

Морфофункциональные особенности высокочувствительных к дезинфицирующим средствам бактерий *Escherichia coli* K-12 при воздействии дезинфицирующего средства «Тотус»

В.Н.Герасимов¹, А.Е.Конев², Н.Б.Роганова², Р.Л.Гутерман², А.И.Комарова²,
Н.В.Киселева¹, Е.В.Быстрова¹, Ю.В.Герасимова¹, С.А.Котов¹, М.В.Храмов¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Российская Федерация;

²ООО «МК ВИТА-ПУЛ», Москва, Российская Федерация

Приведены результаты сравнительных исследований воздействия дезинфицирующего средства «Тотус», содержащего в качестве действующих веществ алкилдиметилбензиламмоний хлорид (5,0%) и алкилдиамин ацетат (5,5%), на культуру *Escherichia coli* K-12, выбранную в качестве тест-микроорганизма, имитирующего высокочувствительные бактерии возбудителей опасных и особо опасных инфекций к действию различных дезинфицирующих средств. С помощью микробиологических, физико-химических и электронно-микроскопических методов установлено, что механизм действия дезинфицирующего средства связан с проникновением средства через цитоплазматическую мембрану. Механизм гибели *E. coli* запускается через 15 мин после начала обработки микробных клеток 0,05% рабочим раствором дезинфицирующего средства. Потеря жизнеспособности клеток наблюдается к концу 45-минутной инкубации (микробиологический метод), в то время как полное лизирование культуры происходило через 60 мин (физико-химический метод), а полное отсутствие интактных клеток – через 60–120 мин (электронно-микроскопическое исследование).

Ключевые слова: дезинфицирующее средство, микробиологические, физико-химические, электронно-микроскопические методы исследований, ультраструктура клеток

Для цитирования: Герасимов В.Н., Конев А.Е., Роганова Н.Б., Гутерман Р.Л., Комарова А.И., Киселева Н.В., Быстрова Е.В., Герасимова Ю.В., Котов С.А., Храмов М.В. Морфофункциональные особенности высокочувствительных к дезинфицирующим средствам бактерий *Escherichia coli* K-12 при воздействии дезинфицирующего средства «Тотус». Бактериология. 2017; 2(2): 59–65. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-2-59-65

Morfo-functional features of highly sensitive to disinfectants bacteria *Escherichia coli* K-12 after influence of disinfectant «Totus»

V.N.Gerasimov¹, A.E.Konev², N.B.Roganova², R.L.Guterman², A.I.Komarova²,
N.V.Kiseleva¹, E.V.Bystrova¹, Yu.V.Gerasimova¹, S.A.Kotov¹, M.V.Khramov¹

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology" Rosпотребнадзор, Obolensk, Russian Federation;

²«МК ВИТА-ПУЛ», Ltd., Moscow, Russian Federation

Antimicrobial effect of disinfectant of «TOTUS» containing alkyldimethylbenzylammonium chloride (5,0%) and alkyldiamin acetate (5,5%) on the culture of *Escherichia coli* K-12 has been investigated. Effect of the disinfectant is caused by penetration of the agent through a cytoplasmic membrane. Depression of viability of *E. coli* is observed under the influence of 0,05% of the disinfectant within 15 min. The microbiological method showed that the death of cells is observed in 45 minutes. The culture lysis is recorded in 60 min (method Lowry), and total absence of living cells in 60-120 min (submicroscopy).

Keywords: disinfectant, microbiological method, submicroscopy method, metastructure of cells

For citation: Gerasimov V.N., Konev A.E., Roganova N.B., Guterman R.L., Komarova A.I., Kiseleva N.V., Bystrova E.V., Gerasimova Yu.V., Kotov S.A., Khramov M.V. Morfo-functional features of highly sensitive to disinfectants bacteria *Escherichia coli* K-12 after influence of disinfectant «Totus». Bacteriology. 2017; 2(2): 59–65. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2017-2-59-65

Для корреспонденции:

Герасимов Владимир Николаевич, доктор биологических наук, заведующий отделом дезинфектологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н., пос. Оболensk, ФБУН ГНЦ ПМБ

Телефон: (4967) 31-2044

E-mail: ilcvngerasimov@obolensk.org

Статья поступила 12.12.2016 г., принята к печати 30.06.2017 г.

For correspondence:

Vladimir N. Gerasimov, Dr. Sci (Biol.), Head of Desinfectology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Address: SRCAMB, 142279, Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation

Phone: (4967) 31-2044

E-mail: ilcvngerasimov@obolensk.org

The article was received 12.12.2016, accepted for publication 30.06.2017

Усовершенствование разработчиками дезинфицирующих средств проводится в нескольких направлениях: создание новых композиций из существующих действующих веществ; введение в состав дезинфицирующих средств синергетических добавок, усиливающих действие активных компонентов; использование в качестве действующих веществ новых химических субстанций.

