Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ
И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

ИЗМЕНЕНИЯ № 2 В Р 4.2.3676-20 «МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИСПЫТАНИЙ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ»

Руководство
Р 4.2. 4125-25

Москва 2025

Изменения № 2 в Р 4.2.3676-20 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности». Р 4.2. 4125 -25

1. Разработаны Институтом дезинфектологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (Бидевкина М.В., Панкратова Г.П., Шайхутдинова З.К., Матросенко М.В., Виноградова А.И.).

2. Утверждено руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А.Ю. Поповой «11» апреля 2025 г.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации

А.Ю. Попова

«11» апреля 2025 г.
Дата введения «11» июля 2025 г.

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ
И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

ИЗМЕНЕНИЯ № 2 В Р 4.2.3676-20 «МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИСПЫТАНИЙ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ»

Руководство
Р 4.2. 4125 -25

1. Изложить пункт 2.5 в следующей редакции:

«2.5. Приведенные в руководстве наименования средств измерений, испытательного и вспомогательного оборудования, устройств, материалов, реактивов, тест-образцов, диагностических препаратов и питательных сред не исключают возможности применения средств измерений, испытательного и вспомогательного оборудования, устройств, материалов, реактивов, тест-образцов, диагностических препаратов и питательных сред с аналогичными или усовершенствованными свойствами (характеристиками).».

2. Изложить пункт 6.2.12 в следующей редакции:

«6.2.12. Методика определения времени отмыва изделий из различных материалов после обработки дезинфицирующими средствами.

Методика основана на определении индекса токсичности смывов и вытяжек с различных объектов после обработки дезинфицирующими средствами. Индекс токсичности определяют в условиях *in vitro* с применением спермы крупного

рогатого скота (быка) замороженной (далее – сперма крупного рогатого скота).

6.2.12.1. Средства измерений, испытательное оборудование, вспомогательные устройства, реактивы, материалы и тест-образцы необходимые для проведения исследования.

Средства измерений и испытательное оборудование:

– весы лабораторные специального (I) класса точности по ГОСТ Р 53228;

– анализатор изображений (токсичности) любого типа, позволяющий оценивать подвижность сперматозоидов крупного рогатого скота;

– секундомер механический однострелочный или секундомер электронный по ГОСТ 23350;

– термостат суховоздушный по ГОСТ 15150;

– дозаторы пипеточные одноканальные 10-100 мкл, 100-1000 мкл и 1-5 мл по ГОСТ 28311;

– цилиндр 1-500-2 по ГОСТ 1770;

– термогигрометр по ГОСТ Р 52931.

Реактивы:

– тест система для оценки индекса токсичности (сперма крупного рогатого скота);

– вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144;

– глюкоза ч. по ГОСТ 6038;

– цитрат натрия трехзамещенный ч. по ГОСТ 22280;

– жидкий азот по ГОСТ 9293.

Вспомогательные устройства, материалы:

– сосуд Дьюара;

– чаша кристаллизационная цилиндрическая исп. 2 объемом 1000 мл по ГОСТ 25336;

– эксикатор без крана 2-150 мм по ГОСТ 25336;

– камера хроматографическая 15х12х8 см с крышкой под пластины 10х10 см;

– кюветы (реакционные пробирки) объемом 2 мл;

– бюксы (стаканчики для взвешивания высокие СВ 34/12) по ГОСТ 25336;

– стеклянные капилляры для анализатора изображений (токсичности);

– наконечники одноразовые для дозаторов пипеточных одноканальных 10-100 мкл, 100-1000 мкл и 1-5 мл;

– марля по ГОСТ 11109;

– пинцет анатомический из нержавеющей стали 25 см;

– чаша выпарная плоскодонная исп. 2 объемом 100 мл по ГОСТ 25336.

