 16—18 ч, затем при комнатной температуре в течение 20 мин									
Гемолитическая система в рабочем титре (см. табл. 4), см <sup>3</sup>	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°C в течение 20 мин									

Таблица 3

## Титрация овисного антигена и примерный результат

Компоненты реакции	Разведение	Разведение антигена							Контр-рельский овисный антиген	Контр-рельский бруцеллезный антиген	Воз. антигена	
		1:50	1:100	1:150	1:200	1:250	1:300	1:350				1:400
Полглобулин или реферитная овисная сыворотка	1:10	++	++	++	++	+++	++	+	-	+++	-	
	1:5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
Негативная сыворотка 1-я	1:10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Негативная сыворотка 2-я	1:10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антикомплементарность антигена	(В двойной дозе)	-	-	Реакцию не проводят							-	-
Гемотоксичность антигена	(В двойной дозе)	++	++	То же							++	++
		++	++								++	++

Таблица 4  
Титрация гемолитической системы для реакции длительного связывания компонента

Компонента	Дозы компонентов в пробирках, см <sup>3</sup>									
	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°C 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
Компонент (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°C в течение 16—18 ч, затем в течение 20 мин при комнатной температуре 16—24°C										
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°C в течение 20 мин										
Результат	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ПГ	ЧГ	ЧГ	ЧГ	ЗГ

Общий титр гемолитической системы — 1,2 см<sup>3</sup>  
Рабочий титр — 1,0 см<sup>3</sup>

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, рН 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<sup>-1</sup> в течение 10—12 мин) и разведения гемолитической сыворотки в утроенном-учетверенном титре. Определение рабочего титра гемолитической системы для РДСК проводят по табл. 4.

При испытании антигена на антикомплементарность весто 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. Н. 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. 5000 Цена 3 коп.

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