MECHANISM OF ACTION AND CHARACTERISTICS OF CERTAIN ANTISEPTICS AND DISINFECTANTS IN CORRELATION WITH THEIR ACTIVITY ON SELECTED MICROORGANISMS

Biljana Gjorgjeska
"Goce Delcev" University of Stip, Republic of Macedonia, biljana.gorgeska@ugd.edu.mk
Dino Karpicarov
"Goce Delcev" University of Stip, Republic of Macedonia, dino.151533@student.ugd.edu.mk

Abstract: Antiseptics and disinfectants represent a large group of compounds such as: alcohols, aldehydes, acid and base compounds, anilides, biguanides, diamidines, halogen release agents, heavy metals and their compounds, peroxygens, phenols, bis–phenols, halophenols, quaternary ammonium compounds and volatile compounds for sterilization. Both antiseptics and disinfectants are labeled as biocides which are compounds that have the ability to destroy microorganisms or prevent their growth, development and reproduction. Usually, when referring to biocides that inhibit growth, other terms may be more specific, such as "–static" and when referring to biocides that kill the target microorganism the term "–cidal" is often used. These chemical compounds have different effects depending on the concentration in which they are used. The main difference between antiseptics and disinfectants is the place of application. As such, antiseptics remove microorganisms (bacteria, fungi, viruses, parasites that have varying degree of pathogenicity and virulence) from living tissues while disinfectants remove the same type of microorganisms from variety of objects and equipment, or to remove pathogens from the immediate environment. The action of antiseptics and disinfectants is due to mutual reaction with the cell surface of the microorganisms, followed by their penetration into the cells and the influence on a certain target area. As a result of that, antiseptics and disinfectants are an integral part of the practices for controlling infections and preventing the occurrence of intra–hospital infections. One of the biggest problems facing modern medicine is the occurrence of the intra–hospital (inpatient, nosocomial) infections. These infections can be defined as localized or generalized infections caused by microorganisms acquired during hospitalization. More specifically, an intra–hospital infection is one for which there is no evidence that the infection was present or incubating at the time of a hospital admission. In fact, these infections can result from inappropriate use of antiseptics and disinfectants. To be used in hospital conditions, antiseptics and disinfectants must meet several criteria: easy to use; non–volatile; not harmful to equipment, staff or patients; free from unpleasant smells and effective within a relatively short time.
The goals of this study are to present the most common microorganisms that cause the occurrence of intra–hospital infections; to present the characteristics and mechanisms of action of the most frequently used antiseptics and disinfectants in hospital conditions; to give guidance as to which antiseptic or disinfectant would be most suitable for use against the microorganism which occurs in the function of the causative agent of the intra–hospital infection. The establishment of such an approach is crucial because it is necessary to know which antiseptic or disinfectant has the greatest activity against the microorganism which is the cause of the intra–hospital (nosocomial) infection. As a result of that, the incidence of intra–hospital infections will be minimized.
Keywords: Benzalkonium chloride; Formaldehyde; Hydrogen peroxide; Ethanol; Boric acid; Povidone–iodine; Intra–hospital infections.

МЕХАНИЗАМ НА ДЕЈСТВО И КАРАКТЕРИСТИКИ НА ОДРЕДЕНИ АНТИСЕПТИЦИ И ДЕЗИНФИЦИЕНСИ ВО КОРЕЛАЦИЈА СО НИВНАТА АКТИВНОСТ ВРЗ СЕЛЕКТИРАНИ МИКРООРГАНИЗМИ

Биљана Ѓорѓеска
Универзитет „Гоце Делчев" – Штип, Република Македонија, biljana.gorgeska@ugd.edu.mk
Дино Карпичаров
Универзитет „Гоце Делчев" – Штип, Република Македонија, dino.151533@student.ugd.edu.mk

Апстракт: Антисептиците и дезинфициенсите претставуваат голема група на соединенија во која се вбројуваат: алкохоли, алдехиди, кисели и базни соединенија, анилиди, бигваниди, диамидини, халогениди, тешки метали и нивни соединенија, пероксиди, феноли, бис–феноли, халофеноли, кватернерни амониумови