Тест-образцы:

– пинцет медицинский прямой 10 см по ГОСТ 21241;

– шприц медицинский стеклянный многократного применения 2 мл по ГОСТ 22967;

– трубка резиновая медицинская тип 2 (дренажная) 10х2 мм по ГОСТ 3399;

– трубка медицинская поливинилхлоридная 10х2 мм;

– трубка силиконовая 10х2 мм;

– сталь листовая нержавеющая AISI 304, размером 10х10 см;

– пластины размером 10х10 см из органического листового стекла марки СО-95-К по ГОСТ 10667;

– тарелка керамическая плоская диаметром 15 см;

– огурцы по ГОСТ 33932;

– яблоки по ГОСТ 34314;

– петрушка по ГОСТ 34212;

– яйца куриные 2 категория по ГОСТ 31654;

– ткань белая бельевая хлопчатобумажная по ГОСТ 29298, плотность от 120 до 150 г/м^2, фрагменты размером 10х10 см.

6.2.12.2. Испытания проводят при следующих лабораторных условиях:

– температура окружающего воздуха плюс 15-35 °С;

– относительная влажность воздуха не более 80 %;

– атмосферное давление 460-800 мм рт.ст.

6.2.12.3. Проведение отмыва дезинфицирующего средства с тест-образцов.

Перед отмывом проводят дезинфекцию тест-образцов в режиме, изложенном в инструкции по применению дезинфицирующего средства. При реализации методики используются тест-образцы в соответствии с областью применения дезинфицирующего средства.

В качестве тест-образцов используют:

– для медицинских изделий: из металла и стекла – шприцы стеклянные многократного применения (2 шт., предварительно вынув поршень) и пинцеты (2 шт.); из резины натуральной – трубки резиновые (4 шт. по 2 см); из резины силиконовой – трубки силиконовые (4 шт. по 2 см); из пластмассы – трубки поливинилхлоридные (4 шт. по 2 см);

– для детских игрушек – трубки резиновые (4 шт. по 2 см), трубки силиконовые (4 шт. по 2 см) и трубки поливинилхлоридные (4 шт. по 2 см);

– для кувезов – пластину из органического стекла (1 шт.);

– для технологического оборудования – трубки поливинилхлоридные (4 шт. по 2 см) и сталь (1 шт.);

– для посуды столовой – тарелку керамическую (1 шт.);

– для ткани – хлопчатобумажную ткань (1 шт.);

– для овощей – огурец (1 шт.);

– для фруктов –яблоко (1 шт.);

– для зеленой продукции – петрушку (3 г);

– куриные яйца (1 шт.).

Определение времени отмыва под проточной водой

1. Тест-образец помещают в эксикатор и добавляют 300 мл рабочего раствора средства. Экспозиция в соответствии с инструкцией по применению

дезинфицирующего средства. Затем тест-образец извлекают из эксикатора с помощью пинцета, дают стечь остаткам раствора и помещают в кристаллизационную чашу для проведения отмыва под проточной водой.

2. Отмыв проводят холодной водой со скоростью движения (6,0±1,0) л/мин. Скорость движения воды контролируют по времени заполнения мерного цилиндра вместимостью 500 мл.

3. Тест-образцы под проточной водой выдерживают в течение 1, 3, 5, 7 мин. По истечении указанных промежутков времени тест-образцы извлекают пинцетом из кристаллизационной чаши и погружают в хроматографическую камеру (кроме посуды, тест-изделий из резины и пластмассы), посуду помещают в кристаллизационную чашу, тест-образцы из резины и пластмассы помещают в бюксы. Для экстракции наливают дистиллированную воду и помещают в термостат при температуре плюс (40±1,5) °С. Продолжительность экстракции и объем дистиллированной воды, необходимый для вытяжки приведен в табл. 6.12.1.

Таблица 6.12.1

Рекомендуемые условия приготовления вытяжек

Тест-образец	Объем дистиллированной воды, мл	Продолжительность экстракции, ч
Трубки резиновые	30	24
Трубки поливинилхлоридные	30	24
Трубки силиконовые	30	24
Шприцы	100	2
Пинцеты	100	2
Сталь	100	2
Тарелка керамическая	500	2
Яйцо куриное	100	2
Огурец	200	2
Петрушка	100	2
Салфетка	75	24
Хлопчатобумажная ткань	50	24

Определение времени отмыва способом погружения

1. Тест-образец помещают в эксикатор и добавляют 300 мл рабочего раствора средства, для посуды – 500 мл. Экспозиция в соответствии с инструкцией по применению дезинфицирующего средства.

