

VOJENSKÉ ZDRAVOTNICKÉ LISTY

ROČNÍK XXXIII

DUBEN 1964

ČÍSLO 2

615.777:547.292-939

NOVÉ VÝSLEDKY STUDIA DEZINFEKČNÍHO ÚČINKU KYSELINY PEROCTOVÉ

Podplukovník MUDr. Bohumil TICHÁČEK, CSc.

V roce 1962 jsme předložili první výsledky prověrky kyseliny peroctové z hlediska jejího využití v dezinfekci⁹. Spolu s mikrobiologickým ohodnocením jsme prověřili i její laboratorní přípravu reakcí acetanhydridu s peroxydem vodíku a metodu jejího analytického stanovení. V další etapě ověřování vlastností kyseliny peroctové jsme se zaměřili na základní obecné ohodnocení kyseliny peroctové vyráběné reakcí kyseliny octové s peroxydem vodíku.

Materiál, metodika a výsledky

Kyselina peroctová byla připravena reakcí 30% peroxydu vodíku s kyselinou octovou. Koncentrace kyseliny peroctové i pracovních roztoků byly průběžně ověřovány jodometricky⁶.

Základní kvalitativní i kvantitativní pokusy a stanovení potřebných koeficientů byly prováděny standardní technikou pomocí skleněných kuliček se zdrsňelým povrchem. Tato metodika, odvozená od původní Patočkovy metody skleněných perel⁷, slouží nám po modifikaci zatím jako nejspolehlivější pracovní postup, zejména pro kvantitativní pokusy⁹. V této části práce bylo provedeno:

1. Kvalitativní srovnání účinku kyseliny peroctové různým způsobem vyráběné (tabulka 1). Jde o základní pokusy stanovit účinné mikrobiální spektrum. Prověřovány byly tyto kmeny známých a typických vlastností: Spory *B. megatherium* (sb. kmen č. 1) a spory *B. subtilis* (sb. kmen č. 4), *Streptococcus faecalis* (č. prot. 2411), *Staphylococcus pyogenes* (č. prot. 5458), *Serratia marcescens* (sb. kmen č. 3), *Escherichia coli* (č. prot. B 12), *Salmonella enteritidis* (č. prot. 1095) a *Aerobacter aerogenes* (sb. kmen A 4). Výsledky testování jednotlivých mikrobů ukazují, že kyselina peroctová vyráběná z kyseliny octové vykazuje poněkud horší hodnoty účinnosti než původní produkt z acetanhydridu. Přesto však zůstávají základní vlastnosti, tj. rychlý účinek i v nízkých koncentracích, stále uspokojivé. Koncentrace účinkující sterilizačně do 1 minuty představují u sporulujících hodnoty 0,5 až 0,05 % (hodnoceno po 10denní inkubaci) a u vegetativních mikrobů 0,05 až 0,005 % (hodnoceno po 48hodinové inkubaci). Ve všech dalších pokusech bylo pracováno rovněž s kyselinou peroctovou vyrobenou z kyseliny octové, neboť tento produkt by přicházel nejpravděpodobněji v úvahu při tovární výrobě kyseliny peroctové k dezinfekčním účelům.

2. Dynamika hynutí mikroorganismů účinkem 0,0005% kyseliny je zachycena na tabulce 2. Účinek je při této nízké koncentraci přirozeně zpomalen. Sterilizační účinek byl prokázán u vegetativních mikrobů prakticky za 60 minut, u salmonely za 30 minut, u stafylokoka za 20 minut. Přitom významné je to, že 99,9% redukce všech vegetativních mikrobů bez rozdílu byla při této koncentraci zjištěna již během 10 minut. Počet spor byl touto nízkou koncentrací zredukován o 95 % za 60 minut.

3. Účinek kyseliny peroctové (koncentrace 0,0001%) na *E. coli* při různých teplotách je zachycen na tabulce 3. Z tabulky vyplývá, že jediná koncentrace postačí zajistit dezinfekci v širokém rozpětí teploty od -15°C do 37°C . Teplotní koeficient je 1,031, patří k nejnižším mezi známými dezinfekčními prostředky a ukazuje, že rychlost účinku je ovlivňována teplotními změnami jen nepatrně. Kyselina peroctová je tedy použitelná v širokém teplotním rozmezí.

