



ANEXO 2

CONCORDÂNCIA DO ORIENTADOR

Declaro que o (a) aluno (a) Renan Luiz SCHUMACHER RA 095946 esteve sob minha orientação para a realização do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado Agentes Antimicrobianos para a Assepsia no ano de 2013.
das Mãos

Concordo com a submissão do trabalho apresentado à Comissão de Graduação pelo aluno, como requisito para aprovação na disciplina DS833 - Trabalho de Conclusão de Curso.

Piracicaba, 27 de maio de 2013.

Luciana Aspino - Luciana Aspino.
(nome e assinatura do orientador)



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



RENAN LUIZ SCHUMACHER

**AGENTES ANTIMICROBIANOS PARA A ASSEPSIA DAS
MÃOS – Revisão da Literatura**

Piracicaba, 2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



AGENTES ANTIMICROBIANOS PARA A ASSEPSIA DAS MÃOS – Revisão da Literatura

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, Universidade
Estadual de Campinas, para a conclusão
do curso de Graduação.

Aluno: **RENAN LUIZ SCHUMACHER**

Orientadora: **Profa. Dra. Luciana Asprino**

Piracicaba, 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
JOSIDELMA F COSTA DE SOUZA – CRB8/5894 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

Schumacher, Renan Luiz, 1990-

Sch86a Agentes antimicrobianos para a assepsia das mãos –
revisão da literatura / Rafaela Argento. -- Piracicaba, SP:
[s.n.], 2013.

Orientador: Luciana Asprino.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) –
Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Odontologia de Piracicaba.

1. Antissepsia. I. Asprino, Luciana. II. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de
Piracicaba. III. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra aos meus pais, que me apoiaram nos momentos de maior dificuldade, me passando tranquilidade e confiança para que eu seguisse em frente em busca de meus objetivos. Sou quem sou hoje pela educação e valores de vida que recebi de vocês, que me ensinaram a ser justo, digno e honrado. Dedico também à minha falecida avó, por quem guardo um amor incondicional, que me incentivava sempre e me encorajava em todos os aspectos na vida. A dor de sua perda me fez querer vencer meus desafios e honrar o seu nome, muito obrigado. Por último, dedico esta obra aos meus memoráveis amigos Pedro, Marcos, Lucas, Rafael, Gabriel e Isabela, que estiveram sempre ao meu lado, me apoiando e me mantendo focado em meus deveres. Seria impossível até mesmo manter a minha sanidade sem o carinho de vocês, sem a cumplicidade de verdadeiros irmãos. OBRIGADO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente à ilustre Profa. Dra. Luciana Asprino, que com toda a paciência me orientou e me ajudou para que este trabalho fosse concluído, ocupando seus raros períodos livres, sempre com boa vontade e muita gentileza. Sem sua ajuda isso jamais teria sido realizado.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi citar e detalhar os principais agentes degermantes disponíveis no mercado, para avaliar qual destes possui melhor ação e melhor relação custo x benefício. Serão citados nesta obra os seguintes agentes: triclosan; povidona-iodo (PVPI); solução alcoólica; clorexidina; hexaclorofeno; amônia quaternária; hipoclorito de sódio e o sabão comum. Foram avaliados os prós e contras de cada antisséptico, considerando as propriedades básicas que todos devem possuir. Em conclusão do estudo, pode-se observar que atualmente as melhores opções para antissepsia das mãos é a clorexidina e o povidona-iodo, sendo a solução alcoólica também uma boa opção..

Palavras-chave: Agentes Degermantes; Assepsia; Antissepsia

ABSTRACT

The aim of this study was to quote and detail the main antimicrobial agents available in the market, to evaluate which of these has better action in relation to the cost-benefit. The following agents will be quoted in this work: triclosan; povidone-iodine (PVP-I); alcoholic solution; chlorhexidine; hexachlorophene; quaternary-ammonium; sodium hypochlorite and liquid soap. It was evaluate the pros and cons of each antiseptics, considering the basics properties that every agent should own. In conclusion of the study, it can be noted that currently the best options for hand disinfection is chlorhexidine and povidone-iodine, with the alcoholic solution considered a good option too.

