

Effectiveness of combined disinfectants

Natalia Gregirchak, Tetyana Lupyna, Tetyana Mordych

National University of food technologies, Kyiv, Ukraine

ABSTRACT

Keywords:

Polyhexamethyleneguanidine,
Disinfectant
Microorganism
Concentration
Biocide

Article history:

Received 15.06.2013
Received in revised form
18.08.2013
Accepted 26.09.2013

Corresponding author:

Tetyana Lupyna
E-mail:
tanya_lupyna@ukr.net

Today there are many disinfectants, but a lot of them have such disadvantages as toxic effects on the human body, the destructive effects of materials, acquisition of resistance by microorganisms. One of the most promising groups of disinfectants is polyhexamethyleneguanidines (PHMG). But to enhance their performance prompted to create a new combination of biocidal products on the basis of PHMG, H₂O₂ and (NH₄)₂S₂O₈ and investigate their antimicrobial properties. To study the antimicrobial properties was spent determining of the minimal inhibitory and biocidal concentrations of the created solutions by using the standard method of sequential serial dilutions. The research determined the antimicrobial action of disinfectants based on polyhexamethyleneguanidine salts in combination with hydrogen peroxide and ammonium persulfate. It is studied the efficiency of the drugs on the test-cultures of microorganisms of different groups (*Echerichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* W-2, *Staphylococcus aureus* BMS-1, *Candida albicans* D-6, *Aspergillus niger* R-3). It was conducted a comparative evaluation of combined biocides based on PHMG, (NH₄)₂S₂O₈ and H₂O₂ on bacterial and conducted flora and set the minimal inhibiting and biocidal concentration of these drugs. These results demonstrated the feasibility of using created combined disinfectants and can help to choose the effective concentration, depending on the microbial contamination, but not less than 75 micrograms/ml.

УДК 648.14

Ефективність дії комбінованих дезінфектантів

Наталія Грегірчак, Тетяна Лупина, Тетяна Мордич

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ

Виробництво якісної і безпечної продукції неможливе без дотримання на виробництві санітарно-гігієнічних вимог. Такі об'єкти, як технологічне обладнання, повітря, обслуговуючий персонал, пакувальні матеріали, потенційно становлять небезпеку мікробіологічного забруднення продукції, що виготовляється. Саме тому важливими технологічними етапами будь-якого, а особливо харчового, виробництва є дезінфекція та миття. Дезінфекція – завершальна стадія санітарної обробки, яка направлена на те, щоб забезпечити відповідність виробництва і продукції санітарним нормам [2].

Тому сьогодні все більше постає потреба у таких біоцидних препаратах, які б мали досить широкий спектр дії проти мікроорганізмів різних систематичних груп (бактерій, пліснявих грибів, дріжджів та ін.), подовжену тривалість дії, були нетоксичними і безпечними для людини а також не пошкоджували обладнання та матеріали [1].

Одними з найперспективніших сполук, що мають антимікробні властивості є полігексаметиленгуанідини (ПГМГ). На сьогодні вчені досліджують можливість їх використання як антисептиків для обробки рук [14], знезараження води [11] та навіть при лікуванні щелепно-лицьових захворювань [15]. Також відмічено низький рівень формування резистентності у мікроорганізмів відносно даних сполук [13]. Враховуючи те, що ПГМГ мають ряд переваг [7], створення комбінованих дезінфікуючих засобів на їх основі і дослідження антимікробних властивостей є актуальним.

Літературний аналіз

Сьогодні на ринку України представлені дезінфікуючі засоби на різних основах (спиртові, альдегідні, четвертинні амонійні сполуки, хлор активні, фенольні, кисневмісні та ін.) традиційні хлоровмісні дезінфікуючі засоби (хлорамін, гіпохлорит та ін.). Однак більшість із них подразнюють шкіру та дихальні шляхи, є канцерогенними, їх активність відносно більшості мікроорганізмів не є досить високою. Також вони можуть мати руйнівний ефект на обладнання, інструменти та матеріали [4].