4. Stanovení koncentračního koeficientu bylo provedeno při 20°C za použití *E. coli* jako modelu. Výsledky jednoznačně ukazují, že

Tab. 1

Kvalitativní srovnání účinku kyseliny peroctové různým způsobem vyráběné

Druh mikroba	Konzentrace v %	CH ₃ COOH z acetonhydridu					CH ₃ COOH z kys octové				
		Expozice v min				kontrola	Expozice v min				kontrola
		1	5	10	20		30	1	5	10	
<i>Bacillus megatherium</i>	0,5										
	0,05										
	0,005										
	0,0005										
	0,00005										
<i>Bacillus subtilis</i>	0,5										
	0,05										
	0,005										
	0,0005										
	0,00005										
<i>Streptococcus faecalis</i>	0,5										
	0,05										
	0,005										
	0,0005										
	0,00005										
<i>Staphylococcus pyogenes</i>	0,5										
	0,05										
	0,005										
	0,0005										
	0,00005										
<i>Serratia marcescens</i>	0,05										
	0,005										
	0,0005										
	0,00005										
	0,000005										
<i>Escherichia coli</i>	0,05										
	0,005										
	0,0005										
	0,00005										
	0,000005										
<i>Salmonella enteritidis</i>	0,05										
	0,005										
	0,0005										
	0,00005										
	0,000005										
<i>Aerobacter aerogenes</i>	0,5										
	0,05										
	0,005										
	0,0005										
	0,00005										

- všechny vzorky sterilní
- ▨ částečný účinek
- všechny vzorky pozitivní

také tento ukazatel praktické použitelnosti je pro kyselinu peroctovou velmi příznivý. Jeho hodnota je 1,4 a říká nám, že změna koncentrace ovlivní účinnost jen v nízkém stupni (tabulka 4).

5. Tabulka 5 ukazuje názorně, jaká je úloha pH v dynamice účinku kyseliny peroctové. V jednotlivých fázích byl kvantitativně vyhodnocován baktericidní účinek tří kyselin, nastá-

Tab. 3

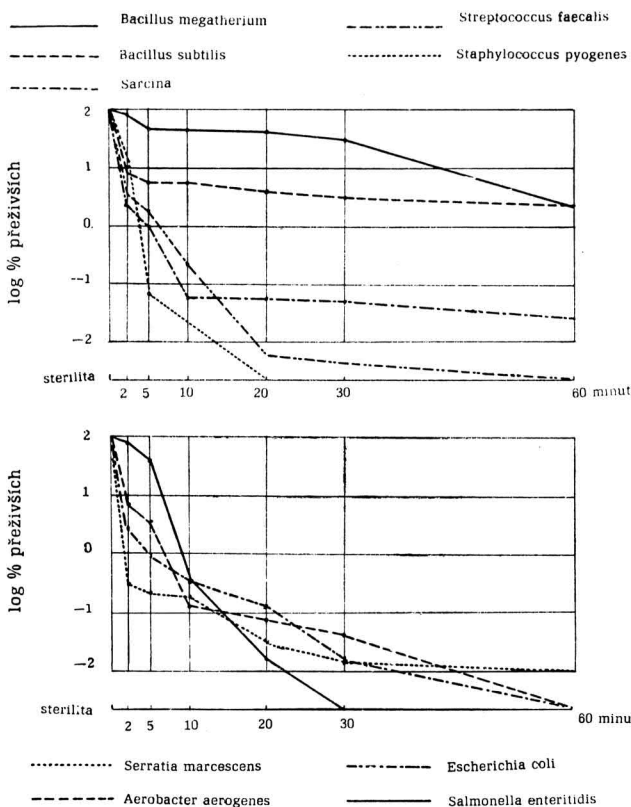
Účinek kyseliny peroctové (konc. 0,0001%) na *Escherichia coli* při různých teplotách

Expozice v min	teplotura v °C			
	-15	-10	+10	+37
10				
20				
30				
40				
50				
60				
70				
80				
90				
100				
110				
120				
130				
140				
150				
160				
170				
180				
190				
200				
210				
220				
Teplotní koeficient	1,030			
	1,025		1,032	
	1,037			
T. k. Ø	1,031			

