

RESEARCH ON THE DISINFECTION EFFICIENCY OF HYDROGEN PEROXIDE, CHLORAMIN B AND BENKOCID AGAINST SOME BACTERIAL AND FUNGAL AGENTS AT THE EXPERIMENTAL ANIMAL DEPARTMENT, NICVB

Hoang Trung Hung*, Nguyen Chi Hieu, Tran Thi Hong, Quach Thu Thao, Tran Thi Huong Thom, Man Thi Thanh, Nguyen Dang Khue

**The National Institute for Control of Vaccines and Biologicals*

Received 14 December 2023

Accepted 25 December 2023

ABSTRACT

Today, various disinfectants with different mechanisms of action have been researched and developed to prevent the spread of pathogens. The disinfectants that have been used at the Experimental Animal Department, NICVB such as Chloramin B 2%, Benkocid 0.25% and Hydrogen peroxide 5% - the newly used one - need to be evaluated for efficiency against a number of bacteria and fungi. Selected bacterial and fungal agents were neutralized at different times at the Experimental Animal Department's laboratory from April to November 2023. After a 5-minute exposure, Hydrogen peroxide 5%, Chloramin B 2%, Benkocid 0.25% were shown to be effective in disinfecting bacterial strains *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* at a concentration of 10^5 CFU/ml; while the exposure period required to disinfect *Candida albicans* 10^5 CFU/ml is 15 minutes. To conclude, the optimal exposure period of the disinfectants to the selected microorganism strains in the study was 30 minutes.

Key words: Disinfectant, Chloramin B, Benkocid, Hydrogen peroxide.

* Corresponding author

E-mail address: Hthung210394@gmail.com

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v3i4.124>

NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ KHỬ TRÙNG CỦA HYDROGEN PEROXIDE, CHLORAMIN B VÀ BENKOCID ĐỐI VỚI MỘT SỐ TÁC NHÂN VI KHUẨN VÀ NẤM TẠI

KHOA ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Hoàng Trung Hưng*, Nguyễn Chí Hiếu, Trần Thị Hồng, Quách Thu Thảo,
Trần Thị Hương Thơm, Mẫn Thị Thành, Nguyễn Đăng Khuê.

*Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế

Nhận ngày 14 tháng 12 năm 2023

Chấp nhận đăng ngày 25 tháng 12 năm 2023

Tóm tắt

Ngày nay, các chất khử trùng đã được nghiên cứu và phát triển với các cơ chế tác động khác nhau nhằm ngăn chặn sự lây lan mầm bệnh. Tại khoa Động vật thực nghiệm các chất khử trùng đã được sử dụng như Chloramin B 2%, Benkocid 0,25% và chất khử trùng mới sử dụng là Hydrogen peroxide 5% cần được đánh giá hiệu quả đối với một số tác nhân vi khuẩn và nấm. Sau khi tiến hành trung hòa các tác nhân vi khuẩn và nấm ở các thời điểm khác nhau tại phòng xét nghiệm khoa Động vật thực nghiệm từ tháng 4 đến tháng 11 năm 2023. Kết quả cho thấy, sau thời gian tiếp xúc 5 phút, các chất Hydrogen peroxide 5%, Chloramin B 2%, Benkocid 0,25% đã có hiệu quả khử trùng đối với chủng vi khuẩn thử thách *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* ở nồng độ 10^5 CFU/ml đối với nấm *Candida albicans* 10^5 CFU/ml cần thời gian tiếp xúc 15 phút. Thời gian tiếp xúc tối ưu với nồng độ các chủng vi sinh vật thử thách của các chất khử trùng trong thử nghiệm là 30 phút.

Từ khóa: Chất khử trùng, Chloramin B, Benkocid, Hydrogen peroxide.

I. Đặt vấn đề

Trên thế giới, những nghiên cứu về hiệu quả của một số chất khử trùng cơ bản đối với tác nhân vi sinh cụ thể đã được thực hiện nhưng chưa đầy đủ. Mặt khác, mỗi quốc gia sử dụng các chất khử trùng khác nhau, nồng độ khác nhau để phù hợp, hiệu quả với các tác nhân gây bệnh bản địa đồng thời tránh gây ô nhiễm, lãng phí. Bên cạnh đó, tại Việt Nam các nghiên cứu hiệu quả của các chất khử trùng đối với môi trường nuôi động vật thí nghiệm vẫn còn chưa nhiều.