В 2014 г. медицинской компанией «ВИТА-ПУЛ» разработано новое дезинфицирующее средство «ТОТУС», в котором впервые на отечественном рынке использована композиция, содержащая алкилдиметилбензиламмоний хлорид (5,0%) и алкилдиамин ацетат (5,5%), полученный в результате реакции взаимодействия алкилдиамина с уксусной кислотой.

Дезинфицирующее средство «ТОТУС» обладает антимикробной активностью в отношении возбудителей бактериальных инфекций, в том числе возбудителей особо опасных инфекций и туберкулеза, а также в отношении вирусов и грибов.

Средство предназначено для текущей и профилактической дезинфекции различных объектов в медицинских организациях, в т.ч. медицинских инструментов, включая эндоскопы; для обеззараживания медицинских отходов и биологических выделений.

В современных условиях большое значение уделяется изучению механизма действия дезинфицирующих средств, что обуславливает актуальность исследований по оценке воздействия средств на процесс разрушения бактериальных клеток [1]. Механизм действия дезинфицирующих средств определяется природой активного химического соединения и может быть связан с повреждением поверхностных структур (клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана), инактивацией ферментов, нарушением метаболизма и другими факторами. Так, при воздействии хлорсодержащих соединений происходит окисление белков и других компонентов клетки [2]. Поверхностно-активные вещества (ПАВ), как показали экспериментальные данные, повреждают цитоплазматические мембраны микроорганизмов, их антимикробная активность зависит от величины длинноцепочечного алкильного радикала [3, 4]. Производные гуанидина, по своей химической природе относящиеся к высокомолекулярным катионным ПАВ, избирательно взаимодействуют с карбоксильными группами аминокислот и кислых полисахаридов клеточной мембраны, что приводит к коагуляции содержимого микробных клеток. Эффективность дезинфицирующих средств на основе третичных алкиламинов связана с тотальным разрушением структурных компонентов клеток [5]. Кислородсодержащие соединения образуют свободные радикалы, которые повреждают белки и липиды цитоплазматических мембран, ДНК и другие компоненты микробной клетки [6].

В основе механизма действия альдегидсодержащих соединений лежит взаимодействие с амино- и сульфгидрильными группами белков, в результате чего происходит их денатурация.

Поскольку алкилдиамин ацетат является новой действующей субстанцией, то целью наших исследований было изучение особенностей взаимодействия дезинфицирующего средства «ТОТУС» с высокочувствительными к дезинфицирующим средствам клетками *E. coli* K-12.

Материалы и методы

В работе исследовали антимикробную активность дезинфицирующего средства «ТОТУС». Концентрация рабочего раствора равнялась 0,05%, время обработки от 15 до 120 минут. В качестве тестируемого микроорганизма выбрали культуру *Escherichia coli* K-12, полученную из музея ФБУН ГНЦ ПМБ, имитирующую высокочувствительные к различным дезинфицирующим средствам бактерии возбудителей колибактериоза, сальмонеллеза, инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) и др.

Исследование проводили с использованием микробиологических, физико-химических и электронно-микроскопических методов (табл. 1).

Культивирование *E. coli*. Подготовку образцов для детальных испытаний выполняли согласно Руководству Р 4.2.2643-10 [7]. С этой целью культуру выращивали на чашках Петри с плотной питательной средой ГРМ (производство ФБУН ГНЦ ПМБ) при температуре 37°C в течение 24 часов. Для приготовления рабочей суспензии суточную культуру смывали стерильным физиологическим раствором и разбавляли до концентрации 1×10^{10} кл/см³, соответствующей БАК-10 по оптическому стандарту мутности.

Обработка дезинфицирующим средством. В центрифужные пробирки вносили по 5,4 см³ дезинфицирующего средства рабочей концентрации и 0,6 см³ суспензии культуры (соотношение 9 : 1). Получали ряд проб суспензии культуры с концентрацией 1×10^9 кл/см³ в рабочем растворе дезинфицирующего средства. Образцы инкубировали 15, 30, 45, 60 и 120 мин при комнатной температуре. После этого часть суспензии отбирали для микробиологических исследований. Оставшуюся биомассу центрифугировали в течение 10 мин (центрифуга Beckman coulter, частота вращения 6000 об/мин) и из нее готовили образец для физико-химических и электронно-микроскопических исследований.

