

Estudo microbiológico comparativo entre sabão de clorexidina 2% e um novo sabão antisséptico para lavagem pré-operatória das mãos

Microbiological study comparing 2% chlorhexidine soap and a new antiseptic soap for preoperative handwashing

Marcelo Silva Monnazzi^I | Younès Messaddeq^{II} | Denise Madalena Palomari Spolidorio^{III} | Silvana Aparecida Rodrigues Camargo Pelaes^{IV} | Sybele Saska^V | Thais de Cássia Negrini^{VI} | Mario Francisco Real Gabrielli^{VII}

RESUMO

Objetivos: Avaliar, por meio de estudo microbiológico, dois tipos de sabão propostos para a lavagem das mãos na preparação dos cirurgiões no tempo pré-operatório; comparando um sabão com potência antibacteriana já conhecida e um novo sabão formulado a partir de óleos vegetais. Materiais e métodos: Dez voluntários fizeram a escovação das mãos, segundo protocolos pré-estabelecidos para a rotina de medidas de antissepsia em centros cirúrgicos, com 3 sabões diferentes, sendo um sabão comum (comercial) sem poder antisséptico que serviu como Grupo Controle (I), um sabão de digluconato de clorexidina a 2% (Grupo II) e um novo sabão feito a partir de óleos vegetais numa concentração de 20%, que foi desenvolvido pelo Instituto de Química Unesp/Araraquara no Grupo de Materiais Fotônicos, denominado surfactante a 20% (Grupo III). Antes de lavar as mãos, logo após e uma hora depois com o uso de luvas cirúrgicas, foi realizada a coleta microbiológica. Resultados: Pelos resultados da ANOVA, verificam-se as seguintes diferenças significativas para o número de colônias bacterianas: entre tipos de sabão (menor número de colônias no sabão do Grupo II), entre tempos (redução do número de colônias no sabão do Grupo II) e efeito significativo da interação sabão versus tempo. Conclusão: O sabão de digluconato de clorexidina 2% mostrou um comportamento melhor em reduzir o número de colônias bacterianas das mãos imediatamente após a lavagem e continuou sendo superior após uma hora com o uso de luvas, quando comparado ao sabão de surfactante a 20%.

Descritores: Antissepsia; Lavagem das mãos; Sabões; Clorexidina.

ABSTRACT

Objective: To evaluate, by means of a microbiologic study, two kinds of soaps suggested by surgeons for presurgical handwashing, comparing a well-known antibacterial soap with a new soap formulated from vegetable oils. Materials and methods: Ten volunteers performed handwashing according to previously established protocols for routine antiseptics in operating rooms using 3 different soaps: a common, commercially marketed soap, serving as the control group (Group 1), with no antibacterial characteristics; a

I. Mestre e Doutor em Cirurgia, Professor voluntário da Residência em Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, Pós-doutorando da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial da USP – Ribeirão Preto.
II. Professor Doutor do Instituto de Química de Araraquara – UNESP.
III. Professora Adjunta do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.
IV. Auxiliar de enfermagem funcionária do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.
V. Doutora pelo Departamento de Química Geral e Inorgânica – Instituto de Química de Araraquara - UNESP.
VI. Mestre pelo Departamento de Análises Clínicas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP.
VII. Professor Titular da Disciplina de Cirurgia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

soap with 2% chlorhexidine (Group II); and a new soap formulated from vegetable oils at a concentration of 20%, known as surfactant, which was designed by the Chemistry Institute (Unesp/Araraquara – Grupo de Materiais Fotônicos) (Group III). The microbiological samples were collected immediately before and after handwashing and one hour later with the volunteer wearing surgical gloves. Results: ANOVA revealed that the following significant differences are found in the number of bacterial colonies: between soap types (a smaller number of colonies in the Group II soap), between periods (reduction in the number of colonies in the Group II soap), and the significant effect of the soap versus time interaction. Conclusion: The 2% chlorhexidine soap performed better in reducing the number of bacterial colonies on the hands immediately after handwashing and after one hour with the use of surgical gloves, when compared to the 20% surfactant soap.

Descriptors: Antisepsis; Handwashing; Soaps; Chlorhexidine.

INTRODUÇÃO

Independente de estar no consultório odontológico ou nos centros cirúrgicos hospitalares, os cirurgiões, inclusive os dentistas, em especial aqueles que realizam cirurgias orais e procedimentos de implantodontia, devem estar sempre atentos às medidas de assepsia e antisepsia, em busca do controle e da detenção da infecção cruzada.