Do mỗi loại chất khử trùng có cơ chế tác động, ưu và nhược điểm khác nhau, vì vậy trong từng hoàn cảnh cụ thể cần lựa chọn chất khử trùng phù hợp để sử dụng hiệu quả.

Khoa Động vật thực nghiệm đã sử dụng Chloramin B nồng độ 2%, Benkocid 0,25% để khử trùng lồng nuôi, các dụng cụ nuôi và vệ sinh phòng nuôi động vật trong thời gian dài. Khi khử trùng bằng Chloramin B gây kích ứng niêm mạc mũi người thực hiện và sau khi khô để lại cặn bám trên nan nắp lồng, thành lồng gây độc cho động vật thí nghiệm khi ăn phải. Ngoài ra, nhằm nâng cao hiệu quả, hoàn thiện hơn nữa chương trình vệ sinh khử trùng tại khoa, chúng tôi đồng thời tiến hành thử

nghiệm đối với Hydrogen peroxide nồng độ 5%. Hơn nữa, chưa có nghiên cứu, đánh giá đầy đủ về khả năng diệt một số tác nhân vi khuẩn và nấm cần kiểm soát tại khoa Động vật thực nghiệm.

Từ những vấn đề nêu trên, để có cơ sở xây dựng chương trình vệ sinh khử trùng hiệu quả áp dụng tại khoa Động vật thực nghiệm - Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế chúng tôi tiến hành: **“Nghiên cứu hiệu quả khử trùng của Hydrogen peroxide, Chloramin B và Benkocid đối với một số tác nhân vi khuẩn và nấm tại khoa Động vật thực nghiệm”**.

II. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Hydrogen peroxide, Hàn Quốc nồng độ 5%
- Benkocid, Navetco nồng độ 0,25%
- Chloramin B, Czech nồng độ 2%

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 4/2023 đến tháng 11/2023
- Địa điểm nghiên cứu: Khoa Động vật thực nghiệm, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.

2.3 Nguyên liệu

- Kính hiển vi, Olympus, MS17-TN
- Tủ an toàn sinh học cấp 2, LH27-TN
- Tủ ấm thường, PHCBI, IC33-TN

- Micropipet và đầu côn tương ứng
 - Pipet aid
 - Bộ lọc vi sinh
 - Giấy lọc vi sinh 47mm x 0,2µm, Sartorius.
 - Bơm chân không
 - Bình thủy tinh Duran 500ml
 - Bình tam giác Duran 100ml
 - Ống falcon 15ml
 - Ống falcon 50ml
 - Que cấy nhựa vô trùng dùng 1 lần
 - Lam kính
 - Nước muối sinh lý pha tiêm
 - Tăm nhọn đầu
 - Nước cất
 - Cồn 70°, 90°
 - Hydrogen peroxide 30%, Hàn Quốc
 - Benkocid, Navetco
 - Chloramin B, Czech
 - Khay inox
 - Chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
 - Chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* ATCC 6633
 - Chủng nấm men *Candida albicans* ATCC 10231
 - TSB (Tryptic Soy Broth), Merck (code: 1054590500)
 - Tryptone Soya Agar, Merck (code: 1054080500)
 - Thạch PCA, Merck (code: 1.05463.0500)
 - Sabouraud Agar, Merck (code: 1073150500)
 - Bộ nhuộm Gram, Merck, (code: 111,885)
- 2.4 Phương pháp nghiên cứu:**
- Mô tả cắt ngang trong phòng thí nghiệm.
- 2.5 Bố trí thí nghiệm:**
- 2.5.1: Hoàn nguyên chủng vi khuẩn và nấm:**
- Các chủng vi khuẩn và nấm được đông khô và bảo quản tại kho lạnh, hồ sơ chủng và phương pháp hoàn nguyên được lưu trữ tại khoa Mẫu chuẩn, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.
 - Hoàn nguyên chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* và nấm *Candida albicans* từ các ống chủng đông khô bằng nước muối sinh lý vô trùng, sau đó pha loãng thập phân để được nồng độ 10^5 CFU/ml.
- 2.5.2 Trung hòa vi khuẩn và nấm với các chất khử trùng:**
- Chuẩn bị dãy ống falcon 15ml đã được đánh dấu riêng biệt. Dùng micropipet hút vào mỗi ống falcon 1ml huyền dịch vi khuẩn hoặc nấm có nồng độ 10^5 CFU/ml và 4ml dung dịch TSB.