Key words: Antimicrobial Agents; Asepsis; Antisepsis

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	3
CONCLUSÕES	10
REFERÊNCIAS	11

INTRODUÇÃO

Ainda hoje, a infecção cruzada, que se dá pela transferência de microorganismos de um paciente a outro indivíduo, é um dos grandes desafios a serem resolvidos na área de saúde. Profissionais como médicos, dentistas, enfermeiros e outros estão sujeitos a transmitir bactérias a seus pacientes através das mãos, instrumentos e ambiente de trabalho, assim como estão sujeitos a se contaminar. As consequências da infecção cruzada na área de cirurgia são há muito tempo conhecidas, tais como: aumento do tempo de cicatrização/reparo de feridas; inflamações decorrentes da infecção; tempo prolongado de internação; cirurgias, etc. Mesmo com o uso de luvas estéreis em procedimentos cirúrgicos, por exemplo, ainda há riscos da luva se rasgar e a infecção cruzada acontecer.

O controle da infecção visa impedir a penetração de microorganismo em locais onde eles não existem e evitar aportar novos agentes à área já contaminada, garantindo segurança aos pacientes e à equipe. A manobra de degermação das mãos é um dos principais meios de controle de infecção e, principalmente, para reduzir o risco de infecção cruzada (Reybrouck, 1986). Aí entra a escolha do agente degermante que terá melhor ação. Um dos mais importantes requerimentos que o antisséptico precisa ter é a ausência de toxicidade, mesmo sendo feito o uso diariamente, por vários anos (Reybrouck; 1985). Os produtos escolhidos para a antisepsia da pele são os que possuem boa ação bactericida, abrangendo um amplo espectro de micro-organismos, porém sem prejudicar a pele ou ter qualquer reação tóxica (Steere & Mallison, 1975; Ayliffe, 1980; Kaul & Jewett, 1981).

É importante considerar alguns fatores quando escolher um agente antisséptico, incluindo: as propriedades do agente (espectro e rapidez de ação e diminuição da reincidência); a segurança em seu uso (toxicidade; se é inflamável ou não) e sua aprovação pelo usuário em questões como cheiro, absorção e irritação/ressecamento da pele e alergenicidade (Hutchinson, 2002). Ainda segundo outros trabalhos (Jores, 1962), as principais características de um agente ideal são: efetividade tanto contra a microbiota local residente quanto a transitória; efetividade

contra todos os micro-organismos; ser capaz de ser aplicado rapidamente e seu efeito permanecer pelo menos até o fim do procedimento; pode ser usado em qualquer parte do corpo humano, mesmo em crianças, sem provocar irritação ou sensibilidade; não ser neutralizado por produtos comuns encontrados em hospitais e consultórios, como álcool, sabão ou material orgânico.

A literatura contém numerosos artigos que investigam e avaliam vários produtos com a finalidade da assepsia das mãos, tais como: povidona-iodo; clorexidina; soluções alcoólicas; triclosan; hexaclorofeno; amônia quaternária; hipoclorito de sódio e o sabão comum. Portanto, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão da literatura buscando apresentar as características, as vantagens e as desvantagens dos principais agentes degermantes presentes no mercado atualmente, para que assim possa orientar e ajudar profissionais quanto à melhor escolha ou preferência de produto, em relação ao custo-benefício.

REVISÃO DE LITERATURA

A aplicação de agentes bactericidas ou bacteriostáticos na pele, mucosa ou feridas para reduzir a concentração da flora bacteriana e, conseqüentemente, diminuir a incidência de infecções, tem sido usada desde os egípcios. Muito foi pesquisado e documentado (Evans & Matten, 1980; Price, 1938) de que existem duas classes de bactéria na pele, que foram denominadas como transitórias e residentes. Embora o principal objetivo da antisepsia das mãos seja meramente liminar a flora transitória, a flora residente também é reduzida e a escolha do agente antisséptico irá determinar o tempo de manutenção do efeito antisséptico residual (Reybrouck, 1985).

Quando a eliminação das bactérias da pele através da limpeza das mãos é necessária para a realização de um procedimento em paciente, é imprescindível que os agentes antimicrobianos possuam efeito residual (Lowbury et al., 1964). O efeito residual permite que o agente continue agindo mesmo durante o procedimento, fazendo com que a segurança contra infecção seja aumentada.

