

---

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

---



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
58151.4—  
2018

---

## СРЕДСТВА ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИЕ

### Методы определения показателей эффективности

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2018

## Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Федеральным бюджетным учреждением науки «Научно-исследовательский институт дезинфектологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 339 «Безопасность сырья, материалов и веществ»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 5 июня 2018 г. № 317-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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 ([www.gost.ru](http://www.gost.ru))*

© Стандартиформ, оформление, 2018

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

## Содержание

1 Область применения . . . . .	1
2 Нормативные ссылки . . . . .	1
3 Термины и определения . . . . .	2
4 Микробиологические методы исследований и критерии оценки эффективности дезинфицирующих средств . . . . .	2
4.1 Общие положения . . . . .	2
4.2 Приготовление рабочих растворов ДС и их субстанций . . . . .	2
4.3 Применение нейтрализаторов действующих веществ . . . . .	2
5 Методы изучения и оценки бактерицидной активности дезинфицирующих средств . . . . .	3
5.1 Требования к тест-микроорганизмам . . . . .	3
5.2 Методы приготовления суспензии тест-микроорганизмов. Определение биологической концентрации тест-микроорганизмов в бактериальной суспензии . . . . .	4
5.3 Исследование бактерицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, транспортных средств и других объектов . . . . .	4
5.4 Исследование бактерицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания белья . . . . .	6
5.5 Исследование бактерицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания посуды . . . . .	7
6 Методы изучения и оценки туберкулоцидной активности дезинфицирующих средств . . . . .	8
6.1 Требования к тест-микроорганизмам . . . . .	8
6.2 Методика приготовления суспензии тест-микроорганизмов. Определение биологической концентрации тест-микроорганизмов в суспензии . . . . .	8
6.3 Исследование туберкулоцидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, транспортных средств и других объектов . . . . .	9
6.4 Исследование туберкулоцидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания белья . . . . .	10
6.5 Исследование туберкулоцидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания посуды . . . . .	10
7 Методы изучения и оценки фунгицидной активности дезинфицирующих средств . . . . .	11
7.1 Требования к тест-микроорганизмам . . . . .	11
7.2 Методы приготовления суспензии тест-микроорганизмов . . . . .	11
7.3 Исследование фунгицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, транспортных средств и других объектов . . . . .	12
7.4 Исследование фунгицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания белья . . . . .	14
7.5 Исследование фунгицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания посуды . . . . .	14
8 Методы изучения и оценки вирулицидной активности дезинфицирующих средств . . . . .	15
8.1 Требования к тест-вирусам . . . . .	15
8.2 Определение вирулицидной активности ДС, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, транспортных средств и других объектов . . . . .	17
8.3 Определение вирулицидной активности ДС, предназначенных для обеззараживания белья . . . . .	17
8.4 Определение вирулицидной активности ДС, предназначенных для обеззараживания посуды . . . . .	18
Библиография . . . . .	19

**Поправка к ГОСТ Р 58151.4—2018 Средства дезинфицирующие. Методы определения показателей эффективности**

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Библиографические данные. Код ОКС	ОКС 13.02.01	ОКС 11.080.20

(ИУС № 8 2018 г.)

**СРЕДСТВА ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИЕ****Методы определения показателей эффективности**

Disinfectants. Methods for determining efficiency factor

Дата введения — 2019—01—01

**1 Область применения**

Настоящий стандарт распространяется на химические дезинфицирующие средства (далее ДС) и устанавливает методы исследования дезинфицирующих средств для разработки эффективных режимов дезинфекции, обеспечивающих эпидемиологическую безопасность жизни и здоровья населения, охрану окружающей среды и предупреждение действий, вводящих в заблуждение потребителей путем предоставления недостоверной информации о средствах.

Настоящий стандарт распространяется на методы исследований эффективности дезинфицирующих средств, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, транспортных средств; белья и других изделий из текстильных материалов; посуды столовой, лабораторной и др., загрязненных бактериями (включая микобактерии), грибами и вирусами, с целью разработки режимов их дезинфекции.

**2 Нормативные ссылки**

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 11683 Пиросульфит натрия технический. Технические условия

ГОСТ 27068 Реактивы. Натрий серноватистоокислый (натрия тиосульфат) 5-водный. Технические условия

ГОСТ 32770 Добавки пищевые. Эмульгаторы пищевых продуктов. Термины и определения

ГОСТ Р 56990 Химические дезинфицирующие средства и антисептики. Дезинфицирующие средства. Критерии и показатели эффективности

ГОСТ Р 56994 Дезинфектология и дезинфекционная деятельность. Термины и определения

**Примечание** — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячно издаваемого информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

### 3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р 56994.

## 4 Микробиологические методы исследований и критерии оценки эффективности дезинфицирующих средств

### 4.1 Общие положения

Объем микробиологических исследований определяют в соответствии с предполагаемой сферой применения дезинфицирующих средств (ДС).

Микробиологические исследования начинают только после получения результатов химико-аналитических исследований, подтверждающих соответствие средства требованиям нормативно-технической документации (НТД): технических условий — на отечественные средства, спецификации — на зарубежные.

Критерии эффективности ДС установлены в ГОСТ Р 56990.

### 4.2 Приготовление рабочих растворов ДС и их субстанций

Рабочие растворы ДС и их субстанций готовят непосредственно перед проведением исследований, за исключением изучения стабильности рабочих растворов в процессе хранения.

При изучении ДС, производимых в форме гранул, порошков, таблеток и др., рабочие растворы используют только после полного растворения действующих веществ (ДВ) ДС, если не указано на возможность выпадения осадка.

Для оценки антимикробного действия субстанций и ДС в лабораторных условиях и исследования эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания различных объектов, растворы готовят на стерильной питьевой воде.

Для приготовления раствора определенной концентрации и нужного объема необходимое количество сухого ДС или жидкого концентрата вносят в пробирку (колбу) соответствующего или превосходящего объема и добавляют расчетное количество воды, тщательно размешивают и закрывают пробкой.

*Пример — Для приготовления 1 % раствора 1 г средства растворяют в 100 мл воды.*

Отмечают время полного растворения и внешний вид приготовленного рабочего раствора.

Температура растворов ДС должна быть в пределах  $20 \pm 2$  °С (если по условиям эксперимента не рекомендована другая температура) независимо от температуры окружающей среды. Для поддержания требуемой температуры используют водяную баню.

При испытании ДС в практических условиях рабочие растворы готовят на нестерильной питьевой воде комнатной температуры ( $20 \pm 2$  °С) или умеренно повышенной температуры (45—50 °С).

Для приготовления раствора необходимой концентрации навеску средства или отмеренное количество жидкого концентрата вносят в соответствующую емкость, добавляют воду, размешивают и закрывают крышкой. Работу с раствором начинают после полного растворения ДВ. Рабочие растворы из ДС в форме таблеток готовят путем добавления в отмеренный объем воды определенного числа таблеток

*Пример — 1 таблетка на 10 л воды.*

Рабочие растворы субстанций и ДС готовят с соблюдением мер предосторожности. Если ДВ относится к летучим веществам и представляет опасность при ингаляционном воздействии, растворы готовят в вытяжном шкафу или в отдельном помещении, оборудованном приточно-вытяжной вентиляцией, в ре-спираторе РУ 60М или РПГ- 67, кожу рук защищают резиновыми перчатками, глаза — защитными очками.

Исследуемые ДС (перед, во время и после исследований) хранят в соответствии с требованиями технических условий или спецификации; при отсутствии таковых — в соответствии с нормативными документами.

### 4.3 Применение нейтрализаторов действующих веществ

Для разграничения биоцидного и биостатического действий ДС при определении антимикробной активности и эффективности применяют нейтрализаторы, исключающие остаточное антимикробное действие.

Для нейтрализации антимикробного действия ДС из различных химических групп применяют следующие нейтрализаторы:

- для галоидоактивных (хлор-, бром- и йодоактивные) и кислородоактивных (перекись водорода, ее комплексы с солями, надуксусная кислота, озон) — 0,1—1,0 % растворы тиосульфата натрия по ГОСТ 27068;

- для четвертичных аммониевых солей (алкилдиметилбензиламмоний хлорид, дидецилдиметиламмоний хлорид и др.), производных гуанидина (полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, хлоргексидин биглюконат и др.) — 0,1—1,0 % растворы лаурилсульфата натрия (сульфонол) [1]), растворы лаурилсульфата натрия с 10 % обезжиренного молока или универсальный нейтрализатор;

- для альдегидов (глутаровый альдегид, глиоксаль, формальдегид, ортофталевый альдегид) — 1,0 % раствор пиросульфита (метабисульфита) натрия по ГОСТ 11683 или универсальный нейтрализатор;

- для кислот — щелочи в эквивалентном количестве;

- для щелочей — кислоты в эквивалентном количестве;

- для спиртов — разведение в воде до недействующей концентрации;

- для композиционных средств — универсальный нейтрализатор, содержащий Твин 80 по ГОСТ 32770 3 %, сапонин 0,3 — 3 %, гистидин — 0,1 %, цистеин — 0,1 %.

