

УДК 615.28

МРНТИ 76.09.76.09.27 61.49. 61.49.01

МЕТОД РОТАТАБЕЛЬНОГО ЦЕНТРАЛЬНОГО КОМПОЗИЦИОННОГО ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ

МЫЛТЫКБАЕВА Ж.К.¹, КОВАЛЕВА Г.Г.²

¹Казахский Национальный университет имени аль-Фараби

²Национальный научный центр особо опасных инфекций имени Масгута Айкимбаева

Аннотация: В данной статье рассмотрено влияние концентрации активных компонентов на эффективность дезинфицирующих средств с использованием метода ротатабельного центрального композиционного планирования эксперимента. Эффективность изучали на культуре кишечной палочки *E. coli*. Определено оптимальное процентное соотношение химического состава для получения ДС на основе альдегидов, аминов, хлорсодержащих веществ: дидециламмоний хлорид -9,8%; глутаровый альдегид -9,7%; глиоксаль 7,7%; дистиллированная вода - 66,8%; вспомогательные компоненты – 6%. Выявлено, что наибольшее влияние на эффективность дезинфектанта оказывают парные взаимодействия компонентов, а не содержание компонентов по отдельности. Исключение составляет дистиллированная вода. При соблюдении указанных условий, гибель *E. coli* составляет $98,1 \pm 1,6\%$ (найдено в эксперименте). Теоретически рассчитанное значение (по уравнению) составило 95,4%. Отклонение экспериментально найденной величины от теоретической составило 2,75%, что свидетельствует об адекватности модели.

Изучение нового сконструированного дезинфицирующего средства (ДС) позволило сделать заключение об эффективности для: *St. aureus* ATCC 6538, начиная с концентрации 0,25% при экспозиции 60 минут; *Y. pestis* EV и *V. cholerae* O1 75-M в концентрации не менее 2% экспозиции 60 минут; *C. albicans* ATCC 10231 в концентрации 0,5% при воздействии 15 минут; *B. anthracis* Ценковского 4% раствор экспозиция 60 минут. ДС по степени воздействия на организм, токсичность относится к 3 классу умеренно опасных веществ при введении в желудок и 4 классу малоопасных веществ при нанесении на кожу.

Ключевые слова: дезинфицирующие средства, антисептические препараты, токсичность, умеренно опасные вещества, эффективность дезинфектанта

ДЕЗИНФЕКЦИЯЛЫҚ ҚҰРАЛДАРДЫҢ ТИІМДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ КЕЗІНДЕГІ ЭКСПЕРИМЕНТТІ РОТАТАБЕЛЬДІ ОРТАЛЫҚТЫҢ КОМПОЗИЦИЯЛЫҚ ЖОСПАРЛАУ ӘДІСІ

Аңдатпа: Бұл мақалада эксперименттің ротатабельді орталықтың композициялық жоспарлау әдісін пайдалана отырып, дезинфекциялаушы заттардың (ДЗ) тиімділігіне белсенді компоненттердің шоғырлануының әсері қарастырылған. *E.coli* ішек таяқшасының қызметінің тиімділігі зерттелді. Альдегид, амин хлорлы заттар негізінде ДЗ алу үшін химиялық құрамының оңтайлы пайыздық арақатынасы айқындалды: Дидециламмоний хлорид -9,8%; глутарлы альдегид -9,7%; глиоксаль 7,7%; дистилденген су - 66,8%; қосымша компоненттер – 6%. Дезинфектанттың тиімділігіне компоненттердің бөлек құрамы емес, өзара қосарлана әрекеттесуі әсер ететіні анықталды. Тазартылған су ерекшелігі болып табылады. Көрсетілген шарттарды сақтаған кезде *E. coli* жойылуы $98,1 \pm 1,6\%$ (экспериментте табылған) құрайды. Теориялық есептелген мән (теңдеу бойынша) 95,4% құрады. Экс-

периментальді табылған шаманың теориялықтан ауытқуы 2,75% құрады, бұл модельдің пара-парлығын куәландырады.

Жаңа құрастырылған дезинфекциялық заттарды (ДҚ) зерттеу: *Y. pestis* EV және ATCC 6538 60 минут экспозиция кезінде 0,25% концентрациясынан бастап; *Y. pestis* EV және *V. cholerae* O1 75 - M экспозицияның кемінде 2% 60 минут концентрациясындағы; *C. albicans* ATC 10331 15 минут әсер еткенде 0,5% концентрациясындағы; *B. anthracis* Ценковский 4% ерітіндісі экспозициясы 60 минут тиімділік туралы қорытынды жасауға мүмкіндік берді. ДҚ ағзаға әсер ету дәрежесі, уыттылығы бойынша асқазанға енгізу кезінде орташа қауіпті заттардың 3 класына және теріге жағу кезінде аз қауіпті заттардың 4 класына жататындығы анықталады.

