

УДК 615.478.73 :546.214

УСТАНОВКА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ИНАКТИВИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ОЗОНОВОЗДУШНЫХ СРЕД НА МИКРООРГАНИЗМЫ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К РАЗРАБОТКЕ ОЗОНОВЫХ СТЕРИЛИЗАТОРОВ

© 1995г. Е.П. Бельков, А.А. Варгаузин, В.Г. Коновалов, В.И. Лагойко,
П.С. Григорьев, Г.Л. Спичкин, Е.К. Чистов, В.Н. Шелегедин

Государственный технический университет, Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 14.09.94

Разработан макет высокоэффективной стерелизующей установки, создающей озоноздушные потоки. Проведены исследования инактивирующего действия озона на микроорганизмы. Результаты исследований показывают устойчивый стерилизующий эффект, в том числе на спорах микроорганизмов, удовлетворяющий всем требованиям ОСТ 42-21-85.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема разработки универсальных, достаточно дешевых и сравнительно безопасных стерилизаторов является весьма актуальной. Все существующие в настоящее время способы стерилизации инструментов и материалов обладают теми или иными недостатками. Например, обработка влажным паром при повышенном давлении (автокламирование) и сухая термическая стерилизация непригодны для нетермостойких образцов. Щадящий и эффективный метод газовой стерилизации, например окисью этилена, по причине высокой токсичности и взрывоопасности требует дорогостоящего оборудования и квалифицированного обслуживающего персонала. По сходным причинам ограниченное применение имеет и ионизирующее излучение.

Весьма перспективным методом стерилизации по сравнению с перечисленными является озонирование инструментов и материалов. Обработка озоном воды и пищевых продуктов с целью из обеззараживания уже неплохо зарекомендовала себя на практике [1 - 3]. Озоноздушная среда не взрывоопасна, быстро теряет токсичные свойства без применения специальных методов и не приводит к существенной деструкции материалы, широко используемые в медицине и ла-

бораторной практике. Современная техника позволяет создавать достаточную для стерилизации высокую концентрацию озона в герметичных камерах практически любого объема.

В настоящей работе представлено краткое описание установки для создания озоноздушных потоков и проведено исследование инактивирующего действия озона на микроорганизмы. Исследования показали высокую эффективность стерилизации выбранных объектов в установке, которая может служить прообразом озонных стерилизаторов.

1 ОПИСАНИЕ УСТАНОВКИ

Блок-схема установки для исследования инактивирующего действия озона на микроорганизмы представлена на рис.1. Основными элементами установки являются герметичная камера СК, в которую помещались загрязненные микрофлорой объекты, генератор газоразрядной плазмы – источник озона, состоящий из газоразрядного реактора ГР и источника его электропитания ИЗ, формирователь воздушного потока ФВП и измеритель концентрации озона в озоноздушном потоке ИКО.