Определение жизнеспособности микроорганизмов микробиологическим методом. Для оценки эффективности действия дезинфицирующего средства 0,5 см³ взвеси культуры 1×10^{10} кл/см³ в рабочем растворе дезинфицирующего средства вносили в 4,5 см³ физиологического раствора и,

Таблица 1. Материалы и методы, применяемые в изучении антимикробного воздействия дезинфицирующего средства «ТОТУС» на бактерии *Escherichia coli* K-12

Дезинфицирующее средство, режим воздействия	Методы исследования	Проба	Критерии
«ТОТУС»	Микробиологический	Суспензия	Титр жизнеспособных бактерий
Концентрация рабочего раствора 0,05%	Физико-химический	Надосадочная жидкость	Концентрация белка и ДНК
Время выдержки 15–120 мин	Электронно-микроскопический	Ультратонкие срезы образцов осадка суспензии	Степень повреждения бактерий на основании цитоструктурных критериев

используя метод десятикратных серийных разведений, титровали до концентрации 10^2 кл/см³. Пробы высевали на чашки Петри с твердой питательной средой ГРМ. Учет результатов проводили через 24–48 ч.

Подготовка образцов для физико-химических исследований. Надосадочную жидкость пропускали через стерильную фильтрующую насадку фирмы CORNING с диаметром пор 0,2 мкм. После фильтрации жидкость исследовали на отсутствие живых бактерий. Далее в полученном лизате определяли концентрацию белка по методу Лоури [8], концентрацию ДНК – спектрофотометрически на длине волны 260 нм, предварительно разрушив белки протеиназой К в щелочных условиях. Для контроля разрушения белков растворы бактериальных лизатов анализировали на длине волны 260 нм и 280 нм и по соотношению A260/A280 определяли чистоту ДНК. Во всех опытах соотношение A260/A280 превышало 2, что свидетельствовало об эффективности разрушения белка и соответствовало стандартным требованиям, предъявляемым к ДНК.

Пробоподготовка для электронно-микроскопических исследований. К осадку биомассы *E. coli*, обработанной дезинфицирующим средством «ТОТУС», добавляли 5,4 см³ нейтрализатора, тщательно перемешивали, инкубировали 5 мин и повторно центрифугировали в течение 10 мин (частота вращения 6000 об/мин). Надосадочную жидкость удаляли, а к осадку добавляли 0,5 см³ 4% раствора глутарового альдегида в 0,2 М Na-какодилатном буфере pH 7,2. Фиксацию проводили в течение ночи при температуре 4°C. Дополнительную фиксацию проводили в 4% водном растворе оксида осмия (VIII) на буфере Райтер-Келленберга в течение ночи при температуре 4°C. После фиксации и отмывки в буфере микробные клетки дегидратировали в растворе этилового спирта возрастающей концентрации: по 15 мин в 30%, 50%, 70%, 95% спирте и 20 мин – в абсолютном спирте при его трехкратной смене. Далее образцы пропитывали смесями абсолютного этанола и аралдита (соотношения 3 : 1; 1 : 1; 1 : 3) при 37°C в течение суток, затем переносили в чистый аралдит и выдерживали в вакууме (10^{-2} торр) 1,5 ч при температуре 37°C. Заливали образцы аралдитом и полимеризовали при температуре 40°C в течение ночи, затем при температуре 60°C в течение

1 сут и при температуре 90°C в течение 2 сут. Срезы фиксированной биомассы получали стеклянным ножом на ультрамикротоме Ultracut (Reichert Jung, Австрия). Срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе H-300 (Hitachi, Япония) при ускоряющем напряжении 75 кВ и увеличении от 15000 до 30000 крат, а также в просвечивающем электронном микроскопе FEI Tecnai G2 Spirit BioTWIN (FEI, Голландия, США).

Определение степени повреждения микроорганизмов методом электронной микроскопии. В основе метода электронно-микроскопического определения степени нарушения структуры и изменения жизненно важных органоидов бактерий лежит просмотр ультратонких срезов образцов и оценка состояния отдельных микроорганизмов биомассы на основании цитоструктурных критериев.

С этой целью каждый образец фотографировали по 15–20 раз, выбирая при этом случайные поля, на которых присутствовало 15–30 клеток. Полученные фотонегативы с изображением срезов бактерий помещали на световой экран и с помощью лупы просматривали ультраструктуру каждой клетки. Анализировали только те клетки, на срезах которых выявляли клеточную стенку, цитоплазму и нуклеоид.

По признаку морфологической целостности клетки разделяли на 2 основные группы:

- интактные или неповрежденные клетки;
- поврежденные клетки, имеющие обратимые и необратимые повреждения.

Интактные клетки характеризуются наличием неповрежденной клеточной стенки с четким, непрерывным, трехслойным контуром внешней и цитоплазматической мембраны, отсутствием выраженного периплазматического пространства, так как клеточная стенка плотно прилегает к протопласту. При этом цитоплазма интактных клеток имеет гомогенное, мелкогранулярное строение средней электронной плотности, а нуклеоид – тонкое фибриллярное строение в виде компактной зоны, отличающейся по плотности от окружающей цитоплазмы.