соединенија и испарливи соединенија за стерилизација. Со заедничко име, антисептиците и дезинфициенсите се означуваат како биоциди, кои пак, претставуваат соединенија со способност директно да ги уништуваат микроорганизмите или да инхибираат нивен раст, развој и репродукција. Вообичаено, биоцидите кои го инхибираат растот на микроорганизмите ја добиваат наставката „–статик“, а биоцидите кои директно ги уништуваат микроорганизмите ја добиваат наставката „–цид“. Овие хемиски соединенија манифестираат различно дејство во зависност од концентрацијата во која се применуваат. Главната разлика помеѓу антисептиците и дезинфициенсите е местото на апликација. Како такви, антисептиците ги отстрануваат микроорганизмите (бактерии, габи, вируси, паразити со различен степен на патогеност и вирулентност) кога ќе бидат администрирани на живи ткива, за разлика од дезинфициенсите кои ги отстрануваат микроорганизмите од различни објекти, опрема или пак, ги отстрануваат патогените од непосредната околина. Механизмот на дејство на антисептиците и дезинфициенсите се должи на нивна интеракција со површината на клетката од микроорганизмот, при што, истите пенетрираат во интрацелуларниот простор каде ги напаѓаат есенцијалните клеточни компоненти. Како резултат на тоа, антисептиците и дезинфициенсите се интегрален дел од практиките за контрола и превенција на појавата на интрахоспитални инфекции. Еден од најголемите проблеми со кои се соочува модерната медицина е појавата на интрахоспитални (болнички, нозокомијални) инфекции. Станува збор за локализирани или генерализирани инфекции предизвикани од микроорганизми во периодот на хоспитализација. Поконкретно, интрахоспитални се оние инфекции за кои не постои доказ дека се јавиле или пак, настанал период на инкубација на инфекцијата при болничкиот прием. Овие инфекции може да се јават поради неправилна употреба на антисептиците и дезинфициенсите. За да се употребуваат во болнички услови, антисептиците и дезинфициенсите треба да исполнуваат неколку критериуми: да бидат лесни за употреба, да не бидат испарливи, да не манифестираат штетен ефект врз опремата, вработените во болницата и пациентите, да не поседуваат непријатен мирис и да манифестираат ефикасност за релативно краток временски интервал.
Целите на овој труд е да се претставаат најчестите микроорганизми кои предизвикуваат појава на интрахоспитални инфекции; да се претставаат карактеристиките и механизмите на дејство на најчесто употребуваните антисептици и дезинфициенси во болнички услови; да се дадат насоки во поглед на тоа кој антисептик, односно дезинфициенс, би бил најсоодветен за употреба против микроорганизмот, кој се јавува во функција на причинител на интрахоспиталната инфекција. Воспоставувањето на ваков пристап е круцијално бидејќи е неопходно да се знае кој антисептик, односно дезинфициенс има најголема активност спрема микроорганизмот предизвикувач на интрахоспиталната (нозокомијалната) инфекција. Како резултат на тоа, инциденцата на овој тип инфекции ќе биде значително намалена.

Клучни зборови: Бензалкониум хлорид; Формалдехид; Водороден пероксид; Етанол; Борна киселина; Повидон јод; Интрахоспитални инфекции.

1. ВОВЕД

Интрахоспитална инфекција е секоја инфекција која се јавува за време на престојот на пациентот во одредена здравствена установа, а која не е главна причина поради која пациентот бил хоспитализиран. Во потесна смисла на зборот, интрахоспитална инфекција е секоја инфекција која се јавува во одредена здравствена установа, односно инфекција за која не постои доказ дека се јавила или пак, настанал период на инкубација на истата за време на приемот на пациентот во здравствената установа. Оваа дефиниција ги опфаќа и оние инфекции кои се јавуваат после исписот на пациентот од здравствената установа, како и професионалните инфекции кои се јавуваат помеѓу персоналот од здравствена установа (*A practical guide for prevention of hospital–acquired infections,* 2002). Едни од најчестите причинители на интрахоспиталните инфекции се бактериите како: *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Поради покомплексната градба на клеточниот ѕид, Грам негативните бактерии се порезистентни кон антисептици и дезинфициенси во споредба со Грам позитивните бактерии. Токму поради оваа причина се наметнува потребата да се определи кој антисептик, односно дезинфициенс, поседува најизразен ефект спрема овие бактерии, при што како таков, истиот би можел да се употреби за нивна комплетна ерадикација при појава на интрахоспитални инфекции, или пак, истиот би можел да се употребува како составен дел од секојдневната болничка пракса во поглед на превенцијата од појавата на интрахоспитални инфекции.

