



**NORGE**

**[NO]**

**STYRET  
FOR DET INDUSTRIELLE  
RETTSVERN**

**[B] (11) UTELEGNINGSSKRIFT Nr. 137628**

(51) Int. Cl.<sup>2</sup> A 61 L 13/00

(21) Patensøknad nr. 2421/72

(22) Inngitt 05.07.72

(23) Løpedag 05.07.72

(41) Alment tilgjengelig fra 18.10.73

(44) Søknaden utlagt, utlegningskrift utgitt 19.12.77

(30) Prioritet begjært 17.04.72, USA, nr. 244856

(54) Oppfinnelsens benevnelse Klordioksydholdig steriliseringsmiddel i form av en vandig løsning.

(71)(73) Søker/Patenthaver PETTIBONE LABORATORIES, INC.,  
518 Fifth Avenue,  
New York, NY,  
USA.

(72) Oppfinner MARTIN SNYDER,  
Elizabeth, NJ,  
USA.

(74) Fullmektig Cand. mag. Johan H. Gørbitz,  
Bryn & Aarflot A/S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner Dansk utl. skrift nr. 121584 (A 01 N 9/02)  
US patent nr. 3278447 (252-187), 3280137 (260-301)

Oppfinnelsen angår et steriliseringsmiddel som er spesielt egnet for sterilisering av hårde overflater og oppnåelse av sanitære forhold uten bruk av varme, idet steriliseringsmidlet er effektivt i kald oppløsning, særlig mot sporer.

Det er kjent en rekke fremgangsmåter til renhold og sterilisering i sykehus, operasjonsrom o.l. For sterilisering er det nødvendig at steriliseringsmidlet kan drepe sporer så vel som bakterier. Et kjent middel mot sporer er f.eks. en oppløsning av glutaraldehyd, som må aktiveres umiddelbart før bruk og har en anbefalt lagringstid etter aktivering på bare 2 uker. Ved anvendelsen av dette middel behøves imidlertid 10 timer for å drepe sporer.

Det er også kjent, eksempelvis, at klordioksyd kan brukes, enten alene eller i kombinasjon med andre stoffer, særlig slike som virker som stabiliseringsmidler for klordioksyd i oppløsning. Det amerikanske patent nr. 3 082 146 beskriver bruken av stabilisert klordioksyd for behandling av vann. Klordioksyd-oppløsningene er velkjente for sine fremragende baktericide, fungicide og smak- og lukt-hemmende egenskaper. Klordioksyd er kjent som middel mot slimvekster og alger i melke- og oste-industrien, kjøtt- og fjærkre-industrien, og til behandling av industrielt avfall og avløpsvann og brukes i papirfabrikker, svømmebassenger o.l. En vesentlig fordel med dette middel er at det ikke er giftig og at det med tiden forsvinner uten å etterlate skadelige biprodukter.

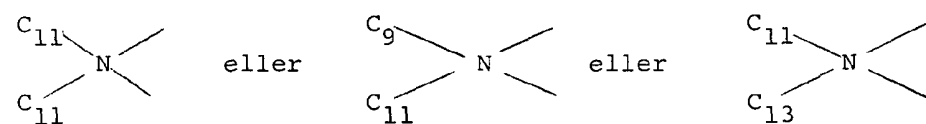
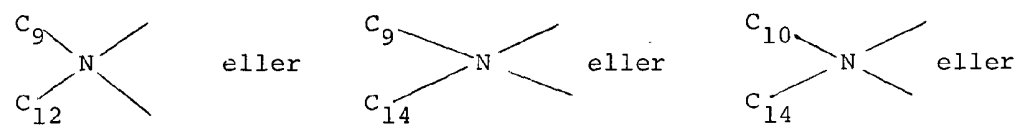
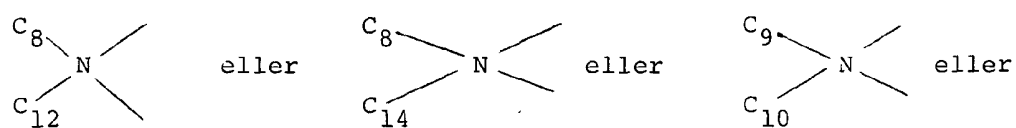
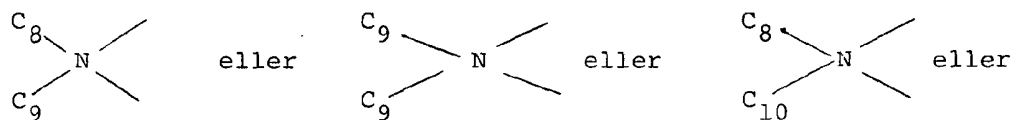
Kloridioksyd alene i vandig løsning er imidlertid blitt vist å ha relativt liten virkning som koldsteriliseringsmiddel, fordi det ikke er effektivt mot sporer, og dette gjelder også når det tilsettes stabiliseringsmidler så som natriumkarbonat, peroksyder og klorider, og også når det tilsettes forskjellige

stoffer for regulering av pH i de vandige løsninger av klordioksyd til den alkaliske side. Mens tilsetning av KCl eller andre klorider øker effektiviteten av stabilisert klordioksyd, som angitt i US-patent nr. 3 585 147, dreper denne blanding dog ikke sporer.