В группу бактерий с повреждениями ультраструктуры входят:

- клетки, имеющие разрыв внешней мембраны, но сохранившие целостность цитоплазматической мембраны и с нарушенным строением цитоплазмы и нуклеоида;
- клетки с разрывом всех слоев клеточной стенки с истечением цитоплазмы и ее деструктивным изменением, а также с повреждением нуклеоида.

Таблица 2. Результаты количественной оценки воздействия 0,05% раствора дезинфицирующего средства «ТОТУС» на клетки культуры *Escherichia coli* K-12, полученные микробиологическим и физико-химическим методами

Время выдержки, мин	Титр живых клеток в суспензии, кл/см ³	Концентрация белка, мг/см ³	Концентрация ДНК, мкг/см ³
0	1×10^9	$0,13 \pm 0,03$	$25,1 \pm 3,0$
15	$1,7 \times 10^8$	$0,36 \pm 0,03$ (60%)	$61,5 \pm 3,1$
30	$8,3 \times 10^7$	$0,50 \pm 0,03$	$69,5 \pm 3,5$
45	0	$0,57 \pm 0,03$	$84,2 \pm 4,4$
60	0	$0,60 \pm 0,03$ (100%)	$102,3 \pm 4,5$
120	0	$0,60 \pm 0,03$	$102,6 \pm 4,8$

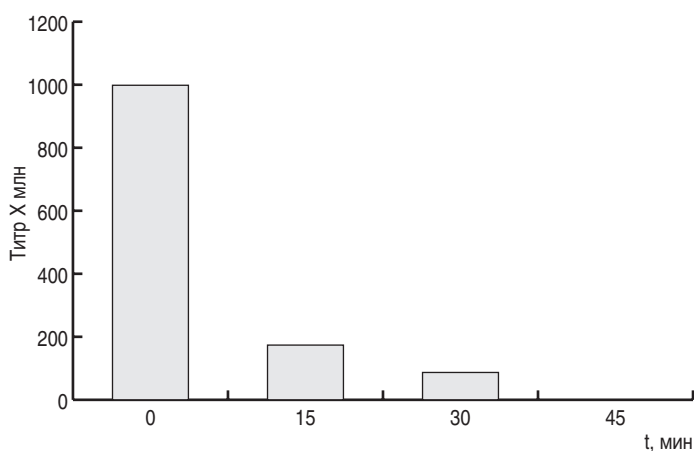


Рис. 1. Изменение титра живых клеток культуры *E. coli* K-12 в процессе обработки 0,05% раствором дезинфицирующего средства «ТОТУС».

После визуальной оценки фотографий, сделанных с помощью электронного микроскопа, проводили статистическую обработку результатов. В результате просмотра фотографий было отобрано около 500 изображений бактерий. С помощью методики цитологической оценки качества микробных клеток регистрировали количество клеток с интактной структурой.

На основании полученных результатов строили диаграммы, наглядно демонстрировавшие уровень повреждения единиц биомассы.

Результаты и обсуждение

Микробные клетки *E. coli* К-12 обрабатывали 0,05% раствором дезинфицирующего средства «ТОТУС». Концентрация рабочего раствора дезинфицирующего средства была выбрана сублетальной, при которой имелась возможность с течением времени в процессе обработки наблюдать динамику разрушения клеток, которая регистрировалась микробиологическими, физико-химическими и электронно-микроскопическими методами. В таблице 1 представлены критерии оценки жизне-