- Dùng pipet aid hút 5ml dung dịch chất khử trùng vào trong các dây ống chứa chủng vi khuẩn hoặc nấm ở trên.
- Trộn đều bằng micropipet.
- Tại các thời điểm 5 phút, 10 phút, 15 phút, 20 phút, 25 phút, 30 phút sau khi trộn, hút 1ml hỗn hợp dung dịch vào bình lọc vi sinh với giấy lọc có diện tích 47mm và kích thước lỗ lọc 0,2 μ m. Dùng bình tam giác chứa 100ml nước cất đổ vào bình lọc để loại bỏ hoàn toàn vi khuẩn bám trên bình lọc, lọc lại 2 lần. Sau khi lọc xong, dùng panh gấp giấy lọc nuôi cấy trên môi trường phù hợp với mỗi chủng. Chủng *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* trên môi trường TSA, chủng *C. albicans* trên môi trường Sabouraud. Ủ tất cả các đĩa nuôi cấy vi khuẩn ở 37⁰C trong 3 ngày và đĩa nuôi cấy nấm ở nhiệt độ phòng trong 7 ngày.
- Sau thời gian ủ, đếm tất cả khuẩn lạc mọc trên đĩa nuôi cấy và ghi lại vào phiếu theo dõi. Theo Tổ chức tiêu chuẩn châu Âu (AFNOR group) chất khử trùng đạt tiêu chuẩn khi có hoạt tính diệt khuẩn, hoạt tính diệt bào tử và hoạt tính diệt nấm được biểu thị bằng thời gian tiếp xúc cần thiết để đạt được mức giảm 10⁵ CFU (đối với hoạt tính diệt khuẩn và diệt bào tử) hoặc giảm 10⁴ CFU (đối với hoạt tính diệt nấm) [1,2].

2.6 Phân tích và xử lý số liệu:

- Số liệu được tổng hợp và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

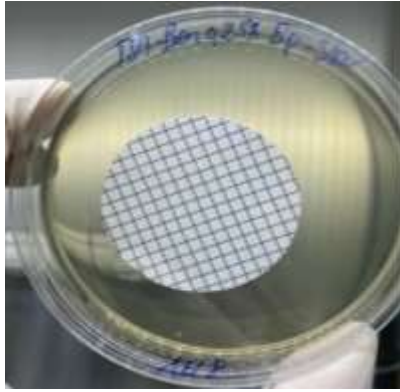
3. Kết quả

Bảng 3.1 Hiệu quả khử trùng của Hydrogen peroxide 5%, Chloramin B 2%, Benkocid 0,25% sau khi trung hòa với chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (CFU/ml)

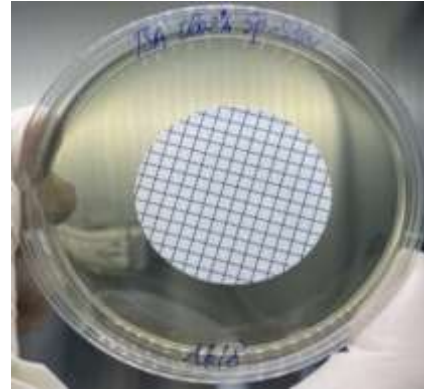
<i>Thời gian</i>	5 phút	10 phút	15 phút	20 phút	25 phút	30 phút
<i>Chất khử trùng</i>						
Benkocid 0,25%	0	0	0	0	0	0
Chloramin B 2%	0	0	0	0	0	0
H₂O₂ 5%	23	0	0	0	0	0

Kết quả tổng hợp tại bảng 3.1 cho thấy:

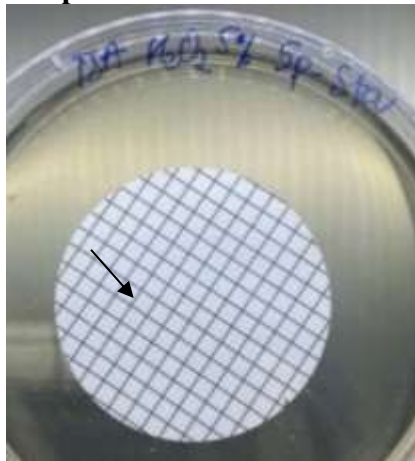
- Sau khi trung hòa với chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* nồng độ 2,0 x 10⁵ CFU/ml, các chất khử trùng đều có khả năng làm giảm 10⁵ vi khuẩn sau khi tiếp xúc 5 phút.
- Benkocid 0,25% và Chloramin B 2% tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn sau khi tiếp xúc chỉ 5 phút, trong khi H₂O₂ 5% còn 23 CFU/ml.