2. ОСОБИНИ НА КОРИСТЕНИТЕ АНТИСЕПТИЦИ И ДЕЗИНФИЦИЕНСИ

2.1. ФОРМАЛДЕХИД

Формалдехидот е алдехид, кој може да се јавува во цврста, течна или гасовита агрегатна состојба. На собна температура, доаѓа во форма на реактивен гас со остар мирис, кој може да се користи за дезинфекција на цели простории, инструменти и постелнина поради неговата хемиска индиферентност. Со ладење на гасот, истиот преминува во течност. Течниот формалдехид (формалин) е 37% воден раствор на формалдехид со стабилизатор (метанол). Истиот се меша со вода и алкохол. Разреден до 5%, може да се користи како ефикасен дезинфициенс. Во однос на механизмот на дејство, формалдехидот врши денатурација на протеините и алкилација на нуклеинските киселини од микроорганизмите, а како резултат на тоа, настанува нивно уништување. Според Центарот за безбедност на храната и јавното здравје при Државниот Универзитет во Ајова, формалдехидот е високо ефикасен кога станува збор за дејството врз Грам позитивните и Грам негативните бактерии, вклучително и *Pseudomonas* видовите (*The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*, 2008).

2.2. ЕТАНОЛ

Етанолот претставува пример за алкохол. Концентрираниот етанол или 96% раствор на етанол во вода е безбојна, бистра течност, со специфичен мирис, која лесно испарува, а пареите се запаливи и горат со син пламен. Освен со вода, етанолот се меша и со глицерол и некои органски растворувачи. Етанолот се одликува со хигроскопност поради присуството на хидрофилна хидроксилна група, која му овозможува да гради водородни врски со водата. Хидрофобниот јаглеводороден регион, присутен во молекулата на етанолот, се спротиставува на ефектот на хидроксилната група како протон донор или протон акцептор, да гради водородни врски со водата (Franks, & Ives, 1966). Поради тоа, јаглеводородниот регион не стапува во директна интеракција со молекулите на водата, туку се инкорпорира во просторите помеѓу нив. Затоа, при мешање на етанол и вода настанува редукција на вкупниот волумен на растворот, односно се добива раствор со помал волумен во споредба со збирот од поединечните волумени на етанолот и водата, користени за добивање на овој раствор. Поради присуството на хидроксилна група во етанолот, тој врши сапонификација на липидите од клеточната мембрана на микроорганизмот, но главниот механизам на дејство се базира на неговата способност да врши денатурација на протеините од клеточната мембрана, поради што пенетрира во интрацелуларниот простор, каде интерферира на метаболичко ниво. Овој ефект може да биде ограничен доколку етанолот не е употребен во вистинска концентрација. Имено, етанолот е поефикасен во пониски концентрации (60–90%), отколку во повисоки концентрации (96%) (McDonnell, & Russell, 1999). Имено, 96% етанол предизвикува коагулација на протеините од мембраната на микроорганизмот, како резултат на што, се образува цврста протеинска бариера околу микроорганизмот, која ја оневозможува пенетрацијата на етанолот во внатрешноста на микроорганизмот, каде би требало истиот да делува. На овој начин, микроорганизмите нема да бидат уништени, туку ќе егзистираат во латентна состојба. Меѓутоа, 70% раствор на етанол предизвикува постепена коагулација на протеините од мембраната на микроорганизмот, при што етанолот полесно навлегува во внатрешноста на микроорганизмот и на тој начин предизвикува негово уништување. Според тоа, 96% раствор на етанол, кој е употребуван за целите на овој труд, не треба да покаже ефект врз селектираните микроорганизми. Поради способноста да ги уништува бактериите и да ги отстранува липидите од површината на кожата, етанолот често се користи како антисептик, но на собна температура не ги уништува спорогените форми, па затоа има ограничена ефикасност како дезинфициенс.

2.3. БОРНА КИСЕЛИНА

Борната киселина е слаба киселина, која доаѓа во форма на бел, кристален прав или безбојни, сјајни лушпести кристали, масни на допир. Борната киселина е потешко растворлива во вода и алкохол на собна температура, а полесно растворлива во вода што врие и во глицерол (85%). Степенот на дисоцијација на борната киселина е правопропорционален со нејзината биоцидна активност. При нејзина дисоцијација се ослободуваат водородни јони кои може да ги раскинуваат врските во нуклеинските киселини, да ја менуваат цитоплазматската pH вредност, да ги преципитираат протеините во клетката. Затоа оваа киселина може да се користи како слаб антисептик, но и кератопластик. Одлучувачки фактор за биоцидниот ефект на борната киселина е концентрацијата во која се употребува. Така, поради антисептичното дејство 1% раствор се користи во офталмологијата, за разлика од 3% раствор, кој примарно се користи во форма на облоги, а не заради незабележителниот антисептичен ефект. Според тоа, 3% раствор, кој е користен за целите на овој труд, не треба да покаже ефект или пак, би можел да покаже мал ефект врз селектираните микроорганизми.