Для дезінфекції в різних галузях найчастіше застосовують такі *спирти*, як: етиловий, 1-пропанол, ізопропанол. Вони є екологічно безпечними і відносно нетоксичними, але не мають спороцидних властивостей, тобто не знищують спори мікроорганізмів. В концентраціях 60 - 90% активні по відношенню до вегетативних форм бактерій и грибів, мікобактерій. Однак, вони не володіють миючими властивостями, фіксують органічні забруднення і можуть пошкоджувати вироби з пластмас та гуми. Ще одним недоліком спиртів є легкозаймистість, тому при роботі з ними потрібно дотримуватися правил безпеки [10].

Препарати цього класу використовуються для обробки невеликих по площині поверхонь у приміщеннях, обладнання, предметів обстановки, приладів, важкодоступних для обробки та тих, що потребують швидкого знезараження та висихання. Спирти є також основними складовими антисептиків для шкіри [6].

Альдегіди та засоби на їх основі мають широкий спектр антимікробної дії (бактерії, гриби, мікобактерії, віруси та бактеріальні спори), швидко діють, ефективні в присутності органічних матеріалів, добре розчиняються у воді. Але вони є

нестабільними (випаровування при кімнатній температурі), можуть викликати опіки шкіри та подразнення слизових оболонок, дороговартісні. Використовуються для дезінфекції обладнання [4].

Хлорактивні сполуки ефективні проти бактерій, грибів, мікобактерій, вірусів, спор. Мають низьку вартість. Є препаратами третього покоління, добре розчиняються у воді та мають відбілювальну властивість. Мають ряд суттєвих недоліків, такі як: викликають корозію металів, є токсичними, мають різкий запах та подразнюючу дію на слизові оболонки та верхні дихальні шляхи, нестабільні при зберіганні, екологічно небезпечні та чутливі до дії неорганічних та органічних речовин, температури, світла, рН. Використовуються для дезінфекції органічних субстратів і рідин, посуду від виділень, санітарно-технічного обладнання, відходів та для дезінфекції при особливо небезпечних інфекціях та води плавальних басейнів [6,10].

Кисневмісні засоби ефективні проти бактерій, грибів, мікобактерій, вірусів та бактеріальних спор. Є екологічно безпечними. Однак викликають корозію металів та можуть негативно впливати на якість матеріалів ендоскопів. Рекомендується комбінувати з миючими добавками. Використовуються для заключної дезінфекції поверхонь [4].

Дезінфікуючі засоби на основі амінів мають ряд істотних переваг: широкий спектр антимікробної дії, особливо важлива їх висока активність по відношенню до збудників туберкульозу, відносна екологічна безпека, ефективність у присутності органічних забруднень. В той же час, значна частина науковців не виключає здатність таких препаратів викликати алергії, що звужує, а то і унеможливує їх широке застосування в присутності пацієнтів, відвідувачів. Але вони не мають спорозидної дії та негативно впливають на оптичні прилади. Використовуються для заключної та поточної дезінфекції виробів медичного призначення, дезінфекції різноманітних поверхонь, об'єктів обстановки [4,10].

У якості активно діючих речовин серед *четвертинних амонійнієвих сполук (ЧАС)* у дезінфікуючих композиціях найчастіше використовуються катамін АБ, дидецилдиметиламоній хлорид, диоктилдиметиламоній хлорид та ін. Дані дезінфектанти не викликають корозію металів, не знебарвлюють тканини, не токсичні, використовуються у присутності персоналу. За своїм походженням ЧАСи є катіонними поверхнево-активними речовинами – мають миючу та розчинюючу активність. Збільшення концентрації ЧАС у деззасобі підвищує його деструктивну дію на оброблювані поверхні і негативно впливає на здоров'я людей, які з ними працюють. Мають вузький спектр антимікробної дії, легко адсорбуються та нейтралізуються багатьма матеріалами (бавовною, шерстю), не можуть використовуватись як шкірні антисептики. Використовуються для знезараження поверхонь стін, підлоги, меблів [1].

Серед широкого спектру біоцидних препаратів виділяється група полімерних сполук на основі солей *полігексаметиленуанідину (ПГМГ)*, а саме гідрохлориди (ПГМГ-ГХ) та фосфати (ПГМГ-Ф). Ці сполуки легкодоступні, високоефективні, мають широкий спектр бактерицидної дії і при цьому є малотоксичними, не проникають через шкіру і не накопичуються в організмі, розкладаються в навколишньому середовищі. Полігуанідини – єдині відомі водорозчинні сполуки, які утворюють на оброблюваних об'єктах напівплівку, що довго зберігається [5]. До застосування дозволені такі препарати на основі солей ПГМГ, як Вітасепт, Гембар, Лізетол АФ, Полідез, Славін та інші. Попередніми дослідженнями було встановлено,

що препарати на основі ПГМГ ефективні проти бактерій, але для досягнення фунгіцидного ефекту потрібно використовувати більші концентрації робочих розчинів та збільшувати час дезінфекції, або підсилити антимікробні властивості іншою речовиною [9].