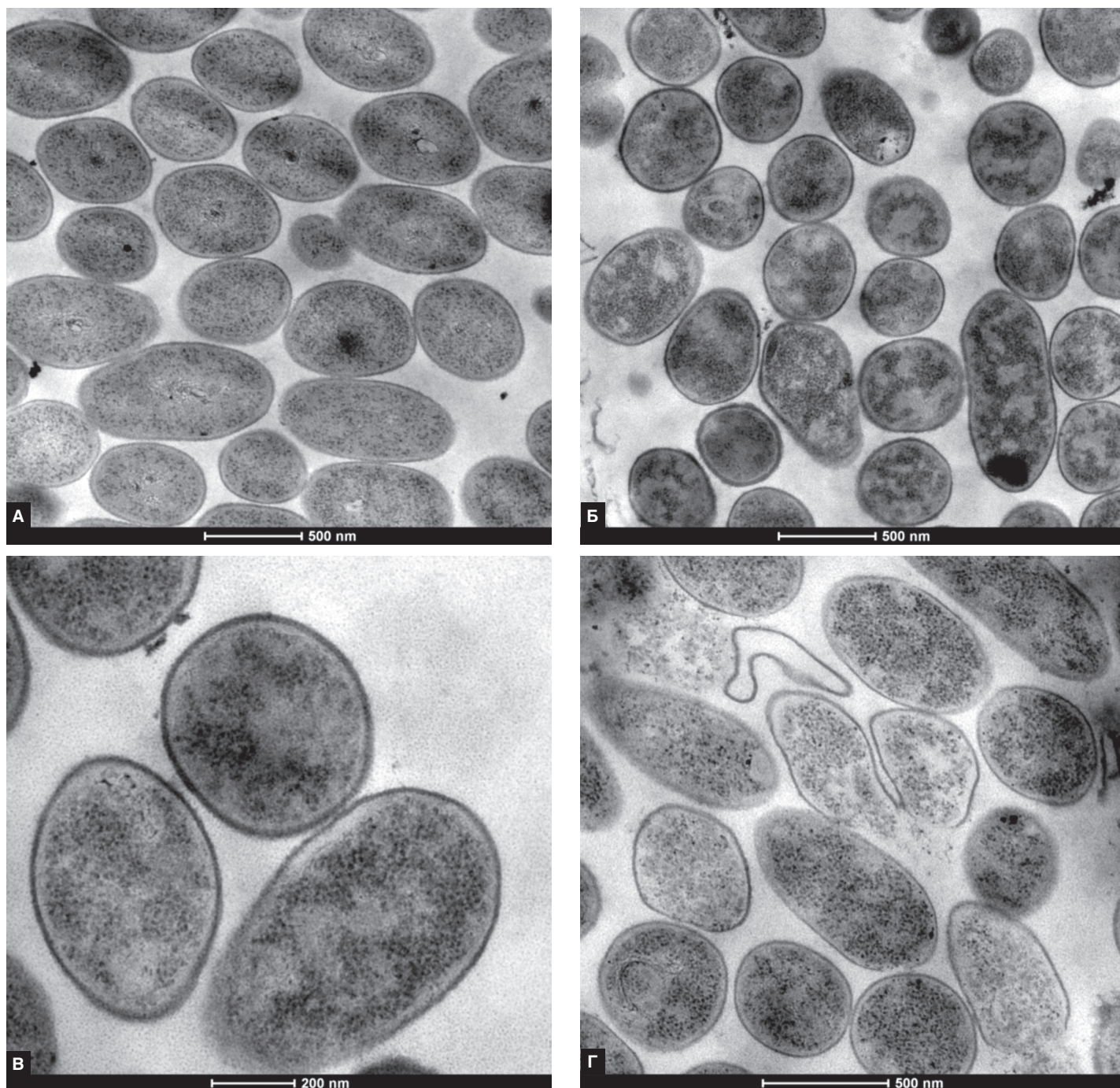


Рис. 2. Электронно-микроскопическое изображение ультратонких срезов бактерий *Escherichia coli* К-12 в просвечивающем электронном микроскопе FEI Tecnai G2 Spirit BioTWIN, обработанных 0,05% раствором дезинфицирующего средства «ТОТУС»: А – бактерии до контакта с дезинфектантом (контроль); Б, В – бактерии, обработанные дезинфицирующим средством в течение 15 мин; Г – бактерии, обработанные дезинфицирующим средством в течение 30 мин. Большая часть бактерий имеют необратимые структурные повреждения или разрушены.

способности бактерий, методы и методические подходы, с помощью которых изучались те или иные параметры.

Жизнеспособность биомассы микробных клеток оценивалась, прежде всего, микробиологическим методом. Титр жизнеспособных бактерий в суспензии, обработанной рабочим раствором дезинфицирующего средства, представлен в таблице 2. Полученные результаты свидетельствуют о том, что после 15 мин обработки 0,05% раствором происходит заметное изменение состояния бактерий *E. coli*. Титр культуры снижается в 5 раз и составляет $1,7 \times 10^8$ кл/см³ (титр ис-

ходной культуры $1,0 \times 10^9$ кл/см³). Полная инаktivация микроорганизмов наблюдается после 45 мин инкубации с дезинфицирующим средством.

На рисунке 1 представлена диаграмма, наглядно демонстрирующая изменение титра культуры *E. coli* в процессе обработки 0,05% раствором дезинфицирующего средства «ТОТУС».

Физико-химические исследования лизата клеток *E. coli*, обработанных 0,05% раствором средства в течение 15 мин, показали, что жидкая фракция содержала значительное