Түйінді сөздер: дезинфекциялау құралдары, антисептикалық препараттар, уыттылық, орташа қауіпті заттар, дезинфектант тиімділігі

METHOD OF ROTATABLE CENTRAL COMPOSITION PLANNING OF THE EXPERIMENT IN THE STUDY OF EFFICIENCY DISINFECTANTS

Abstract: This article discusses the effect of the concentration of active components on the effectiveness of disinfectants with using of the rotatable central compositional design of the experiment. Efficacy studied on *E. coli* culture. There was determinate optimal percentage of the chemical composition for obtaining disinfectants based on aldehydes, amines, chlorine-containing substances: Didecylammonium chloride -9.8%; Glutaraldehyde -9.7%; glyoxal 7.7%; distilled water - 66.8%; auxiliary components - 6%. It was found that the greatest influence on the effectiveness of the disinfectant is exerted by the pairwise interactions of the components and not the content of the components separately. The exception is distilled water. Under these conditions, the death of *E. coli* is $98.1 \pm 1.6\%$ (found in the experiment). The theoretically calculated value (according to the equation) was 95.4%. The deviation of the experimentally found value from the theoretical was 2.75%, which indicates the adequacy of the model.

The study of a new designed disinfectant allowed us to conclude that it is effective for: *St. aureus* ATCC 6538 starting at concentration of 0, 25% with an exposure of 60 minutes; *Y. pestis* EV u *V. cholerae* O1 75- M at concentration of at least 2% of the exposure for 60 minutes; *C. albicans* ATCC 10231 at a concentration of 0.5% when exposed to 15 minutes; *B. anthracis* Tsenkovsky 4% solution for 60 minutes. DS according to the degree of exposure to the body, toxicity belongs to the 3rd class of moderately hazardous substances when introduced into the stomach and the 4th class of low-hazard substances when applied to the skin.

Key words: disinfectants, antiseptic drugs, toxicity, moderately dangerous substances, the effectiveness of the disinfectant

XXI век отмечен всевозрастающей агрессией микроорганизмов. Как заявил один из руководителей Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) “инфекционные болезни атакуют нас по всем фронтам”, что обостряет повышенное внимание к профилактике инфекционных заболеваний и росту требований к качеству дезинфекционных мероприятий. Наиболее универсальным, широко распространенным и эффективным является химический метод дезинфекции [1, 2].

Несмотря на огромное количество новых препаратов с антимикробным действием, зоокоммиальные (внутрибольничные) инфекции продолжают оставаться актуальными для здравоохранения всего мира в силу широкого распространения, большого социально-экономического и медицинского ущерба, причиняемого здоровью человека [3-5].

В комплексе санитарно-гигиенических и противоэпидемических мероприятий, направленных на профилактику инфекционных заболеваний вообще, и ВБИ, в особенности,

важную роль играют дезинфектологические технологии, предусматривающие использование дезинфицирующих средств, обеспечивающих устранение патогенных и условно-патогенных микроорганизмов с объектов окружающей, в том числе, внутрибольничной среды, служащих факторами передачи инфекций.

Вопросами поиска и разработки антисептических и дезинфицирующих препаратов занимаются во всем мире. Это объясняется тем, что ни одно из средств не является идеальным, а также постоянно возрастают запросы здравоохранения, меняются условия производства и сырьевые возможности, повышается внимание к экологической безопасности. Требования, предъявляемые к препаратам, резко ограничивают круг химических соединений, которые могут быть использованы в качестве действующего начала дезинфектантов. Наиболее широко применяют следующие группы – альдегиды, кислородсодержащие препараты, хлорактивные соединения, спирты, поверхностно-активные вещества, фенолсодержащие [6, 7].

Получение ДС проводилось на малогабаритной установке УПЭС-30-55/70/35 с пультом управления ПЧ-1 для отработки технологии производства новых продуктов, выпуска

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_4 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{44}x_4^2 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{14}x_1x_4 + b_{23}x_2x_3 + b_{24}x_2x_4 + b_{34}x_3x_4 \quad (1)$$

Использовалось ротатабельное центральное композиционное планирование эксперимента. Независимые переменные и их уровни,

использованные для ротатабельного центрального композиционного планирования, приведены в таблице 1.

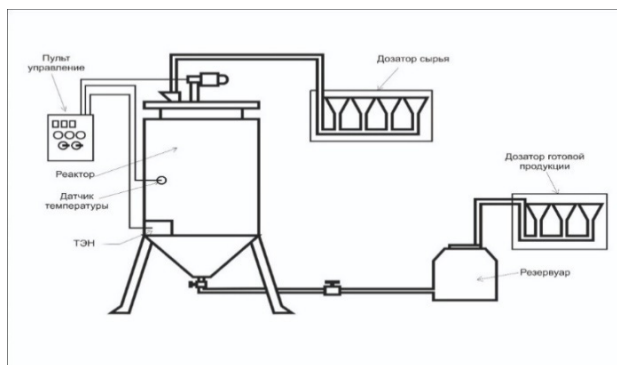


Рис. 1 – Установка для получения лабораторно-промышленной серии ДС

Экспериментальная часть

Проводили оптимизацию состава дезинфектантов, обеспечивающих максимальную эффективность в отношении *E. coli*. Варьировались следующие независимые переменные:

- содержание дидециламмония хлорида, %;
- содержание глутарового альдегида, %;
- содержание глиоксаля, %;
- содержание дистиллированной воды, %.