Проте, одним із важливих питань ефективного використання дезінфекційних засобів є попередження формування резистентності у деяких мікроорганізмів в ході довготривалого застосування препаратів. Запобігти даному явищу можна використовуючи дезінфікуючі засоби у поєднанні з іншими речовинами [7]. Механізм дії комбінованих дезінфектантів зумовлений тим, що за допомогою одного із компонентів комбінацій дезінфікуючого препарату нейтралізується система захисту клітини, після чого другий дезінфектант отримує практично безперешкодний доступ до головних мішеней бактеріальної клітини і, взаємодіючи з ними, інактивує клітину [5].

Метою даної роботи було визначення мінімальних антимікробних концентрацій комбінованих препаратів на основі ПГМГ-ГХ та ПГМГ-Ф по відношенню до тест-культур мікроорганізмів і встановити, яка з досліджуваних комбінацій має найефективнішу дію.

Матеріали і методи

Визначення мінімальних інгібуючих та біоцидних концентрацій проводили за стандартною методикою серійних послідовних розведень [1]. Для цього до рідких поживних середовищ (м'ясо-пептонний бульйон для бактерій та сусло для дріжджів і грибів) додавали дезінфікуючі засоби з концентрацією діючих речовин у таких співвідношеннях (%): ПГМГ(1); ПГМГ(0,8) і $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (0,2); ПГМГ(0,8) і H_2O_2 (0,2); ПГМГ(0,8) і $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,1) та H_2O_2 (0,1); $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,2); H_2O_2 (0,2) так, щоб загальний об'єм становив 4,5 мл. Потім проводили розведення даного поживного середовища до зменшення концентрації дезінфікуючого засобу у два рази. Таким чином отримували серію послідовних розведень.

В кожне розведення вносили суспензію клітин мікроорганізму (з концентрацією клітин $4-5 \times 10^5$ КУО/см³) у кількості 0,5 мл. Мікроорганізми вирощували за температури: 37°C (*E. coli*), 30°C (*B. subtilis*, *S. aureus*, *C. albicans*), 28°C (*A. niger*) протягом 24 год. Як тест-культури використовували штами таких мікроорганізмів: бактерії – *Echerichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* BT-2, *Staphylococcus aureus* БМС-1, дріжджі *Candida albicans* D-6 та гриби *Aspergillus niger* P-3. Попередню оцінку росту проводили за зміною мутності середовища і відмічали ті пробірки, де ріст був наявний. Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) препаратів розраховували як середнє значення між концентраціями в останній пробірці, де ріст був відсутній і в першій, де ріст був помічений.

Із пробірок, де ріст не був виявлений суспензію висівали на щільні поживні середовища (м'ясо-пептонний агар для бактерій та сусловий агар для грибів та дріжджів). Усі культури крім *Aspergillus niger* висівали глибинним методом. Бактерії і дріжджі вирощували 24 год, *A. niger* – 48 год. Мінімальну бактерицидну концентрацію (МБК) визначали за таким же принципом, що і МІК, тобто за відсутністю росту клітин на щільному поживному середовищі.

Результати та обговорення

В результаті досліджень встановили МІК та МБК досліджуваних розчинів за дією на бактерії (табл.1) та гриби (табл.2).

За стійкістю до дезінфікуючих засобів досліджувані культури бактерій розташовуються в такому порядку: спороутворювальні *B. subtilis*, грамнегативні *E. coli*, спори грибів, грампозитивні *S. aureus*.

B. subtilis в несприятливих умовах утворює термостійкі спори, які можуть витримувати кип'ятіння протягом 20 хв і є стійкими до дії багатьох існуючих дезінфікуючих засобів. Тому було доцільним дослідити дію комбінованих дезінфікуючих засобів на дану культуру. Встановлено, що всі комбіновані розчини концентрацією 9 мкг/мл мали ефективнішу дію на спороутворювальні бактерії порівняно з розчином ПГМГ. Це свідчить про те, що багатокомпонентні розчини мають вищу спороцидну активність.