2.4. ВОДОРОДЕН ПЕРОКСИД

Водородниот пероксид е бистар, безбоен раствор, со слаб и специфичен мирис. Комерцијално е достапен во различни концентрации, па според тоа, може да се заклучи дека водородниот пероксид се меша со вода во

сите соодноси. Во допир со кожата остава бели дамки, кои со текот на времето исчезнуваат. Водородниот пероксид не е штетен за животната средина бидејќи се разградува до вода и насцентен кислород, кој претставува силно оксидирачко средство, поради што е носител на површинскиот ефект на водородниот пероксид. На клеточно ниво, механизмот на дејство на водородниот пероксид може да се објасни преку Haber–Weiss–овата реакција. Имено, кога водородниот пероксид ќе навлезе во интрацелуларниот простор, тој реагира со супероксидот ($•O_2^-$) и како резултат на тоа се добиваат слободни хидроксидни радикали (•OH) (Haber, & Weiss, 1934), кои ги напаѓаат протеините, липидите и нуклеинските киселини, уништувајќи го микроорганизмот. Водородниот пероксид се користи како површински антисептик. Имено, 3% раствор се користи за дезинфекција на кожата и чистење на рани. Според Центарот за безбедност на храната и јавното здравје при Државниот Универзитет во Ајова, водородниот пероксид е ефикасен кога станува збор за дејството врз Грам позитивните и Грам негативните бактерии, вклучително и *Pseudomonas* видовите (*The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*, 2008).

2.5. БЕНЗАЛКОНИУМ ХЛОРИД

Бензалкониум хлоридот претставува кватернерен амониумов хлорид, кој доаѓа во форма на проѕирна желатинозна кристална материја или бел до жолтеникаво–бел аморфен хигроскопен прашок со ароматичен мирис и сапунлив при допир. Многу лесно се раствора во вода, 96% етанол и ацетон, така што во вода, заради сурфактантните особини, создава пена. Ова соединение манифестира биоциден ефект во пет чекори. Во првиот чекор пенетрира во клеточниот ѕид; во вториот чекор се врзува за протеините или липидите од клеточната мембрана; во третиот чекор настанува истекување на нискомолекуларен интрацелуларен материјал; во четвртиот чекор настанува деградација на протеините и нуклеинските киселини; во петтиот чекор, настанува лиза на клеточниот ѕид, поради ослободување на автолитички ензими (Salton, 1968). Бензалкониум хлоридот има различна клиничка примена. Така, 0.05% раствор се користи за чистење на рани и изгореници, 0.1% раствор се користи за дезинфекција на кожата, а 0.2% раствор се користи за дезинфекција на медицински инструменти и слично. Според Центарот за безбедност на храната и јавното здравје при Државниот Универзитет во Ајова, бензалкониум хлоридот е високо ефикасен кога станува збор за дејството врз Грам позитивните бактерии, ефикасен кога станува збор за дејството врз Грам негативните бактерии, освен кон *Pseudomonas* видовите, кон кои не покажува ефект (*The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*, 2008).

2.6. ПОВИДОН ЈОД

Повидон јодот е комплекс на поливинилпиролидонот и елементарниот јод. Имено, ваквиот комплекс содржи од 9.0–12.0% достапен јод. Повидон јодот претставува жолто–кафеав или црвено–кафеав аморфен прашок со слаб и специфичен мирис. Може да биде подготвен во различни концентрации, така што добиените раствори се разликуваат според динамичкиот вискозитет. Највисоката дозволена концентрација за употреба на повидон јодот како антисептик е 10% и овој раствор поседува највисок динамички вискозитет, кој изнесува 3.572 *mPa s* (Panzova, & Bogdanov, 1990). Повидон јодот е умерено растворлив во вода и алкохол, а практично нерастворлив во органски растворувачи. Јодот од повидон јодот брзо пенетрира во интрацелуларниот простор на микроорганизмите, каде ги напаѓа есенцијалните клеточни компоненти и на тој начин предизвикува смрт на микроорганизмот. Исто така, јодот ги намалува потребите за кислород на аеробните микроорганизми, интерферира на ниво на респираторен синџир и го блокира транспортот на електрони преку електрофилни реакции со ензимите, вклучени во респираторниот синџир (Maris, 1995). Повидон јодот се користи како дермоантисептик. Употребата на повидон јодот е различна во зависност од концентрацијата во која е подготвен растворот. Така, 10% раствор се користи за дезинфекција на рани, 7.5% раствор се користи за хируршко миење на раце, а 1% раствор се користи за дезинфекција на уста и грло. Според Центарот за безбедност на храната и јавното здравје при Државниот Универзитет во Ајова, јодот е ефикасен кога станува збор за дејството врз Грам позитивните и Грам негативните бактерии, вклучително и *Pseudomonas* видовите (*The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*, 2008).