Tal controle se constitui em um grande desafio para químicos e microbiologistas, que estão sempre à procura de novos meios e substâncias que possam ajudar os profissionais da saúde a cada vez mais manterem a cadeia asséptica. Sendo a degermação das mãos uma das principais condutas a serem tomadas na preparação pré-cirúrgica, que, além de ser extremamente eficaz é de baixo custo na prevenção de infecções cruzadas, infecções pós-operatórias e bacteremias transitórias.

Este simples cuidado, a escovação das mãos, passou a salvar milhares de vidas após as descobertas dos seus benefícios por meio dos estudos e observações de Semmelweis (1818-1865), responsável por um pavilhão da Maternidade no Hospital Geral de Viena e do professor Oliver Wendell Holmes, que escreveu, em 1843, o livro "The contagiousness of puerperal fever". Desde então, evoluções referentes às técnicas de escovação das

mãos e aos sabões utilizados para essa finalidade, têm sido descritas na literatura ¹.

Segundo revisão de literatura feita por Tivolacci et al. (2006)², incluindo seis trabalhos encontrados por meio do Medline, a escovação das mãos apresenta resultados semelhantes à desinfecção das mãos por fricção com soluções próprias, o que, no Brasil, em especial nas cidade menores, ainda não é de uso corriqueiro, sendo dessa forma, relevante o estudo de novas substâncias que possam ser aplicadas tanto para escovação como desinfecção das mãos.

O objetivo deste estudo foi o de avaliar, por meio de estudo microbiológico, a eficácia de um novo sabão proposto para a escovação das mãos antes da realização de cirurgias.

MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada com a participação de 10 alunos voluntários, residentes (06) e estagiários de aperfeiçoamento (04) em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Araraquara (Unesp).

Os mesmos elementos participaram dos três grupos da pesquisa, sendo que, no grupo I (controle), os voluntários realizaram a escovação das mãos com água e sabonete comum (sem antisséptico); o

grupo II (clorexidina a 2%), e o grupo III (surfactante a 20%).

Os grupos foram testados com uma semana de espaço entre um sabão e outro, e, nesse tempo, os voluntários foram orientados a não usar sabonetes que contivessem qualquer tipo de substância antimicrobiana.

No dia da realização do teste, os voluntários foram orientados a, primeiramente, imprimir o polegar direito sobre o meio de cultura contido na placa de Petri, que foi previamente dividida em três zonas denominadas A, B e C. Na zona A, o voluntário imprimiu o polegar antes da escovação das mãos; na zona B, o voluntário imprimiu o polegar imediatamente após a escovação das mãos, com o respectivo sabão referente ao grupo, e, na zona C, o voluntário imprimiu o polegar após uma hora da escovação das mãos, sendo que, nesse período, ele permaneceu de luvas estéreis, a fim de se testar o efeito residual dos sabões.

A escovação das mãos seguiu protocolo descrito por Magro-filho et al. (2000)³ para todos os grupos, sendo feita com o uso de escova estéril (Escova M-P®) e 10 mililitros do sabão (de acordo com o grupo), escovando as mãos e os antebraços por aproximadamente 3 minutos e secando as mãos em compressas estéreis após o seu enxague em água corrente, em torneiras com acionamento automático ou sem o contato das mãos.

O sabão de clorexidina usado no grupo II foi o Riohex 2%® (digluconato de clorexidina 2% - solução degermante) e o sabão utilizado no grupo III foi o surfactante (sabão à base de óleos vegetais) em concentração de 20% desenvolvido pelo Instituto de Química da Unesp-Araraquara no Grupo de Materiais Fotônicos.

Procedeu-se, então, à avaliação do potencial antimicrobiano in vivo do sabão de clorexidina 2% em comparação com o surfactante 20%; o meio de cultura utilizado nas placas foi o Manitol Agar para *Staphylococcus aureus* em concentração de 111 mg/1000ml. O ensaio foi realizado em placas de cultura de 96 poços, em cada poço contendo 25 ml de solução (Manitol Salt Agar®); a placa foi mantida em incubadora a 37°C por 48 horas, posteriormente avaliado em contador de colônias CP600 Plus (Phoenix).