Таблиця 1. МІК та МБК досліджуваних розчинів щодо бактерій (за ПГМГ)

Тест-культура		<i>E. coli</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>	
Розчин (співвідношення діючих речовин)		МІК	МБК	МІК	МБК	МІК	МБК
		мкг/мл					
1	ПГМГ, H ₂ O ₂ (4:1)	9	19	4,5	9	9	19
2	ПГМГ, (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ (4:1)	19	38	4,5	9	4,5	9
3	ПГМГ, H ₂ O ₂ , (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ (4:0,5:0,5)	9	19	4,5	9	4,5	9
4	ПГМГ	19	38	19	38	9	19

Грампозитивна бактерія *E. coli* є санітарно-показовим мікроорганізмом, наявність якої на об'єктах свідчить про фекальне забруднення. По відношенню до неї найбільш ефективним виявився розчин ПГМГ з перекисом водню та ПГМГ з перекисом і персульфатом, оскільки бактерицидна дія спостерігалася при концентрації 19 мкг/мл, а інгібування – при 9 мкг/мл. У роботі [8] бактерицидна дія на різні штами *E. coli* спостерігалася при 7 мкг/мл, що може бути пов'язано з різним рівнем стійкості штамів *E. coli*. Також відмічено, що МБК розчину ПГМГ є нижчою ніж Катаміну АБ, Амфолану і N-цитилпіридину, бактерицидна дія яких спостерігалася за концентрацій, які були в 2-3 рази вищими. Такі результати можуть свідчити про те, що грамнегативні бактерії є менш чутливими до дії досліджуваних деззасобів, ніж грампозитивні.

Золотистий стафілокок *S. aureus* зустрічається у повітрі, на шкірі тварин, є мешканцем слизових оболонок носоглотки і шкіри. Окрім ентеротоксину, що викликає кишкові отруєння, стафілокок виробляє й інші токсини, що викликають різні захворювання у людини. Розчини ПГМГ з перекисом і персульфатом, ПГМГ з персульфатом проявили інгібування на *S. aureus* при концентрації 4,5 мкг/мл, а бактерицидну дію – при 9 мкг/мл, що вдвічі менше, ніж мінімальні концентрації розчину ПГМГ.

Розчини перекису і персульфату, які використовували для порівняння, виявили біоцидну дію при досить високих концентраціях (200 – 400 мкг/мл) порівняно з усіма іншими розчинами.

Дріжджі *C. albicans* можуть знаходитися на шкірі, у порожнині рота, слині й у мокротинні, однак за певних умов вони можуть викликати такі захворювання як

кандидози. Встановлено, що статична дія відносно них спостерігалася вже за концентрації 2,3 мкг/мл, а за досягнення 4,5 мкг/мл – фунгіцидна. Порівняно з результатами, наведеними в роботі [8] (за використання розчину ПГМГ), антимікробну дію комбінованих розчинів спостерігали за концентрацій, які були в 1,5 рази меншими. Отже, комбіновані розчини на основі ПГМГ мають вищу активність відносно *C. albicans*, ніж розчин полігексаметиленгуанідину.

Таблиця 2. МІК та МБК досліджуваних розчинів щодо грибів (за ПГМГ)

Тест-культура		<i>C. albicans</i>		<i>A. niger</i>	
Розчин (співвідношення діючих речовин)		МКГ/МЛ			
		МІК	МБК	МІК	МБК
1	ПГМГ, H ₂ O ₂ (4:1)	<u>2,3</u>	<u>4,5</u>	43	75
2	ПГМГ, (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ (4:1)	<u>2,3</u>	<u>4,5</u>	75	150
3	ПГМГ, H ₂ O ₂ , (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ (4:0,5:0,5)	<u>2,3</u>	<u>4,5</u>	<u>43</u>	<u>75</u>
4	ПГМГ	<u>4,5</u>	<u>9</u>	75	150

Що ж до мікроміцету *A. niger*, спори якого є стійкими до дії багатьох дезінфікуючих засобів, то ефективними виявилися значно більші концентрації. Фунгістатична дія настає при концентрації 43 мкг/мл, фунгіцидна – 75 мкг/мл (для розчинів ПГМГ з перекисом водню і ПГМГ з перекисом та (NH₄)₂S₂O₈). Порівняно з результатами, наведеними в роботі [11] (190 мкг/мл для ПГМГ) встановлена нами мінімальна фунгіцидна концентрація є набагато нижчою, що свідчить про переваги використання комбінованих дезінфектантів на основі ПГМГ.