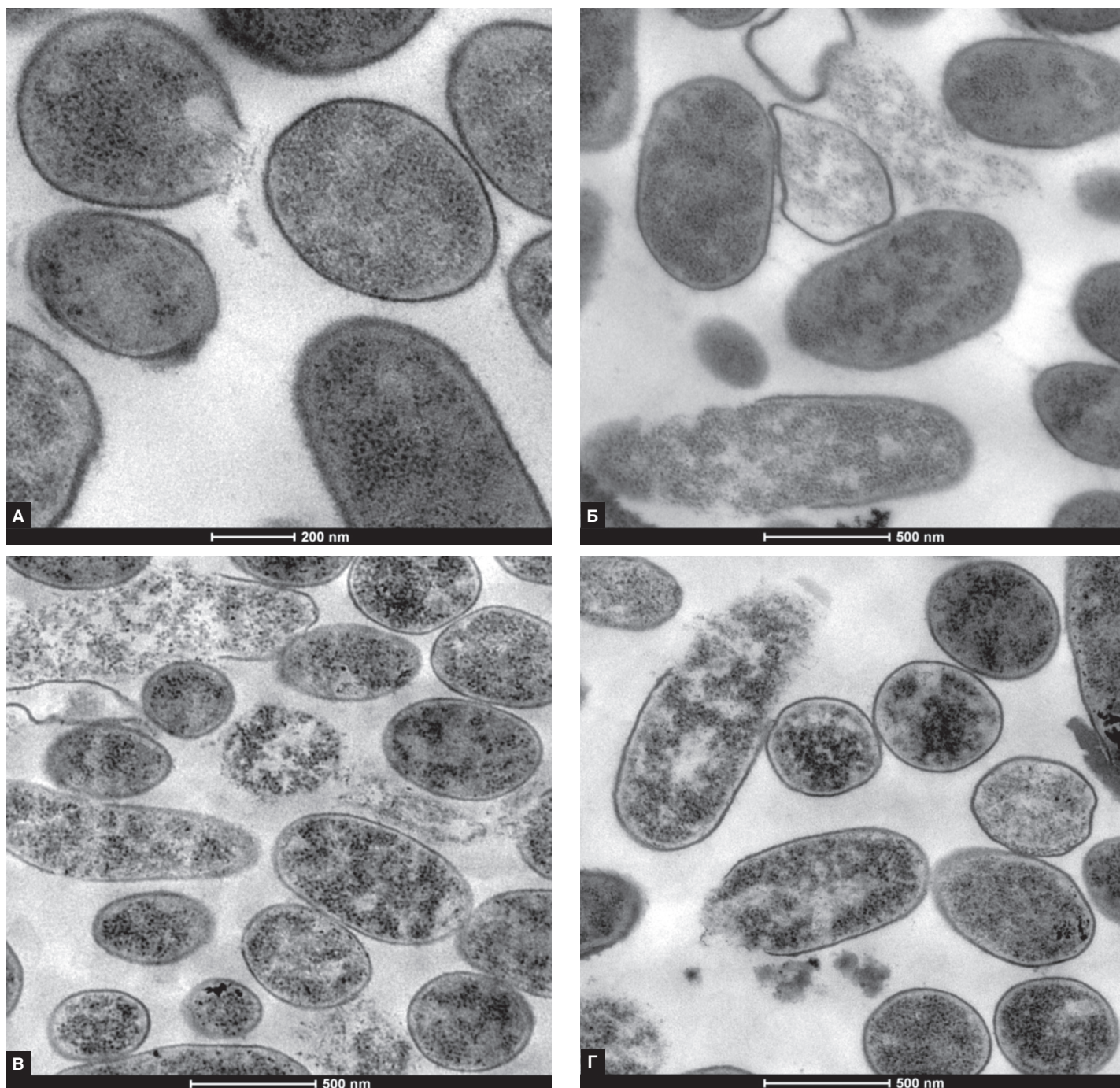


Рис. 3. Электронно-микроскопическое изображение ультратонких срезов бактерий *Escherichia coli* K-12 в просвечивающем электронном микроскопе FEI Tecnai G2 Spirit BioTWIN, обработанных 0,05% раствором дезинфицирующего средства «ТОТУС»: А – клетки, обработанные дезинфицирующим средством в течение 45 мин; Б – бактерии, обработанные дезинфицирующим средством в течение 60 мин; В, Г – бактериальные клетки через 120 мин воздействия дезинфицирующим средством. Все микробы на этой стадии воздействия дезинфицирующим средством повреждены или разрушены.

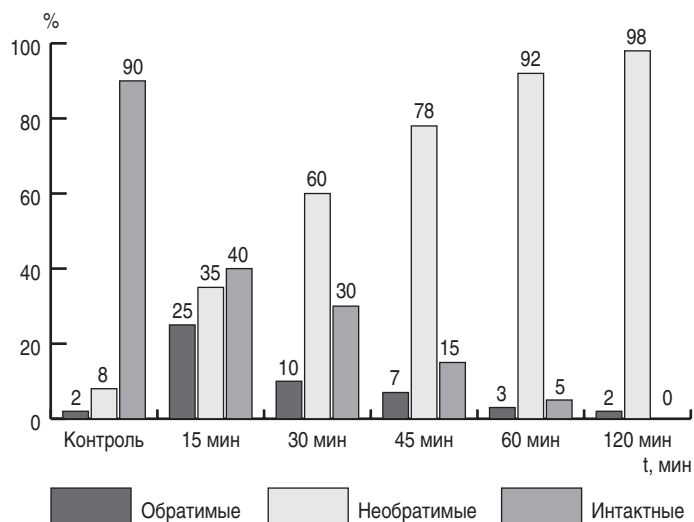


Рис. 4. Динамика изменения количества неповрежденных (интактных) и поврежденных клеток *Escherichia coli* K-12 в процессе воздействия 0,05% раствором дезинфицирующего средства «Тотус».