2. Тест-образцы, обработанные дезинфицирующим средством, извлекают пинцетом, дают стечь раствору, погружают в кристаллизационную чашу с 500 мл водопроводной воды и выдерживают в течение 1, 3, 5, 7 мин. При получении отрицательных результатов по отмыву за 7 мин, применяют двукратное погружение с выдержкой в течение 7 мин при каждом погружении.

3. Затем тест-образцы извлекают из кристаллизационной чаши с помощью пинцета и погружают в хроматографическую камеру (кроме посуды, тест-изделий из резины и пластмассы), посуду помещают в кристаллизационную чашу, тест-образцы из резины и пластмассы помещают в бюксы. Для экстракции наливают дистиллированную воду и помещают в термостат при температуре плюс (40±1,5) °С. Продолжительность экстракции и объем дистиллированной воды, необходимый для вытяжки приведен в табл. 6.12.1.

Определение времени отмыва способом протирания

1. Тест-образцы обрабатывают в соответствии с инструкцией по применению дезинфицирующего средства.

2. После окончания экспозиции поверхности протирают чистой марлевой салфеткой площадью 15×15 см^2, смоченной в водопроводной воде. Для оценки многократных отмывов процедуру повторяют. Салфетку погружают в тигель с дистиллированной водой и ставят в термостат при температуре плюс (40±1,5) °С. Продолжительность экстракции и объем дистиллированной воды, необходимый для вытяжки приведен в табл. 6.12.1.

6.2.12.4. Приготовление контрольного и опытного растворов.

В качестве контрольного раствора используют глюкозо-цитратный раствор: из расчета на 10 мл дистиллированной воды – 0,4 г глюкозы и 0,1 г цитрата натрия. Для приготовления опытного раствора дистиллированную воду заменяют на исследуемый раствор (вытяжка или смывы). Затем растворы помещают в термостат при температуре плюс (40±1,5) °С на 1 ч.

Контрольный раствор одновременно является разбавителем для оттаивания спермы крупного рогатого скота.

6.2.12.5. Оттаивание спермы крупного рогатого скота (приготовление суспензии сперматозоидов).

1. Для оттаивания спермы крупного рогатого скота в пробирку отбирают разбавитель в объеме, указанном в паспорте на сперму крупного рогатого скота, и ставят ее в блок пробоподготовки проб анализатора изображений (токсичности) с температурой плюс (40±1,5) °С.

2. Анатомическим пинцетом извлекают из сосуда Дьюара гранулу спермы крупного рогатого скота и опускают ее в пробирку с нагретым до плюс (40±1,5) °С раствором. Сразу после размораживания содержимое пробирки тщательно перемешивают, встряхивая пробирку, и ставят обратно в блок пробоподготовки проб на 5-6 мин.

6.2.12.6. Проведение испытаний.

Индекс токсичности определяют при сравнении экспериментальных данных опытного раствора с контрольным.

1. Температура проведения испытаний плюс (40±1,5) °С. Испытуемые растворы (контрольный и опытный) в течение эксперимента должны постоянно

находиться при указанной температуре.

2. Контрольный и опытный растворы (в количестве по 0,4 мл каждого) отбирают в пробирки и ставят в блок пробоподготовки проб анализатора изображений (токсичности) при температуре плюс (40±1,5) °С.

3. В пробирки с контрольным и опытным растворами помещают по 0,1 мл полученной по п. 6.2.12.5 суспензии сперматозоидов.

4. Заполняют по пять капилляров анализатора изображений (токсичности) контрольными и опытными растворами.

5. Капилляры, после заполнения раствором, протирают марлевой салфеткой и устанавливают в каретку и помещают ее в анализатор изображений (токсичности).

6. Начинают проведение измерений.

7. Допускаются отклонения от описанной методики при использовании анализаторов токсичности другой конструкции.

Обработка результатов.

Количество циклов измерений, необходимых для расчета индекса токсичности, определяют по паспорту на сперму крупного рогатого скота. Обработку экспериментальных данных осуществляют вручную или с помощью компьютера.