IODO PVPI

O iodo e seus derivados têm sido usados em preparações pré-operatórias desde meados de 1900. É um potente antisséptico com um amplo espectro de ação contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos e vírus. Iodo diluído em álcool é descrito como uma solução antisséptica preparatória, porém seu uso foi extremamente diminuído por sua tendência a causar irritações na pele depois de prolongado contato e exposições repetidas (Altemeier, 1983). Atualmente, a forma mais comercializada e utilizada do iodo é a solução antisséptica povidona-iodo. Nada mais é do que o iodo com um veículo orgânico, tal como a polivinilpirrolidona, ou povidona (PVP), daí a nomenclatura PVP-I. Este não apresenta irritação local, apenas em casos de alergia, sendo comprovado que o mesmo não causa injúrias na pele ou em feridas

(Shelanski, 1956). Além disso, possui ação bactericida praticamente igual a solução alcoólica de iodo (MacRae 1984), o PVP-I é um agente altamente degermante. Em adição, a povidona-iodo mantém sua ação mesmo na presença de sangue, pus ou tecido necrótico (Rabinowitz, 1961).

Garnes et al., em 1959, conduziu uma avaliação clínica do Spray Aerosol de povidona-iodo em práticas cirúrgicas e concluiu que, em 200 procedimentos de sutura de emergência e 100 cirurgias maiores, a povidona-iodo provou ser insuperável como agente germicida para cirurgias, queimaduras e úlceras. Rabinowitz, 1961, relatou uma incomum queda de incidência em infecções pós-operatórias em 125 cirurgias ortopédicas consecutivas usando solução PVP-I e spray como antissépticos, não encontrando evidências de irritação da pele, injúrias ou reações de sensibilidade.

Há efeitos colaterais a utilização de iodo, mas estes são extremamente raros, tais como: supressão da tireoide em crianças, insuficiência renal aguda e toxicidade (Clemens, 1989). Além disso, a solução PVP-I, quando aplicada, fica visível na pele devido a sua cor âmbar, porém com uma simples lavagem com água ela é retirada.

Para conseguir antissepsia efetiva com a utilização do PVP-I, a assepsia das mãos deve ser realizada deixando a solução no mínimo 3 minutos em contato com a pele. O risco de recolonização das bactérias da pele aumenta a partir do momento em que o procedimento ultrapassa o tempo de 95 minutos (Aksoy et al., 2005).

CLOREXIDINA

Foi sintetizada e usada pela primeira vez na Grã-Bretanha como solução antibacteriana e aprovada para uso tópico nos EUA em 1976 (Lowbury, 1976). Clorexidina é uma bisbiguanida muito efetiva contra bactérias Gram-positivas, e também contra algumas bactérias Gram-negativas. Sua toxicidade local é muito baixa, e raramente causa reações como alergia/irritações. Para antissepsia das mãos é normalmente usada como solução 4% com detergente (Reybrouck, 1985).

A ação antibacteriana aparenta variar muito de acordo com a concentração de clorexidina presente na solução, assim como o pH da mesma. Em concentrações baixas, a clorexidina tende a ser bacteriostática e, em concentrações altas, bactericida, causando a ruptura da membrana celular da bactéria, sendo mais efetiva em Gram-positivas (Pitt et al., 1983). Ela também é geralmente efetiva contra vírus que possuem alta concentração de lipídeos. Neles estão incluídos o vírus da imunodeficiência humana (HIV), da herpes, assim como uma grande variedade de vírus do trato respiratório (Montefiori, 1990).

Helgeland et al. e Goldschmidt et al. mostraram que a clorexidina pode ser citotóxica aos fibroblastos e à células epiteliais quando aplicadas na pele. Além disso, é relatado que quando a clorexidina entra em contato com os olhos e as estruturas oftálmicas, danos mais severos e permanentes podem ocorrer. Portanto, a clorexidina não deve ser colocada em contato com os olhos do paciente, requerendo, então muito cuidado na sua utilização para preparos pré-operatórios da face/rosto.