Если в состав композиции входят окислители, в нейтрализатор дополнительно вводят тиосульфат натрия по ГОСТ 27068.

В качестве универсального нейтрализатора при изучении туберкулоцидного действия используют нейтрализующий бульон по Ди-Ингли.

Растворы нейтрализаторов готовят в асептических условиях, применяя для этого стерильную дистиллированную воду по ГОСТ 6709.

При невозможности соблюдения асептических условий приготовления нейтрализаторов допускают стерилизацию готовых растворов автоклавированием при 1,1 атм. (121 °С) в течение 15 мин.

Температура растворов нейтрализаторов должна быть 20 °С, независимо от температуры окружающей среды.

Готовые растворы должны использоваться в день приготовления. Допускается хранение готовых растворов при температуре 4 °С в течение 48 ч.

Исследование эффективности ДС проводят в зависимости от концентрации ДВ, времени воздействия, нормы расхода, характера объекта, вида его загрязнения, температуры, способа и кратности обработки по [2].

## 5 Методы изучения и оценки бактерицидной активности дезинфицирующих средств

### 5.1 Требования к тест-микроорганизмам

При изучении бактерицидной активности дезинфицирующих субстанций и ДС в качестве тест-микроорганизмов используют:

- *Escherichia coli* (штамм 1257);

- *Pseudomonas aeruginosa* (штамм ATCC 27853);

- *Salmonella typhimurium* (штамм 00074 NCTC=13311 ATCC) — для оценки бактерицидной активности в отношении грамотрицательных бактерий;

- *Staphylococcus aureus* (штамм 906) — для оценки бактерицидной активности в отношении грамположительных бактерий.

Или другие микроорганизмы, обладающие аналогичной устойчивостью к ДС.

Тест-микроорганизмы должны иметь типичные биохимические, морфологические, тинкториальные, культуральные и ферментативные свойства, присущие данному виду, и обладать стандартной устойчивостью к эталонным ДС.

Музейные культуры микроорганизмов хранят при температуре 3—10 °С в ампулах (после лиофильной сушки) или на плотных питательных средах (посев уколом) под слоем стерильного вазелинового масла с толщиной слоя 1,5—3 мм, рабочие культуры — на скошенном агаре или в бульоне.

Проверку устойчивости тест-микроорганизмов проводят не реже 1 раза в месяц по [2]. При снижении резистентности культур делают их пересевы на обогащенные питательные среды до восстановления устойчивости.

Тест-микроорганизмы культивируют при температуре 37 °С в течение 18—24 ч на следующих питательных средах:

- казеиновом бульоне;
- мясо-пептонном бульоне;
- агаре Эндо;
- казеиновом агаре;
- мясо-пептонном агаре.

## **5.2 Методы приготовления суспензии тест-микроорганизмов. Определение биологической концентрации тест-микроорганизмов в бактериальной суспензии**

Перед изучением бактерицидной активности ДС культуры тест-микроорганизмов подвергают контролю их качества. Перед использованием тест-культур для исследовательских целей проверяют отсутствие среди тест-микроорганизмов, выросших на питательной среде, посторонней микрофлоры. Для оценки роста тест-микроорганизмов визуально просматривают каждую пробирку и учитывают характер и массивность роста, изменение цвета питательной среды. Проводят микроскопию мазка выросших тест-микроорганизмов, окрашенных по Граму.

Рабочую суспензию тест-микроорганизмов готовят из культуры данного тест-штамма, выращенного на плотной питательной среде (МПА или казеиновый агар) при температуре  $(37 \pm 1)$  °С в течение 18—24 ч. Для приготовления бактериальной взвеси культуру смывают с агара стерильной питьевой водой. Полученную взвесь тест-микроорганизмов фильтруют через ватно-марлевый фильтр и разводят стерильной питьевой водой до концентрации  $2 \times 10^9$  клеток в 1 мл, соответствующей по мутности 20 единицам мутности отраслевого стандартного образца ОСО 42-28-84-11 (20 МЕ) или 6 единицам Мак-Фарланда, определяемых с помощью денситометра.

В связи с тем, что суспензия может содержать наряду с живыми мертвые микроорганизмы, необходимо определять биологическую концентрацию фактического количества живых клеток в приготовленной суспензии для корректировки и обеспечения требуемых уровней контаминации тест-объектов жизнеспособными микроорганизмами.

Определение биологической концентрации тест-микроорганизмов выполняют методом последовательных десятикратных разведений суспензии тест-микроорганизма в стерильной питьевой воде с последующим высевом суспензии в чашки Петри с плотной питательной средой (казеиновый агар, агар Эндо, МПА). После определенного времени инкубации при соответствующей температуре проводят подсчет выросших колониеобразующих единиц (КОЕ) и определяют количество жизнеспособных бактерий в 1 мл суспензии.

## **5.3 Исследование бактерицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, транспортных средств и других объектов**

Исследования проводят в зависимости от вида поверхностей, их положения (горизонтальное, вертикальное), способа и кратности обработки.

В качестве тест-поверхностей используют поверхности размером 10×10 см из различных материалов:

- гладкие;
- шероховатые;
- впитывающие;
- не впитывающие.

*Пример — Деревянные, оштукатуренные, окрашенные масляной, силикатной, водоземлюсионной или клеевой краской; оклеенные обоями, поверхности из линолеумных покрытий, окрашенного или неокрашенного металла — нержавеющая хром-никелевая кислотостойкая сталь, из пластика, стекла, искусственной или натуральной кожи, облицовочной плитки — кафельной и метлахской, фаянса.*

Для исследования используют не менее 5 видов поверхностей. Набор тест-поверхностей для исследований определяют по назначению средства.

В качестве тест-микроорганизмов используют *S.aureus* и *E.coli*, при необходимости дополнительно используют *S.typhimurium*, *P.aeruginosa* или другие виды бактерий.

Перед контаминацией тест-микроорганизмами поверхности подвергают механической очистке — моют водой с мылом и щеткой (за исключением поверхностей, оклеенных обоями и окрашенных



клеевой краской). Последние протирают несколько раз стерильной салфеткой, увлажненной стерильной питьевой водой.

Высушенные поверхности располагают горизонтально и на них пипеткой наносят взвесь тест-микроорганизмов из расчета 0,5 мл 2-миллиардной микробной взвеси на площадь в 100 см<sup>2</sup> и равномерно распределяют ее по поверхности стеклянным шпателем. Поверхности подсушивают (до полного высыхания) при температуре 18—20 °С и относительной влажности воздуха 50—60 %, затем обрабатывают дезинфицирующим раствором.

При изучении эффективности обеззараживания горизонтально располагают:

- линолеум;
- плитку метлахскую;
- искусственную кожу;
- натуральную кожу.

Вертикально располагают:

- дерево, окрашенное масляной или другими видами красок;
- поверхности, оклеенные обоями;
- пластик;
- кафельную плитку;
- фаянсовую плитку;
- стекло.

Для имитации загрязнения поверхностей используют белковое или фекальное загрязнение: 40 % инактивированной сыворотки, 40 % фекальной эмульсии (при разработке режимов обеззараживания санитарно-технического оборудования).

Обработку поверхностей проводят способами протирания или орошения (крупнокапельное и аэрозольное).

Для определения нормы расхода при однократной обработке дезинфицирующий раствор наносят с помощью пипетки на поверхность размером 10 × 10 см при применении способа протирания в количестве 1,0, 1,5 или 2,0 мл, а при крупнокапельном орошении наносят с помощью дозатора 1,5—3,0 мл. При аэрозольном методе обработки изучают эффективность обеззараживания при норме расхода 1—100 мл/м<sup>2</sup> (в зависимости от вида аэрозольного генератора и применяемой аэрозольной насадки). Многократное протирание или орошение проводят с интервалом между обработками 5—15—30 мин.

Время обеззараживания поверхностей определяют в интервале от 5 до 120 мин. Выбор экспозиции зависит от назначения и рекомендуемых условий применения ДС.

Контрольные поверхности обрабатывают стерильной водопроводной водой так же и из того же расчета, что и опытные.

Исследования проводят при температуре 18—20 °С. При необходимости оценивают эффективность обеззараживания поверхностей при повышенной до 50 °С или пониженной до минус 30 °С температуре (исследования проводят в термо- или холодильной камере).

Контроль эффективности обеззараживания тест-поверхностей проводят следующим образом: марлевой салфеткой (размером 5 × 5 см), смоченной в растворе соответствующего для данного дезинфицирующего средства нейтрализатора, тщательно протирают тест-поверхность, затем ее погружают в 10 мл этого же нейтрализатора, находящегося в пробирках с бусами. Время отмыва марлевой салфетки 10 мин при постоянном встряхивании. Отмывную жидкость сеют (на 2—3 чашки по 0,1—0,2 мл в каждую) на твердые дифференциально-диагностические питательные среды.