Цель работы заключалась в получении уравнения, описывающего влияние эффективности состава дезинфектанта по отношению к *E. coli*:

Таблица 1 – Независимые переменные и их уровни, использованные для ротатабельного центрального композиционного планирования

Переменные	Обозначение	Уровни				
		-2	-1	0	1	2
Содержание дидециламмония хлорида, %	x_1	7,0	9,0	11,0	13,0	15,0
Содержание глутарового альдегида, %	x_2	4,0	5,5	7,0	8,5	10,0
Содержание глиоксаля, %	x_3	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
Содержание дистиллированной воды, %	x_4	44,0	53,0	62,0	71,0	80,0

Экспериментально найденные значения эффективностей составов дезинфектантов приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты экспериментов

Номер опыта	Кодированные значения параметров					<i>E. coli</i> (кишечная палочка), %	
	x_0	x_1	x_2	x_3	x_4	Эксперимент	Модель
1	1	-1	-1	-1	-1	72,4	77,22
2	1	1	-1	-1	-1	75,7	75,95
3	1	-1	1	-1	-1	75,8	78,00
4	1	1	1	-1	-1	78,0	78,39
5	1	-1	-1	1	-1	82,3	85,37
6	1	1	-1	1	-1	76,4	81,35
7	1	-1	1	1	-1	83,5	84,35
8	1	1	1	1	-1	88,4	81,99
9	1	-1	-1	-1	1	74,8	81,44
10	1	1	-1	-1	1	83,6	87,17
11	1	-1	1	-1	1	84,9	84,37
12	1	1	1	-1	1	94,6	91,75
13	1	-1	-1	1	1	76,8	80,84
14	1	1	-1	1	1	85,8	83,82
15	1	-1	1	1	1	82,0	81,97
16	1	1	1	1	1	87,0	86,60
17	1	-2	0	0	0	86,9	78,79
18	1	2	0	0	0	78,5	82,16
19	1	0	-2	0	0	94,5	84,24
20	1	0	2	0	0	82,0	87,81
21	1	0	0	-2	0	79,2	74,37
22	1	0	0	2	0	77,0	77,37
23	1	0	0	0	-2	86,0	83,36
24	1	0	0	0	2	94,0	92,19
25	1	0	0	0	0	86,3	84,7
26	1	0	0	0	0	86,0	84,7
27	1	0	0	0	0	86,7	84,7
28	1	0	0	0	0	86,4	84,7
29	1	0	0	0	0	86,5	84,7
30	1	0	0	0	0	86,3	84,7
31	1	0	0	0	0	86,5	84,7
32	1	0	0	0	0	86,4	84,7
33	1	0	0	0	0	86,7	84,7
34	1	0	0	0	0	86,5	84,7
35	1	0	0	0	0	86,6	84,7
36	1	0	0	0	0	86,3	84,7

Для нахождения коэффициентов уравнений ($b_0, b_1, b_2, b_3, b_4, b_{11}, b_{22}, b_{33}, b_{44}, b_{12}, b_{13}, b_{14}, b_{23}, b_{24}, b_{34}$) использовался метод наименьших квадратов:

$$b_j = (\sum_i x_{ij} Y_i) / N \quad (2)$$

Расчетные значения коэффициентов:

b_0	82,50	b_3	0,75	b_{13}	-0,69	b_{24}	0,54	b_{22}	3,03
b_1	0,84	b_4	-2,21	b_{14}	1,75	b_{34}	-2,19	b_{33}	2,50
b_2	0,89	b_{12}	0,41	b_{23}	-0,45	b_{11}	2,65	b_{44}	-6,47

Произведем оценку значимости указанных коэффициентов регрессии. Для этого используем нуль-гипотезу, т.е. гипотезу о равенстве $b_i = 0$.

Если она подтверждается, то коэффициент b_i следует признать статистически незначимым и отбросить из искомой модели; если гипотеза не подтверждается, то соответствующий коэффициент b_i следует признать значимым и включить в модель.

Проверку гипотезы проводим с помощью t – критерия Стьюдента, который при проверке нуль-гипотезы формируется в следующем виде:

$$t = \frac{|b_i|}{\sqrt{S_{b_i}^2}} = \frac{|b_i|}{\sqrt{S_y^2}} \quad (3)$$

где $S_{b_i}^2$ – дисперсия ошибки определения коэффициента b ; t – коэффициент Стьюдента.

Дисперсию ошибки определения коэффициента b находим по формуле:

$$S_{b_i}^2 = \frac{S_y^2}{N} \quad (4)$$

где S_y^2 – сумма квадратов отклонений экспериментально найденного отклика от среднеарифметического значения; N – общее число опытов ротатбельного центрального композиционного планирования (в нашем случае $N=36$).