Estudos demonstraram que com a utilização da solução de clorexidina 4% com detergente para antissepsia das mãos, houve grande redução da flora bacteriana residente após a lavagem por 2 minutos, superando a ação do iodo PVP-I e da solução de clorexidina 0,75% com detergente (Lowbury, 1973). Além disso, sua ação residual é comprovada, demonstrando ter efeito persistente na pele contra ambas as floras bacterianas, a residente e a transitória (Leydon et al., 1979; Peterson, 1978; Casewell et al., 1988). Portanto, com sua devida utilização, a clorexidina se prova muito efetiva para a antissepsia da pele após ou antes de procedimentos cirúrgicos (Nicoletti, Boghossian e Borland, 1990).

SOLUÇÕES ALCOÓLICAS

Muito foi publicado sobre a ação de antissépticos contra bactérias patogênicas, e para a antissepsia das mãos. Lowbury, Lilly e Ayliffe (1974) claramente

mostraram a efetividade das soluções alcoólicas (principalmente contendo clorexidina) em reduzir a quantidade de bactérias na pele.

Soluções alcoólicas são geralmente mais efetivas após uma única aplicação do que detergentes antissépticos ou sabões, mas elas nem sempre são apropriadas. Álcool etílico ou iso-propanol sem a adição de um antisséptico é igualmente efetivo (Price, 1968; Lilly et al., 1979; Rotter et al., 1980) e surpreendentemente apresenta efeito prolongado (Lilly, Lowbury, Wilkins & Zaggy, 1979). Os alcoóis são extremamente ativos e ao mesmo tempo não provocam reação na pele. As soluções mais usadas são: etanol 70% e isopropanol 60%. Ambos os agentes possuem ação bactericida contra bactérias Gram-positivas e negativas, também possuindo ação contra muitos fungos e vírus (Lowbury, 1974). Porém, mesmo tendo a capacidade de diminuir o número de fungos e vírus da pele, estas soluções não são fungicidas ou viruscidas (Stoelting, 1987). Lavar as mãos por 1 minuto com uma quantidade dessas soluções que as molhe completamente, esfregando-as em seguida até que se sequem, será mais efetivo do que outros métodos de antisepsia (Reybrouck, 1986). Uma aplicação de quantidade e tempo menores (20-30 segundos) é normalmente suficiente para antisepsia rotineira das mãos.

As soluções alcoólicas possuem certas desvantagens que são levadas em consideração no momento de escolha do agente antimicrobiano. Uma potencial desvantagem é que seu uso frequente resseca a pele. A adição de glicerol 1% pode evitar isso (Lowbury et al., 1974). Outra desvantagem é que elas removem os ácidos insaturados produzidos na secreção da pele, que possuem ação antimicrobiana, portanto a ação protetora natural da pele é comprometida por algumas horas (Reybrouck, 1986). Além disso, o álcool é um produto volátil e inflamável, portanto cuidados são necessários no armazenamento e na sua utilização perto de laser ou eletrocirurgia (Reynolds, 1982).

A utilização das soluções alcoólicas na escovação pré-cirúrgica e na antisepsia pré-operatória das mãos tem sido provada como um efetivo agente antimicrobiano, sendo mais comumente utilizada na Europa, enquanto nos EUA ainda não são as soluções preferidas (Morgan, Haug e Kosman, 1996).

TRICLOSAN

O triclosan tem sido avaliado para antissepsia cirúrgica das mãos desde 1974, porém apresentou resultados que variam (Lilly & Lowbury, 1974; Eitzen et al., 1979; Bartzokas et al., 1987). Em dois destes estudos, ele foi comparado com clorexidina detergente. Lilly & Lowbury (1974) descobriram que o triclosan foi inferior à clorexidina após uma única lavagem das mãos, mas foi igualmente efetivo após seis lavagens, possuindo alguma ação residual, no entanto uma ação inferior à desencadeada pela clorexidina. Bartzokas et al. (1987) comprovou que o triclosan e a clorexidina possuem o mesmo efeito imediato na flora residente após uma lavagem de 3 minutos das mãos. Em alguns estudos realizados (Ayliffe et al., 1988; Bendig, 1989), foi constatada irritação da pele de alguns voluntários que tiveram contato com o triclosan, porém esse contato foi realizado por um período de tempo relativamente longo, aproximadamente 17 minutos no total, havendo intervalos de tempo entre os contatos.