- všechny vzorky sterilní
- všechny vzorky pozitivní
- ▨ částečný účinek

Tab. 2

Dynamika hynutí mikroorganismů účinkem 0,0005% peroctové kyseliny



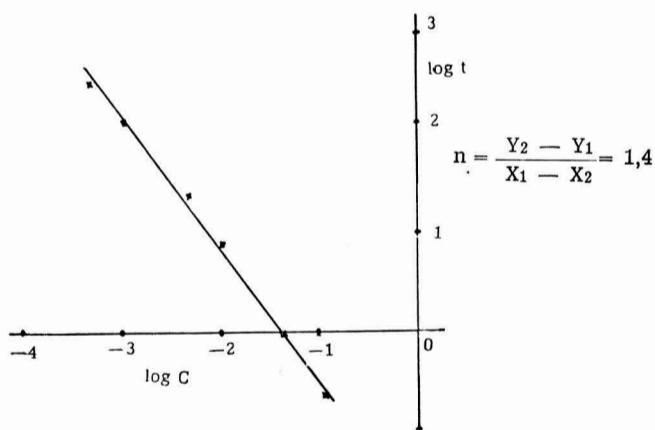
Tab. 4

Stanovení koncentračního koeficientu
(podle Watsona)

Baktericidní účinek kyseliny peroctové na *Escherichia coli*
při 20 °C

(kontrola: Ø 1,940 000 zárodků na kuličce).

C Koncentrace v ‰	t Účinná exp. v min.	log C	log t
0,0005	420	0,69897 -4	2,62324
0,001	150	0,00000 -3	2,17609
0,005	20	0,69897 -3	1,30103
0,01	8	0,00000 -2	0,90309
0,05	1	0,69897 -2	0,00000
0,1	0,2	0,00000 -1	0,30103 -1



vených ředěním na stejné pH. Šlo o kyselinu peroctovou, octovou a solnou. pH bylo upraveno vždy podle reakce známé koncentrace kyseliny peroctové. Pokusy byly provedeny na sporách, aby bylo možno postihnout širší spektrum hodnot. Ukázalo se zcela přesvědčivě, že počínaje koncentrací 0,01% kyseliny peroctové (pH 3,35) se objevuje markantní rozdíl v účinku naší kyseliny a ostatních kyselin ve prospěch kyseliny peroctové. pH nemůže být tedy rozhodujícím činitelem v jejím účinku.

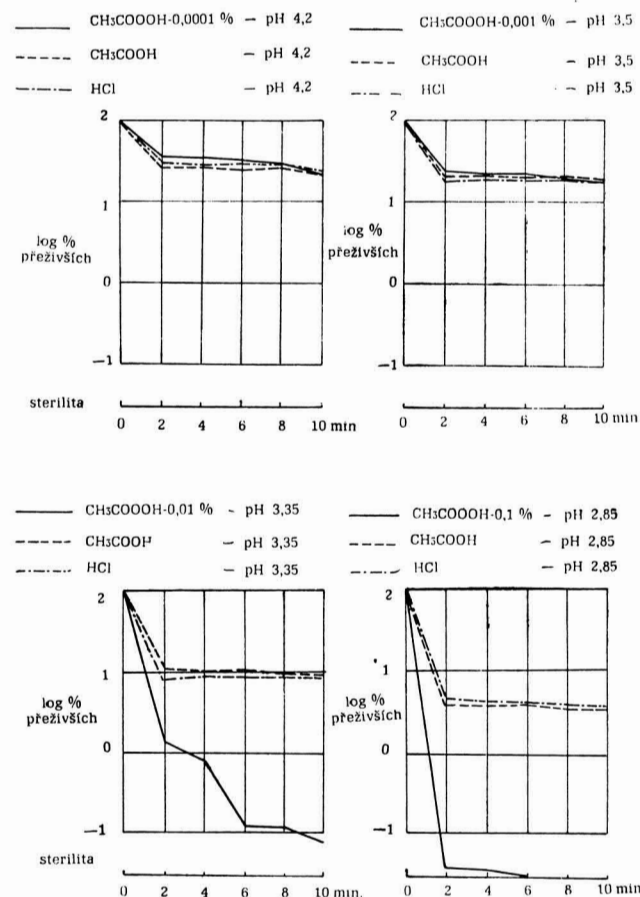
6. Tabulka 6 ukazuje pak srovnání baktericidního účinku výše uvedených tří kyselin podle koncentrací. I zde je patrný rozdíl, svědčící o jasné převaze kyseliny peroctové. Na druhém místě v účinnosti je kyselina solná a na posledním kyselina octová.
- 7 Na tabulkách 7, 8, 9, 10 a 11 je ukázána dynamika účinku peroctové kyseliny na některé mikroby, chráněné kombinací želatiny a peptonu s laktózou a bez laktózy, ve srovnání

s nechráněnými. Z tabulek vyplývá, že průběh hynutí chráněných mikrobu účinkem peroctové kyseliny je sice zpomalen, nikoli však v takovém stupni, aby tím byla prakticky znemožněna účinná dezinfekce.