Допустимо проводить исследования с использованием тест-поверхностей размером 5 × 5 см из тех же материалов, что и тест-поверхности 10 × 10 см. Этот метод можно использовать при оценке чувствительности к ДС микроорганизмов, выделенных с объектов окружающей среды.

Тест-поверхности помещают на дно стерильной чашки Петри и пипеткой наносят на них 0,1 мл 2-миллиардной микробной взвеси (площадь поверхности 25 см<sup>2</sup>), равномерно распределяют ее по поверхности стерильным шпателем, не допуская стекания суспензии за пределы тест-объекта, затем подсушивают, приоткрыв чашку Петри (до полного высыхания) при температуре плюс 18—22 °С и относительной влажности 40—60 %, после чего обрабатывают раствором ДС так же, как указано выше. После окончания экспозиции чашки с тест-объектами заливают 10 мл раствора нейтрализатора, соответствующего данному ДС, и делают несколько круговых движений чашкой для лучшего смачивания тест-объекта. Через несколько минут стерильным пинцетом переворачивают тест-объект и повторяют круговые движения. После контакта нейтрализатора с тест-объектом в течение 10 мин снова делают несколько круговых движений чашкой, затем стерильным пинцетом удаляют тест-объект из чашки и

сбрасывают его в емкость с дезинфицирующим раствором с целью дальнейшего обеззараживания. Если тест-объект обработан способом погружения в дезинфицирующий раствор, то по завершении экспозиции его переносят в чашку Петри с 10 мл раствора нейтрализатора на 10 мин, после чего извлекают и сбрасывают в емкость с дезинфицирующим раствором для обеззараживания.

Нейтрализатор из чашки Петри сеют (на 2—3 чашки по 0,1—0,2 мл в каждую) на твердые дифференциально-диагностические питательные среды либо заливают чашку с нейтрализатором растопленным и остуженным до 45°C агаром.

Посевы помещают для выращивания в термостате при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Учет результатов проводят в течение 1—2 суток путем подсчета количества выросших колоний, затем рассчитывают плотность контаминации 100 см<sup>2</sup> поверхности и процент обеззараживания, принимая количество колоний, снятых с контрольных поверхностей, за 100 %.

Критерий эффективности обеззараживания поверхностей — не менее 99,99 % гибели тест-микроорганизмов.

Таблица 1 — Показатели эффективности ДС при обработке поверхностей

Показатель	Значение показателя
Критерий эффективности	99,99 % гибель тест-культуры
Время гибели <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Не более 120 мин

#### 5.4 Исследование бактерицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания белья

Эффективность обеззараживания белья ДС определяют с помощью тест-объектов, представляющих собой кусочки ткани из бязи размером 2 × 2 см. В качестве тест-культур используют *S. aureus* и *E. coli*.

При разработке режима обеззараживания загрязненного белья к суспензии микроорганизмов перед контаминацией тест-объектов добавляют 40 % инактивированной сыворотки (6 мл 2-миллиардной взвеси тест-культуры смешивают с 4 мл инактивированной сыворотки) или 40 % фекальной эмульсии (6 мл 2-миллиардной взвеси тест-культуры смешивают с 4 мл фекальной эмульсии). Для приготовления фекальной эмульсии 8 г фекалий растирают в ступке с 20 мл воды. Контаминированные тест-объекты подсушивают в термостате при 37 °С в течение 20—25 мин или 1,5—2 ч при комнатной температуре до полного высыхания.

Стерильные тест-объекты пропитывают 2-миллиардной взвесью тест-микроорганизмов из расчета 20 мл на 10 тест-объектов и подсушивают в термостате. Далее контаминированные тест-объекты помещают в стерильные бязевые мешочки размером 5 × 8 см по 2 штуки в каждый.

При разработке режимов обеззараживания белья, не загрязненного выделениями, белье погружают в емкость с дезинфицирующим раствором из расчета 4 л раствора на 1 кг сухого белья.

При разработке режимов обеззараживания белья, загрязненного выделениями, белье погружают в емкость с дезинфицирующим раствором из расчета 5 л раствора на 1 кг сухого белья.

Белье погружают в раствор последовательно, без воздушных полостей между вещами, препятствующих процессу дезинфекции. Мешочки с контаминированными тест-объектами распределяют между слоями белья (сверху, в середине, внизу). Через заданное время воздействия ДС извлекают по 1 мешочку с каждого уровня, стерильным пинцетом вынимают тест-объекты, переносят их в раствор нейтрализатора на 5 мин, промывают 5 мин в стерильной питьевой воде и помещают в жидкие питательные среды. В контрольных опытах вместо дезинфицирующего раствора используют стерильную питьевую воду.

Показатели эффективности обеззараживания белья приведены в таблице 2.

Таблица 2 — Критерии эффективности обеззараживания белья

Показатель	Значение показателя
Критерий эффективности	100 % гибель тест-культуры
Время обеззараживания белья без видимых загрязнений, контаминированного <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	Не более 120 мин
Время обеззараживания белья, загрязненного выделениями и контаминированного <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	Не более 240 мин

### 5.5 Исследование бактерицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания посуды

В зависимости от назначения ДС исследования проводят при обеззараживании посуды столовой и кухонной, лабораторной и из-под выделений.

В качестве тест-объектов при разработке режимов обеззараживания столовой и кухонной посуды используют:

- тарелки из различных материалов (фарфор, фаянс, алюминий, стекло, пластик, посуда, покрытая эмалью);
- стаканы из различных материалов (фарфор, фаянс, алюминий, стекло, пластик, посуда, покрытая эмалью);
- кружки из различных материалов (фарфор, фаянс, алюминий, стекло, пластик, посуда, покрытая эмалью);
- столовые приборы — ножи, вилки, ложки из различных материалов (нержавеющая сталь, алюминий, пластик);
- лабораторную посуду — предметные и покровные стекла, пипетки, пробирки, чашки Петри, планшеты для иммунологического анализа и др.;
- посуду из-под выделений — подкладные судна, мочеприемники, горшки, плевательницы и др. или тест-объекты их имитирующие.

В качестве тест-микроорганизмов при контаминации столовой посуды используют *S.aureus*, *E.coli*.

Для имитации загрязнения чайной посуды используют кисель (к 10 г киселя добавляют 1 мл 2-миллиардной микробной взвеси), лабораторной посуды — 40 % инактивированной сыворотки, посуды из-под выделений — 40 % фекальную эмульсию или мокроту, контаминированные тест-микроорганизмами (на 10 мл — 1 мл  $2 \times 10^9$  млрд. взвеси).

Перед контаминацией микроорганизмами посуду и столовые приборы подвергают механической очистке — моют водой с мылом и щеткой. Посуду располагают горизонтально, наносят пипеткой взвесь тест-микроорганизмов из расчета 0,5 мл 2 млрд. взвеси на площадь в 100 см<sup>2</sup> и равномерно распределяют ее по поверхности посуды стеклянным шпателем. Столовые приборы для контаминации погружают в бактериальную суспензию на 1—2 мин, оставляя незараженными их ручки.

Посуду подсушивают (до полного высыхания) при комнатной температуре 18—20 °С и относительной влажности воздуха 50—60 %, затем обрабатывают дезинфицирующим раствором.

Для разработки режимов обеззараживания посуды с остатками пищи до ее контаминации микробную взвесь смешивают с овсяной, манной или другой кашей, сваренной на молоке со сливочным маслом (к 10 г каши добавляют 1 мл 2-миллиардной микробной взвеси).

Обработку столовой, чайной, лабораторной посуды и столовых приборов проводят способом погружения в дезинфицирующий раствор. Растворы готовят на питьевой воде. Температура испытуемого раствора 18—20 °С. При необходимости изучают эффективность растворов, имеющих температуру 50 °С.

Контролем служит аналогично контаминированная посуда, которую погружают в такой же объем стерильной питьевой воды.

Дезинфицирующий раствор должен полностью и с избытком покрыть всю посуду и приборы (из расчета не менее 2 л на 1 комплект).

Через определенные интервалы времени извлекают из дезинфицирующего раствора по одному предмету и стерильной марлевой салфеткой (размер 5 × 5 см<sup>2</sup>), смоченной в растворе нейтрализатора, соответствующего данному ДС; тщательно протирают зараженную часть каждого предмета, погружают салфетку в 10 мл этого же нейтрализатора, находящегося в пробирках с бусами. Время отмыва марлевой салфетки 10 мин при постоянном встряхивании. После отмыва марлевую салфетку погружают в соответствующую жидкую питательную среду. Отмывную жидкость сеют на 2—3 чашки по 0,2—0,5 мл в каждую на твердые питательные среды.

Посевы помещают в термостат при температуре 37 °С и учитывают через 2 суток.

Время обеззараживания посуды определяют в интервале от 15 до 240 мин в зависимости от вида тест-микроорганизма и наличия загрязнения.

Критерий эффективности обеззараживания — не менее 100 %.