Доверительный интервал равен:

$$\Delta b_i = \pm t S_{b_j} \quad (5)$$

Если величина коэффициента регрессии (по модулю) превышает значение Δb_i , то коэффициент является значимым, если не превы-

шает – коэффициент является незначимым, и мы его исключаем из уравнения регрессии.

Чтобы найти значение Δb_i для каждого уравнения регрессии зададимся доверительной вероятностью. Пример доверительной вероятности 95%.

Число степеней свободы определяем по формуле:

$$f = N(k-1), \quad (6)$$

где N – число серий параллельных опытов; k – число параллельных опытов.

В нашем случае число серий параллельных опытов составляет 12 (опыты с 25 по 36 в таблице 2), а число параллельных опытов в каждой серии – 3. Тогда $f = 24$.

Из таблицы распределения Стьюдента находим, что при доверительной вероятности 95% (0,95) и $f = 24$, $t = 2,064$.

Найдено, что незначимыми являются следующие коэффициенты: $b_1, b_2, b_3, b_{12}, b_{13}, b_{23}, b_{24}$. Статистическая незначимость указанных коэффициентов может быть обусловлена следующими причинами: 1) уровень базового режима близок к точке частного экстремума по переменной X_i или по произведению переменных; 2) шаг варьирования выбран слишком малым; 3) указанные переменные имеют слабую функциональную связь с выходным параметром Y .

Таким образом, после исключения незначимых коэффициентов, получаем следующее уравнение регрессии:

$$Y = 82,50 - 2,21x_4 + 1,75x_1x_4 - 2,19x_3x_4 + 1,65x_1^2 + 1,03x_2^2 + 2,50x_3^2 - 6,47x_4^2 \quad (7)$$

Поверхность отклика от переменных X_1 и X_4 приведена на рисунке 2 а. Значения X_2 и X_3 были зафиксированы в центре плана ($X_2 = 0$; $X_3 = 0$). Поверхность отклика от переменных X_3 и X_4 приведена на рисунке 2 б. Значения X_1 и X_2 были зафиксированы в центре плана ($X_1 = 0$; $X_2 = 0$). Поверхность отклика от пе-

ременных X_1 и X_2 приведена на рисунке 2 в. Значения X_3 и X_4 были зафиксированы в центре плана ($X_3 = 0$; $X_4 = 0$). Поверхность отклика от переменных X_2 и X_3 приведена на рисунке 2 г. Значения X_1 и X_4 были зафиксированы в центре плана ($X_1 = 0$; $X_4 = 0$).