При ручной обработки данных для каждого образца рассчитывают средневзвешенное время подвижности ($t_{ср}$) по формуле (1):

$$t_{ср} = \ln m_i * \frac{\sum_i (m_i * i)}{\sum_i m_i}, \quad (1)$$

где: m_i – значение показателя подвижности;
i – текущий номер оценки показателя токсичности.

Для каждого образца проводят пять параллельных измерений. Для контрольного и опытных образцов вычисляют среднее арифметическое значение и среднеквадратичное отклонение, а затем для каждой выборки вычисляют коэффициент вариации (С) по формуле (2):

$$C = \frac{\sigma}{x} * 100\ \%, \quad (2)$$

где: σ – среднеквадратичное отклонение;
x – среднее арифметическое значение.

В случае получения значения коэффициента вариации более 15 %, эксперимент повторяют. Если значения коэффициентов вариации для каждого из выборок меньше или равно 15 %, то результаты считают пригодными для статистической обработки.

Величину индекса токсичности (It) вычисляют по формуле (3):

$$It = \frac{\bar{t}^{\,о}_{ср}}{\bar{t}^{\,к}_{ср}} * 100\,\%, \qquad (3)$$

где: $\bar{t}^{\,о}_{ср}$ и $\bar{t}^{\,к}_{ср}$ – средние арифметические значения средневзвешенного времени подвижности соответственно для опытной и контрольной выборок образцов.

6.2.12.7. Интерпретация полученных результатов.

Оценку результатов испытаний осуществляют путем сравнения полученных значений индексов токсичности для исследованных смывов или вытяжек и допустимого интервала индекса токсичности. Испытуемые смывы или вытяжки считаются нетоксичными, если индекс токсичности находится в диапазоне от 70 до 120 %. При других значениях индекса токсичности смывы или вытяжки считаются токсичными.

Оформление результатов приведено в табл. 6.12.2.

Таблица 6.12.2

Оформление результатов

Объект дезинфекции	Концентрация рабочего раствора	Экспозиция	Способ отмыва	Время отмыва	Индекс токсичности	Результат
						Токсично/ не токсично

».

3. Изложить раздел 6.4 в следующей редакции:

«6.4. Оценка токсичности и опасности средств для предстерилизационной очистки, дезинфекции высокого уровня и стерилизации медицинских изделий

6.4.1. Средства, предназначенные для предстерилизационной очистки медицинских изделий, изучают по общей схеме изучения дезинфицирующих средств, предназначенных для дезинфекции медицинских изделий (п.п. 6.2.2-6.2.12).

6.4.2. Определение острой токсичности при введении в желудок проводят в соответствии с п. 6.2.2.

6.4.3. Определение острой токсичности при нанесении на кожу проводят в соответствии с п. 6.2.3.

6.4.4. Определение острой токсичности при введении в брюшную полость проводят в соответствии с п. 6.2.4.

6.4.5. Определение острой ингаляционной опасности в насыщающих концентрациях паров (C_{20}) проводят в соответствии с п. 6.2.5.

6.4.6. Определение острого раздражающего действия на кожу проводят в соответствии с п. 6.2.7.

6.4.7. Определение и оценку раздражающего действия рабочего раствора средства на кожу при повторных аппликациях проводят в соответствии с п. 6.2.7.

6.4.8. Определение сенсибилизирующего действия проводят в соответствии с п. 6.2.11.

6.4.9. Методика определения времени отмыва изделий из различных материалов после обработки дезинфицирующими средствами, предназначенными для стерилизации и (или) ДВУ.

Методика основана на определении индекса токсичности смывов и вытяжек с различных объектов после обработки дезинфицирующими средствами, предназначенными для стерилизации. Индекс токсичности определяют способом *in vitro* с применением спермы крупного рогатого скота.

6.4.9.1. Средства измерений, испытательное оборудование, вспомогательные устройства, реактивы, материалы и тест-образцы необходимые для проведения исследования:

Средства измерений и испытательное оборудование:

– весы лабораторные специального (I) класса точности по ГОСТ Р 53228;

– анализатор изображений (токсичности) любого типа, позволяющий оценивать подвижность спермы крупного рогатого скота;

– секундомер механический однострелочный или секундомер электронный по ГОСТ 23350;

– термостат суховоздушный по ГОСТ 15150-69;

– дозаторы пипеточные одноканальные 10-100 мкл, 100-1000 мкл и 1-5 мл по ГОСТ 28311;

– термогигрометр по ГОСТ Р 52931.