I henhold til oppfinnelsen er det nå blitt vist at visse kvaternære ammoniumsalter sammen med klordioksyd oppviser en synergisk virkning ved bruk i vandig løsning for sanitære formål og som steriliseringsmiddel. Oppfinnelsen angår således et klordioksydholdig steriliseringsmiddel i form av en vandig løsning, til hvilken det eventuelt også er tilsatt stabiliseringsmiddel og/eller emulgeringsmiddel, og steriliseringsmidlet ifølge oppfinnelsen er karakterisert ved at den virksomme bestanddel i midlet består av klordioksyd og et kvaternært ammoniumsalt med den generiske formel  $R'R''(CH_3)_2NX$  i hvilken R' og R'' er alkyllradikaler som hvert har minst 8 karbonatomer, og hvor det samlede antall karbonatomer i R' og R'' er 16-24, og X er et halogen. Det samlede antall karbonatomer i R' og R'' er fortrinnsvis 20-22.

Alkyllradikalene R' og R'' er fortrinnsvis, men ikke nødvendigvis symmetriske. Halogenet er fortrinnsvis klor eller brom. Det kvaternære salt behøver ikke være en ren forbindelse, dvs. at R' og R'' kan være en blanding av forskjellige alkyllradikaler, dog skal hver alkylgruppe inneholde minst 8 karbonatomer.


Det foretrekkes at alkylgruppene er de samme, dvs. at forbindelsen er symmetrisk med hensyn til alkylgruppene, men denne symmetri er ikke nødvendig for effektiviteten av det overflateaktive middel som brukes sammen med klordioksyd. Særlig foretrekkes forbindelser i hvilke R' og R'' er radikaler med ufgrenet kjede og med 11-12 karbonatomer. Typiske kvaternære salter som er blitt funnet meget effektive for oppfinnelsens formål, er dioktyl-dimetylammoniumklorid, oktyl-dodecyldimetyl-ammoniumklorid, di-decyl-dimetyl-ammoniumklorid, di-dodecyl-dimetyl-ammoniumklorid, og lignende. Det er mulig å bruke hvilken som helst kombinasjon av C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>-alkyllradikaler som gir et antall karbonatomer i de to radikaler på tilsammen 16-24. Slike kombinasjoner innbefatter



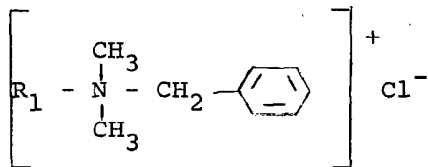
Kvaternære salter som er ineffektive og hvis kjemiske struktur ikke er i overensstemmelse med den skjelettkonfigurasjon

som er blitt funnet å være nødvendig og som er beskrevet ovenfor, innbefatter n-alkyl (50% C<sub>14</sub>, 40% C<sub>12</sub>, 10% C<sub>16</sub>)-dimetylbenzyl-ammoniumklorid, cetyltrimetyl-ammoniumbromid, heksadecyldimetylbenzyl-ammoniumklorid, laurinsyreester av kolaminoformylmetylpyridiniumklorid og alkyl (C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub>, C<sub>16</sub>, C<sub>18</sub>) dimetylbenzyl-ammoniumklorider.

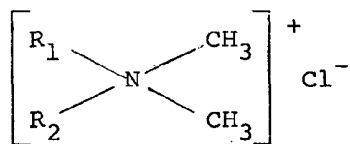
Den struktur som gir den nødvendige virkning når forbindelsene brukes sammen med klordioksyd, vil således sees å være meget spesifikk og selektiv, og disse kvaternære forbindelser lar seg ikke på forhånd utpeke som en gruppe med disse egenskaper. De hovedsystemer som ble utprøvet var:

1. En dialkyl-kvaternær struktur som ikke inneholder en benzen-ring  mellom nitrogenatomet og kloratomet.

(a) Eksempel på en forbindelse med uforgrenet kjede

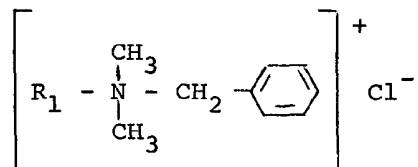


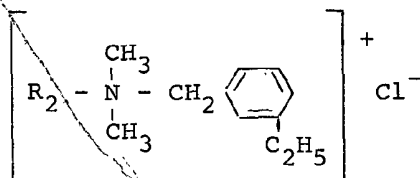
(b) Eksempel på en di-alkyl-forbindelse



2. Og en kvaternær forbindelse med uforgrenet kjede (se eksempel (a)).

3. Vi forsøkte også en kombinasjon av to kvaternære forbindelser med uforgrenet kjede, et alkyldimetylbenzyl-ammoniumklorid og alkyldimetyletylbenzyl-ammoniumklorid:





Alle de ovenfor nevnte forbindelser ble i blanding med klordioksyd prøvet mot sporer, men bare dialkyl-forbindelsene (se eksempel (b) ovenfor) viste seg å være fullt tilfredsstillende.

Ved fremstilling av steriliseringsmidlene kan klordioksyd brukes enten i ren form eller som et stabilisert klordioksyd-kompleks og i vandige eller ikke-vandige oppløsninger eller suspensjoner i konsentrasjoner på 0,1 - 6,0%. Man foretrekker imidlertid å bruke det rene klordioksyd eller en vandig oppløsning derav med konsentrasjon på 0,8 - 3,8%. Det er blitt funnet generelt nødvendig å bruke ett eller flere emulgeringsmidler i små, men effektive mengder i blandingene ifølge oppfinnelsen. De emulgeringsmidler som er blitt funnet særlig anvendelige, er generelt lineære forbindelser som er etoksylater av primære alkoholer med 12 mol etylenoksyd og hvor den primære alkohol inneholder 12-15 karbonatomer. Optimalt inneholder den primære alkohol 5-12 mol etylenoksyd, men 3-15 mol kan brukes. Disse forbindelser er ikke-ioniske, og denne generelle gruppe av forbindelser innbefattende slike ikke-ioniske forbindelser som alkylfenol-etoksylater kan også godt brukes. Stabiliseringsmidler brukes også med fordel i blandingene i små, men effektive mengder. Andre stoffer, hvorav noen faktisk i seg selv har hygienisk virkning, kan tilsettes. Eksempelvis synes natriumklorid og kaliumklorid å forhøye den hygieniske virkning av blandingene. Det må selvsagt forlanges at tilsetningsstoffene ikke er giftige og ikke reagerer med eller skader steriliseringsmidlene. Sure stoffer kan ikke tilsettes, da de virker til å drive ut gassformig klordioksyd fra blandingen.

Anvendelsene for disse nylig oppdagede blandinger av klordioksyd og visse kvaternære forbindelser er blitt funnet å være både uventet og tallrike. En av de viktigste og høyst effektive anvendelser er bruken av stoffene som såkalte "kryoklav"-midler eller anvendelsen til sterilisering av hårde overflater, f.eks. i hospitaler, kjøkken, oppholdsrom for barn, klinikker for dyr etc. Midlene kan i form av oppløsninger også brukes til kald sterilisering, eksempelvis sterilisering av medisinske instrumenter, tannlege-instrumenter, dialyseapparater og annet utstyr som brukes inne i den

137628

6

menneskelige kropp.

Blandingen ifølge oppfinnelsen kan også effektivt brukes i papirindustrien, ved industriell vasking av flasker og glass, i såper for kirurger, i operasjonsrom, i dyrehospitaler etc.

Produktene kan også brukes for alle anvendelser i hvilke sterilisering med kald oppløsning er kjent å være effektiv. Produktet er mer effektivt enn de kjente midler som er i bruk. Det beste og sannsynligvis det eneste steriliseringsmiddel i oppløsning som er på markedet:

1. Trenger 10 timer for å drepe sporer
2. Aktivator må brukes
3. Har en lagringstid på bare 14 dager etter aktivering
4. Koster ca. 14,80 kr./l og fortynnes ikke før bruk.

Vårt produkt:

1. Dreper sporer på 15-30 minutter
2. Aktivator er ikke nødvendig
3. Kan lagres i ca. 1 år
4. Koster ca. 14,80 - 17,40 kr. pr. liter, men kan fortynnes 5:1 før bruk
5. Er mindre irriterende og mindre giftig for mennesker.