Foi comprovado que um sabão germicida contendo triclosan é insuficientemente ativo para antissepsia e muito lento para matar organismos patogênicos no período de 2 minutos. Isto vale para cremes antissépticos, loções, géis ou espumas, que também aparentam não ser efetivos num curto período de tempo. Na realidade, o triclosan mostra-se apenas ser um pouco mais ativo que um sabão comum (Lowbury et al., 1964a; Mittermayer & Rotter, 1975; Sheena & Stiles, 1982).

HEXACLOROFENO

O hexaclorofeno é caracterizado por um estreito espectro antimicrobiano: é principalmente ativo contra bactérias Gram-positivas, e tem pequena ou nenhuma atividade contra bacilos Gram-negativos Sua ação é bem lenta, porém uma ação residual é obtida quando um preparo líquido ('pHisoHex') é usado repetidamente

(Reybrouck, 1985). O uso contínuo do hexaclorofeno muda o ecossistema normal da pele através da redução seletiva de estafilococos, o que permite um aumento dos organismos Gram negativos (Forfar, Gould & Maccabe, 1968; Evans et al., 1973). Atualmente, é mais comumente utilizado em solução 3% com álcool ou detergentes.

Por ser muito utilizado, seus efeitos colaterais são muito bem conhecidos. Além de relatos de sensibilidade local, é comprovado que o hexaclorofeno é absorvido pela pele, especialmente depois de uso constante (Kimbrough, 1973). Além disso, pode causar edema e degeneração cerebral, com danos permanentes após repetidos usos em crianças ou para limpar grandes feridas em mucosas em adultos (Cooperman, 1977; Check, 1978). Quando usado como preparação pré cirúrgica na região maxilofacial, o hexaclorofeno pode gerar uma severa conjuntivite e ceratite envolvendo toda a córnea quando entra em contato com o tecido conjuntivo (Browning, 1955).

AMÔNIA QUATERNÁRIA

Os compostos de amônia quaternária possuem um bom efeito bactericida em organismos Gram-positivos, além de serem bem tolerados pela pele, feridas e mucosa. Porém, seu uso é limitado à de um agente de limpeza, uma vez que as bactérias Gram-negativas podem sobreviver e multiplicar-se nas soluções aquosas destes compostos. (Rutala & Cole, 1984).

HIPOCLORITO DE SÓDIO

O hipoclorito de sódio foi o primeiro antisséptico utilizado para prevenir infecções, como foi demonstrado no século XIX pelo trabalho pioneiro de Ignaz Semmelweis, que o usou para antissepsia das mãos, reduzindo a incidência e a mortalidade da febre puerperal. Alvarez et al., 2010, compararam PVPI 10% com

hipoclorito de sódio 10%, para antissepsia pré-operatória da pele do sítio cirúrgico e relataram não ter encontrado diferença em relação à ação antisséptica. Portanto, o hipoclorito demonstrou eficácia para aplicação como antisséptico da pele.

SABÃO COMUM

O sabão líquido comum é muitas vezes preferido no hospital por ser mais econômico e seu consumo pode ser mais precisamente estimado do que do sabão em barra. O sabão em barra deixado em uma poça de água está apto a tornar-se contaminado com bactérias que residem na pele e bacilos Gram-negativos (Jarvis et al., 1979; McBride, 1984). O mesmo risco ocorre com o sabão líquido, se o recipiente que o mantém é reabastecido sem antes ser limpo. Se um sabão não irritante (líquido ou barra) não é usado e sim um comum, podem surgir danos na pele, assim como dermatite ou alergia após frequentes aplicações, o que pode ser 50 por dia aproximadamente. Indivíduos com dermatite tenderão a evitar a lavagem das mãos, possuindo, assim, maior contagem bacteriana na pele machucada; portanto, eles são uma maior fonte potencial de infecção (Steere & Mallison, 1975).

O sabão comum, por ser mais barato e render mais que os outros agentes para limpeza e antissepsia das mãos, pode ser usado para procedimentos mais rotineiros e menos invasivos. Porém, para procedimentos onde o risco de contaminação é maior, o poder de ação do sabão comum não é suficiente para assegurar uma boa redução na flora bacteriana residente e transitória da pele. Portanto, um agente mais ativo como a Clorexidina ou PVPI são preferíveis.