8. Tabulka 12 ukazuje účinek kyseliny peroctové na *Trichophyton rosaceum*. Jako testovacích modelů bylo použito jednak čtverečků usně, kultivované spolu s plísní po dobu 10 dní při 28° C s následným zasušením (model infikované obuvi), jednak skleněných kuliček a standardních suspenzí podle KLARMANN a spol.⁵ *Trichophyton rosaceum* je uváděno jako vhodný model pro testování fungicidů. Výsledky potvrdily vysoký mykocidní účinek podle druhu a stupně kontaminovanosti zkoušeného prostředí. V případě kůže již od 1 minuty při 1% koncentraci, v případě použití standardní suspenze 3,5 mil. spor v ml již při koncentraci 0,001 %, což zdaleka překonává obecně přijatou normu pro hodnocení fungicidů: podle ní musí fungicid zničit standardní inokulum o denzitě 1,5 mil. spor v ml do 1 minuty, jde-li o návrh na klinické přezkoušení a do 10 minut, jde-li o mykocidní účinek na neživých předmětech³.

Tab. 5

Úloha pH v dynamice účinku kyseliny peroctové na spory *Bacillus megatherium*



Tab. 6

Srovnání baktericidního účinku kyseliny peroctové, kyseliny solné a kyseliny octové na *Escherichia coli*.

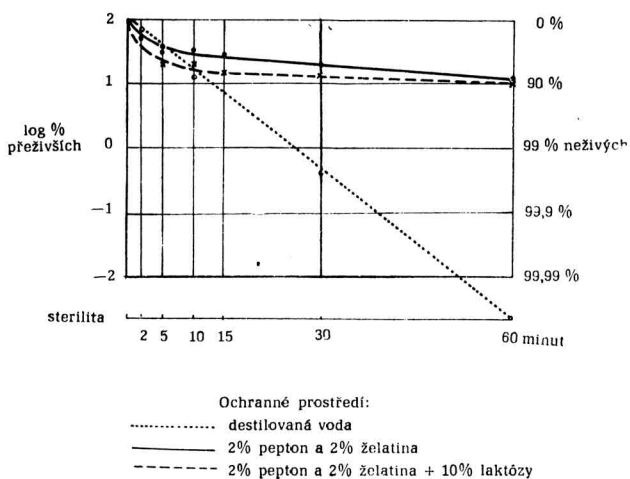
Zkoušený prostředek	Expozice v min	Koncentrace v %											
		4	3	2	1	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001	0,0005	0,0001
CH ₃ COOH	30	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	60	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	90	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	120	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	150	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	180	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Kontrola		Ø 425 000 zár. na kuličky											
HCl	30	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	60	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	90	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	120	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	150	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	180	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Kontrola		Ø 915 000 zár. na kuličky											
CH ₃ COOOH	30	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	60	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	90	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	120	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	150	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	180	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Kontrola		Ø 1 940 000 zár. na kuličky											

□ všechny vzorky sterilní ■ všechny vzorky pozitivní ▨ částečný účinek

9. Tabulky 13 a 14 ukazují účinek kyseliny peroctové na životaschopnost stafylofága typ 3A. Bylo pracováno metodikou obvyklou při fagotypizaci stafylokoků⁸, přizpůsobenou pro dezinfekční pokusy. Dezinfekční pokusy s bakteriofágem se podstatně liší od pokusu s bakteriemi hlavně tím, že průkaz životaschopnosti bakterifága je vázán na přítomnost bakterií. Rovněž je třeba věnovat pozornost neutralizaci ev. přetrvávajícího účinku zbytků dezinfekčního prostředku v kultivač-