#### Eksempel 1

##### Sporicid aktivitet

Det ble fremstilt en vandig væske bestående av en blanding av klordioksyd og didecyldimetyl-ammoniumklorid:

- |  |       |
|--|-------|
| 1. Stabilisert klordioksyd-oppløsning (6,0%)   | 60,0% |
| 2. Didecyl-forbindelsen  | 2,0%  |
| $\left[ \begin{array}{c} R_1 \quad \quad CH_3 \\ \quad \quad \diagdown \quad / \\ \quad \quad N \\ \quad \quad / \quad \quad \diagdown \\ R_2 \quad \quad CH_3 \end{array} \right]^+ Cl^-$ |       |
| 3. Neodol 25-12 (emulgeringsmiddel)  | 6,0%  |
| 4. KCl   | 0,4%  |
| 5. Isopropanol   | 5,0%  |
| 6. Vann  | 26,6% |

Fremgangsmåte:

1. Tilsett klordioksyd, vann, KCl, isopropanol og Neodol 25-12.
2. Bland grundig i 10-15 minutter eller til oppløsningen er klar.
3. Tilsett den kvaternære didecyl-forbindelse og bland til oppløsningen er klar.

Denne vandige væske inneholdt 3,6% klordioksyd og 2,0% av ammoniumkloridforbindelsen. Væsken ble anvendt i forsøk med sikte på bestemmelse av den sporicide aktivitet ved desinfisering av instrumenter ved hjelp av en kald oppløsning. Testorganismen var *Bacillus subtilis* ATCC nr. 19659 (kultur som var macerert i 72 timer og filtrert). Den anvendte sporicid-test (4) er beskrevet i Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical chemists, sider 64-65, med modifikasjoner. Sylinderne ble forurenset og tørket i 24 timer under vakuum som spesifisert.

Desinfiseringsoppløsningen ble utprøvet både uforynnet og i en oppløsning med 50% konsentrasjon. 10 ml av testpreparatene ble plassert i hvert av 6 glassrør med størrelse 25 x 150 mm. Disse glassrørene ble plassert i et 20°C vannbad. Tre forurensete sylindere ble plassert i hvert fortynningsrør. Hvert av disse ble gitt en bestemt kontakttid på 2, 4, 6, 8, 10 og 12. Ved slutten av den bestemte kontakttiden ble de tre sylinderne tatt ut fra desinfiseringsrørene og plassert i underkultur-medium, idet bare en sylinder ble plassert i hvert underkultur-rør. 30 minutter etter at overføringen var fullført, ble alle sylinderne overført til nye underkultur-rør inneholdende et flytende tioglykollat-medium.

Alle rør ble så plassert i inkubator ved 37°C i 21 døgn, og veksten i rørene ble herunder observert.

Hvis det ikke var noen vekst etter 21 døgn, ble alle rørene gitt varmesjokk i 20 minutter ved 80°C og satt i inkubator i 72 timer ved 37°C. Resultatene er gjengitt ved +(vekst) eller - (ingen vekst).

Tabell 1 nedenfor viser de gode resultater som ble funnet.

Tabell 1

Resultater av forsøk omfattende desinfisering av instrumenter med kolde oppløsninger 1) uforynnet og 2) 50% oppløsning.

Organisme: *Bacillus subtilis*

<u>Uforynnet</u>	<u>Efter 21 døgn i inkubator</u>		<u>Efter varmesjokk og gjentatt inkubasjon</u>	
	<u>Under*</u> <u>kultur</u>	<u>Ny under-</u> <u>kultur</u>	<u>Under-*</u> <u>kultur</u>	<u>Ny under-</u> <u>kultur</u>
<u>Kontakt-tid</u>				
2 timer	3-	3-	3-	3-
4 timer	3-	3-	3-	3-
6 timer	3-	3-	3-	3-
8 timer	3-	3-	3-	3-
10 timer	3-	3-	3-	3-
12 timer	3-	3-	3-	3-

137628

8

<u>50% oppløsning</u>	<u>Efter 21 døgn i inkubator</u>		<u>Efter varmesjokk og gjentatt inkubasjon</u>	
	<u>Under-*</u> <u>kultur</u>	<u>Ny under-</u> <u>kultur</u>	<u>Under-*</u> <u>kultur</u>	<u>Ny under-</u> <u>kultur</u>
<u>Kontakt-tid</u>				
2 timer	3-	3-	3-	3-
4 timer	3-	3-	3-	3-
6 timer	3-	3-	3-	3-
8 timer	3-	3-	3-	3-
10 timer	3-	3-	3-	3-
12 timer	3-	3-	3-	3-

\* 3 sylindere ble tatt ut fra fortynningsrør til individuelle underkulturrør

+ = vekst

- = ingen vekst.