Hình 3.1 Benkocid 0,25% sau khi trung hòa với *Staphylococcus aureus* 5 phút



Hình 3.2 Chloramin B 2% sau khi trung hòa với *Staphylococcus aureus* 5 phút



Hình 3.3 H₂O₂ 5% sau khi trung hòa với *Staphylococcus aureus* 5 phút

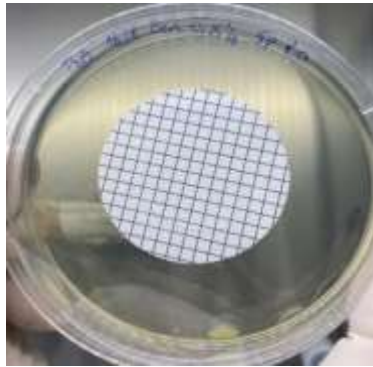
Bảng 3.2 Hiệu quả khử trùng của Hydrogen peroxide 5%, Chloramin B 2%, Benkocid 0,25% sau khi trung hòa với chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* (CFU/ml)

<i>Thời gian</i> <i>Chất khử trùng</i>	5 phút	10 phút	15 phút	20 phút	25 phút	30 phút
Benkocid 0,25%	0	0	0	0	0	0
Chloramin B 2%	0	0	0	0	0	0
H₂O₂ 5%	0	0	0	0	0	0

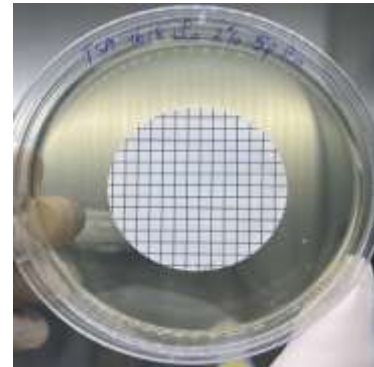
Kết quả tổng hợp tại bảng 3.2 cho thấy:

- Sau khi trung hòa với chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* nồng độ

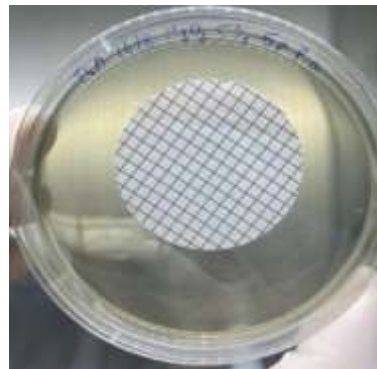
$7,5 \times 10^5$ CFU/ml, các chất khử trùng đều có khả năng tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn sau khi tiếp xúc 5 phút.



Hình 3.4 Benkocid 0,25% sau khi trung hòa với *Pseudomonas aeruginosa* 5 phút



Hình 3.5 Chloramin B 2% sau khi trung hòa với *Pseudomonas aeruginosa* 5 phút



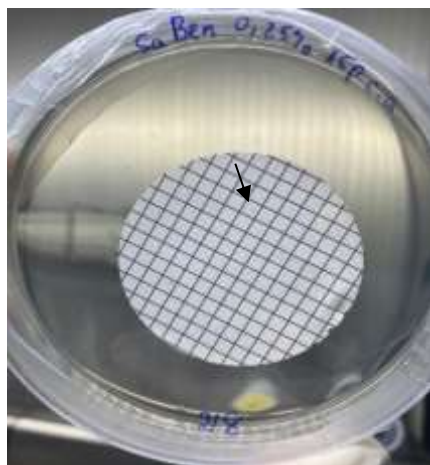
Hình 3.6 H₂O₂ 5% sau khi trung hòa với *Pseudomonas aeruginosa* 5 phút

Bảng 3.3 Hiệu quả khử trùng của Hydrogen peroxide 5%, Chloramin B 2%, Benkocid 0,25% sau khi trung hòa với chủng nấm men *Candida albicans* (CFU/ml)