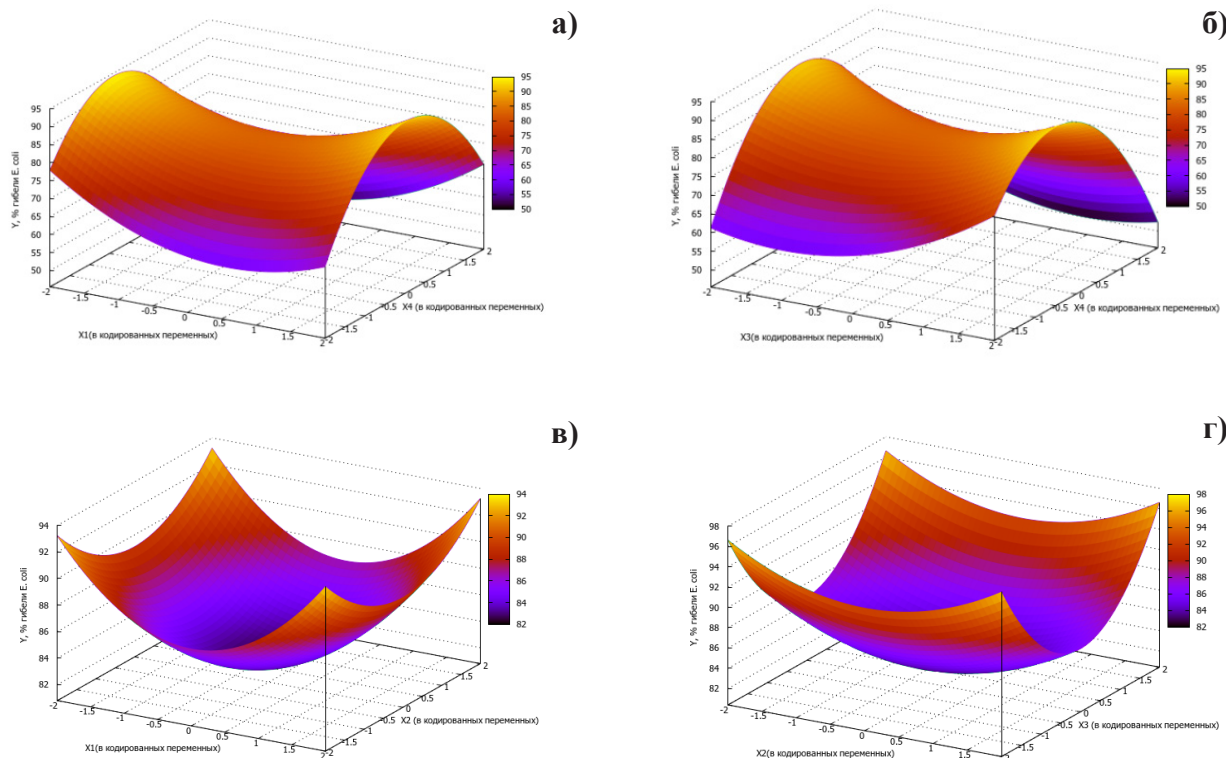


Рис. 2 – а) поверхность отклика (Y , % гибели $E. coli$) от изменения содержания дидециламмония хлорида (X_1 , %, в кодированных переменных) и дистиллированной воды (X_4 , %, в кодированных переменных); б) поверхность отклика (Y , % гибели $E. coli$) от изменения содержания глиоксаля (X_3 , %, в кодированных переменных) и дистиллированной воды (X_4 , %, в кодированных переменных); в) поверхность отклика (Y , % гибели $E. coli$) от изменения содержания дидециламмония хлорида (X_1 , %, в кодированных переменных) и глутарового альдегида (X_2 , %, в кодированных переменных); г) поверхность отклика (Y , % гибели $E. coli$) от изменения содержания глутарового альдегида (X_2 , %, в кодированных переменных) и глиоксаля (X_3 , %, в кодированных переменных)

Таким образом, наибольшее влияние на эффективность дезинфектанта оказывают парные взаимодействия компонентов, а не содержание компонентов по отдельности. Исключение составляет дистиллированная вода (X_4).

Для определения значений параметров переменных, обеспечивающих максимальное значение отклика (то есть максимальное значение % гибели $E. coli$) найден максимум функции с использованием программы Mathcad. Значения кодированных перемен-

ных затем были переведены в натуральные переменные. Максимальному значению Y соответствуют следующие значения концентраций компонентов (оптимальные значения):

- содержание дидециламмония хлорида – 9,8%;
- содержание глутарового альдегида – 9,7%;
- содержание глиоксаля – 7,7 %;
- содержание дистиллированной воды – 66,8%.

При соблюдении указанных условий гибель $E. coli$ составляет $98,1 \pm 1,6\%$ (найденно из

эксперимента). Теоретически рассчитанное значение (по уравнению) составило 95,4%. Отклонение экспериментально найденной величины от теоретической составило 2,75%, что свидетельствует об адекватности модели.

Для изучения эффективности вновь сконструированного ДС проведены испытания на различных видах антисептических и дезинфицирующих препаратов. Работа проводилась в соответствии с «Методическими указаниями по проведению лабораторных предрегистрационных испытаний средств дезинфекции, предстерилизационной очистки, стерилизации и антисептиков» (утверждены Приказом МЗ РК № 133 от 4 ноября 2008 г.).

Использованы тест-штаммы микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* № К-12, *Candida albicans* ATCC 10231, *B. cereus*, *Vibrio cholerae* O1 (75 М), *Yersinia pestis* EV, *Bacillus anthracis* Ценковского. Штаммы соответствуют требованиям, предъявляемым к тест-штаммам микроорганизмов, используемых при испытаниях эффективности дезинфицирующих средств. Штаммы культивировали на агаре и бульоне Хоттингера с рН -7,0±0,2 (рисунок 3).

В качестве интерферирующей субстанции использована 40% инактивиро-

ванная нормальная лошадиная сыворотка. Тест-объектами служили изделия медицинского назначения (резиновые, силиконовые, пластмассовые и металлические трубки, стекло, батистовые тесты, кафельная плитка – обработка поверхностей).

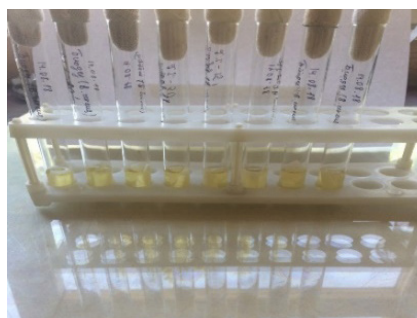
Для оценки эффективности средства при обеззараживании изделий медицинского назначения тест-объекты контаминировали взвесями тест-штаммов микроорганизмов, выращенными на агаре Хоттингера в течение 24 часов при оптимальной температуре, концентрацией 2×10^9 м.к. в 1 мл 0,9%-ного раствора натрия хлорида. Для получения споровой формы культуры штаммов *B. cereus* и *Bacillus anthracis* Ценковского инкубировали в течение 7 суток при 37°C. В работе использовалась культура, содержащая не менее 70% спор (определяли в мазке, окрашенном по Граму).