Найкращі результати відносно всіх тест-культур мікроорганізмів спостерігали для трьохкомпонентного розчину ПГМГ, H₂O₂, (NH₄)₂S₂O₈, але мінімальні інгібуючі та біоцидні концентрації розчину ПГМГ з перекисом були не набагато нижчими, а у більшості випадків такими, як і у попереднього розчину.

Висновки

В результаті проведених досліджень встановлено мінімальні бактеріостатичні і бактерицидні концентрації розчинів дезінфікуючих засобів для тест-культур *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *C. albicans*, *A. niger*. Серед досліджуваних розчинів, суміш ПГМГ, перексиду та персульфату виявила високий рівень антимікробної активності. Біоцидна дія до цих культур була відмічена при таких концентраціях: 19; 9; 9; 4,5 та 75 мкг/мл відповідно.

Комбіновані розчини на основі ПГМГ мають вищу активність по відношенню до тест-культур бактерій в порівнянні з розчинами індивідуальних речовин. Для того, щоб досягти фунгіцидної дії розчину його концентрація має бути не менше ніж 75 мкг/мл. Тому для повного знищення мікроорганізмів доцільно застосовувати більші концентрації, за яких гинуть представники різних груп мікроорганізмів.

Література

1. Галынкин В.А., Заикина Н.А., Кочеровец В.И. и др. Основы фармацевтической микробиологии – СПб: «Проспект Науки», 2008., – 304с.;
2. Доценко В.А. Практическое руководство по санитарному надзору за предприятиями пищевой и перерабатывающей промышленности, общественного питания и торговли. Учебн. пос. – СПб.: ГИОРД, 2002. – 496 с.;
3. Ефимов К.М., Гембицкий П.А., Снежко А.Г. Полигуанидины – класс малотоксичных дезсредств пролонгированного действия // Дезинфекционное дело. – 2000., – №4.;
4. Легеца К. М. Універсальні засоби дезінфекції: плюси та мінуси // Управління закладом охорони здоров'я. – 2010. – № 1. – С. 64-73
5. Лисиця А.В. Механізми бактерицидної дії полігексаметиленгуанідину // Наукові доповіді НУБіП. – 2011., №3 (25);
6. Малюга В. Д. Оптимизация выбора дезинфицирующих средств// Практика управления медицинским учреждением. – 2011. – №3.
7. Светлов Д. А. Бицидные препараты на основе производных полигексаметиленгуанидина // Жизнь и безопасность, 2005. – № 3-4.;
8. Светлов Д. А., Васильев О. Д., Макаревич Ю. М. Разработка технологии получения биоцидных композиций, содержащих гуанидин
9. Поликарпов Н. Действие ПАГов на микро- и макроорганизмы – две стороны одной медали. // Барьер безопасности. Экологический журнал. -2004. -№1. - с. 9-12.
10. Худяков А.А. Эффективная дезинфекция и подбор дезинфектанта // Ветеринария. – 2010. - № 2. – С. 18-22.
11. Artemova T.Z., Nedachin A.E., Zholdakova Z.I., at al., The problem in the reactivation of microorganisms on evaluating the efficacy of water disinfectants.// Gig. Sanit. – 2010. – Vol. 1. – p. 15-18.
12. Koffi-Nevry R., Manizan A. L., Tano K., at al. Assessment of the antifungal activities of polyhexamethylene-guanidine hydrochloride (PHMGH)-based disinfectant against fungi isolated from papaya (*Carica papaya* L.) fruit// African Journal of Microbiology Research. – 2011. – Vol. 5(24). – pp. 4162-4169.
13. Oulé M.K., Azinwi R., Bernier A.M., at al., Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections // Journal of Medical Microbiology. – 2008. – Vol. 57(12). – p. 1523-1528.
14. Pummi K., Kemppe E., Lammintausta K. Occupational sensitization to polyhexamethylene guanidine hydrochloride in a non-alcoholic hand rub. //Contact Dermatitis. – 2012. – Vol. 66(6). – p. 348-349.
15. Shipskii A.V., Afanas'ev V.V., Polikarpov N.A. at al. Comparative analysis of antimicrobial action of polyhexametylenguanide hydrochloride (Biopag) and chlorhexidine bigluconate upon potential infectious agent of suppurative-inflammatory diseases of maxillo-facial region and neck // Stomatologija (Mosk). – 2007. – Vol. 86(3). – p. 46-50.
16. Marinova E., Ditchev S. Requirements for hygienic design of technological equipment in the food industry/ Journal of Food and Packaging Science, Technique and Technologies. –Vol.2. – Is. 1, Pp. 36-42.