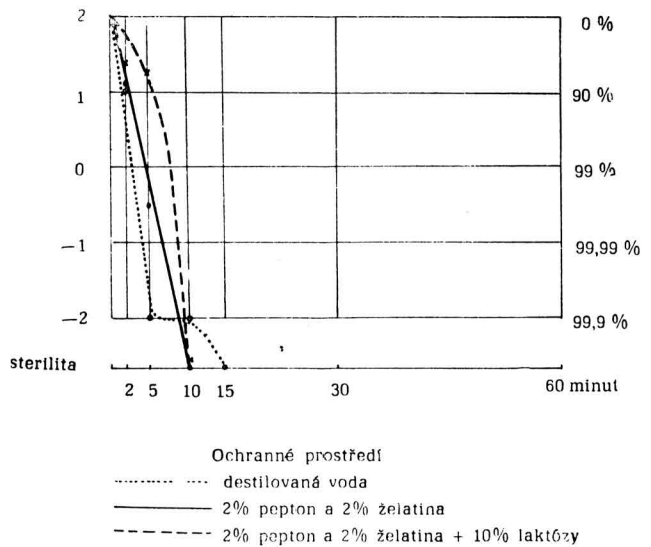
Tab. 7

Serratia marcescens
Účinek kyseliny peroctové — 0,0005%



Tab. 8

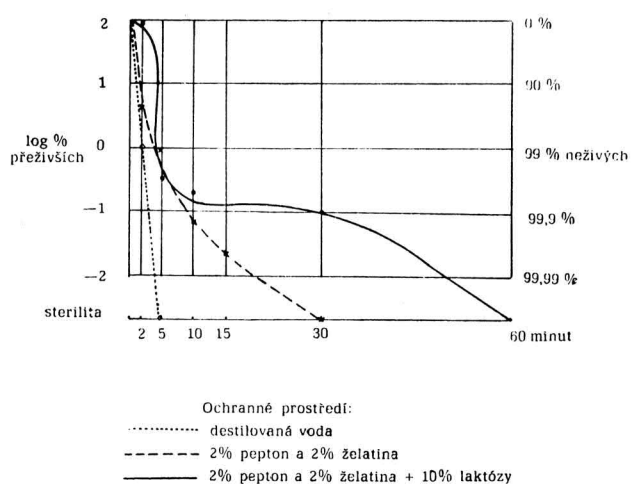
Escherichia coli
Účinek kyseliny peroctové — 0,0005%



ním prostředí. Jestliže bylo možno při práci s bakteriemi vystačit s opláchnutím kuliček vodou, je nutno při práci s bakteriofágem opírat se o celý systém ředění a kontrol, aby bylo možno zodpovědně prokázat, zda je fág mrtvý či živý. Schéma hodnocení pokusu o zjištění účinku kyseliny peroctové na stafylofága vyplývá z tabulky 13. Vlastní expozice probíhala v Erlenmayerových baňkách, spojením stejných objemů příslušných koncentrací prostředků a fága. Výsledky pokusu jsou pak uvedeny na tabulce 14. Vyplývá z nich, že koncentrace účinkující prakticky již od 10 vteřin je 0,05%, naproti tomu koncentrace 0,005% neúčinkuje ani při expozici 24 hodin. Nápadně ostrá hranice mezi účin-