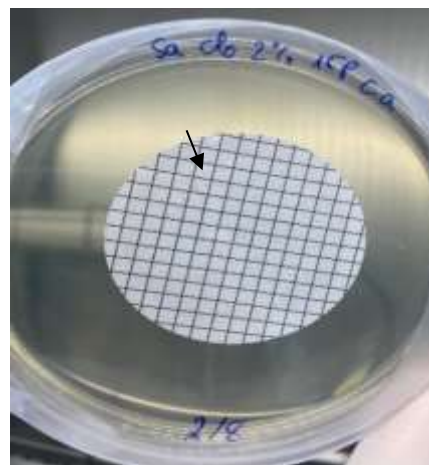
Thời gian / Chất khử trùng	Thời gian					
	5 phút	10 phút	15 phút	20 phút	25 phút	30 phút
Benkocid 0,25%	TNTC	TNTC	183	0	0	0
Chloramin B 2%	TNTC	TNTC	244	0	0	0
H ₂ O ₂ 5%	TNTC	TNTC	9	0	0	0

Chú thích: TNTC: Trên ngưỡng tiêu chuẩn (Số khuẩn lạc >250).

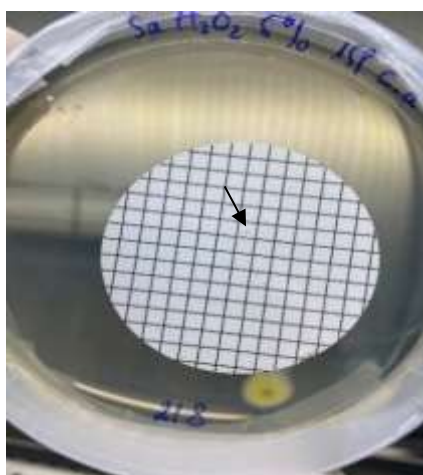
Kết quả tổng hợp tại bảng 3.3 cho thấy: Sau khi trung hòa với chủng nấm men *Candida albicans* nồng độ $1,5 \times 10^5$ CFU/ml, các chất khử trùng đều có khả năng làm giảm 10^5 tế bào nấm men sau khi tiếp xúc 15 phút và tiêu diệt hoàn toàn nấm men sau khi tiếp xúc 20 phút.



Hình 3.7 Benkocid 0,25% sau khi trung hòa với *Candida albicans* 15 phút



Hình 3.8 Chloramin B 2% sau khi trung hòa với *Candida albicans* 15 phút



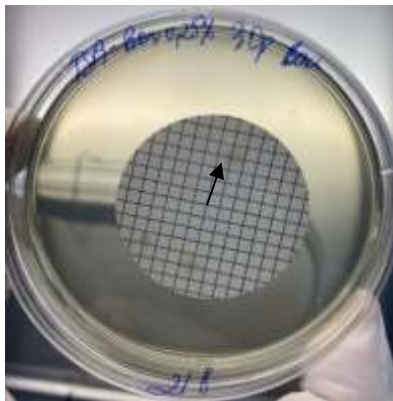
Hình 3.9 H₂O₂ 5% sau khi trung hòa với *Candida albicans* 15 phút

Bảng 3.4 Hiệu quả khử trùng của Hydrogen peroxide 5%, Chloramin B 2%, Benkocid 0,25% sau khi trung hòa với chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* (CFU/ml)

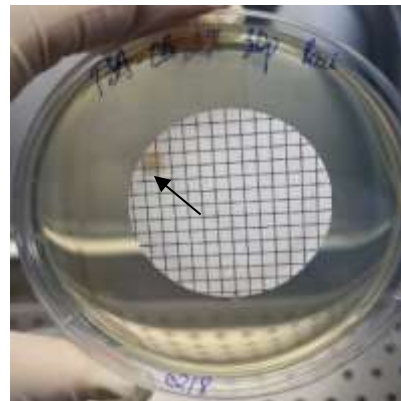
Thời gian Chất khử trùng	5 phút	10 phút	15 phút	20 phút	25 phút	30 phút
Benkocid 0,25%	24	15	13	10	9	3
Chloramin B 2%	40	22	15	6	2	1
H₂O₂ 5%	85	64	49	3	1	1

Kết quả tổng hợp tại bảng 3.4 cho thấy:

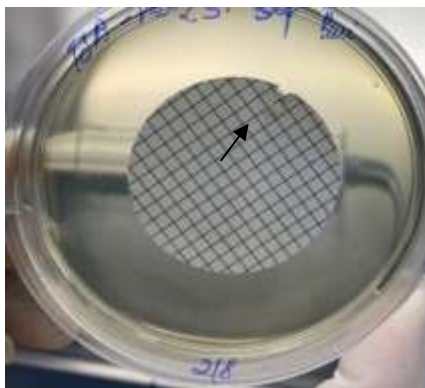
- Sau khi trung hòa với chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* nồng độ $1,57 \times 10^5$ CFU/ml, các chất khử trùng đều có khả năng làm giảm 10^5 vi khuẩn sau khi tiếp xúc 5 phút và tiêu diệt 99,99% vi khuẩn sau khi tiếp xúc 30 phút.



Hình 3.10 Benkocid 0,25% sau khi trung hòa với *Bacillus subtilis* 30 phút



Hình 3.11 Chloramin B 2% sau khi trung hòa với *Bacillus subtilis* 30 phút



Hình 3.12 H₂O₂ 5% sau khi trung hòa với *Bacillus subtilis* 30 phút

4. Bàn luận

Chương trình vệ sinh, khử trùng đóng vai trò quan trọng đối với các cơ sở nuôi và thử nghiệm động vật thí nghiệm. Tùy vào từng phương pháp vệ sinh, khử trùng trên các đối tượng khác nhau mà có hiệu quả làm giảm hoặc loại bỏ các tác nhân vi sinh khác nhau. Theo Tổ chức tiêu chuẩn châu Âu (AFNOR group) chất khử trùng đạt tiêu chuẩn khi có hoạt tính diệt khuẩn, hoạt tính diệt bào tử và hoạt tính diệt nấm được biểu thị bằng thời gian tiếp xúc cần thiết để đạt được mức giảm 10^5 CFU (đối với hoạt tính diệt khuẩn và diệt bào tử) hoặc giảm 10^4 CFU (đối với hoạt tính diệt nấm) [2].

Kết quả nghiên cứu đã chứng minh được Hydrogen peroxide nồng độ 5%, Chloramin B nồng độ 2%, Benkocid nồng độ 0,25% đều đạt tiêu chuẩn khi đạt được mức giảm 10^5 CFU/ml của ba tác nhân vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* chỉ sau thời gian tiếp xúc là 5 phút, đối với nấm *Candida albicans* đạt được mức giảm 10^5 CFU/ml sau khi tiếp xúc 15 phút.

Trong đó, đối với hai tác nhân vi khuẩn thông thường như *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa* các chất khử trùng có thể dễ

dàng tiêu diệt trong thời gian rất ngắn. Thời gian tiếp xúc cần thiết để loại bỏ hoàn toàn vi khuẩn *Staphylococcus aureus* nồng độ $2,0 \times 10^5$ CFU/ml của chất khử trùng Chloramin B 2% và Benkocid 0,25% là 5 phút trong khi Hydrogen peroxide 5% cần 10 phút. Thời gian tiếp xúc cần thiết để loại bỏ hoàn toàn vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* nồng độ $7,5 \times 10^5$ CFU/ml của Hydrogen peroxide 5%, Chloramin B 2%, Benkocid 0,25% là 5 phút.

Đối với vi khuẩn *Bacillus subtilis* có lớp vỏ dày, có khả năng sinh nha bào trong điều kiện bất lợi, cũng như thành tế bào nấm *Candida albicans*, các chất khử trùng cần nhiều thời gian tiếp xúc hơn để đạt được hiệu quả tối ưu. Thời gian tiếp xúc cần thiết để tiêu diệt 99,99% vi khuẩn *Bacillus subtilis* nồng độ $1,57 \times 10^5$ CFU/ml của Hydrogen peroxide nồng độ 5%, Chloramin B nồng độ 2%, Benkocid nồng độ 0,25% là 30 phút. Tương tự đối với nấm *Candida albicans*, thời gian tiếp xúc với các chất khử trùng ít hơn 15 phút có hiệu quả diệt nấm không cao. Tại thời điểm tiếp xúc 15 phút Hydrogen peroxide 5% đã tiêu diệt hầu hết tế bào nấm, làm giảm nồng độ nấm trung bình trong dung dịch còn lại 9 CFU/ml, cũng tại thời điểm này Benkocid 0,25%,

Chloramin B 2% làm giảm nồng độ nấm trong dung dịch còn lại lần lượt là 183 CFU/ml và 244 CFU/ml. Mặt khác, để loại bỏ hoàn toàn chủng nấm men *Candida albicans* nồng độ $1,5 \times 10^5$ CFU/ml cần thời gian tiếp xúc tối thiểu là 20 phút.