References

1. Galynkin V.A., Zaikina N.A., Kocherovets V.I. (2008), *Osnovy farmatsevticheskoy mikrobiologii*, Sankt-Peterburg.
2. Dotsenko V.A. (2002), *Prakticheskoe rukovodstvo po sanitarnomu nadzoru za predpriyatiyami pishchevoy i pererabatyvayushchey promyshlennosti, obshchestvennogo pitaniya i trgovki*, Sankt-Peterburg.
3. Efimov K.M., Gembitskiy P.A., Snezhko A.G. (2000), Poliguanidiny – klass malotoksichnykh dezсредstv prolongirovannogo deystviya, *Dezinfiksionnoe delo*, 4.
4. Leheza K. M. (2010), Universalni zasoby dezinfektsii: plusy ta minusy, *Upravlinnia zakladom okhorony zdorovia*, 1, pp. 64-73.
5. Lysytsia A.V. (2011), Mekhanizmy bakterytsydnoi dii poliheksametylenhuanidynu, *Naukovi dopovidi NUBiP*, 3(25).
6. Mal'yuga V. D. (2011), Optimizatsiya vybora dezinfitsiruyushchikh sredstv, *Praktika upravleniya meditsinskim uchrezhdeniem*, 3.

7. Svetlov D. A. (2005), Biotsidnye preparaty na osnove proizvodnykh poligeksametilenguanidina, *Zhizn' i bezopasnost'*, 3(4).
8. Svetlov D. A., Vasil'ev O. D., Makarevich Yu. M. (2004). *Razrabotka tekhnologii polucheniya biotsidnykh kompozitsiy, sodержashchikh guanidin.*
9. Polikarpov N. (2004), Deystvie PAGov na mikro- i makroorganizmy - dve storony odnoy medali, Bar'er bezopasnosti, *Ekologicheskii zhurnal*, 1, pp. 9-12.
10. Khudyakov A.A. (2010), Effektivnaya dezinfektsiya i podbor dezinfektanta, *Veterinariya*, 2, pp. 18-22.
11. Artemova T.Z., Nedachin A.E., Zholdakova Z.I. (2010), The problem in the reactivation of microorganisms on evaluating the efficacy of water disinfectants, *Gig. Sanit*, 1, pp. 15-18.
12. Koffi-Nevry R., Manizan A. L., Tano K. (2011), Assessment of the antifungal activities of polyhexamethylene-guanidine hydrochloride (PHMGH)-based disinfectant against fungi isolated from papaya (*Carica papaya* L.) fruit, *African Journal of Microbiology Research*, 5(24), pp. 4162-4169.
13. Oulé M.K., Azinwi R., Bernier A.M. (2008), Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections, *Journal of Medical Microbiology*, 57(12), pp. 1523-1528.
14. Pummi K., Kemppe E., Lammintausta K. (2012), Occupational sensitization to polyhexamethylene guanidine hydrochloride in a non-alcoholic hand rub, *Contact Dermatitis*, 66(6), pp. 348-349.
15. Shipskii A.V., Afanas'ev V.V., Polikarpov N.A. (2007), Comparative analysis of antimicrobial action of polyhexamethylenguanide hydrochloride (Biopag) and chlorhexidine bigluconate upon potential infectious agent of suppurative-inflammatory diseases of maxillo-facial region and neck, *Stomatologiya (Mosk)*, 86(3), pp. 46-50.
16. Marinova E., Dichev S. (2013), Requirements for hygienic design of technological equipment in the food industry, *Journal of Food and Packaging Science, Technique and Technologies*, 2(1), pp. 36-42.