Oppløsningen som var utprøvet viste tilfredsstillende sporicid aktivitet overfor *Bacillus subtilis* ved de angitte kontakt-tider på 2, 4, 6, 8, 10 og 12 timer.

#### Eksempel 2

##### Sporicid aktivitet

Forsøk ble utført med den samme oppløsning som i eksempel 1, men med 20% og 25% oppløsninger.

Organismen var *Bacillus subtilis* ATCC nr. 19659 og fremgangsmåten ved utprøvnigen var som angitt i Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, sider 64-65, 11. opplag (1970).

De resultater som ble oppnådd i disse forsøk, er gjengitt i tabell 2 nedenfor.

Tabell 2

"KRYOKLAV" OPPLØSNING

##### 20% oppløsning

<u>Kontakttid</u>	<u>Efter 21 døgn i inkubator</u>		<u>Efter varmesjokk og gjentatt inkubasjon</u>	
	<u>under-</u> <u>kultur</u>	<u>Ny under-</u> <u>kultur</u>	<u>Under-</u> <u>kultur</u>	<u>Ny under-</u> <u>kultur</u>
1/2 time	20-	20-	20-	20-
1 time	20-	20-	20-	20-
Kontroll	10+			

25% oppløsning

Kontakttid	Efter 21 døgn i inkubator		Efter varmesjokk og gjentatt inkubasjon	
	Under- kultur	Ny under- kultur	Under- kultur	Ny under- kultur
1/2 time	20-	20-	20-	20-
1 time	20-	20-	20-	20-
Kontroll	10+			

+ = vekst

- = ingen vekst

Disse forsøk viser at steriliseringsmidlene hadde sporicid virkning overfor *Bacillus subtilis* i 20% og 25% oppløsning, både etter 1/2 times og 1 times kontakttid.

Eksempel 3Fungicid aktivitet

Kold-steriliseringsblandingen ifølge eksempel 1 ble utprøvet mot organismen *Trichophyton interdigitale* ATCC nr. 640.

Den anvendte prøvemethode var som beskrevet i Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, sider 65-66, 11. opplag (1970).

Forsøksresultatene vil fremgå av nedenstående tabell.

Tabell 3"KRYOKLAV" OPPLØSNING

1:5 fortyning (20%)

Ekspone- rings- tid	Underkultur	Ny underkultur	Enda en ny underkultur
5 min.	-, -	-, -	-, -
10 min.	-, -	-, -	-, -
15 min.	-, -	-, -	-, -

1:32 (ca. 30 ml/l)

Ekspone- rings- tid	Underkultur	Ny underkultur	Enda en ny underkultur
5 min.	-, -	-, -	-, -
10 min.	-, -	-, -	-, -
15 min.	-, -	-, -	-, -
Kontroll	+, +	+, +	+, +

+ = vekst

- = ingen vekst

Disse forsøk viser at midlet var virksomt mot soppen trichophyton interdigitale ved 1:5 fortynning og 1:32 fortynning.

#### Eksempel 4

##### Baktericid aktivitet

Den i eksempel 1 anvendte kald-steriliseringsoppløsning ble utprøvet med hensyn til baktericid aktivitet mot Staphylococcus aureus, ATCC nr. 6538. Den utprøvningsmetode som ble anvendt er beskrevet i Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, sider 61-63, 11. opplag (1970).

De beholdte resultater vil fremgå av nedenstående tabell.

Tabell 4

##### "KRYOKLAV"-OPPLØSNING

##### 1:5 fortynning (20%)

Antall bærere anvendt	Rør som viser vekst	
	Underkultur	Ny underkultur
20	0	0

##### 1:32 fortynning

Antall bærere anvendt	Rør som viser vekst	
	Underkultur	Ny underkultur
20	0	0

##### Kontroll

Antall bærere anvendt	Underkultur	Ny underkultur
10	10	10

Resultatene viser at steriliseringsmidlet hadde baktericid virkning mot Staphylococcus aureus ved 1:5 fortynning (20%) og 1:32 fortynning (ca. 30 ml/l).

#### Eksempel 5

##### Oral LD<sub>50</sub> i rotter

En annen forsøksserie viser virkningen av kald-steriliseringsoppløsningen ifølge eksempel 1 når den gis oralt til rotter.

Den anvendte prøvemethode er beskrevet i "Appraisal of the Safety of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics", publisert av Association of Food and Drug Officials of the United States.

Resultatene er gjengitt i tabell 5. De kan oppsummeres slik: Oral LD<sub>50</sub> i rotter er 3,30 ml/kg. 19/20-tillitsgrensene er 2,66-4,09; helningen er 1,43.