Реактивы:

– тест система для оценки индекса токсичности (сперма крупного рогатого скота);

– вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144;

– глюкоза ч. по ГОСТ 6038;

– цитрат натрия трехзамещенный ч. по ГОСТ 22280;

– жидкий азот по ГОСТ 9293.

Вспомогательные устройства, материалы:

– сосуд Дьюара;

– чаша кристаллизационная цилиндрическая исп.2 объемом 1000 мл по ГОСТ 25336;

– камера хроматографическая 15x12x8 см с крышкой под пластины 10x10 см;

– кюветы (реакционные пробирки) объемом 2 мл;

– бюксы (стаканчики для взвешивания высокие СВ 34/12) по ГОСТ 25336;

– стеклянные капилляры для анализатора изображений (токсичности);

– наконечники одноразовые для дозаторов пипеточных одноканальных 10-100 мкл, 100-1000 мкл и 1-5 мл;

– марля по ГОСТ 11109;

– пинцет анатомический из нержавеющей стали 25 см;

– чаша выпарная плоскодонная исп. 2 объемом 100 мл по ГОСТ 25336.

Тест-образцы:

– пинцет медицинский прямой 10 см по ГОСТ 21241;

– шприц медицинский стеклянный многократного применения 2 мл по ГОСТ 22967;

– трубка резиновая медицинская тип 2 (дренажная) 10х2 мм по ГОСТ 3399;

– трубка медицинская поливинилхлоридная 10х2 мм;

– трубка силиконовая 10х2 мм.

6.4.9.2. Испытания проводят при следующих лабораторных условиях:

– температура окружающего воздуха плюс 15-35 °С;

– относительная влажность воздуха не более 80 %;

– атмосферное давление 460-800 мм рт.ст.

6.4.9.3. Проведение отмыва дезинфицирующего средства, предназначенного для стерилизации и (или) ДВУ, с тест-образцов.

Перед отмывом проводят стерилизацию. Стерилизация тест-образцов осуществляется в соответствии с инструкцией по применению дезинфицирующего средства, предназначенного для стерилизации и (или) ДВУ. При реализации методики используются тест-образцы в соответствии с областью применения дезинфицирующего средства, предназначенного для стерилизации и (или) ДВУ.

В качестве тест-образцов используют: из металла и стекла – шприцы стеклянные многократного применения (2 шт., предварительно вынув поршень) и пинцеты (2 шт.); из резины натуральной – трубки резиновые (4 шт. по 2 см); из пластмассы – трубки поливинилхлоридные (4 шт. по 2 см).

Определение времени отмыва способом погружения.

Тест-образец помещают в эксикатор и добавляют 300 мл рабочего раствора средства. Экспозиция в соответствии с инструкцией по применению дезинфицирующего средства. Тест-образцы, обработанные дезинфицирующим средством, предназначенного для стерилизации и (или) ДВУ, извлекают из эксикатора пинцетом, дают стечь раствору и погружают в кристаллизационную чашу с дистиллированной водой объемом 500 мл. Тест-образцы выдерживают в течение 1, 3, 5, 7 мин. При получении отрицательных результатов по отмыву за 7 мин, применяют двукратное погружение с выдержкой в течение 7 мин при каждом погружении.

Затем шприцы и пинцеты погружают в хроматографическую камеру, тест-образцы из резины и пластмассы помещают в бюксы. Для экстракции наливают дистиллированную воду и помещают в термостат при температуре (40±1,5) °С. Продолжительность экстракции и объем дистиллированной воды, необходимый для вытяжки приведен в табл. 6.12.1.

6.4.9.4. Приготовление контрольного и опытного растворов проводят в соответствии с п. 6.2.12.4.

6.4.9.5. Оттаивание спермы крупного рогатого скота (приготовление суспензии сперматозоидов) проводят в соответствии с п. 6.2.12.5.

6.4.9.6. Испытания проводят в соответствии с п. 6.2.12.6.

6.4.9.7. Интерпретацию полученных результатов проводят в соответствии с п. 6.2.12.7.».