RESULTADOS

Na tabela 1, é apresentada a estatística descritiva do número de colônias bacterianas para caracterização da amostra total (n=10) para cada sabão (Grupo I (sabão 1) = sabão comum, Grupo II (sabão 2) = clorexidina 2% e Grupo III (sabão 3) = surfactante 20%) e para cada tempo (A = pré-escovação das mãos, B = pós-escovação imediata e C = 1 hora após a escovação com o uso de luvas estéreis).

Tabela 1 - Análise descritiva do número de colônias bacterianas por sabão e tempo.

VARIÁVEL	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	Q1	MEDIANA	Q3	MÁX
Sabão1A	10	15.40	19.67	0.00	5.00	8.50	15.00	64.00
Sabão1B	10	32.20	49.31	0.00	4.00	12.50	32.00	153.00
Sabão1C	10	49.00	63.43	0.00	1.00	16.00	86.001	82.00
Sabão2A	10	7.60	10.96	1.00	1.00	2.50	9.00	36.00
Sabão2B	10	0.70	1.89	0.00	0.00	0.00	0.00	6.00
Sabão2C	10	1.50	4.74	0.00	0.00	0.00	0.00	15.00
Sabão3A	10	25.20	20.03	5.00	7.00	20.00	42.00	63.00
Sabão3B	10	8.10	10.93	0.00	2.00	2.50	12.00	34.00
Sabão3C	10	15.70	19.20	0.00	3.00	8.50	19.00	59.00

Na tabela 2, a seguir, podemos ver as análises comparativas do número de colônias bacterianas encontradas entre os três tipos de sabão e os três tempos de avaliação propostos.

Tabela 2 - Resultados da ANOVA para medidas repetidas para comparação do número de colônias bacterianas entre os 3 tipos de sabão e os 3 tempos de avaliação.

Variável*	Grau de perda de sensibilidade cutânea
Comparação entre Tipos de Sabão (1 vs 2 vs 3)	P=0.003 ^a
Comparação entre Tempos(A, B e C)	P=0.032 ^a
Interação Sabão vs Tempo	P=0.019 ^a

* Variável transformada em postos (ranks) para os testes devido à ausência de distribuição Normal.

(a)Diferenças significativas entre tipos de sabão (teste de perfil por contraste): 1 ≠ 2;2 ≠ 3 no geral; diferenças significativas entre tempos (teste de perfil por contraste): A ≠ B no geral; efeito significativo da interação sabão vs tempo (teste de perfil por contraste): diferenças entre tempos por sabão: nenhuma diferença no sabão 1; A ≠ B; A ≠ C no sabão 2; A ≠ B; B ≠ C no sabão 3; diferenças entre tipos de sabão por tempo:2 ≠ 3 no tempo A; 1 ≠ 2;2 ≠ 3 no tempo B;1 ≠ 2;2 ≠ 3 no tempo C.

Pelos resultados da ANOVA, verificam-se as seguintes diferenças significativas para o número de colônias bacterianas:

- Que entre os tipos de sabão, houve um menor número de colônias no sabão 2 nos tempos B e C, comparado ao grupo controle (I) e ao grupo III.
- Entre os tempos, houve uma redução do número de colônias no sabão 2 e efeito significativo da interação do sabão versus tempo somente neste grupo.

No gráfico 1, podemos visualizar o comportamento em termos de redução do número de colônias bacterianas dos três sabões testados, sendo que o sabão 1 não apresentou efeito significativo de redução de colônias bacterianas em nenhum tempo estudado, e o número de colônias aumentou em decorrência do tempo; o sabão 2 apresentou o melhor comportamento em termos de redução de colônias bacterianas, mostrando um efeito residual

efetivo no tempo C (Figura 1). Por outro lado, o sabão 3 apresentou redução do número de colônias nos tempos B e C (Figura 2), no entanto foram significativamente menos efetivas que a redução encontrada no sabão 2, apesar de ser superior à encontrada no sabão do grupo I (controle).

Gráfico 1 – Resultado da ANOVA para os três grupos, contando o número de colônias bacterianas em função do tempo.