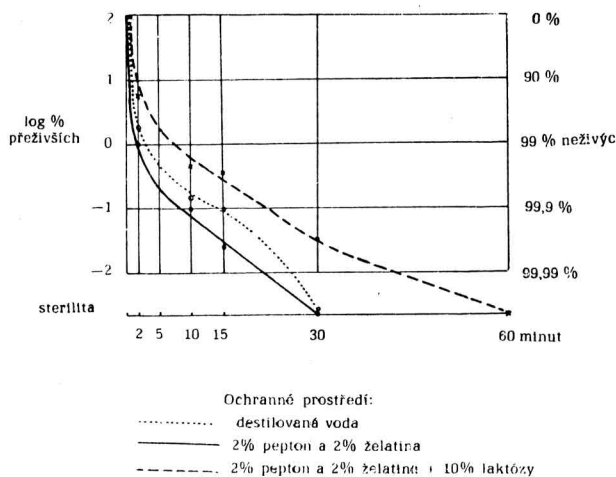
Tab. 9

Staphylococcus pyogenes
Účinek kyseliny peroctové — 0,0005%



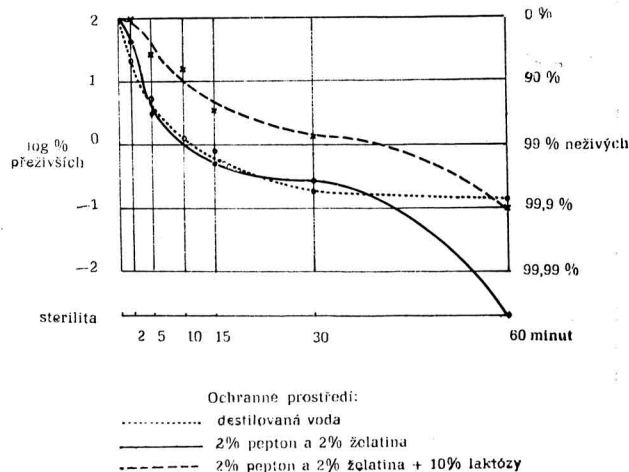
Tab. 10

Streptococcus faecalis
Účinek kyseliny peroctové — 0,005%



Tab. 11

Bacillus megatherium
Účinek kyseliny peroctové — 0,0005%



nou a neúčinnou koncentrací vedla ke snaze vyloučit i zde, podobně jako u bakterií, úlohu pH. Z druhé části tabulky 14 jasně vyplývá, že ani ve fagocidním účinku není pH rozhodující složkou.

Diskuse

Kromě výše uvedených výsledků, vyplývajících z tabulek celkem jednoznačně, je možno hodnotit ještě řadu dalších zjištění buď méně významných, nebo dosud ne zcela jasných. Zajímavé a prakticky důležité je zjištění, které si utvrzujeme v průběhu celého výzkumu, že pronikavý účinek, kterým kyselina peroctová vyniká nad ostatní známé látky, se nejvíce projevuje právě u nejrezistentnějších forem (spory, koky). U gram-negativních mikrobů a zejména u jejich nejcitlivějších představitelů (*Serratia*) je opakovaně zaznamenáván účinek relativně nejnižší.

Druhým charakteristickým rysem je rychlost účinku. Vyplývá ze všech výše uvedených tabulek a byla jí též věnována samostatná metodická práce, umožňující hodnotit dynamiku hynutí v průběhu 1 vteřiny¹⁰. Podle těchto výsledků bylo možno dosáhnout příslušně vysokou koncentrací sterilizačního účinku u vegetativních forem v průběhu 0,2 až 0,4 sec., u spor koncem první vteřiny 10.

Tyto nápadné výsledky, přestože jsou v soulahu s ojedinělými zahraničními publikacemi^{1, 2, 4, 5, 12}, vedou k otázce, zda nejsou ovlivněny metodikou. Zejména u spor je třeba počítat s možnostmi bakteriostázy. Suspenze spor byly získávány po 48hodinové inkubaci s následným třídenním chováním kultury při pokojové teplotě, obvyklým způsobem, podepřeným mikroskopickou kontrolou. Desetidenní inkubace vzorků po pokuse, srovnání s účinkem kyseliny solné a octové i s ostatními dezinfekčními prostřed-

ky^{9, 11}, stejně jako průběžné zkoušky baktericidnosti kontrolních negativních bujónů a oplachování testovacích kuliček destilovanou vodou po pokuse před dalším zpracováním, byly zahrnuty do naší pracovní metodiky. Výsledky potvrzují náš předpoklad, že rychlé hynutí spor účinkem peroctové kyseliny je konečné.

Další diskutovatelná otázka se týká mechanismu účinku. Oxydační mechanismus poškození enzymatického systému buňky, vyplývající z chemického složení peroctové kyseliny, bude hrát jistě rozhodující úlohu. Sám o sobě by ovšem vysvětlil vysokou sporocidnost, předpokládající průnik látky rezistentními povrchovými strukturami spory vysokou intenzitou oxydační reakce, jen částečně. Úlohu pH jsme prověřili a ohodnotili jako vedlejší v mechanismu účinku. K otázce studia úlohy pH v mechanismu účinku kyseliny peroctové je však třeba připomenout složitost a komplikovanost celého problému. Vyplývá z toho, že samotná kyselina obsahuje vždy určité procento kyseliny octové a peroxydu vodíku. Vzájemné vztahy jednotlivých složek jsou v dynamickém poměru a mění se především podle stupně dekompozice. pH i baktericidní vlastnosti se navzájem kombinují, takže celá tato problematika by byla jistě zajímavým námětem k dalšímu studiu. Na otázku tak, jak jsme si ji postavili, poskytují však naše výsledky postačující a reálnou odpověď: ve vysokém baktericidním účinku kyseliny peroctové nehraje pH rozhodující úlohu a jakékoli praktické srovnání s baktericidním účinkem kyseliny octové musí vyznít ve prospěch kyseliny peroctové. Všechny dosažené výsledky a zkušenosti, dokumentující nejvyšší účinek u nejrezistentnějších forem a relativně nejnižší u běžných citlivých vegetativních forem, vedou k předpokladu, že rozhodujícím momentem v mechanismu účinku bude schopnost průniku látky do buňky, spíše než intenzita vlastní reakce v enzymatickém systému.