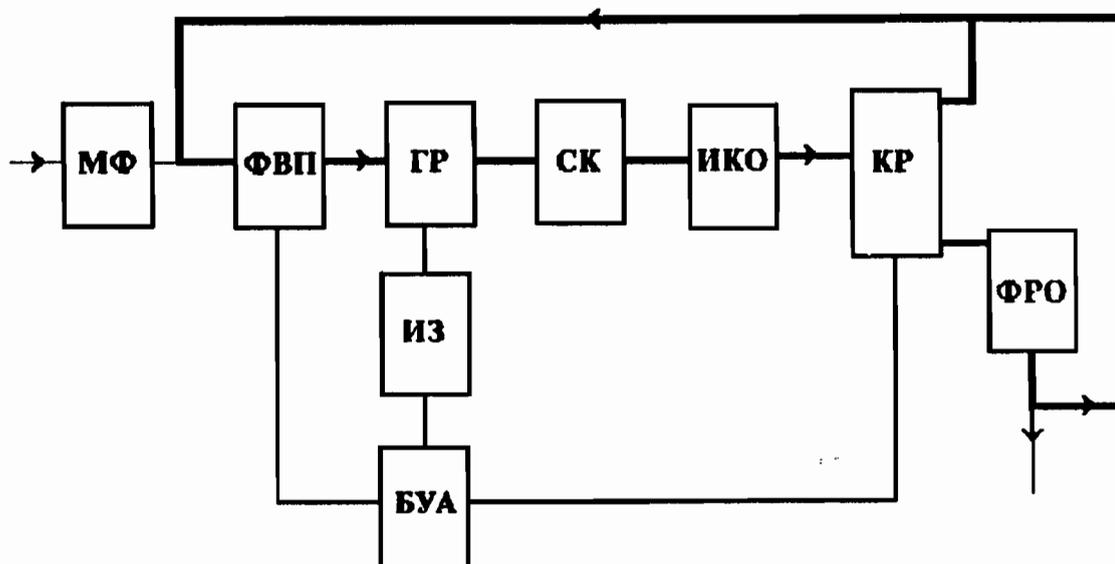


Рис.1. Блок-схема установки для исследования инактивирующего действия озона на микроорганизмы. Пояснение в тексте.

Установка работает следующим образом. От тиристорного источника электропитания на электроды газоразрядного реактора подаются знакопеременные импульсы напряжения с амплитудой 8–10 кВ длительностью порядка 10^{-5} с, следующие с частотой повторения 3 кГц (блок управления и автоматики БУА). Это приводит к зажиганию разряда в зазорах между стеклянными барьерами, покрываемыми металлическими электродами газоразрядного реактора, и к электросинтезу озона, который с воздушным потоком поступает в стерилизационную камеру. Конструкция камеры обеспечивает равномерное распределение озонозудного потока с температурой 25–30°С во всем ее активном объеме.

Формирователь воздушного потока обеспечивает заполнение стерилизационной камеры объемом 6 л озонозудной средой по двум вариантам. В варианте I озонозудная смесь прокачивается по замкнутому контуру. Клапан-распределитель КР в период работы источника газоразрядной плазмы направляет озонозудный поток после выхода из стерилизационной камеры и измерителя концентрации озона на вход формирователя воздушного потока. После окончания стерилизационного цикла генератор газоразрядной плазмы отключается, и клапан-распределитель направляет озонозудный поток через фильтр разложения озона.

В варианте II контур прокачки газа разомкнут. Формирователь воздушного потока забирает воздух из атмосферы и прокачивает его по тракту через газоразрядный реактор, стерилизационную камеру, измеритель концентрации озона, а затем через фильтр разложения озона ФРО выбрасывает его в атмосферу. В этом случае для снижения вероятности попадания из атмосферы микробиологических и органических загрязнителей перед формирователем воздушного потока устанавливался микробиологический фильтр МФ.

В первом варианте энергопотребление генератора газоразрядной плазмы – до 20 Вт, объемный расход воздуха – до 20 л/мин, во втором варианте – до 60 Вт и до 4,5 л/мин, соответственно.

Для определения концентрации озона в озонозудном потоке и в зоне работы обслуживающего установку персонала использовались озонметры разработки Лаборатории экологического контроля "ЛЭК" модели "Циклон-А4" и "АНКАТ 7601". Зависимости изменения концентрации озона на выходе из стерилизационной камеры от времени работы установки приведены на рис.2. Максимальная концентрация озона в озонозудном потоке – 12 г/м³.

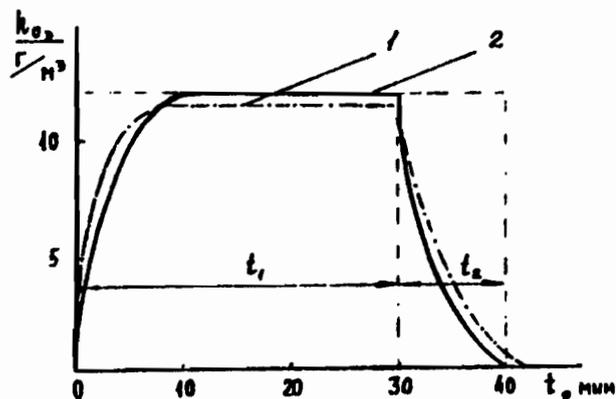


Рис. 2. Зависимость концентрации озона в озонозооушном потоке на выходе из стерилизационной камеры от времени при работе установки на разомкнутом цикле (1) и на замкнутом цикле (2).

t_1 — время работы генератора газоразрядной плазмы, t_2 — время разложения остаточного озона на фильтре.