Таблица 3 — Показатели эффективности обеззараживания посуды

Микроорганизм	Объекты обеззараживания	Эффективность (%) — время обеззараживания (мин)
<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	Столовая посуда без остатков пищи	100 % — не более 60 мин
<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i>	Столовая посуда с остатками пищи	100 % — не более 120 мин
<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	Лабораторная посуда	100 % — не более 120 мин
<i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i>	Посуда из-под выделений	100 % — не более 240 мин

## 6 Методы изучения и оценки туберкулоцидной активности дезинфицирующих средств

### 6.1 Требования к тест-микроорганизмам

Исследование и оценку туберкулоцидной и микобактерицидной (в отношении непатогенных микробактерий) активности ДС проводят, используя в качестве тест-микроорганизмов следующие:

- агаровую культуру *Mycobacterium terrae* для оценки активности ДС и разработки режимов их применения при обеззараживании объектов в отношении возбудителя туберкулеза и микобактериозов;
- агаровую культуру *Mycobacterium tuberculosis* для подтверждения эффективности разработанных режимов применения ДС в отношении возбудителей туберкулеза и микобактериозов в практических условиях.

Тест-микобактерии должны иметь типичные морфологические, культуральные, биохимические, тинкториальные и ферментативные свойства, присущие данному штамму, и обладать стандартной устойчивостью к эталонным ДС и температуре.

### 6.2 Методика приготовления суспензии тест-микроорганизмов.

#### Определение биологической концентрации тест-микроорганизмов в суспензии

Для получения первого пассажа культуры тест-штамма микобактерий, используемой при оценке эффективности ДС, необходимое для исследования количество хранящихся при температуре минус 70 °С или минус 20 °С пробирок (2 штуки на 1 исследование) с данным штаммом микобактерий размораживают при комнатной температуре, переносят по 0,1 мл содержимого в пробирки со скошенной питательной средой Левенштейна-Йенсена или «Новая» или аналогичной питательной средой, предназначенной для культивирования микобактерий, и инкубируют в термостате при плюс (37 ± 1) °С в течение 10—21 суток. Выросшую на плотной питательной среде в пробирках культуру используют для приготовления рабочей суспензии тест-микобактерий данного штамма.

Одну или несколько пробирок используют для получения второго пассажа культуры тест-микобактерий этого штамма. Для этого культуру первого пассажа в пробирке снимают платиновой лопаточкой или стеклянной палочкой с плотной питательной среды, помещают в толстостенную стеклянную пробирку и тщательно растирают, постепенно добавляя по каплям стерильную дистиллированную воду. Полученную суспензию рассеивают на плотную питательную среду тем же способом, который используют для получения первого пассажа.

Культуры тест-микобактерий подвергают контролю их качества. Непосредственно перед использованием культур для исследовательских целей проверяют, что тест-микобактерии, выросшие на питательной среде, не загрязнены посторонней микрофлорой. Для оценки роста тест-микобактерий визуально просматривают каждую пробирку и учитывают характер и массивность роста, изменение цвета питательной среды. Проводят микроскопию мазка выросших культур методом окраски по Циль-Нильсену

**Пример** — *M. terrae* представляют собой короткие прямые палочки малиново-красного цвета, располагающиеся в мазке параллельно друг другу наподобие частокла. Размер клеток микобактерий 0,2—0,6 × 1—10 мкм.

Рабочую суспензию тест-микобактерий готовят из тест-штамма первого и/или второго пассажей, выросших на плотной питательной среде. Дальнейшее субкультивирование недопустимо.

Для приготовления рабочей суспензии культуру микобактерий снимают платиновой лопаточкой или стеклянной палочкой с плотной питательной среды и помещают в толстостенную стеклянную пробирку. Микробную биомассу тщательно гомогенизируют, постепенно добавляя по каплям стерильную дистиллированную воду. Густую исходную бактериальную суспензию оставляют на 15 минут для осаждения негомогенизированных конгломератов и частиц. Полученную надосадочную жидкость отбирают пастеровской пипеткой, переносят в стерильную пробирку и, добавляя стерильную дистиллированную воду, доводят до концентрации  $1 \times 10^9$  клеток в 1 мл, соответствующей по мутности 10 единицам мутности отраслевого стандартного образца ОСО 42-28-84-11 (10 МЕ) или 3 единицам Мак-Фарланда, определяемых с помощью денситометра.

Контроль над содержанием живых микроорганизмов осуществляют посредством бактериологического контроля фактического их количества в приготовленной суспензии.

Из приготовленной суспензии делают, как показано на рисунке 1, разведения с 10-кратным шагом до  $10^3$  микробных клеток в 1 мл (посев 0,1 мл суспензии из этого разведения на плотную питательную среду позволяет произвести достаточно точный подсчет выросших на среде колоний микобактерий, количество которых будет находиться в пределах 100 единиц).

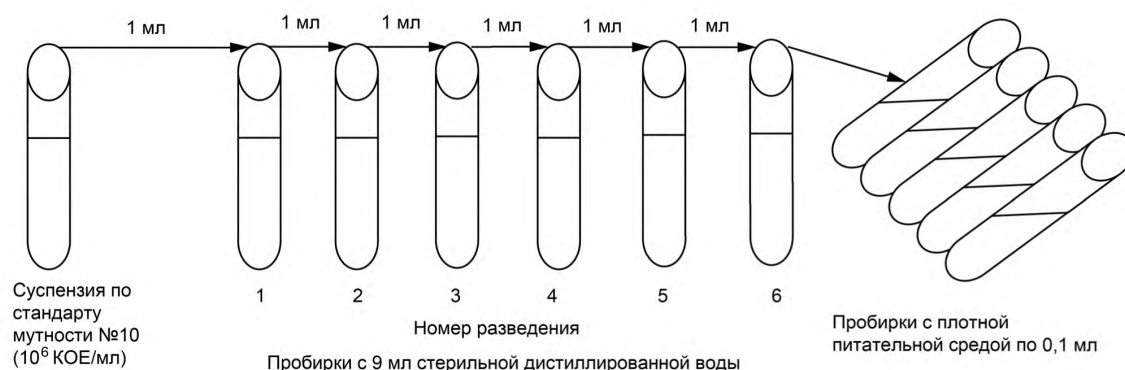


Рисунок 1 — Процесс разведения

Посевы инкубируют в термостате при плюс ( $37 \pm 1$ ) °С в течение 10—21 суток. Подсчитывают количество выросших колоний на среде в пробирке, рассчитывают среднее значение из 5 и делают пересчет количества жизнеспособных клеток в исходной суспензии, учитывая коэффициент разведения. Количество жизнеспособных клеток в рабочей суспензии должно быть  $10^9$  КОЕ/мл.

### 6.3 Исследование туберкулоцидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, транспортных средств и других объектов

Подготовка тест-поверхностей и технология проведения эксперимента изложены в п. 5.3.

Для контроля эффективности обеззараживания через определенные промежутки времени (15—30—60 и т. д. до 120 мин) с обработанных раствором ДС тест-поверхностей делают смывы путем тщательного протирания поверхности стерильной марлевой салфеткой ( $5 \times 5 \text{ см}^2$ ), увлажненной нейтрализатором. После протирания на тест-поверхности не должно оставаться излишней влаги. Салфетки погружают на 5 минут в пробирки (емкости) с соответствующим нейтрализатором (10 мл), а затем в стерильную питьевую воду с бусами и встряхивают на шейкере в течение 10 мин. Полученную смывную жидкость вносят по 0,1 мл в 3—5 пробирок со скошенной плотной питательной средой Левенштейна-Йенсена или «Новая» или аналогичную питательную среду, предназначенную для культивирования микобактерий, тщательно распределяя ее по всей поверхности. Посевы инкубируют в термостате при температуре  $37 \pm 1$  °С в течение 10—21 суток.

В контрольных опытах для обработки аналогично загрязненных тест-поверхностей вместо раствора ДС используют стерильную питьевую воду из того же расчета, что и опытные. Жидкость, в которую помещают стерильную марлевую салфетку после взятия смыва с контрольных поверхностей,

перед посевом разводят в 100 раз и вносят по 0,1 мл на скошенную поверхность плотной питательной среды Левенштейна-Йенсена или «Новая» или аналогичной питательной средой, предназначенной для культивирования микобактерий 3—5 пробирок. Посевы инкубируют в термостате при температуре плюс  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Результаты учитывают через 10—21 суток.

Оценку результатов проводят по посеву того разведения, в котором число колоний на чашке Петри или в пробирке составляет от 30 до 300.

Допускается проводить исследование с использованием тест-поверхностей размером  $5 \times 5$  см (5.3). После выдерживания посевов в термостате подсчитывают число колоний на чашках или пробирках с плотной питательной средой, рассчитывают остаточную плотность контаминации на  $100 \text{ см}^2$  тест-поверхности и высчитывают эффективность обеззараживания, принимая количество тест-микроорганизмов, снятых с контрольных тест-объектов (тест-поверхностей), за 100 %.

Критерий эффективности ДС при обеззараживании тест-поверхностей из различных материалов, контаминированных тест-микроорганизмом, должен составлять не менее 99,99 %.