Tabell 5

ORAL LD<sub>50</sub> i ROTTER

Dose/virkning-kurve for "kryoklav".

Dose ml/kg	Respons	Observervert %	Ventet %	Observervert minus ventet	Bidrag til (CHI) <sup>2</sup>
1	0/10	0	0,0	0,0	0,0
2	1/10	10	8,0	2,0	0,005
3	4/10	40	40,0	0,0	0,0
4	7/10	70	71,0	1,0	0,0005
5	10/10	100 (96.2)	88,0	8,2	0,0042

Totalt antall dyr = 50 Total 0,0097

Antall doser, K = 5

(Chi)<sup>2</sup> = 0,01 (Total antall x antall dyr/antall doser)

Frihetsgrader, n = K - 2 = 3

(Chi)<sup>2</sup> fra tabell 2 når n = 3 blir 7,82 ; 0,01 er mindre enn 7,82,  
og dataene er derfor ikke signifikant  
heterogene.

ED<sub>84</sub> ml/kg 4,70ED<sub>50</sub> ml/kg 3,30ED<sub>16</sub> ml/kg 2,30

$$S = \frac{ED_{84}/ED_{50} + ED_{50}/ED_{16}}{2} = \frac{1,42 + 1,43}{2} = 1,43$$

N' = 20 (Totalantallet av dyr med mellom 16% og 84% ventet virkning)

fED<sub>50</sub> = (S) 2,77/√N' = 1,24 (fra nomogram nr. 2)ED<sub>50</sub> x fED<sub>50</sub> = 4,09ED<sub>50</sub>/fED<sub>50</sub> = 2,66ED<sub>50</sub> og 19/20-tillitsgrensene: 3,30 (2,66 - 4,09)

R = største/minste dose = 2,5

A = 1,17 (fra nomogram nr. 3, når S = 1,43 og R = 2,5)

fS = (A) 10(K-1)/K√N' = 1,32 (fra nomogram nr. 2)

S x fS = 1,89

S/fS = 1,08

S og 19/20-tillitsgrensene: 1,43 (1,08 - 1,89)

De fleste dødsfall blant dyrene fant sted innenfor 12-36 timer. I det store og hele viste obduksjonen mørk lever og nyre og brannfeber i hele fordøyelseskanalen.

137628

12

Eksempel 6

Primær hudirritasjon hos kaniner

Steriliseringsmidlets irritasjonsvirkning på huden hos kaniner ble studert.

Den anvendte metode er beskrevet i U.S. Department of Agriculture, Federal Insecticide Fungicide and Rodenticide Act, seksjon 312, 116 i forskriftene (7CFR, del 362), avsnitt (c). Dosen var 0,5 ml/barbert flekk med fireflekker på hver av de 6 kaninene.

De resultater man fikk, vil fremgå av nedenstående tabell 6.

Den primære irritasjonsindeks er 2,33. Steriliseringsmidlet frembrakte både hyperemi og ødem i huden hos kaniner under de forsøksbetingelser som ble anvendt.

Primær Hud-irritasjons-indeks - kaniner  
Sporicid preparat: "Kryoklav"

Erytema og etse- skorpedannelse	Eksponeerings- tid i timer	Enhets- verdi Kanin 1	Enhets- verdi Kanin 2	Enhets- verdi Kanin 3	Enhets- verdi Kanin 4	Enhets- verdi Kanin 5	Enhets- verdi Kanin 6
Intakt hud	24	1	1	1	2	2	1
do	72	1	1	1	1	1	1
Irritert hud	24	2	2	2	2	2	2
do	72	2	2	2	2	2	2
Subtotal verdi		6	6	6	7	7	6
Ødem-dannelse:							
Intakt hud	24	1	1	1	1	1	1
do	72	0	0	0	0	0	0
Irritert hud	24	1	1	1	1	1	1
do	72	1	1	1	1	1	1
Subtotal-verdi		3	3	3	3	3	3
Total-verdi		9	9	9	10	10	9
Gjennomsnitt		2,25	2,25	2,25	2,5	2,5	2,25
Gjennomsnitt for samtlige		2,33					

Eksempel 7Øyeirritasjonstest

Steriliseringsmidlets irriteringsvirkning på øyet hos kaniner ble undersøkt.

Den anvendte metode er beskrevet i U.S. Department of Agriculture, Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act, seksjon 362, 116 i forskriftene (7CFR del 362), avsnitt (d).

Dosen var 0,1 ml i hvert øye hos hver av de seks kaninene.

De erholdte resultater er gjengitt i tabellene 7 og 8.