Tab. 12

Účinek kyseliny peroctové na *Trichophyton rosaceum*

Koncentrace v %	Expozice v min.															
	kontaminovaná kůže				skleněné kuličky				standard. susp. 50 ml./ml				standard. susp. 3,5 ml./ml			
	1	5	10	15	1	5	10	15	1	5	10	15	1	5	10	15
0,001	+++	+++	+++	+++	++	+	++	++	+	+	+	+	+	-	-	-
	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-
0,01	+	++	++	++	+	+	+—	+—	+	+	+	-	-	-	-	-
	++	++	++	++	+	+—	+—	+—	+	+	-	-	-	-	-	-
	++	++	++	++	+	+	+—	+—	+	+	+	-	-	-	-	-
	++	++	++	++	+—	+	+—	+—	+	+	-	-	-	-	-	-
	++	++	++	++	+	+	+—	+—	+	+	-	-	-	-	-	-
0,1	+	+	+	+—	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	++	++	+	+	-	+—	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	++	+	+	+	+—	+—	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	++	++	+	+	+—	+—	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	++	+	+	+	+—	+—	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,0	+	-	-	-	-	-	-	-								
	-	-	-	-	-	-	-	-								
	-	-	-	-	-	-	-	-								
	-	-	-	-	-	-	-	-								
2,0	-	-	-	-	-	-	-	-								
	-	-	-	-	-	-	-	-								
	-	-	-	-	-	-	-	-								
	-	-	-	-	-	-	-	-								
Kontrola	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Křížky označují stupeň růstu v subkulturách.

Závěry

1. Kyselina peroctová vykazala vysoký a rychlý sterilizační účinek jak na vegetativní formy mikroorganismů, tak — a to především na jejich spory. Koncentrace účinkující bezpečně od jedné minuty, představují u sporulujících hodnoty 0,5 až 0,05 % a u vegetativních mikrobů 0,05 až 0,005 %.
2. Kyselina peroctová je použitelná v širokém teplotním rozmezí, účinkuje i za mrazu. Teplotní koeficient odpovídá v našich pokusných podmínkách hodnotě 1,031.
3. Změna koncentrace ovlivní rychlost účinku na bakterie a jejich spory jen v nízkém stupni. Proto jsou účinné i velmi nízké koncentrace. Koncentrační koeficient odpovídá v našich pokusných podmínkách hodnotě 1,4.
4. Kyselina peroctová má in vitro výrazný mykocidní účinek. Účinná koncentrace, na modelu usně masívně kontaminované plísni *Trichophyton rosaceum*, je 1%, při expozici 1 minuta. V běžných pokusech jsou účinné koncentrace 0,01 až 0,001%.
5. Kyselina peroctová v koncentraci 0,05% hubila bezpečně stafylofága typu 3A, počínaje desetivteřinovou expozicí.
6. Rychlost účinku kyseliny peroctové na zárodek chráněné peptonem, želatinou a laktózou

je zpomalena. Stupeň ovlivnění účinku nezaobracuje však praktickému provádění účinné dezinfekce.

7. Nízké hodnoty pH roztoků kyseliny peroctové hrají v mechanismu účinku pouze podružnou úlohu.

Za technickou spolupráci děkuji s. inž. V. Kulišovi, M. Blechové a V. Bubínkovi.

Souhrn

Autor provedl základní mikrobiologické ohodnocení kyseliny peroctové, vyráběné reakcí peroxydu vodíku s kyselinou octovou. Kromě kvalitativního a kvantitativního studia účinku na širší mikrobiální spektrum byly stanoveny příslušné koeficienty, přezkoušen vliv pH, ověřen účinek na plísň a na bakteriofága. Byl studován vliv ochranného prostředí na průběh dezinfekce.