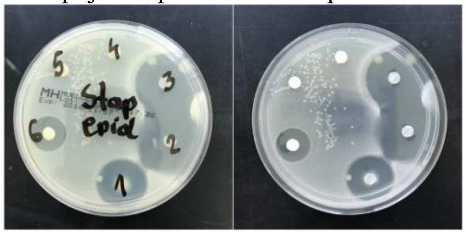
3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОД НА РАБОТА

Испитувани антисептици и дезинфициенси – бензалкониум хлорид (5%), формалдехид (5%), водороден пероксид (3%), етанол (96%), борна киселина (3%), повидон јод (10%); Изолирани соеви на микроорганизми од пациенти – изолирани соеви на Грам позитивните бактерии *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus* и Грам негативните бактерии *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*; филтер хартија, перфоратор, еза, епрувети, стерилна дестилирана вода, дензитометар, петриеви плочи, хранителна подлога: агар по Müeller–Hinton, стапчиња за брис, пинцета, пламеник, термостат, линијар. За тестирање на осетливоста на микроорганизмите беше користена Kirby–Bauer диск дифузионата метода (*Kirby–Bauer Disk Diffusion*

Susceptibility Test Protocol, 2009). Оваа метода може да се користи за испитување на осетливоста кон повеќе антибиотици и хемотерапевтици, а со оглед на фактот што антисептиците и дезинфициенсите поседуваат сличен ефект, методот го искористивме за испитување на осетливоста кон селектираните антисептици и дезинфициенси. Со цел поефикасно спроведување на експериментот, а и поради фактот што не постојат стандардизирани дискови со антисептици и дезинфициенси, оваа метода претрпе одредени модификации, така што се состави протокол за работа од неколку чекори: подготовка на кружни парчиња од филтер хартија, подготовка на суспензија од микроорганизми, засадување на суспензијата од микроорганизмите на хранилиште, апликација на антисептиците / дезинфициенсите на подлогата, инкубација на подлогата, анализа на зоните на инхибиција.

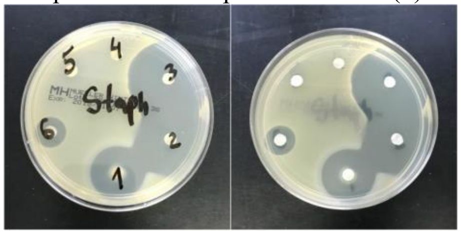
4. РЕЗУЛТАТИ

Врз основа на добиените резултати за *Staphylococcus epidermidis* може да се заклучи дека истата е најчувствителна на водородниот пероксид (3) (26 *mm*), но задоволителен ефект покажале и формалдехидот (2) (25 *mm*) и бензалкониум хлоридот (1) (22 *mm*). Исто така, ефект врз оваа бактерија манифестирал и повидон јодот (6) (15 *mm*), додека бактеријата е резистентна спрема етанолот (4) и борната киселина (5).



Слика 1. Приказ на ефектот на антисептиците / дезинфициенсите врз соевите на Staphylococcus epidermidis

Врз основа на добиените резултати за *Staphylococcus aureus* може да се заклучи дека истата е најчувствителна на водороден пероксид (3) (40 *mm*), но задоволителен ефект покажале и формалдехид (2) (30 *mm*) и бензалкониум хлорид (1) (25 *mm*). Исто така, ефект врз оваа бактерија манифестирал и повидон јодот (6) (14 *mm*), додека бактеријата е резистентна спрема етанолот (4) и борната киселина (5).



Слика 2. Приказ на ефектот на антисептиците / дезинфициенсите врз соевите на Staphylococcus aureus

Врз основа на добиените резултати за *Escherichia coli* може да се заклучи дека истата е најчувствителна на формалдехидот (2) (25 *mm*), но задоволителен ефект покажале и водородниот пероксид (3) (15 *mm*) и бензалкониум хлоридот (1) (13 *mm*). Сепак, бактеријата е резистентна спрема етанолот (4), борната киселина (5) и повидон јодот (6).