#### **6.4 Исследование туберкулоцидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания белья**

Исследования с ДС проводят в целях оценки эффективности его для обеззараживания белья и других объектов из ткани, чистых и загрязненных кровью или выделениями (фекалии, моча, мокрота).

Оценку эффективности ДС для обеззараживания белья, одежды, спецодежды и других объектов из ткани осуществляют в соответствии с п. 5.4 После обработки раствором ДС тест-объекты вынимают из мешочка стерильным пинцетом, помещают на 5 мин в емкость с раствором соответствующего нейтрализатора, затем переносят в стерильную питьевую воду и высевают на питательный агар. Посевы инкубируют при  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Предварительный учет результатов проводят через 10—14 суток, а окончательный — через 21 сутки. В контрольных опытах белье погружают в стерильную питьевую воду. Мешочки с тестами закладывают так же, как и в опыте. При получении 100 %-ной гибели тест-микроорганизма в опытах по обеззараживанию белья без белковых загрязнений переходят к опытам по обеззараживанию белья, загрязненного выделениями.

Для определения эффективности ДС при обеззараживании белья, одежды, спецодежды и других объектов из ткани, загрязненных кровью, выделениями (фекалии, мокрота, моча и др.), в лабораторных условиях используют бязевые тест-объекты, которые контаминированы суспензией тест-микобактерий с добавлением 40 % инактивированной сыворотки (6 мл суспензии, содержащей  $2 \times 10^9$  КОЕ/мл тест-микроорганизма, смешивают с 4 мл инактивированной сыворотки) или 40 % фекальной эмульсии (6 мл суспензии тест-микроорганизма смешивают с 4 мл 40 % фекальной эмульсии) исходя из расчета 30 мл суспензии на 10 тест-объектов. Для приготовления фекальной эмульсии 8 г фекалий растирают в ступке с 20 мл воды. Количество суспензии тест-микроорганизма, содержащей сыворотку или фекалии, готовят из расчета 30 мл на 10 тест-объектов. При изучении эффективности обеззараживания изделий из синтетических тканей (капрон, ацетат, лавсан и др.) используют тест-объекты из этих тканей размером  $5 \times 5$  см. Контаминированные тест-объекты подсушивают в термостате при  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 20—25 мин или 1,5—2 ч при комнатной температуре до полного высыхания.

Критерием эффективности ДС при обеззараживании белья, одежды, спецодежды и других объектов из тканей является 100 %-ная гибель тест-микроорганизмов на тест-объектах.

#### **6.5 Исследование туберкулоцидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания посуды**

Для определения туберкулоцидной активности ДС, предназначенных для обеззараживания посуды (столовой, лабораторной и из-под выделений), используют в качестве тест-объектов, указанные в 5.5.

Обработку контаминированной столовой, чайной, лабораторной посуды, столовых приборов проводят способом погружения в дезинфицирующий раствор, аналогично изложенным в 5.5.

Время обеззараживания посуды — от 15 до 240 мин, в зависимости от вида ДС и наличия загрязнения.

Через определенные интервалы времени (15, 30, 60 минут и т. д.) извлекают по одному предмету разных наименований (тарелка, стакан, предметное стекло, нож и т. д.) из дезинфицирующего раствора стерильной марлевой салфеткой ( $5 \text{ см}^2$ ), смоченной в растворе нейтрализатора, соответствующего

данному ДС, тщательно протирают зараженную часть каждого предмета и погружают в 10 мл этого же нейтрализатора на 5 мин, затем салфетку переносят в пробирку со стерильной питьевой водой и бурами. Время отмыва марлевой салфетки — 10 мин при постоянном встряхивании на шейкере. После отмыва смывную жидкость по 0,1 мл высевают в 3—5 пробирки со скошенной поверхностью плотной питательной среды Левенштейна-Йенсена или «Новая» или аналогичной питательной средой, предназначенной для культивирования микобактерий (по 0,1 мл в каждую). Посевы помещают в термостат при температуре 37 °С. Предварительный учет результатов проводят через 10—14 суток, окончательный — через 21 сутки.

Контролем служит аналогично контаминированная посуда, которая погружается не в дезинфицирующий раствор, а в такой же объем стерильной питьевой воды.

Критерий эффективности обеззараживания посуды: гибель тест-микроорганизма не менее 100 %.

## 7 Методы изучения и оценки фунгицидной активности дезинфицирующих средств

### 7.1 Требования к тест-микроорганизмам

При изучении фунгицидной активности ДС и их субстанций в качестве тест-микроорганизмов используют:

- *Candida albicans* (штамм 15 или шт. ВКПМ У 3108 (ATCC 10231) — для оценки фунгицидной активности в отношении возбудителей кандидозов;
- *Trichophyton gypseum* (муз. штамм НИИД) — для оценки фунгицидной активности в отношении возбудителей дерматофитий;
- *Aspergillus niger* (муз. штамм НИИД) или *Aspergillus brasiliensis* (штамм NCPF2275/ATCC 16404) для оценки фунгицидной активности в отношении плесневых грибов.

При сертификационных испытаниях и экспертной оценке ранее зарегистрированных ДС набор тест-микроорганизмов ограничивают наиболее устойчивыми представителями каждой группы.

Тест-микроорганизмы культивируют на следующих питательных средах:

- *S. albicans* — на бульоне Сабуро, агаре Сабуро при температуре (27 ± 1) °С в течение 2—10 суток;
- *T. gypseum* — на бульоне Сабуро, агаре Сабуро при температуре (27 ± 1) °С в течение 28 суток;
- *A. niger* и *A. brasiliensis* — на бульоне Сабуро, агаре Сабуро при температуре (37 ± 1) °С в течение 2 суток, затем выдерживают 3—5 суток при температуре (20 ± 2) °С в темном месте.

Музейные культуры микроорганизмов хранят при температуре (3 ± 1) °С в ампулах (после лиофильной сушки) или на плотных питательных средах (посев уколом) под слоем стерильного вазелинового масла (толщина слоя 1,5—3 мм), а рабочие культуры — на скошенном агаре или в бульоне.

Тест-микроорганизмы должны иметь типичные биохимические, морфологические, тинкториальные, культуральные и ферментативные свойства, присущие данному виду, и обладать стандартной устойчивостью к эталонным ДС.

### 7.2 Методы приготовления суспензии тест-микроорганизмов

Непосредственно перед использованием культур для исследовательских целей получают подтверждение, что тест-микроорганизмы, выросшие на питательной среде, не загрязнены посторонней микрофлорой. Для оценки роста культур тест-грибов визуально просматривают каждую пробирку и учитывают характер и массивность роста, изменение цвета питательной среды.

Рабочие суспензии тест-микроорганизмов готовят из культуры тест-грибов, выращенных на питательной среде.

Культуру *T. gypseum*, выращенную на бульоне Сабуро при температуре (27 ± 1) °С в течение 28 суток, извлекают петлей из пробирки, помещают в фарфоровую ступку и растирают с небольшим количеством стерильного физиологического раствора до гомогенной взвеси с минимальным размером частиц. Полученную суспензию фильтруют через стерильный ватно-марлевый фильтр и доводят с помощью физиологического раствора до концентрации  $2 \times 10^9$  клеток в 1 мл, соответствующей по мутности 20 единицам мутности отраслевого стандартного образца ОСО 42-28-84-11 (20 МЕ) или 6 единицам Мак-Фарланда, определяемых с помощью денситометра.

Культуру *S. albicans* выращивают на агаре Сабуро в течение 2 суток при температуре (27 ± 1) °С в течение 48 часов. Затем смывают с питательной среды небольшим количеством стерильного физио-

логического раствора и тщательно перемешивают. Полученную суспензию фильтруют и разводят так же, как и культуру *T. gypseum*.

Культуру *A. niger*, выращенную на бульоне Сабуро в течение 2 суток и выдержанную в течение 3—5 суток в темном месте, извлекают петлей из пробирки, помещают в фарфоровую ступку и растирают с небольшим количеством стерильного физиологического раствора до гомогенной суспензии с минимальным размером частиц. Полученную взвесь фильтруют и разводят так же, как и культуру *T. gypseum*.

В связи с тем, что суспензия содержит наряду с живыми мертвые микроорганизмы, определяют биологическую концентрацию тест-грибов. Для этого проводят десятикратные разведения суспензии тест-микроорганизма в стерильной дистиллированной воде с последующим высевом суспензии в чашки Петри с плотной питательной средой (агар Сабуро). После определенного времени инкубации при соответствующей температуре подсчитывают количество выросших колониеобразующих единиц (КОЕ) и определяют количество жизнеспособных клеток в одном мл суспензии, которое должно быть не менее  $10^8$ .

Проверку устойчивости проводят не реже 1 раза в 6 месяцев. При снижении устойчивости культур делают их пересевы на обогащенные питательные среды до восстановления устойчивости.