После контаминации поверхностей микроорганизмами объекты орошали растворами испытуемого ДС. По истечении времени для дезинфекции контаминированные тест-объекты полностью погружали в пробирки с питательными средами и помещали в термостат для инкубирования в оптимальных условиях. В качестве контролей

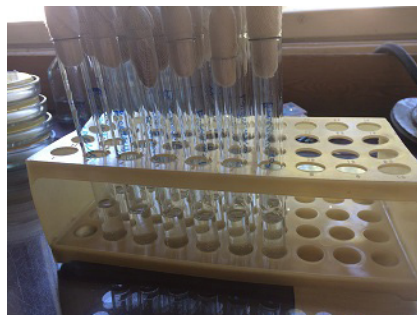
а) контаминация тест-объектов микробной взвесью



в) контаминация тест-объектов микробной взвесью



б) приготовление микробной взвеси

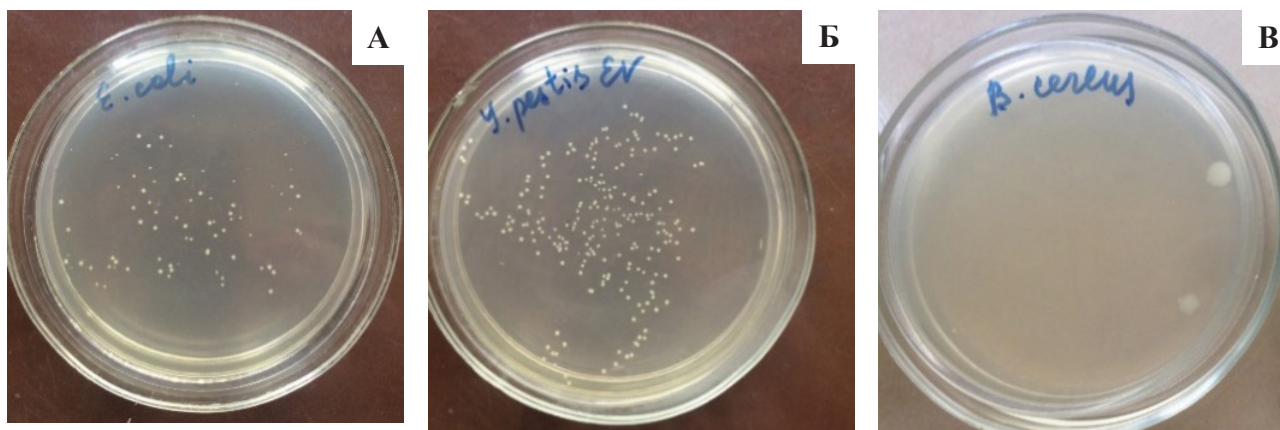


г) питательный бульон для контроля эффективности ДС

Рис. 3 – Тест-штаммы микроорганизмов

использовали тест-объекты, погруженные в стерильную водопроводную воду. Для моделирования органического загрязнения использовали дополнительную нагрузку проб 40% нормальной лошадиной сывороткой.

Результаты испытания бактерицидных, фунгицидных и спороцидных свойств ДС без белковой нагрузки идентичны результатам с белковой нагрузкой (рис.4).



А - Контроль колониеобразующих единиц (КОЕ) штамма *E. coli*

Б - Контроль КОЕ штамма *Y. pestis EV*

В - Контроль КОЕ штамма *B. cereus*

Рис. 4 – Контроль штаммов

Таблица 3 – Эффективность ДС в отношении *St. aureus*, *E. coli*

Концен-трация ДС, %	Длитель-ность кон-такта, мин	St. aureus ATCC 6538				E. coli			
		Резина силиконо-вая	Стек-ло	Металл	ИМН/белье	Резина силиконо-вая	Стекло	Металл	ИМН/белье
0,25	60	0	0	0	0/0	0	0	0	0/0
0,5	30	0	0	0	0/*	0	0	0	0/*
	60	0	0	0	0/*	0	0	0	0/*
1	15	*	0	0	*/0	*	0	0	*/0
	30	0	0	0	0/*	0	0	0	0/*
Контроль культуры, КОЕ в 1 мл		6,3×108				4,2×108			
Примечание – * Режим не предусмотрен									

Результаты испытания эффективности свойств ДС представлены в таблицах 3-6.

В таблице 3 представлены результаты испытаний эффективности ДС по отношению к вегетативным формам микроорганизмов III-IV групп патогенности (возбудители внутрибольничных инфекций). Концентрации дезинфицирующего средства и временные экспозиции, указанные в таблице обеспечивают

обеззараживание объектов, контаминированных вегетативными формами микроорганизмов III-IV групп патогенности.