Слика 3. Приказ на ефектот на антисептиците / дезинфициенсите врз соевите на Escherichia coli

Врз основа на добиените резултати за *Pseudomonas aeruginosa* може да се заклучи дека истата е најчувствителна на формалдехидот (2) (13 *mm*). Иако станува збор за релативно мал пречник на зоната на инхибиција, сепак бактеријата покажува извесна чувствителност и кон водородниот пероксид (3) (8 *mm*). Исто така, може да се заклучи дека бактеријата е резистентна спрема: бензалкониум хлоридот (1), етанолот (4), борната киселина (5) и повидон јодот (6).

Слика 4. Приказ на ефектот на антисептиците / дезинфициенсите врз соевите на Pseudomonas aeruginosa

5. ЗАКЛУЧОК

Изборот на антисептик, односно дезинфициенс во болнички услови, треба да се врши согласно карактеристиките на антисептикот, односно дезинфициенсот; неговиот механизам на дејство; количината и концентрацијата во која истиот би манифестирал биоциден ефект. Токму овој труд ги систематизира овие критериуми за избор и како резултат на тоа, дава основни препораки за тоа кои антисептици, односно дезинфициенси би можеле да се употребуваат за ерадикација на најчестите причинители на интрахоспиталните инфекции. Кога станува збор за биоцидната активност на бензалкониум хлоридот, формалдехидот, водородниот пероксид и етанолот, треба да се напомене дека она што беше претпоставено, беше и потврдено преку овој експеримент. Кога станува збор за борната киселина, треба да се напомене дека како слаба киселина, таа делумно дисоцира во водена средина, па според тоа, борната киселина се одликува со ниска биоцидна активност. Ова е основна причина поради која борната киселина денес воопшто не се користи како антисептик, туку истата примарно се употребува како средство за облоги или кератопластик. Единствено повидон јодот не ги манифестираше резултати кои се очекуваа од него, но за ова постои логично објаснување. Повидон јодот беше употребуван во форма на 10% раствор, односно раствор кој се одликува со највисока високозност во споредба со растворите на повидон јод, подготвени во пониски концентрации. Како резултат на тоа, потребно е подолго време кружните парчиња од филтер хартија да бидат наквасени во 10% раствор на повидон јод. Во конкретниот експеримент, кружните парчиња од филтер хартија беа оставени да отстојат во соодветниот антисептик, односно дезинфициенс, за време од 10 минути, со цел да примаат доволно количество од хемикалијата. Во случајот на повидон јод, поради високата вискозност на растворот, ова време не беше доволно, па поради тоа не беше прифатено и доволно количество од растворот. Како резултат на тоа, повидон јодот манифестираше ефект само врз *Staphylococcus* видовите, кои претставуваат примери за Грам позитивни бактерии, односно бактерии со пониска резистентност во однос на Грам негативните бактерии, поради помалку комплексната градба на клеточниот ѕид.

ЛИТЕРАТУРА

[1] World Health Organization (2002). *Prevention of hospital–acquired infections. A practical guide* (2nd edition). Retrieved from http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/en/whocdscsreph200212.pdf
[2] The Center for Food Security & Public Health, Iowa State University (2008). *The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants*. Retrieved from http://www.cfsph.iastate.edu/Disinfection/Assets/AntimicrobialSpectrumDisinfectants.pdf
[3] Franks, F., Ives, D. J. G. (1966). *The structural properties of alcohol–water mixtures*. Quarterly Reviews, Chemical Society. 20, 1–44.
[4] McDonnell G., & Russell A. D. (1999). *Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance*. Clinical Microbiology Reviews, 12 (1): 147–179.
[5] Haber, F., Weiss, J. (1934). *The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts*. Proc R Soc Lond A, 147: 332–51.
[6] Salton, M. R. (1968). *Lytic agents, cell permeability, and monolayer permeability*. The Journal of general physiology, 52 (1): 227–52.
[7] Panzova, B., Bogdanov, B. (1990). *Physicochemical basis for the microbicidal action of disinfection solutions. I. Polyvinylpyrrolidone–iodine*. International Journal of Pharmaceutics, 65: 35–41.
[8] Maris, P. (1995). *Modes of action of disinfectants*. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz., 14 (1): 47–55.
[9] American Society for Microbiology (2009). *Kirby–Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. Retrieved from http://www.asmscience.org/docserver/fulltext/education/protocol/protocol.3189.pdf