### **7.3 Исследование фунгицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, транспортных средств и других объектов**

Исследования проводят в зависимости от вида поверхностей, их положения (горизонтальное, вертикальное), способа и кратности обработки.

При разработке режимов обеззараживания поверхностей используют поверхности размером  $10 \times 10$  см из различных материалов:

- гладкие;
- шероховатые;
- впитывающие;
- не впитывающие.

*Пример — Деревянные, оштукатуренные, окрашенные масляной, силикатной, водоземлюсионной или клеевой краской; оклеенные обоями, поверхности из линолеумных покрытий, окрашенного или неокрашенного металла — нержавеющей хром — никелевая кислотостойкая сталь, из пластика, стекла, искусственной или натуральной кожи, облицовочной плитки — кафельной и метлахской, фаянса.*

Для исследования используют не менее 5 видов поверхностей.

В качестве тест-культур *S. albicans*, *T. gypseum*; *A. niger* или *A. brasiliensis* используют для разработки режимов обеззараживания поверхностей с целью профилактики и борьбы с плесенью.

Для имитации загрязнения поверхностей санитарно-технического оборудования при контаминации *S. albicans*, *T. gypseum* используют белковое загрязнение в виде 40 % инактивированной лошадиной сыворотки.

Для имитации загрязнения поверхностей унитазов при контаминации *S. albicans* используют загрязнение в виде 40 % фекальной эмульсии. Для этого перед контаминацией объектов к суспензии грибов *S. albicans*, *T. gypseum* добавляют необходимое количество сыворотки и к суспензии *S. albicans* — необходимое количество фекальной эмульсии.

Перед контаминацией тест-микроорганизмами поверхности подвергают механической очистке — моют водой с мылом и щеткой (за исключением поверхностей, оклеенных обоями и окрашенных клеевой краской), затем протирают несколько раз стерильной салфеткой, увлажненной стерильной водопроводной водой.

Высушенные поверхности располагают горизонтально и на них пипеткой наносят взвесь тест-грибов из расчета 0,5 мл 2-миллиардной микробной взвеси на площадь в  $100 \text{ см}^2$ . Культуру равномерно распределяют по поверхности стеклянным шпателем. Поверхности подсушивают (до полного высыхания) при комнатной температуре 18—20 °С и относительной влажности воздуха 50—60 %, затем обрабатывают дезинфицирующим раствором.

При изучении эффективности обеззараживания горизонтально располагают:

- линолеум;
- плитку метлахскую;
- искусственную кожу; натуральную кожу;
- стекло.



Вертикально располагают:

- дерево, окрашенное масляной краской;
- дерево, окрашенное силикатной краской;
- дерево, окрашенное вододисперсионной краской;
- дерево, окрашенное клеевой краской;
- поверхности, оклеенные обоями;
- пластик;
- кафельную плитку; фаянсовую плитку.

Обработку поверхностей проводят способами протирания или орошения (крупнокапельное и аэрозольное).

Для определения нормы расхода при однократной обработке дезинфицирующий раствор наносят с помощью пипетки на поверхность размером  $10 \times 10 \text{ см}^2$  при применении способа протирания в количестве 1,0, 1,5 или 2,0 мл, а при крупнокапельном орошении наносят с помощью дозатора 1,5—3,0 мл. При аэрозольном методе обработки изучают эффективность обеззараживания при норме расхода 30—50—100 мл/м<sup>2</sup> (в зависимости от вида аэрозольного генератора и применяемой аэрозольной насадки). Многократное протирание или орошение проводят с интервалом между обработками 5—15—30 мин.

Время обеззараживания поверхностей определяют в интервале от 5 до 120 мин. Выбор экспозиции зависит от назначения и рекомендуемых условий применения средства.

Контрольные поверхности обрабатывают стерильной питьевой водой так же и из того же расчета, что и опытные.

Исследования проводят при комнатной температуре. При необходимости оценивают эффективность обеззараживания поверхностей при повышенной до 50 °С или пониженной до минус 30 °С температуре (исследования проводят в термо- или холодильной камере).

Для контроля эффективности обеззараживания тест-поверхностей марлевой салфеткой (размером 5 × 5 см), смоченной в растворе соответствующего для данного дезинфицирующего средства нейтрализатора, тщательно протирают тест-поверхность, затем ее погружают в 10 мл этого же нейтрализатора, находящегося в пробирках с бусами. Время отмыва марлевой салфетки — 10 мин при постоянном встряхивании. Отмывную жидкость сеют (на 2—3 чашки по 0,1—0,2 мл в каждую) на твердые дифференциально-диагностические питательные среды.

Допускается проводить исследования с использованием тест-поверхностей размером 5 × 5 см из тех же материалов, что и тест-поверхности 10 × 10 см. Метод можно применять для оценки чувствительности к ДС микроорганизмов, выделенных с объектов окружающей среды. Тест-поверхности помещают на дно стерильной чашки Петри и располагают на лабораторном столе в микробиологическом боксе или боксах биологической безопасности II класса на поддонах с салфетками, смоченными дезинфицирующим раствором.

Пипеткой наносят на них 0,1 мл 2-миллиардной микробной взвеси (площадь поверхности 25 см<sup>2</sup>), равномерно распределяют ее по поверхности стерильным шпателем, не допуская стекания суспензии за пределы тест-объекта, затем подсушивают, приоткрыв чашку Петри (до полного высыхания) при температуре 18—22 °С и относительной влажности 40—60 %, после чего обрабатывают раствором ДС так же, как указано выше.

После окончания экспозиции чашки с тест-объектами заливают 10 мл раствора нейтрализатора, соответствующего данному ДС, и делают несколько круговых движений чашкой для лучшего смачивания тест-объекта. Через несколько минут стерильным пинцетом переворачивают тест-объект и повторяют круговые движения. После контакта нейтрализатора с тест-объектом в течение 10 мин снова делают несколько круговых движений чашкой, затем стерильным пинцетом удаляют тест-объект из чашки и сбрасывают его в емкость с дезинфицирующим раствором с целью дальнейшего обеззараживания. Нейтрализатор из чашки Петри сеют (на 2—3 чашки по 0,1—0,2 мл в каждую) на твердые дифференциально-диагностические питательные среды либо заливают чашку с нейтрализатором растопленным и остуженным до 45 °С агаром.

Посевы выращивают в термостате при температуре плюс  $(28 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ . Учет результатов проводят в течение 2—7 суток (*S. albicans*, *A. niger*) и 21—28 суток (*T. gypsum*) путем подсчета количества выросших колоний, затем рассчитывают плотность контаминации 100 см<sup>2</sup> поверхности и процент обеззараживания, принимая количество колоний, снятых с контрольных поверхностей, за 100 %.

Критерий эффективности обеззараживания поверхностей — не менее 99,99 % гибели тест-микробных организмов

Таблица 4 — Показатели эффективности обеззараживания поверхностей

Микроорганизм	Эффективность (%)	Время обеззараживания (мин)
<i>C. albicans</i> , <i>T. gypseum</i>	99,99	Не более 240
<i>A. niger</i> , <i>A. brasiliensis</i>	99,99	Не более 360

#### 7.4 Исследование фунгицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания белья

Эффективность обеззараживания белья ДС определяют в соответствии с изложенным в 5.4.

Мешочки с контаминированными тест-объектами распределяют между слоями белья (сверху, в середине, внизу). Через заданное время воздействия дезинфектанта (например, 15, 30, 60 мин) извлекают по 1 мешочку с каждого уровня, стерильным пинцетом вынимают тест-объекты, переносят их в раствор нейтрализатора на 5 мин, затем промывают 5 мин в стерильной питьевой воде, затем помещают в жидкие питательные среды. В контрольных опытах вместо дезинфицирующего раствора используют стерильную питьевую воду.

Критерий эффективности — 100 % гибель тест-микробов.

Таблица 5 — Показатели эффективности обеззараживания белья

Микроорганизм	Объект обеззараживания	Эффективность (%)	Время обеззараживания (мин)
<i>C. albicans</i> , <i>T. gypseum</i>	Белье без видимых загрязнений	100	Не более 240
<i>C. albicans</i> , <i>T. gypseum</i>	Белье, загрязненное выделениями	100	Не более 240

#### 7.5 Исследование фунгицидной эффективности ДС, предназначенных для обеззараживания посуды

В зависимости от назначения ДС исследования проводят при обеззараживании посуды столовой и кухонной, лабораторной и из-под выделений.

В качестве тест-объектов при разработке режимов обеззараживания столовой и кухонной посуды используют:

- тарелки из различных материалов (фарфор, фаянс, алюминий, стекло, пластик, посуда, покрытая эмалью);
- стаканы из различных материалов (фарфор, фаянс, алюминий, стекло, пластик, посуда, покрытая эмалью);
- кружки из различных материалов (фарфор, фаянс, алюминий, стекло, пластик, посуда, покрытая эмалью);
- столовые приборы — ножи, вилки, ложки из различных материалов (нержавеющая сталь, алюминий, пластик);
- лабораторную посуду — предметные и покровные стекла, пипетки, чашки Петри, планшеты для иммунологического анализа и др.;
- посуду из-под выделений — подкладные судна, мочеприемники, горшки, плевательницы и др. или тест-объекты их имитирующие.