Эффективность дезинфицирующего средства в отношении особо опасных инфекций изучали на штаммах *Y. pestis EV*, *V. cholerae* 01 75-M. Результаты приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Эффективность ДС в отношении *Y. pestis* EV, *V. cholerae* OI 75-M

Концен-трация ДС, %	Длитель-ность кон-такта, мин	Y. pestis EV				V. cholerae OI 75-M			
		Резина сили-ко-новая	Стекло	Металл	ИМН/белье	Резина сили-ко-новая	Стек-ло	Ме-талл	ИМН/белье
2	60	0	0	0	*	0	0	0	*
Контроль культуры, КОЕ в 1 мл		6,7 ×108				1,0×109			
Примечание – * Режим не предусмотрен									

Таблица 5 – Эффективность ДС в отношении *C. albicans* ATCC 10231

Концентрация ДС, %	Длительность контакта, мин	C. albicans ATCC 10231				
		Поверхности	Стекло	Пластмассы	Металл	ИМН/Белье
0,5	15	0	0	0	0	*
Контроль культуры, КОЕ в 1 мл		6,3×108				
Примечание – * Режим не предусмотрен						

Таким образом, обеззараживание 2% концентрацией ДС в течение не менее 60 минут обеспечивает дезинфекцию объектов, контактированных особо опасными патогенами, не образующими споры.

Представленные в таблице 6 результаты испытаний эффективности свидетельствуют о фунгицидном действии ДС в отношении тест-штамма *C. albicans* ATCC 10231.

Результаты, представленные в таблице 6, свидетельствуют об эффективности растворов при работе со споровыми микроорганизмами II-IV групп патогенности. Стабильность

эффективности бактерицидного, спороцидного и фунгицидного действий ДС определяли в течение 5 суток.

Изделия медицинского назначения (шприцы, пробирки, чашки Петри, пипетки, скальпели, пинцеты, использованные для вскрытия 3 белых мышей) исследовали после дезинфекции 2% раствором в течение 30 мин. Замачивание изделий в дезинфицирующем растворе проводили при полном их погружении так, чтобы толщина слоя средства над инструментами была не менее 1 см. Полости изделий заполняли с помощью вспомога-

Таблица 6 – Эффективность ДС в отношении *B. cereus*, *B. anthracis* Ценковского

Концентрация ДС, %	Длительность контакта, мин	<i>B. anthracis</i> Ценковского				<i>B. cereus</i>			
		Резина силиконовая	Стекло	Металл	Пластмассы	Резина силиконовая	Стекло	Металл	Пластмассы
4	360	0	0	0	0	0	0	0	0
Контроль культуры, КОЕ в 1 мл		6,5 × 10 ⁷				8,7 × 10 ⁷			

ных средств, удаляя при этом пузырьки воздуха. По окончании заявленного времени каждое изделие промывали тампонами, ершами в этом же растворе и ополаскивали под проточной водой в течение 1-3 минут, а затем ополаскивали в емкости с дистиллированной водой в течение 1 минуты. Проводили контроль предстерилизационной очистки рабочим раствором реактива «Азопирам». В шприцы наливали 1 мл рабочего раствора «Азопирам» и через иглу пропускали на марлевую салфетку. Наблюдали за изменением цвета реактива «Азопирам» в течение 1 мин. С прошедшими предстерилизационную очистку изделиями изменение цвета раствора не наступило.

Таким образом, результаты представленных испытаний подтверждают эффективность нового ДС при предстерилизационной очистке инструментов медицинского назначения.

Одним из важных показателей ДС является его токсичность для лабораторных животных. «Токсичность» – это величина, которая показывает, насколько то или иное соединение опасно для здоровья и жизни млекопитающих и теплокровных существ. Также можно сказать, что токсичность – это спо-

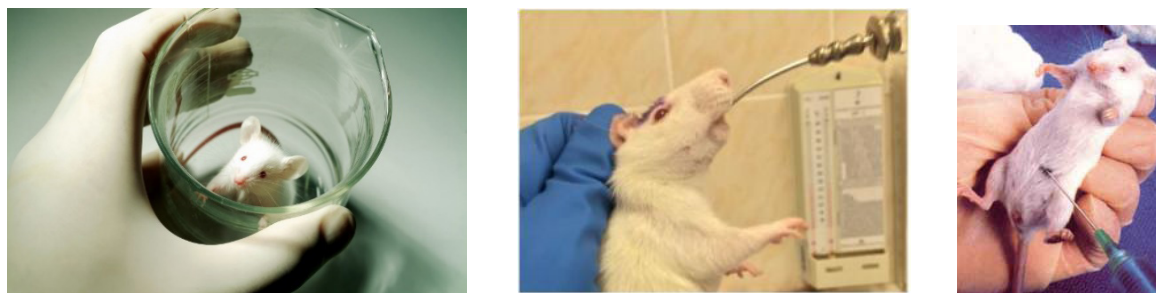
собность того или иного соединения вызывать необратимые изменения в состоянии здоровья людей, животных или растений. Вычисляется данный показатель как обратное значение средней смертельной дозы того или иного агента. Существуют следующие классы токсичности.

Токсичность вновь сконструированного ДС на основе альдегидов, аминов, хлорсодержащих веществ оценивали путем определения средне-смертельной дозы (LD_{50}) при введении в желудок и нанесении на кожу для четырех рабочих доз (методика по Tainter) – 1000 мг/кг, 2000 мг/кг, 3000 мг/кг и 4000 мг/кг.