Tabell 7

Sporicid preparat "kryoklav". Fremstilt 1/15/72

	<u>Døgn</u>						
	1	2	3	4	5	6	7
Kanin nr. 1	1	2	3	4	5	6	7
I. Hornhinnen							
A. Opacitet	2	2	2	2	1	1	1
B. Areal	2	2	2	2	1	1	1
AxBx5	20	20	20	20	5	5	5
II. Iris							
A. Verdier	1	1	1	1	0	0	0
x5	5	5	5	5			
III. Bindehinnen i							
A. Rødhhet	3	3	3	3	2	2	2
B. Chemose	4	4	3	3	2	2	2
C. Utflod	3	3	3	3	2	2	2
(A+B+C)x2	20	20	18	18	12	12	12
Total	45	45	43	43	17	17	17
Kanin nr. 2							
I. Hornhinnen							
A. Opacitet	2	2	2	2	2	1	1
B. Areal	2	2	2	2	2	1	1
AxBx5	20	20	20	20	20	5	5
II. Iris							
A. Verdier	1	1	1	0	0	0	0
x5	5	5	5				
III. Bindehinnen i							
A. Rødhhet	3	3	3	2	2	2	2
B. Chemose	4	4	3	2	2	2	2
C. Utflod	3	3	3	2	2	2	2
(A+B+C)x2	20	20	18	12	12	12	12
Total	45	45	43	32	32	17	17
Kanin nr. 3							
I. Hornhinnen							
A. Opacitet	2	2	2	2	1	1	1
B. Areal	2	2	2	2	1	1	1
AxBx5	20	20	20	20	5	5	5
II. Iris							
A. Verdier	1	1	1	0	0	0	0
x5	5	5	5				
III. Bindehinnen i							
A. Rødhhet	3	3	3	2	2	2	2
B. Chemose	4	4	4	3	2	2	2
C. Utflod	3	3	3	2	2	2	2
(A+B+C)x2	20	20	20	14	12	12	12
Total	45	45	45	34	17	17	17

Tabell 8

Sporicid preparat "kryoklav". Fremstilt 1/15/72

	Døgn						
Kanin nr. 4	1	2	3	4	5	6	7
I. Hornhinnen							
A. Opacitet	2	2	2	2	2	1	1
B. Areal	2	2	2	2	2	1	1
AxBx5	20	20	20	20	20	5	5
II. Iris							
A. verdier x5	1 5	1 5	1 5	0	0	0	0
III. Bindehinnen i							
A. Rødhhet	3	3	3	3	3	2	2
B. Chemose	4	4	3	3	3	2	2
C. Utflod	3	3	3	3	3	2	2
(A+B+C)x2	20	20	18	18	18	12	12
Total	45	45	43	38	17	17	
Kanin nr. 5							
I. Hornhinnen							
A. Opacitet	2	2	2	2	2	1	1
B. Areal	2	2	2	2	2	1	1
AxBx5	20	20	20	20	20	5	5
II. Iris							
A. Verdier x5	1 5	1 5	1 5	0	0	0	0
III. Bindehinnen i							
A. Rødhhet	3	3	3	2	2	2	2
B. Chemose	4	4	3	2	2	2	2
C. Utflod	3	3	3	2	2	2	2
(A+B+C)x2	20	20	18	12	12	12	12
Total	45	45	43	32	32	17	17
Kanin nr. 6							
I. Hornhinnen							
A. Opacitet	2	2	2	2	2	1	1
B. Areal	2	2	2	2	2	1	1
AxBx5	20	20	20	20	20	5	5
II. Iris							
A. Verdier x5	1 5	1 5	1 5	0	0	0	0
III. Bindehinnen i							
A. Rødhhet	3	3	3	3	3	2	2
B. Chemose	4	4	3	3	3	2	2
C. Utflod	3	3	3	3	3	2	2
(A+B+C)x2	20	20	18	18	18	12	12
Total	45	45	43	38	38	17	17

Steriliseringsmidlet som ble utprøvet frembragte hornhinne- og bindehinne-irritasjon som vedvarte med minkende intensitet i de 7 døgn observasjonene pågikk. Iris-irritasjon ble observert hos 5 av 6 kaniner i 3 døgn, og hos 1 kanin i 4 døgn.

Sammenligningseksempel hvor klordioksyd og det i eksempel 1 anvendte kvaternære ammoniums salt utprøves hver for seg.

A. Kloridioksyd (alene)

Kloridioksydets eventuelle sporicide aktivitet eller virkning ble undersøkt under anvendelse av fortynninger med vann i forholdet 1:10 og 1:25. Testorganismen var *Bacillus subtilis*, og det ble anvendt kontakttider på 2, 4, 6, 8, 10 og 12 timer. *Bacillus subtilis*, ATCC No. 19659 ble anvendt, og kulturene ble macerert i 72 timer og filtrert, og den anvendte sporicid-test var den samme som i eksempel 1.