количество белка и ДНК. На этом этапе количество общего белка равнялось $0,36 \pm 0,03$ мг/см³ и составляло 60% от максимального содержания белка в полностью лизированной культуре (табл. 2). По результатам физико-химических исследований полный лизис клеток *E. coli* наблюдался через 60 мин после начала обработки культуры дезинфицирующим средством. Напротив, результаты посева культуры показали, что микробные клетки потеряли жизнеспособность уже к окончанию 45-минутной инкубации. Разночтение микробиологических и физико-химических результатов объясняется тем, что к окончанию 45-минутной инкубации цитоплазматическая мембрана части микроорганизмов не была разрушена, и содержимое (белки и ДНК) оставалось внутри клеток, однако при сохранении целостности мембранных структур микроорганизмы уже потеряли свою жизнеспособность.

Наглядное представление изменений, происходящих внутри клеток *E. coli*, было получено при анализе электронно-микроскопических фотографий, позволяющих наблюдать трансформацию клеток в процессе воздействия дезинфицирующего средства (рис. 2, 3).

По данным электронной микроскопии бактерии исходной (контрольной) культуры *E. coli* имели тонкую структуру, типичную для грамотрицательных бактерий: клеточная оболочка, состоящая из тонкой, слегка извилистой внешней мембраны, тонкого пептидогликанового слоя и сравнительно гладкой цитоплазматической мембраны, цитоплазмы, упакованной различными глобулярными и фибриллярными компонентами. Внутриклеточный мембранный аппарат был слабо развит.

Динамика уменьшения количества интактных клеток культуры *E. coli* после воздействия на них 0,05% раствором дезинфицирующего средства «ТОТУС» в течение времени выдержки 15–120 мин представлена на рисунке 4.

Как свидетельствуют электронно-микроскопические исследования, механизм гибели клеток *E. coli* запускался через 15 мин после начала воздействия дезинфицирующего средства. В этот момент времени количество интактных кле-

ток составляло 40% от первоначального количества, что свидетельствовало о проникновении дезинфицирующего средства через цитоплазматическую мембрану. При увеличении времени экспозиции до 30, 45, 60, 120 мин после начала обработки культуры дезинфицирующим средством количество интактных клеток продолжало снижаться и составило 30, 15, 5 и 0% соответственно. В контроле количество жизнеспособных клеток равнялось 90%.

Выводы

1. Проведена сравнительная оценка воздействия дезинфицирующего средства «ТОТУС», содержащего в качестве действующих веществ алкилдиметилбензиламмоний хлорид (5,0%) и алкилдиамин ацетат (5,5%), на *Escherichia coli* K-12 микробиологическим, физико-химическим и электронно-микроскопическим методами.

2. Определение выживаемости тест-микроорганизма микробиологическим методом показало, что гибель клеток *E. coli* K-12 достигается к окончанию 45-минутной инкубации с дезинфицирующим средством.

3. По результатам физико-химических исследований полное лизирование культуры *E. coli* K-12 происходит через 60 мин после начала воздействия дезинфицирующего средства.

4. Ультраструктурные изменения, выявленные с использованием электронно-микроскопических исследований, свидетельствовали о полном отсутствии интактных клеток *E. coli* K-12 через 120 мин времени воздействия дезинфицирующего средства.

5. В результате исследований установлено, что механизм действия дезинфицирующего средства «ТОТУС» связан с проникновением средства через цитоплазматическую мембрану.

6. Применение микробиологических, физико-химических и электронно-микроскопических исследований в области создания современных дезинфицирующих средств направлено на повышение надежности профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Литература

- Шестопалов НВ, Шандала МГ. Молекулярно-биологические аспекты дезинфектологии: состояние и задачи углубленной разработки. Дезинфекционное дело. 2013;3:17-21.
- Федорова ЛС. Теория и практика совершенствования дезинфицирующих средств. М.: «Медицина», 2006, 216 с.
- Крученко ТБ. Перспективы развития исследований по механизму действия дезинфицирующих средств. Теория и практика дезинфекции и стерилизации. 1983, с. 8-11.
- Крученко ТБ. Научные основы направленного поиска новых дезинфицирующих средств и изучение механизма их действия. Проблемы дезинфекции и стерилизации. 1985, с. 6-13.
- Диденко ЛВ, Кардаш ГГ, Смирнова ТА, и др. Изучение механизма действия третичных алкиламинов на клинических изолятах *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Дезинфекционное дело. 2015;1:32-6.
- Самойленко ИИ, Васильева ЕИ, Павлова ИБ, Туманян МА. Механизмы бактерицидного действия перекиси водорода. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1983;12:30-3.
- Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности: Руководство Р 4.2.2643-10:

утверждено Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г.Онищенко 01.06.2010.

8. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with Folinphenolreagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-75.

References

1. Shestopalov NV, Chandala MG. Molecular biological aspects of disinfectology: state and tasks of in-depth development. *Dezinfektsionnoe delo (Disinfection Affairs)*. 2013;3:17-21. (In Russian).
2. Fedorova LS. *Teoriya i praktika soverchenstvovaniya dezinficiruyuschih sredstv [Theory and practice of perfection of disinfectants]*. Moscow: "Medicine" Publ., 2006, 216 p. (In Russian).
3. Kruchenok TB. Prospects for the development of research on the mechanism of action of disinfectants. *Teoriya i praktika desinfekcii i sterilizatsii (Theory and practice of disinfection and sterilization)*. 1983, pp. 8-11. (In Russian).
4. Kruchenok TB. Scientific bases of directed search of new disinfectants and study of the mechanism of their action. *Problemi dezinfekcii i sterilizatsii (Problems of disinfection and sterilization)*. 1985, pp. 6-13. (In Russian).
5. Didenko LV, Kardash GG, Smirnova TA, et al. Studing the action mechanism of tertiary alkylamines on clinical isolates *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Dezinfektsionnoe delo (Disinfection Affairs)*. 2015;1:32-6. (In Russian).
6. Samoilenko II, Vasileva EI, Pavlova IB, Tumanian MA. The mechanisms of bactericidal action of hydrogen peroxide. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*. 1983;12:30-3. (In Russian).
7. Methods of laboratory research and testing of disinfectants to assess their effectiveness and safety: Guide P 4.2.2643-10: approved by the Head of Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Chief State Sanitary Doctor of Russia G.G.Onishchenko 01.06.2010. (In Russian).
8. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with Folinphenolreagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-75.

Информация об авторах:

Конев Александр Евгеньевич, генеральный директор ООО «МК ВИТА-ПУЛ»
Адрес: 125212, Москва, ул. Выборгская, 16, стр. 1
Телефон: (495) 514-1900

Роганова Наталья Борисовна, кандидат химических наук, главный химик-эксперт ООО «МК ВИТА-ПУЛ»
Адрес: 125212, Москва, ул. Выборгская, 16, стр. 1
Телефон: (495) 514-1900

Гутерман Раиса Лазаревна, кандидат медицинских наук, научный консультант ООО «МК ВИТА-ПУЛ»
Адрес: 125212, Москва, ул. Выборгская, 16, стр. 1
Телефон: (495) 514-1900

Комарова Александра Игоревна, ведущий химик-эксперт ООО «МК ВИТА-ПУЛ»
Адрес: 125212, Москва, ул. Выборгская, 16, стр. 1
Телефон: (495) 514-1900

Киселева Наталья Владимировна, ведущий инженер отдела дезинфектологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 31-2044

Быстрова Елена Владимировна, научный сотрудник отдела дезинфектологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»

Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 31-2044

Герасимова Юлия Владимировна, инженер отдела дезинфектологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 31-2044

Котов Сергей Анатольевич, инженер отдела дезинфектологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 31-2044

Храмов Михаил Владимирович, заместитель директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0017

Information about authors:

Aleksandr E. Konev, Managing Director of VITA-POOL MK Co., Ltd.
Address: 16/1, ul. Vyborgskaya, Moscow, 125212, Russian Federation
Phone: (495) 514-1900

Natalya B. Roganova, Ph in Chemical sciences, Senior chemist-expert of VITA-POOL MK Co., Ltd.
Address: 16/1, ul. Vyborgskaya, Moscow, 125212, Russian Federation
Phone: (495) 514-1900

Raisa L. Guterman, Ph in Medical sciences, Scientific consultant of VITA-POOL MK Co., Ltd.
Address: 16/1, ul. Vyborgskaya, Moscow, 125212, Russian Federation
Phone: (495) 514-1900

Alexandra I. Komarova, Leading chemist-expert of VITA-POOL MK Co., Ltd.
Address: 16/1, ul. Vyborgskaya, Moscow, 125212, Russian Federation
Phone: (495) 514-1900

Natalia V. Kiseleva, Leading engineer of Desinfectology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB, 142279, Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 31-2044

Elena V. Bystrova, Saentist of Desinfectology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB, 142279, Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 31-2044

Yulia V. Gerasimova, Engineer of Desinfectology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB, 142279, Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 31-2044

Sergey A. Kotov, Engineer of Desinfectology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB, 142279, Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 31-2044

Mihail V. Khrarov, Ph in Medical sciences, Deputy Director State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB, 142279, Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0017