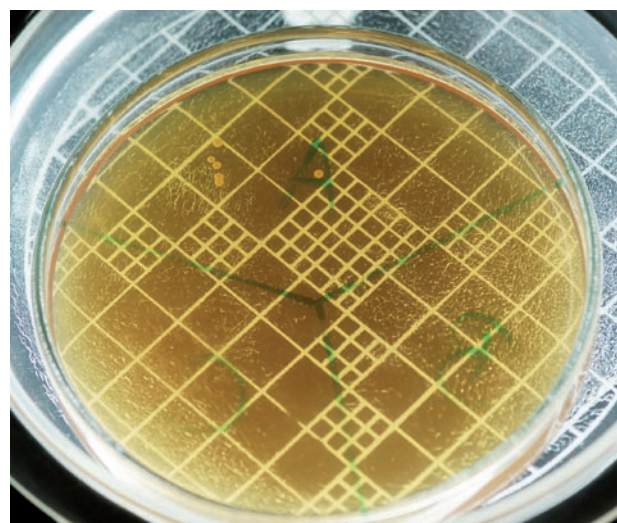
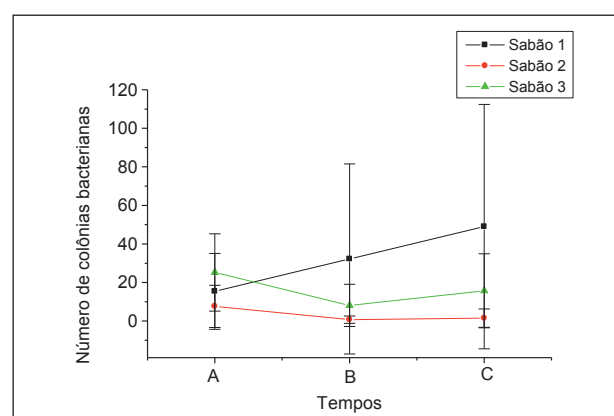


Figura 1 – Placa após o período de incubação com o sabão do Grupo II. Nota-se presença de colônias somente no campo A.

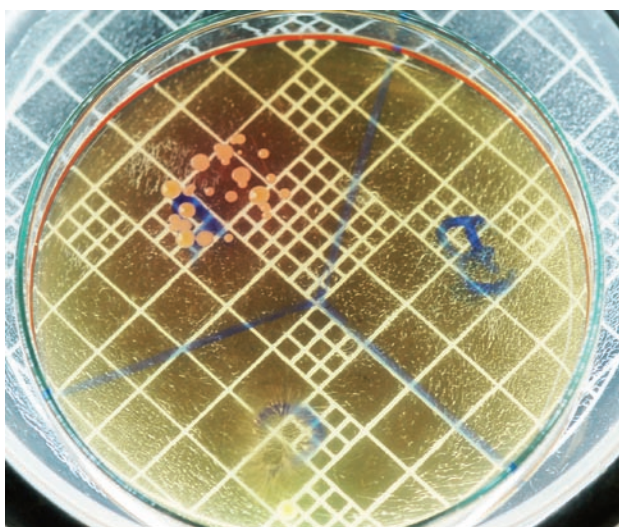


Figura 2 – Placa após o período de incubação com o sabão do Grupo III. Nota-se presença de colônias no campo A e C.

DISCUSSÃO

A pele contém dois tipos de microbiota, a transitória e a residente. A transitória oferece risco de contaminação cruzada, na dependência da espécie e virulência do microrganismo presente e da situação imunológica do paciente naquele momento. Essa microbiota é facilmente removida por meio da lavagem das mãos com sabão líquido e o uso de luvas, o que, em procedimentos clínicos e não cirúrgicos, é suficiente³.

Em se tratando de um procedimento cirúrgico odontológico ou médico, a preocupação deve ir além da simples lavagem das mãos. Devemos, pois, lançar mão de técnicas e soluções que reduzem a microbiota residente tanto imediata quanto residual, pois ela é composta por microrganismos reconhecidos como patógenos oportunistas, dentre os quais podemos destacar o gênero *Staphylococcus*, em especial o *S. aureus*^{3,4,5}.

Diversos autores testaram as soluções de polivinil-pirrolidona-iodo (PVP-I) e digluconato de clorexidina^{3,4,6,7,8} para o preparo das mãos do operador e pelo e mucosa dos pacientes antes de uma intervenção cirúrgica. Essa é a razão para o uso da substância de digluconato de clorexidina já conhecida e aprovada em comparação a uma nova

proposta de sabão para a mesma finalidade.