CONCLUSÕES

A escolha dos agentes para antissepsia das mãos não é tão simples, pois ensaios clínicos controlados envolvendo as taxas de infecção são quase impossíveis de se configurar exceto em uma escala muito grande e a avaliação laboratorial continua a ser o único critério disponível.

Em resumo, a escolha do agente antisséptico é geralmente irrelevante, desde que o agente escolhido, seja aplicado corretamente e no tempo apropriado. Quais procedimentos resultam em grande contaminação não são claramente definidos, mas em algumas circunstâncias, um agente mais ativo, ou um mostrando um efeito mais permanente é preferido, por exemplo, em unidades de cuidados intensivos ou durante surtos de infecção. Para a maioria dos procedimentos mais comuns, a utilização de sabão comum ou detergente tende a ser suficiente, mas é importante que a formulação não seja agressiva e sua utilização seja agradável (não manche, desidrate etc.).

Quando se precisa de uma boa antissepsia das mãos e uma ação residual satisfatória, as melhores opções de escolha são os agentes a base de iodo-PVPI, a clorexidina e as soluções alcoólicas. Lembrando que é necessária a correta lavagem das mãos, sendo a antissepsia mais eficaz quando esta é associada a escovação das mãos como método de degermação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams A. B. Surgical Hand Antisepsis: Where We Have Been and Where We Are Today Review Article. *Perioperative Nursing Clinics*, Volume 5, Issue 4, December 2010, Pages 443-448.
2. Aksoy A, Caglayan F, Cakmak M, et al. An investigation of the factors that affect surgical hand disinfection with polyvidone iodine. *J Hosp Infect* 2005;16:15–9.
3. Altemeier WA: *Disinfection, Sterilization, and Preservation* (ed. Philadelphia, PA, Lea & Febiger, 1983, pp 493-504)
4. Alvarez J. A., Macias J. H., Macias A. E., Rodríguez E., Muñoz J. M., Mosqueda J. L., de Leon S. P. Povidone-iodine against sodium hypochlorite as skin antiseptics in volunteers Original Research Article. *American Journal of Infection Control*, Volume 38, Issue 10, December 2010, Pages 822-825
5. Ayliffe G. A. J. The effect of antibacterial agents on the flora of the skin review article. *Journal of Hospital Infection* (1980) 1, 111-124.
6. Ayliffe G. A. J., Babb J. R., Davies J. G. and Lilly H. A. Hand disinfection: a comparison of various agents in laboratory and ward studies. *Journal of Hospital Infection* (1988) 11, 226-243
- 7.
8. Bartzokas C. A., Gibson M. F., Graham R. and Pinderf D. C. A comparison of triclosan and chlorhexidine preparations with 60 per cent isopropyl alcohol for hygienic hand disinfection. *Journal of Hospital Infection* (1983) 4, 245-255.

9. Bartzokas, C. A., Corkhill, J. E., Makin, T. & Parry, E. (1987). Comparative evaluation of the immediate and sustained antibacterial action of two regimens, based on triclosan and chlorhexidine-containing handwash preparations on volunteers. *Epidemiology and Infection* 89, 337-344.
10. Bendig J. W. A. Surgical hand disinfection: comparison of 4% chlorhexidine detergent solution and 2% triclosan detergent solution. *Journal of Hospital Infection* (1990) 15, 143-148
11. Bost, T. G.: An Experimental Comparison of Certain Skin Sterilizing Agents. Preliminary Report. *North Carolina M. J.*, 5:4, 1944.
12. Browning CW, Lippas J: pHisoHex keratitis. *Arch Ophthalmol* 53:817, 1955
13. Check W: New study shows hexachlorophene is teratogenic in humans. *JAMA* 240:513, 1978
14. Clemens PC, Neumann RS: The Wolff-Chaikoff effect; hypothyroidism due to iodine application. *Arch Dermatol* 125:705, 1989
15. Cooperman EM: Hexachlorophene in the nursery. *Can Med Assoc J* 117:205, 1977
16. Davies, J.: Selections in Pathology and Surgery. London, Longman, Orme, Brown, Green & Longmans, Part II, 1839.
17. Eitzen, H. E., Ritter, M. A., French, N. L. V. & Gioe, T. J. (1979). A microbiological in-use comparison of surgical hand-washing agents. *Journal of Bone and Joint Surgery* 61, 403-406.