Резюме

Автор провел основную микробиологическую оценку перекисной кислоты, изготовляемой путем воздействия перекиси водорода на уксусную кислоту. Наряду с изучением качественных и количественных показателей воздействия перекисной кислоты на широкий микробный спектр, определялись и соответствующие коэффициенты, изучалось влияние pH, проверялось действие данного вещества на грибок и бактериофага. Далее определялось влияние защитной среды на течение дезинфекции.

Tab. 13 Schéma hodnocení pokusu o zjištění účinku kyseliny peroctové na stafylofága, typ 3 A.

Koncentrace kyseliny v %		Expozice				Kontrola účinku CH ₃ COOOH bez fága				Kontrola fága			
		Plotna		Bujón		Plotna		Bujón		Plotna		Bujón	
		RDT	1 : 10	RDT	1 : 10	kon-cent.	1 : 10	kon-cent.	1 : 10	RDT	1 : 10	RDT	1 : 10
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,05	a	Cl	0	+	+	Cl	0	+	+	Cl	Cl	0	0
0,005	b	Cl	Cl	0	0	0	0	+	+	Cl	Cl	0	0

Summary

The author carried out the fundamental microbiological evaluation of the peracetic acid resulting from the reaction of hydrogen peroxid and acetic acid. In addition to the qualitative and quantitative studies of the effect upon the broad microbial spectrum were the competent coefficients determined, the influence on the pH checked, the effect on

mould and bacteriophage verified. The influence of the protecting surrounding on the course of disinfection was studied.

Literatura

- Gerschenfeld, Davis: The effect of peracetic acid on some thermoaciduric bacteria, Am. J. of Pharm., 124, 10, 337—341, 1952.
- Greenspan, Johnsen, Trexler: Peracetic acid aerosols, Proc. the 42. ann. meeting of the Chem. Manuf. Ass., Dec. 5, 6, 7, 1955.
- Klarmann, Shternov, Costigan: A method for the evaluation of water soluble and water miscible fungicides used in the prevention of the spread of "athletes foot", J. of Bact. 225—229, 1941.

Tab. 14

Účinek kyseliny peroctové na stafylofága typ 3A.

Koncentrace v %	Expozice														
	10"	20"	30"	40"	50"	1'	5'	10'	20'	30'	60'	120'	180'	240'	24 h.
0,05	0	0	0	0	0	00	00	00	00	00					
	0	0	0	0	0	00	00	00	00	00					
	0	0	0	0	0	00	00	00	00	00					
0,005						++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
						++	++	++	++	++					
						++	++	++	++	++					

	Expozice v min.				
	1	5	10	20	30
CH ₃ COOOH pH — 3,1	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
HCl pH — 3,1	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+

0 — přítomnost fága neprokázána + — fág prokázán

- Kline, Hull: The virucidal properties of peracetic acid, Am. J. of Clin. Path., 33, 30—3, 1960.
- Kruse, Green, Chambers, Jones: Disinfection of aerosolized pathogenic fungi on laboratory surfaces, Appl. Microbiol., 11, 436—445, 1963.
- Kuliš: Laboratorní příprava kyseliny peroctové k dezinfekčním účelům a její stanovení. VZL, v tisku.
- Patočka: Pokus o standardizaci metod ke zkoušení antiseptik modifikací Rideal-Walkerovou na podkladě vyšetřovacího způsobu Jensenova, Čas. lék. čes., 29, 1938.
- Raška (pod red.): Mikrobiologické vyšetřovací metody, Praha 1958.
- Ticháček: Kyselina peroctová a možnosti jejího využití v dezinfekci, VZL 5, 222—227, 1962.
- Ticháček: Metoda stanovení dezinfekčního účinku při velmi krátkých expozicích. ČsEMI, 1964 — v tisku.
- Ticháček: Studium vlivu ochranného prostředí na přežívání mikroorganismů. 1. věd. konf. VÚHEM, 1963.
- Trexler, Reynolds: Flexible film apparatus for the rearing and use of germ-free animals, Appl. Microbiol., 5, 406—412, 1957.

Upozornění: Autoři článku „Přínos laparoskopie k diagnostice nemocí jater, žlučníku a pobřišnice“, uveřejněného v č. 1/1964 dodatečně doplňují ve větě na str. 17 řádku 26 slovo suverénní, takže věta po upřesnění zní: „Je ovšem třeba podotknout, že představa o suverénní hodnotě biopsie jako diagnostické metody u vleklých zánětů je mylná“.