O sabão denominado surfactante foi eleito para o teste, pois uma pesquisa prévia para avaliação do potencial antimicrobiano *in vitro* foi realizada por meio de ensaio para concentração inibitória mínima para cepas de *Candida Albicans* e *Staphylococcus aureus* com este produto em uma concentração de 100%. Este estudo foi realizado em duas placas, contendo meio de cultura manitol e semeado o microrganismo sobre esta com uma densidade óptica (DO) de 0,35- 107 mos/ml. Os materiais testados foram colocados sobre papéis filtro de 0,5 cm de diâmetro sobre o meio com o microrganismo, contudo o controle positivo (clorexidina 0,12%) e a amostra de surfactante 100% foram adicionados sobre os papéis filtro, sendo utilizado para controle negativo o papel filtro somente. E, após a incubação por 48 horas a 37°C, pode-se constatar que o halo inibitório do surfactante era maior que o do controle (clorexidina 0,12%) (Figura 3, Tabela 3), nascendo deste estudo a ideia de se testar este produto em uma concentração menor, inicialmente, para a lavagem pré-operatória das mãos.

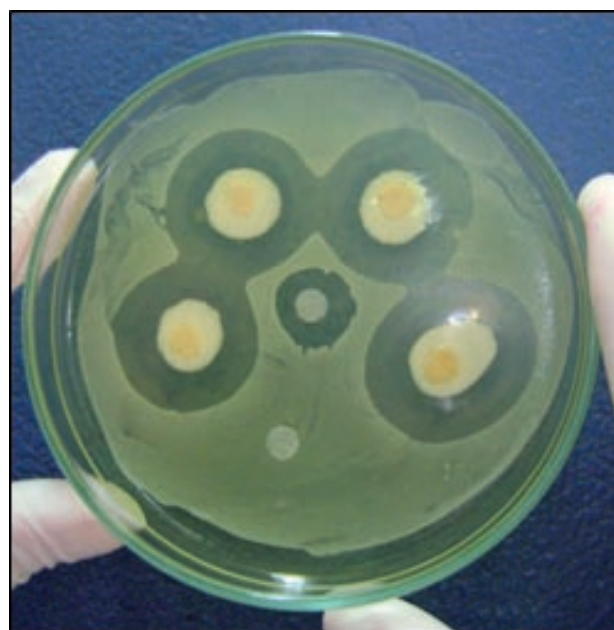


Figura 3 – Placa com o resultado do teste de inibição. Podemos notar o halo de inibição ao redor das quatro amostras de surfactante 100%, duas vezes maiores que o halo ao redor do papel filtro com Clorexidina 0,12% ao centro da placa.

Tabela 3 – Dados relativos às medidas em milímetros dos halos de inibição encontrados na placa do teste de concentração inibitória mínima, que pode ser visualizado na Figura 1.

Surfactante	2,4/2,5	2,5/2,6	2,2/2,1	2,3/2,3
Clorexidina	1,3/1,3			

O tempo adotado de escovação de 3 minutos para a lavagem das mãos e antebraços está de acordo com as propostas mais atuais que diminuiu o tempo de escovação e, para alguns autores, até mesmo, aboliu a necessidade de escovação das mãos^{2,7}. Entretanto, no Brasil, as substâncias apropriadas frequentemente não estão disponíveis⁷, e a escovação é necessária.

O uso de escova também é controverso, Hobson et al. (1998)⁹, e outros autores^{4,7} não encontraram diferenças em estudos similares a este que justifiquem o uso de escovas quando empregadas juntamente com substâncias à base de PVP-I ou clorexidina, sem mencionar a desvantagem das escovas duras por provocarem microferimentos na pele do cirurgião^{10,11,12}.

Assim como no estudo de Magro-filho et al. (2000)³, a coleta prévia à escovação das mãos para todos os grupos não apresentou diferença significativa, comprovando que os *Staphylococcus* sp são comumente encontrados em pele.

De acordo com Salvi et al. (2006)⁵, as características necessárias para um bom desinfetante são: um largo espectro de ação, início de ação rápida e efeito residual duradouro, preferencialmente ser bactericida, não ser inativado por sabões, detergentes ou outros antissépticos com os quais são misturados, ser fabricado com substâncias que não penetrem na corrente sanguínea. Ainda de acordo com esses autores, muitas substâncias químicas preenchem esses critérios. No entanto, se a disponibilidade e o custo são adicionados aos requisitos, apenas três sobram: a clorexidina, o álcool e o PVP-I. Sabendo, pois, da necessidade

de se encontrarem novos produtos que preencham esses critérios e tenha alta disponibilidade e baixo custo é que a substância feita à base de óleos vegetais foi testada.