18. Ellison, E. H.: Current Thinking on Hand Scrubs and Skin Preps. *OR Nursing*, May-June, 1960.
19. Evans, Z. A., Rendtorff, R. C., Robinson, H. & Rosenberg, E. W. (1973). Ecological influence of hexachlorophene on skin bacteria. *Journal of Investigative Dermatology* 60, 207-214
20. Evans CA, Mattem KL: The bacterial flora of the antecubital fossa: The efficacy of alcohol disinfection of this site, the palm and the forearm. *J Invest Dermatol* 75: 140, 1980
21. Forfar, J. O., Gould, J. C. & Maccabe, A. F. (1968). Effect of hexachlorophane in incidence of staphylococcal and Gram-negative infection in the newborn. *Lancet* ii. 177-179.
22. Garnes, A. L., E. Davidson, E. E. Taylor, A. J. Felix, B. A. Shidlovsky and A. Prigot: Clinical Evaluation of Povidone-Iodine Aerosol Spray in Surgical Practice. *Am. J. of Surg.*, 97:47, 1959.
23. Goldschmidt P, Cogan R, Taubman S: Cytopathologic effects of chlorhexidine on human cells. *J Periodontal* 48:212, 1977
24. Helgeland K, Heyden G, Rulla G: Effects of chlorhexidine on animal cells in vitro. *Stand J Dent Res* 79:209, 1977
25. Hugo WB, Longworth AR: Cytological aspects of the mode of action of chlorhexidine diacetate. *J Pharm Pharmacol* 17:28, 1968
26. Hutchinson N. Asepsis, Antisepsis and Skin Preparation Original Research Article *Surgery (Oxford)*, Volume 20, Issue 8, 1 August 2002, Pages 190-192

27. James F. Connell Jr., Louis M. Rousselot. Povidone-iodine: Extensive surgical evaluation of a new antiseptic agent Original Research Article The American Journal of Surgery, Volume 108, Issue 6, December 1964, Pages 849-855
28. Jarvis, J. D., Wynne, C. D., Enwright, L. & Williams, J. O. (1979). Handwashing and antiseptic-containing soaps in hospital. Journal of Clinical Pathology 32, 732-737
29. Joress, S. M. A study of disinfection of the skin-a comparison of povidone-iodine with other agents for surgical scrubs. Annals of Surgery 155: 296-304 (1962).
30. Kimbrough RD: Review of toxicity of hexachlorophene, including its neurotoxicity. J Clin Pharmacol 13:439, 1973
31. Kurtz J. B., Lee T. W. and Parsons A. J. The action of alcohols on rotavirus, astrovirus and enterovirus. Virology Laboratory and Public Health Laboratory, Journal of Hospital Infection (1980) 1, 321-325
32. Lowbury, E. J. L., Lilly, H. A & Bull, J. P. (1964a). Disinfection of hands: removal of transient organisms. British Medical Journal ii, 230-233.
33. Lowbury E. J. L., Lilly H. A., Ayliffe G. A. J. Preoperative Disinfection of Surgeons' Hands : Use of Alcoholic Solutions and Effects of Gloves on Skin Flora British Medical Journal, 1974, 4, 369-372
- 34.
35. Lowbury E. J. L., Lilly H. A. Use of 4% Chlorhexidine Detergent Solution (Hibiscrub) and Other Methods of Skin Disinfection British Medical Journal, 1973, 1, 510-515