2 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для испытания способности инактивировать бактерии, споры бактерий и грибов, а также вирусов бактерий (бактериофагов) были выбраны следующие биологические объекты:

- бактерии *Escherichia coli* K-12,
- споры бактерий *Bacillus subtilis* ВД 170,
- споры гриба *Aspergillus awamori*,
- бактериофаг Λ .

Выбор объектов исследования обусловлен несколькими соображениями. Наибольшую опасность спонтанного заражения сред и инструментов представляют спорообразующие микроорганизмы. Споры, как известно, сохраняют жизнеспособность при высоких температурах в широких диапазонах показателя кислотности среды (рН), выдерживают аномально высокие дозы радиации. Поэтому эффективность обеззараживания растворов и инструментов в технике стерилизации определяют, прежде всего, по выживаемости спор после воздействия того или иного стерилизующего фактора. Среди выбранных объектов имеются два вида спорообразующих микроорганизмов — бактерии *Bacillus subtilis* и грибы *Aspergillus awamori*.

Способность инактивировать вирусы в озонозооушном потоке была исследована на модели бактериофага Λ (вируса бактерий). Бактерии *E. coli* — факультативно анаэробные палочки широко используются в практике для биотестирования при решении различных задач. Отметим, что коли-индекс применяется санитарной службой для оценки степени микробного заражения водоемов. Обработка озонем перечисленных тест-объектов проводилась как в суспензиях, так и в подсушенном виде. Обработке озонем подвергались также стандартные инструменты (скальпели, пинцеты, зажимы Кохера), зараженные указанными бактериями, спорами бактерий, бактериофагами. Число жизнеспособных тест-объектов на поверхности инструментов в контрольных образцах было не менее 10^4 .

Озонирование суспензий осуществлялось в стандартных пластиковых чашках Петри диаметром 40 мм в объеме, равном 1 см^3 , т.е. высота жидкого слоя суспензии не превышала 1 мм. Подсушивание образцов производилось до влажности окружающей среды под вентилятором на тефлоновой подложке. В экспериментах было использовано два вида суспензий тест-объектов: в физиологическом растворе и в 10%-ном растворе стандартной ростовой среды. В качестве ростовой богатой среды использовался аминокептид.

Перед обработкой в озонозооушных потоках рабочие поверхности инструментов помещались в концентрированные суспензии выбранных биологических объектов на 5 мин. Контрольные и обработанные озонем образцы инструментов анализировались двумя способами. В первом случае рабочие поверхности смывались стерильным физиологическим раствором фиксированного объема, во втором — рабочие поверхности, зараженные тест-объектом, помещали на поверхность агаризованной питательной среды в чашках Петри диаметром 90 мм.

Контрольные и обработанные озонем подсушенные образцы вместе с подложкой, предварительно стерилизованной ультрафиолетовым излучением, помещались в физиологический раствор фиксированного объема и биологические загрязнения смывались на качалке в пробирках или на перемешивающем устройстве типа Vortex. Контрольные и обработанные озонем образцы тестировали на наличие жизнеспособной микрофлоры стандартными методами биологического тестирования на чашках Петри с богатой агаризованной средой на основе аминокептида.