Исследования проводили в опытах на здоровых белых мышах массой 18-22 г. Подопытных животных брали одной линии, вида, возраста, обоего пола, одинаковых весовых характеристик, SPF (свободные от патогенной флоры) - категории методом случайной выборки, по 6 белых мышей на каждую дозу. В желудок препарат вводили зондом по 0,5 мл; на кожную поверхность спинки животных аппликации препарата наносили на предварительно выстриженный участок 2×2 см на 4 часа из расчета 20 мг/см².

Таблица 7 – Токсикологические показатели дезинфицирующих средств

Наименование показателя	Модельная среда	Обнаруженная концентрация	Допустимая концентрация	НД на методы исследований
Токсикологические:				
- средняя смертельная доза (LD_{50}) при введении в желудок - класс опасности	Водный раствор	2000 мг/кг 3 класс (умеренно опасные вещества)	151-5000 мг/кг 3 класс (умеренно опасные вещества)	Межгосударственный стандарт ГОСТ 12.1.007-76
- средняя смертельная доза (LD_{50}) при нанесении на кожу - класс опасности	Водный раствор	>2500 мг/м 4 класс (малоопасные вещества)	>2500 мг/м 4 класс (малоопасные вещества)	Межгосударственный стандарт ГОСТ 12.1.007-76



А) взвешивание белой мыши
Б) определение воздействия ДС путем введения в желудок
В) определение воздействия ДС путем нанесения на кожу

Рис. 8 – Определение токсичности ДС

Срок наблюдения за животными после острого воздействия составил 14 дней (рис. 8). Во время опыта тщательно следили за проявлением симптомов интоксикации: клинические симптомы и общее состояние животных (вес, аппетит, температура тела, поведение животных).

Согласно полученных результатов, средство по степени воздействия на организм относится к 3 классу умеренно опасных веществ при введении в желудок и 4 классу малоопасных веществ при нанесении на кожу по Межгосударственному стандарту ГОСТ 12.1.007-76. Средство оказывает выраженное местно-раздражающее действие, вызывает умеренное раздражение кожи и слизистых оболочек глаз, обладает умеренными sensibilizing свойствами.

Проведенные лабораторные испытания эффективности и токсичности вновь созданного ДС на основе альдегидов, аминов, хлорсодержащих веществ свидетельствуют о том, что оно может использоваться для проведе-

ния текущей и заключительной дезинфекции в лечебно-профилактических, детских и коммунальных учреждениях, предприятиях общественного питания, для дезинфекции изделий медицинского назначения, лабораторной посуды.

Таким образом, методом ротатбельного центрального композиционного планирования эксперимента изучено влияние концентрации активных компонентов на эффективность дезинфицирующего средства и определен оптимальный состав ДС на основе альдегидов, аминов, хлорсодержащих веществ (диэциламмоний хлорид - 9,8%; глутаровый альдегид - 9,7%; глиоксаль - 7,7%; дистиллированная вода - 66,8%). Выявлено, что наибольшее влияние на эффективность дезинфектанта оказывают парные взаимодействия компонентов, а не содержание компонентов по отдельности. Отклонение экспериментально найденной величины от теоретической составило 2,75%, что свидетельствует об адекватности модели.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гельфанд Б.Р. Кандидозная инфекция в хирургии и интенсивной терапии // Клинич. ант ибиотикотерапия. – 2002. – № 2 (16). – С. 23-30.
2. Junpeng Zhangac,Weiying Li,Jiping Chenc,Feng Wangbc,Wanqi Qic,Yue Li // Environmental Pollution ,v. 246, March 2019, pp.131-140
3. Günter Kampf // Infection Prevention in Practice, 12 February 2020, s.100044
4. Yu Shi, Ning Yang,Li Zhang,Ming Zhang,Hong-Hong Pei, Hai Wang // American Journal of Infection Control,v. 47, Issue 10, October 2019,pp 1255-1262

5. Dong U ,Park Seung,Hun Ryua Heung,Kyu Lim Sun,Kyung Kim Ye-Yong ,Choi Jong,Ju Ahn Eun, Leed Sang,Bum Hong Kyung,Hyun Do Jae-lim // Science of The Total Environment , v. 596–597, 15 October 2017, pp.53-60
6. Weiying Li,Junpeng Zhang,Feng Wang,Lin Qian,Yanyan Zhou,Wanqi Qi,Jiping Chen // Chemosphere ,v. 202, July 2018, pp.586-597
7. Claudia Cortesiaa, Teresita Bello, Gustavo Lopez, Scott Franzblau ,Jacobus de Waard, Howard Takiffa // Brazilian Journal of Microbiology ,v. 48, Issue 1, January–March 2017, pp.151-158
8. Yingying Hong, Peter J.Teska , Haley F.Oliver // American Journal of Infection Control,v. 45, Issue 11, 1 November 2017, pp.1284-1285
9. Maryline Girard, Kirsten Mattison, Ismail Fliss, Julie Jean // International Journal of Food Microbiology,v.219, 16 February 2016, pp.7-11.