В качестве тест-микробов при контаминации столовой посуды используют *C. albicans*, лабораторной — *C. albicans*, *T. gypseum*.

При разработке режимов обеззараживания посуды с остатками пищи суспензию *C. albicans* смешивают с овсяной, манной или другой кашей, сваренной на молоке со сливочным маслом (к 10 г каши добавляют 1 мл 2-миллиардной микробной взвеси).

Для имитации загрязнения чайной посуды используют кисель (к 10 г киселя добавляют 1 мл 2-миллиардной суспензии *C. albicans*), лабораторной посуды — 40 % инактивированной сыворотки (6 мл 2-миллиардной суспензии *C. albicans* или *T. gypseum* смешивают с 4 мл инактивированной сыворотки), а посуды из-под выделений — 40 % фекальную эмульсию, контаминированную *C. albicans* (на 10 мл — 1 мл 2 × 10<sup>9</sup> суспензии).

Перед контаминацией тест-грибами посуду (столовую и лабораторную) и столовые приборы подвергают механической очистке — моют водой с мылом и щеткой. Посуду располагают горизонтально и

на нее пипеткой наносят взвесь тест-грибов из расчета 0,5 мл 2-миллиардной суспензии на площадь в 100 см<sup>2</sup>. Культуру равномерно распределяют по поверхности посуды стеклянным шпателем. Столовые приборы для контаминации погружают в бактериальную суспензию на 1—2 мин, оставляя незараженными их ручки.

Посуду подсушивают (до полного высыхания) при комнатной температуре 18—20 °С и относительной влажности воздуха 50—60 %, затем обрабатывают дезинфицирующим раствором.

Обработку столовой, чайной, лабораторной посуды и столовых приборов проводят способом погружения в дезинфицирующий раствор. Растворы готовят на питьевой воде. Температура испытуемого раствора 18—20 °С. При необходимости изучают эффективность растворов, имеющих температуру 50 °С.

Контролем служит аналогично контаминированная посуда, которую погружают в такой же объем стерильной питьевой воды.

Дезинфицирующий раствор должен полностью и с избытком покрыть всю посуду (столовую и лабораторную) и столовые приборы (из расчета не менее 2 л на 1 комплект).

Через определенные интервалы времени извлекают из дезинфицирующего раствора по одному предмету и стерильной марлевой салфеткой (размер 5 × 5 см<sup>2</sup>), смоченной в растворе нейтрализатора, соответствующего данному ДС; тщательно протирают контаминированную часть каждого предмета, погружают салфетку в 10 мл этого же нейтрализатора, находящегося в пробирках с бусами. Время отмыва марлевой салфетки 10 мин при постоянном встряхивании. После отмыва марлевую салфетку погружают в соответствующую жидкую питательную среду. Отмывную жидкость сеют на 2—3 чашки по 0,2—0,5 мл в каждую на твердые питательные среды.

Посевы помещают в термостат при температуре 28 °С и учитывают результат через 2—7 суток (*S. albicans*) и 21—28 суток (*T. gypseum*).

Время обеззараживания посуды определяют в интервале от 15 до 240 мин в зависимости от вида тест-микроорганизма и наличия загрязнения.

Критерий эффективности обеззараживания — не менее 100 %-ной гибели тест-микроорганизмы.

Т а б л и ц а 6 — Показатели эффективности обеззараживания посуды

Микроорганизм	Объект обеззараживания	Эффективность (%)	Время обеззараживания (мин)
<i>S. albicans</i>	Столовая посуда без остатков пищи	100	Не более 60
	Столовая посуда с остатками пищи	100	Не более 120
<i>S. albicans</i> , <i>T. gypseum</i>	Лабораторная посуда	100	Не более 120
<i>S. albicans</i>	Посуда из-под выделений	100	Не более 240

## 8 Методы изучения и оценки вирулицидной активности дезинфицирующих средств

### 8.1 Требования к тест-вирусам

Тест-вирусы получают из национальных или из международных коллекций вирусов. При исследованиях вирулицидной активности ДС необходимо использовать как РНК-, так и ДНК-содержащие тест-вирусы, поэтому обязательным для испытания вирулицидного действия всех ДС используют как минимум два тест-вируса:

- вирус полиомиелита 1 типа — вакцинный штамм Sabin (LSc-2ab), далее «полиовирус», РНК-содержащий вирус, не имеющий оболочки, из семейства пикорнавирусов;
- аденовирус тип 5, штамм Аденоид 75 (ATCC VR-5), далее «аденовирус» ДНК-содержащий вирус, не имеющий оболочки, из семейства аденовирусов.

Перечень вирусов может быть расширен при необходимости более детального изучения вирулицидного действия ДС или его эффективности в отношении вируса определенной инфекции за счет следующих вирусов:

- бычий парвовирус, штамм Хаден (ATCC VR-767);
- вирус гепатита А, штамм HAS-15, РНК-содержащий вирус, не имеющий оболочки, из семейства пикорнавирусов;

- вирус гепатита В уток (ВГВУ), штамм УФА-04, ДНК-содержащий, из семейства гепаднавирусов;
- вирус гепатита С человека, штамм Д1;
- вирус бычьей диареи (ВД-БС), РНК — содержащий вирус диареи — болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота, из семейства пестивирусов, штамм ВК-1В1-№ 28.

Средство, показавшее способность инактивировать полиовирус и аденовирус, включают в группу ДС с вирулицидной активностью. ДС с вирулицидной активностью используют для дезинфекции при любой вирусной (включая особо опасные) инфекции, имеющей значение в инфекционной патологии человека.

Для ДС, применяемых при повышенной (до 60 °С) температуре растворов, кроме указанных двух основных вирусов в качестве тест-вируса используют бычий парвовирус (штамм Хаден).

Для изучения и оценки активности ДС в отношении вируса гепатита А используют вирус гепатита А человека (штамм HAS-15). ДС, инактивирующие вирус гепатита А, входит в группу средств с вирулицидной активностью.

Для изучения вирулицидной активности ДС в отношении вируса гепатита В применяют суррогатный вирус — вирус гепатита В уток (ВГВУ), в отношении вируса гепатита С — суррогатный вирус — вирус диареи — болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота ВД-БС (штамм ВК-1В1-№ 28) или вирус гепатита С человека (штамм Д1).

Исходный вирус, полученный из референс центров (из национальных или международных коллекций вирусов), размноженный в объемах, достаточных для длительной работы с данным пассажем, хранят в малых объемах при минус 20° — минус 70 °С или в жидком азоте.

Исходный вирус размножают в чувствительных клетках (лабораторных животных, утках и др.), продуцирующих вирус в высоких титрах. Клеточный детрит удаляют центрифугированием при низких оборотах (1000 об/5 мин), получая вирусную суспензию (ВС).

Титр ВС должен быть достаточно высоким, чтобы можно было получить снижение титра на  $4,0 \log_{10}$ . Минимальный титр ВС должен составлять 106,5 ТЦИД<sub>50</sub>/мл. Для подсчета ТЦИД<sub>50</sub> или LD<sub>50</sub> применяют метод полных кумулятивов Рида и Менча и метод определения «центральной величины» Кербера по [2].

Полиовирус размножают в перевиваемой культуре клеток RD и Нер-2 или в других чувствительных клеточных культурах (4647, Vero и т. д.). Для получения ВС культуру клеток, инфицированную вирусом полиомиелита на стадии 100 % поражения монослоя, вызванного цитопатическим действием вируса, трехкратно замораживают и оттаивают. После удаления разрушенных клеток центрифугированием полученную ВС используют в экспериментах.

Аденовирус размножают в перевиваемой клеточной культуре Нер-2, 4647 и в других чувствительных клеточных культурах. Методика получения ВС аналогична методике получения вирусной суспензии для полиовируса, за исключением того, что перед процедурой разрушения клеток методом замораживания-оттаивания проводят замену культуральной среды на не содержащую сыворотки и добавляют ее в меньшем объеме.

Вирулицидное ДС (субстанция) должно подавлять инфекционность обязательных для испытаний тест-вирусов — полиовируса и аденовируса на исследуемых объектах не менее, чем на  $4 \log_{10}$  ТЦИД<sub>50</sub> (то есть степень инактивации должна быть не менее 99,99 %).

Критерием вирулицидной активности ДС (субстанций) для других тест-вирусов (включая вирусы — возбудители особо опасных инфекций) является отсутствие инфекционности, определяемое современными методами индикации.

Степень инактивации тест-вируса определяют в чувствительных модельных системах по подавлению инфекционной, цитопатической или бляшкообразующей активности вируса в культуре клеток, или по отсутствию маркеров инфицирования, или по специфической гибели лабораторных животных. Для получения более точных результатов тест-вирус следует использовать с максимальным титром.