Sở dĩ có sự khác biệt trên ngoài tính kháng của vi sinh vật còn do các chất khử trùng có cơ chế tác động khác nhau. Chloramin B có khả năng khuếch tán qua vách tế bào vi sinh vật: Gốc HOCl không tích điện nên dễ dàng thấm qua vách của các tế bào. Thông qua các phản ứng oxy hóa, thủy phân, khử amin, để tác động đến vi sinh vật [3]. Benkocid là dung dịch kết hợp hai thành phần có tính khử trùng mạnh, glutaraldehyde ảnh hưởng đến vật chất di truyền trong khi benzankonium chlorite gây biến tính protein màng từ đó dẫn đến khả năng diệt khuẩn tốt hơn [3]. Hydrogen peroxide là một chất oxy hóa mạnh, có thể oxy hóa các đại phân tử có sẵn tạo nên cấu trúc và chức năng của vi sinh vật như protein, lipid, carbohydrate, axit nucleic. Những ảnh hưởng như vậy sẽ tích lũy theo thời gian tiếp xúc dẫn đến mất cấu trúc, chức năng và làm mất khả năng tồn tại của vi sinh vật và các thành phần khác nhau của chúng (ví dụ độc tố). Cũng có khả năng là một loạt các gốc tự do (đặc biệt là gốc hydroxyl -OH) và phản ứng của

các loài sinh vật đã phân hủy peroxide thành nước và oxy trong các phản ứng như vậy góp phần vào hoạt động diệt khuẩn tổng thể của hydro peroxide [4,5]. Chính vì vậy, ở những thời gian tiếp xúc đầu tiên các chất khử trùng có khả năng thấm qua màng như Chloramin B, Benkocid sẽ có hiệu quả tốt hơn Hydrogen peroxide khi tiếp xúc với các vi khuẩn thông thường, trong khi đối với các vi khuẩn có tính kháng cao, thành tế bào dày Hydrogen peroxide có hiệu quả tốt hơn do tích lũy sản phẩm của quá trình phân giải chuyển thành chất xúc tác để phản ứng tiếp tục diễn ra.

Từ những kết quả trên cho thấy, thời gian tiếp xúc với các chủng vi sinh vật đưa vào thử nghiệm tối ưu của các chất khử trùng là 30 phút.

5. Kết luận

Sau thời gian tiếp xúc 5 phút, các chất Hydrogen peroxide 5%, Chloramin B 2%, Benkocid 0,25% đã có hiệu quả khử trùng đối với chủng vi khuẩn thử thách *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* ở nồng độ 10^5 CFU/ml.

Sau thời gian tiếp xúc 15 phút, các chất Hydrogen peroxide 5%, Chloramin B 2%, Benkocid 0,25% đã có hiệu quả khử trùng đối với nấm *Candida albicans* ở nồng độ 10^5 CFU/ml.

Thời gian tiếp xúc tối ưu với nồng độ các chủng vi sinh vật thử thách của các chất khử trùng trong thử nghiệm là 30 phút.

Tài liệu tham khảo

- [1] In-Soo Jung, Hyun-Jung Kim, Won-Yong Jung, and Chan-Wha Kim. (2014). Hydrogen Peroxide as an Effective Disinfectant for *Pasteurella multocida*. *Yonsei Med J*, volume 55, number 4, July 2014. pp1153.
- [2] Herández A, Martró E, Matas L, Martín M, Ausina V. (2000). Assessment of in-vitro efficacy of 1% Virkon against bacteria, fungi, viruses and spores by means of AFNOR guidelines. *J Hosp Infect* 2000; 46:203-9.
- [3] Gerald McDonnell, Denver Russell. (1999). Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical microbiology reviews*, Jan. 1999. pp155.
- [4] Gerald McDonnell. (2014). The use of hydrogen peroxide for disinfection and sterilization applications.
- [5] Ezra Linley, Stephen P. Denyer, Gerald McDonnell, Claire Simons and Jean-Yves Maillard. (2012). Use of hydrogen peroxide as a biocide: new consideration of its mechanisms of biocidal action. 2012; 67: 1589 –1596.