36. Lilly, H. A., Lowbury, E. J. L., Wilkins, M. D. & Zaggy, A. Delayed antimicrobial effects of skin disinfection by alcohol. *Journal of Hygiene (Cambridge)* 82: 497-500 (1979).
37. Lilly, H. A. & Lowbury, E. J. L. (1974). Disinfection of the skin with detergent preparations of Irgasan DP 300 and other antiseptics. *British Medical Journal* 4, 372-374.
38. MacRae SM, Brown B, Edelhauser HF: The corneal toxicity of presurgical skin antiseptics. *Am J Ophthalmol* 97:221, 1984
39. McBride, M. E. (1984). Microbial flora of in-use soap products. *Applied and Environmental Microbiology* 48, 3 38-341.
40. Mittermayer, H. & Rotter, M. (1975). Vergleich der Wirkung von Wasser, einigen Detergenten und Athylalkohol auf die transiente Flora der Hände. *Zentralblatt für Bakteriologie und Hygiene, I. Abteilung Originale Reihe B* 160, 163-172.
41. Montefiori DC, Robinson WE, Modliszewski A, et al: Effective inactivation of human immunodeficiency virus with chlorhexidine antiseptics containing detergents and alcohol. *J Hosp Infect* 15:279, 1990
42. Morgan III J. P., Haug R. H., Kosman J. W. Antimicrobial skin preparations for the maxillofacial region Original Research Article *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, Volume 54, Issue 1, January 1996, Pages 89-94
43. Nicoletti G., Boghossian V. and Borland R. Hygienic hand disinfection: a comparative study with chlorhexidine detergents and soap. *Journal of Hospital Infection* (1990) 15, 323-337

44. Pitt TL, Graston MA, Hoffman PN: In-vitro susceptibilities of hospital isolates of various bacterial genera to chlorhexidine. *J Hosp Infect* 4:173, 1983
45. Price P: The bacteriology of normal skin: A new quantitative test applied to a study of the bacterial flora and the disinfectant action of mechanical cleansing. *J Infect Dis* 63:301, 1938
46. Rabinowitz, M. S.: Clinical Evaluation of Povidone-Iodine as a Skin Antiseptic in Orthopedic Surgery. *J. New Drugs*, 1: 1, 1961.
47. Reybrouck G. Handwashing and hand disinfection review article *Journal of Hospital Infection* (1986) 8, 5-23
48. Reynolds JEF, Prasad AB: *Martindale the Extra Pharmacopoeia* (ed 28). London, England, Pharmaceutical, 1982, pp 40-41
49. Rotter, M., Koller, W. & Wewalka, G. Povidone-iodine and chlorhexidine gluconate containing detergents for disinfection of hands. *Journal of Hospital Infection* 1: 149-158 (1980).
50. Rotter M. L. Arguments for alcoholic hand disinfection. Original Research Article *Journal of Hospital Infection*, Volume 48, Supplement A, August 2001, Pages S4-S8
51. Rutala, W. A. & Cole, E. C. (1984). Antiseptics and disinfectants- safe and effective? *Infection Control* 5, 215-218.
52. Sheena, A. Z. & Stiles, M. E. (1982). Efficacy of germicidal hand wash agents in hygienic hand disinfection. *Journal of Food Protection* 45, 713-720.

53. SHELANSKI, H. A. and SHELANSKI, M. V. PVP Iodine: history, toxicity and therapeutic uses. *J. Internat. Coll. Surgeons*, 25: 727, 1956.
54. Steere, A. C. & Mallison, G. F. (1975). Handwashing practices for the prevention of nosocomial infections. *Annals of Internal Medicine* 83, 683-690.
55. Stoelting RK: *Pharmacology and physiology in anesthetic practice*. Philadelphia, PA, Lippincott, 1987, pp 561-564
56. Suchomel M., Gnant G., Weinlich M., Rotter M. Surgical hand disinfection using alcohol: the effects of alcohol type, mode and duration of application. *Journal of Hospital Infection* (2009) 71, 228-233
57. Tavolacci M. P., Pitrou I., Merle V., Haghghat S., Thillard D., Czernichow P. Surgical hand rubbing compared with surgical hand scrubbing: comparison of efficacy and costs Original Research Article *Journal of Hospital Infection*, Volume 63, Issue 1, May 2006, Pages 55-59
58. Tvedt C., Bukholm G. Alcohol-based hand disinfection: a more robust hand-hygiene method in an intensive care unit Original Research Article *Journal of Hospital Infection*, Volume 59, Issue 3, March 2005, Pages 229-234
59. Zaragoza M, Salle´s M, Gomez J, Bayas J, Trilla A. Handwashing with soap or alcoholic solution? A randomized clinical trial of its effectiveness. *Am J Infect Control* 1999;27:258-261.