10 ml av de nevnte fortynnede væsker ble plassert i seks rør med størrelse 25 x 150 mm. Rørene ble plassert i et vannbad ved 20°C.

Tre forurensede sylindere (tørket i 24 timer under vakuum som i eksempel 1) ble plassert i hvert av de nevnte rør. Hvert av rørene ble merket med den ønskede kontakttid på 2, 4, 6, 8, 10 og 12 timer. Etter de angitte kontakttider ble de tre sylindrene tatt ut fra desinfiseringsrørene og plassert i underkultur-medium, idet bare en sylinder ble plassert i hvert underkultur-rør. 30 minutter etter at denne overføring var fullført, ble alle sylindrene overført til nye underkultur-rør inneholdende et flytende tioglykollat-medium.

Alle rør ble så plassert i inkubator ved 37°C i 21 døgn, og veksten i rørene ble herunder observert.

Hvis det ikke var noen vekst etter 21 døgn, ble alle rørene gitt varmesjokk i 20 minutter ved 80°C og satt i inkubator i 72 timer ved 37°C. Resultatene er nedenfor angitt ved + (vekst) eller - (ingen vekst).

TABELL 9

VANDIG KLORDIOKSYD

Kontakt-tid	Fortynnet 1:10 (10%)		Fortynnet 1:25 (4%)	
	Underkultur <sup>†</sup>	Ny underkultur	Underkultur <sup>†</sup>	Ny underkultur
2 timer	3+	3+	3+	3+
4 "	3+	3+	3+	3+
6 "	3+	3+	3+	3+
8 "	2+,1-	3+	3+	3+
10 "	2+,1-	3+	3+	3+
12 "	2+,1-	3+	3+	3+

<sup>†</sup> 3 sylindere ble tatt ut fra fortynningsrør og overført til respektive underkultur-rør



Konklusjon:

Forsøksmaterialet viste liten sporicid aktivitet overfor B. subtilis.

I tabell 10 ovenfor er rør 1 den opprinnelige kultur, og rør 2 er underkulturen til rør 1. I disse forsøk er det nødvendig at både rør 1 og 2 viser 0 (negativ) for at prøven skal anses å vise sporicid aktivitet, og siden rør 2 viser "positivt" i begge forsøk, innebærer dette at det bare ble oppnådd en statistisk virkning og ikke en sporicid virkning; en statistisk virkning innebærer at sporene kan begynne å vokse igjen.

I tabell 10 ovenfor gjelder angivelsene 1%'s løsning og 0,4%'s løsning det samlede innhold av kvaternær forbindelse. Resultatene viser at konsentrasjoner på 1% og 0,4% av den angitte kvaternære forbindelse anvendt alene ikke var sporicid i noen av de utførte forsøk.

Til sammenligning viste steriliseringsmidlet i følge oppfinnelsen sporicidaktivitet i en rekke forsøk ved en kontakttid på 10 minutter, og i et av disse forsøk ble det funnet at steriliseringsmidlet var sporicid selv i fortyninger på 0,36% klordioksyd og 0,2% kvaternær forbindelse.

Ytterligere sammenligningseksempel

Et antall kvaternære ammoniumsalter med kjemisk struktur som avviker fra dem som er funnet effektive i henhold til oppfinnelsen, ble utprøvet med hensyn til sporicid aktivitet. Disse kvaternære forbindelser hadde uforgrenet kjede og faller under den generelle kategori n-alkyl-dimetyl-benzyl-ammoniumklorid. Disse forbindelser var ikke tilfredsstillende etter varmesjokk etter den 21. observasjonsdag og tilfredsstilte ikke minimumskravet på 30 døgn. De ble således funnet å være i det vesentlige uten virkning.

PATENTKRAV

1. Klordioksydholdig steriliseringsmiddel i form av en vandig løsning, og eventuelt tilsatt stabiliseringsmiddel og/eller emulgeringsmiddel, k a r a k t e r i s e r t ved at den virksomme bestanddel i midlet består av klordioksyd og et kvaternært ammoniumsalt med den generiske formel  $R'R''(CH_3)_2NX$  i hvilken R' og R'' er alkylradikaler som hvert har minst 8 karbonatomer, og hvor det samlede antall karbonatomer i R' og R'' er 16-24, og X er et halogen.

2. Steriliseringsmiddel ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t ved at det samlede antall karbonatomer i R' og R'' er 20-22.