Показателем вирулицидной активности ДС (субстанций) является скорость инактивации, которая представляет собой соотношение концентрации тест-вируса, выраженное в десятичных логарифмах, до и после воздействия ДС за определенный промежуток времени (экспозиция). Степень снижения вирусной инфекционности вычисляется в десятичных логарифмах по разнице титров вируса до и после обработки ДС.

При отсутствии цитопатического эффекта пробы подвергают необходимой обработке с целью проведения второго, а при необходимости и третьего слепого пассажа для определения полноты ингибирования тест-вируса. Эксперименты сопровождают всеми необходимыми контролями, в том числе

контролем полноты нейтрализации дезинфектанта, жизнеспособности тест-вируса, контаминации тест-объекта тест-вирусом, культуры клеток или лабораторных животных (мыши), утки и др.

Для нейтрализации ДС используют нейтрализатор, подобранный к конкретному ДС (или дезинфицирующей субстанции), останавливающий действие ДС (характеристика нейтрализаторов указана в 4.3).

Комплексный нейтрализатор обладает выраженным цитотоксическим действием на клеточные культуры. Если не удастся подобрать какой-либо химический нейтрализатор, так как его действие проявляется в неспецифической дегенерации культуры клеток (или гибели мышей, уток), то используют 60 % — 80 % сыворотки (без консерванта) крупного рогатого скота (СКРС), инактивированной при 56 °С. В течение 30 мин СКРС нейтрализует большой перечень ДВ и по своему действию наиболее близка к комплексному нейтрализатору.

При невозможности нейтрализовать токсическое действие ДС следует применять дополнительные методы удаления ДС — диализ смеси вирус-дезинфектант, например, с использованием сефадекса LH-20, G-75; осаждения вируса методом высокоскоростного центрифугирования или фильтрацией через мембранные фильтры.

### **8.2 Определение вирулицидной активности ДС, предназначенных для обеззараживания поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования, транспортных средств и других объектов**

Определение вирулицидной активности ДС при обеззараживании тест-поверхностей проводят двумя способами: способом протирания (одно- или двукратного) или способом орошения.

На поверхности, подготовленные и расположенные, как указано в 5.3, наносят ВС из расчета — 0,5 мл с добавлением 5 % инактивированной СКРС на площадь в 100 см<sup>2</sup>, равномерно распределяют по поверхности стеклянным шпателем. Контаминированные вирусом поверхности подсушивают до полного высыхания при температуре 20 °С ± 2 °С и относительной влажности воздуха 50—60%, затем обрабатывают раствором ДС.

Для имитации органического загрязнения используют 40 % инактивированной сыворотки при разработке режимов обеззараживания раковин, ванн, унитазов — 80 %. Возможно использование вируссодержащей фекальной эмульсии, которую наносят на поверхности из кафеля или фаянса в экспериментах с вирусами, выделяющимися из организма с фекалиями.

Контроль эффективности обеззараживания осуществляют через 15—30—60 минут. Пробы отбирают путем тщательного протирания обработанных раствором ДС поверхностей слегка увлажненной нейтрализатором в физиологическом растворе или растворе Хенкса с антибиотиками стерильной марлевой салфеткой (5х5 см), а затем сухой. Салфетки помещают в широкогорлые пробирки с бусами с 5 мл нейтрализатора.

Оптимальное время обеззараживания поверхностей — не более 60 мин.

В контроле вируса контаминированные ВС поверхности протирают или орошают стерильной водопроводной водой при той же норме расхода воды, что и ДС в опыте. Забор проб и их обработку проводят аналогично опытным. Для определения плотности контаминации проводят титрование смывов с поверхностей.

### **8.3 Определение вирулицидной активности ДС, предназначенных для обеззараживания белья**

Изучение вирулицидной активности ДС проводят при обеззараживании белья без видимых загрязнений и белья, загрязненного выделениями. Для этого в емкость с раствором ДС помещают бязевое белье (1 кг на 4 л раствора). Контаминированные ВС бязевые тест-объекты подсушивают, закладывают в бязевые стерильные мешочки, которые размещают между слоями белья (верх, середина, низ).

Через определенные промежутки времени (15 и более мин) мешочки с тестами извлекают одновременно из трех слоев.

Тесты вынимают из мешочка стерильным пинцетом, погружают в широкогорлые пробирки с нейтрализатором и бусами, отмывают в шуттель-аппарате в течение 10 мин. Смывной жидкостью заражают культуру клеток (или другой биологический объект). Культуру клеток, отмывают от ростовой среды, оставляют на контакт на 30—60 мин для адсорбции вируса. Затем клетки промывают раствором Хенкса и заливают поддерживающей средой с сывороткой. Клетки инкубируют в термостате при оптимальной для конкретного вируса температуре.

Для изучения эффективности ДС при обеззараживании белья, загрязненного кровью (имитация в виде 40 % сыворотки), медицинских отходов из тканей, марли, ваты (одноразовое хирургическое белье и акушерские комплекты, перевязочный материал, марлевые салфетки, ватные тампоны и др.) к 6 мл вируссодержащей жидкости добавляют 4 мл инактивированной СКРС, смешивают и заливают тесты, подсушивают их и используют в опыте.

Оптимальное время обеззараживания белья — не более 120 мин, медицинских отходов — не более 240 мин.

Для имитации загрязнения белья и медицинских отходов из тканей и др. фекалиями в экспериментах с тест-вирусом используют фекальную эмульсию. Фекальную эмульсию готовят следующим образом: к 6 мл 10 % ВС добавляют 4 мл 40 %-ной эмульсии фекалий. Для этого 8 г простерилизованных фекалий (1,5 атм в течение 30 мин) растирают в ступке с 20 мл стерильной воды. В качестве органической нагрузки также используют 80 % инактивированной СКРС из расчета: 8 мл сыворотки и 2 мл ВС тщательно перемешивают и этой смесью заливают тесты. Избыток жидкости через 15 мин удаляют с помощью пипетки, тесты подсушивают при комнатной температуре. Далее эксперимент проводят по схеме — как с бельем, незагрязненным выделениями.

Время обеззараживания белья и медицинских отходов, загрязненных фекалиями — не более 240 мин.

#### **8.4 Определение вирулицидной активности ДС, предназначенных для обеззараживания посуды**

Исследования ДС проводят с использованием посуды без остатков пищи, а также без других видимых загрязнений и посуды с остатками пищи или другими загрязнениями.

При обеззараживании посуды без остатков пищи в качестве тест-объектов используют:

- тарелки;
- стаканы;
- эмалированные кружки;
- столовые приборы — ножи, вилки, ложки;
- лабораторную посуду — пипетки, в т. ч. микропипетки, наконечники к ним, предметные стекла, пробирки.

Чистую посуду контаминируют вирусной суспензией (ВС), которую наносят пипеткой из расчета 0,5 мл на 100 см<sup>2</sup> и равномерно распределяют по поверхности стерильным стеклянным шпателем. Вилки, ложки и ножи погружают в ВС на 10—15 мин (за исключением ручек), каналы пипеток контаминируют вирусом.

Посуду, столовые приборы подсушивают при комнатной температуре. После полного высыхания погружают в раствор ДС, полностью их покрывая раствором (расход раствора составляет примерно 2 л на комплект посуды: чашка, блюдце, 2 тарелки, ложка, вилка, нож).

Через определенные интервалы времени (15, 30, 60, 90, 120 минут) посуду извлекают из раствора ДС. Для оценки эффективности обеззараживания стерильными марлевыми салфетками размером 5 x 5 см (вначале увлажненной нейтрализатором, затем сухой) тщательно протирают контаминированные вирусом части каждого предмета. Салфетки помещают в стерильную широкую пробирку с бусами и с 5 мл стерильного нейтрализатора.

Оптимальное время обеззараживания — не более 60 мин.

В качестве контроля используют аналогичным способом контаминированную вирусом посуду, погруженную на максимальную экспозицию в стерильную или прокипяченную водопроводную воду.

Для изучения эффективности ДС при обеззараживании посуды с остатками пищи, загрязненной лабораторной посудой многократного использования и однократного применения (перед утилизацией) к ВС добавляют 80 % инактивированной СКРС из расчета: 20 % ВС и 80 % сыворотки, смесь наносят равномерно на посуду, подсушивают.

Оптимальное время обеззараживания — не более 120 мин для посуды многократного использования и не более 240 мин — для посуды однократного применения (перед утилизацией).

**Библиография**

- [1] Технические условия Сульфенол порошок  
ТУ 2481-135-07510508-07
- [2] Руководство Р 4.2.2643-10 Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности

Ключевые слова: средства дезинфицирующие, методы определения, показатели эффективности, бактерии, вирусы, грибы, нейтрализатор

---

БЗ 6—2018/70

Редактор *В.Н. Шмельков*  
Технический редактор *И.Е. Черепкова*  
Корректор *М.И. Першина*  
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 06.06.2018. Подписано в печать 09.06.2018. Формат 60×84%. Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,51.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»  
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,  
123001 Москва, Гранатный пер., 4. [www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)