Результаты исследования влияния озонородушных потоков на микроорганизмы

Тест-объект	Условия обработки*	Исходная концентр. в контроле, см ⁻³	Время полной инактивации, мин. ±2	Примечания
Aspergillus awamori (споры)	1	10 ⁶	35	В суспензии присут. 0,05% раств. Twin
	2	—	—	
	3	10 ⁴	40	
Escherichia coli	1	10 ⁸	10	Использ. культ. клеток в стац. фазе роста
	2	10 ⁸	15	
	3	10 ⁶	20	
Bacillus subtilis	1	10 ⁶	20	—
	2	10 ⁶	20	
	3	10 ⁵	25	
Бактеритофаг А	1	10 ⁵	10	Суспензия приг. из неочищ. лизата
	2	10 ⁵	10	
	3	10 ⁶	20	

* 1 – физиологический раствор, 2 – 10%-ный раствор аминокептида, 3 – подсушивание (до влажности окружающей среды)

Поступающий в стерилизационную камеру озон может вступать во взаимодействие с составляющими воздух газами, в особенности с азотом, давая окислы, поэтому суспензионные образцы подвергались анализу на изменение величины рН. Измерение рН проводилось с помощью рН-метра фирмы Orion research. Для того, чтобы учесть опосредствованное влияние среды, обработанной озоном, на тест-объекты, их выживаемость проверялась после 30- минутного выдерживания в обработанной озоном среде с последующим биологическим титрованием. Результаты проведенной работы представлены в таблице. Обработка озоном загрязненных инструментов в течение 10–40 мин полностью инактивировала все без исключения тест-объекты. В результате испытаний выяснилось, что обработка физиологического раствора в объеме 1 см³ в течение 10 мин сдвигает величину его рН на 3 единицы в кислую область. При более длительном озонировании (до 45 мин) дальнейшего изменения рН не наблюдалось.

Результаты испытаний показали, что на данной установке можно проводить эффективную стерилизацию водных растворов, учитывая изменение рН среды, поверхностей различных материалов. Воздействию озона подвергались тефлон, полистирол, бумага, стекло, нержавеющая сталь, полиэтилен. Заметных изменений их свойств при этом не

наблюдалось.

Из анализа проведенных экспериментов можно с уверенностью заключить, что незначительное увеличение времени обработки всех без исключения выбранных объектов исследования при любых условиях позволит превзойти нормативы по стерилизации. Так, для трех тест-объектов (кроме спор гриба *Aspergillus awamori*) падение жизнеспособности микрофлоры на пять порядков достигается уже в 10-минутном интервале времени, когда еще не достигнута максимальная концентрация озона в стерилизационной камере (см. рис.2). Сравнительно невелики и времена обработки грибных спор, которые, как известно, обладают чрезвычайно высокой устойчивостью к любым физико-химическим воздействиям. Опосредованное влияние обработанной озоном среды на выживаемость выбранных тест-объектов не обнаружено.

ВЫВОДЫ

- 1) Результаты испытаний показывают, что использование озонородушных потоков позволяет получать стерилизующий эффект, удовлетворяющий самым жестким требованиям ОСТ 42-21-85 [4].
- 2) Установки с использованием в качестве стерилизующего средства озонородуш-

ных потоков могут быть рекомендованы там, где требуется надежная экспресс-стерилизация медицинского инструментария.

- 3) Учитывая безопасность, простоту обслуживания и чрезвычайно низкое энергопотребление озоновоздушных установок, можно сделать вывод о перспективности разработки на их основе промышленно выпускаемых озоновых стерилизаторов предметов и материалов медицинского назначения.

ции и дератации // Сборник трудов научной конференции, посвященной 90-летию проф. В.И.Вашкова. С.71-74.

2. *Колодязная В.С. и др.* Холодильная обработка и хранение пищевых продуктов // Сборник научных трудов., Вып.2. 1974. С.40-47.
3. *Руденко С.Г. и др.* Тезисы докладов Всесоюзного семинара "Проблемы очистки природных вод". - г.Горький. 1989.
4. *ОСТ 42-21-85.* Дезинфекция, предстерилизационная очистка и стерилизация изделий медицинского назначения: Методы, средства и режимы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Юзбашев В.Г. и др.* Актуальные проблемы дезинфекции, стерилизации, дезинсек-