Concordamos com Salvi et al. (2006)⁵, quando relatam que alguns lugares, como os leitos ungueais, são de difícil acesso e, portanto, a limpeza e antissepsia dessas áreas é prejudicada. Assim como concordamos com Kelsall et al. (2005)¹³, quando relatam que anéis devem ser removidos antes da escovação das mãos, pois a presença destes também facilita a colonização bacteriana e dificulta a limpeza dessas áreas, podendo isso ser um motivo para que a escovação seja mantida.

Os resultados deste estudo indicam que não é possível substituir a clorexidina ou PVPI pelo novo sabão testado em procedimentos cirúrgicos. Entretanto, este pode ser mais útil do que o sabão comum sem antisséptico em procedimentos odontológicos de rotina, na dependência do custo. Outras formulações da mesma categoria de substância também podem ser testadas.

CONCLUSÕES

Apesar de ter apresentado um resultado superior a clorexidina 0.12% no ensaio para concentração inibitória mínima, o surfactante na concentração de 20% para a realização de antissepsia manual pré-operatória se mostrou menos eficaz que o sabão já conhecido de digluconato de clorexidina a 2%.

No presente estudo, o único sabão que mostrou resultados imediatos e residuais eficazes foi o digluconato de clorexidina a 2%.

Os resultados apurados neste estudo sugerem, talvez, um novo teste em uma concentração maior do surfactante para nova avaliação, tendo em vista que a principal vantagem desse tipo de sabão é a sua origem vegetal e o baixo custo de produção, quando comparado aos outros sabões.

REFERÊNCIAS

1. Adriaanse AH, Pel M, Bleker OP. Semmelweis: the combat against puerperal fever. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000; 90(2):153-8.
2. Tavolacci MP, Pitrou I, Merle V, Haghghat S, Thillard D, Czernichow P. Surgical hand rubbing compared with surgical hand scrubbing: comparison of efficacy and costs. *J Hosp Infect.* 2006; 63:55-59.
3. Magro-Filho O, Rangel-Garcia I, Morais-Souza A, D'Antonio GM, Moimaz SAS, Magro-Ernica N. Lavagem das mãos com soluções de PVP-I, clorexidina e sabão líquido: estudo microbiológico. *Rev APCD.* 2000; 54(1): 25-28.
4. Tanner J, Swarbrook S, Stuart J. Surgical hand antisepsis to reduce surgical site infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008; 23(1): CD004288.
5. Salvi M, Chelo C, Caputo F, Conte M, Fontana C, Peddis G, Velluti C. Are surgical scrubbing and pre-operative disinfection of the skin in orthopaedic surgery reliable? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2006; 14: 27-31.
6. Mulberry G, Snyder AT, Heilman J, Pyrek J, Stahl J. Evaluation of a waterless, scrubless chlorhexidine gluconate/ethanol surgical scrub for antimicrobial efficacy. *Am J Infect Control.* 2001; 29:377-82.
7. Kac G, Masméjean E, Gueneret M, Rodi A, Peyrard S, Podglajen I. Bactericidal efficacy of a 1.5 min surgical hand-rubbing protocol under in-use conditions. *J Hosp Infect.* 2009; 72: 135-139.
8. Padovani CM, Graziano KU, Goveia VR. Microbiological evaluation of different antiseptic povidine-iodine and chlorhexidine formulations after intentional contamination of containers. *Rev Latino-am Enfermagem.* 2002; 10(1): 55-63.
9. Hobson DW, Woller W, Anderson L, Guthery E. Development and evaluation of a new alcohol-based surgical hand scrub formulation with persistent antimicrobial characteristics and brushless application. *Am J Infect Control.* 1998; 26(5): 507-512.
10. Kramer A, Jünger M, Kampf G. Hygienische und dermatologische Aspekte der Händedesinfektion und der prophylaktischen Hautantiseptik. *Hautarzt.* 2005; 56:743-751.
11. Gonçalves e Silva CR, Jorge AOC. Avaliação de desinfetantes de superfície utilizados em Odontologia. *Pesqui Odontol Bras.* 2002; 16(2): 107-114.
12. Marchetti MG, Kampf G, Finzi G, Salvatorelli G. Evaluation of the bactericidal effect of five products for surgical hand disinfection according to prEN 12054 and prEN 12791. *J Hosp Infect.* 2003; 54: 63-67.
13. Kelsall NKR, Griggs RKL, Bowker KE, Bannister GC. Should finger rings be removed prior to scrubbing for theatre? *J Hosp Infect.* 2006; 62:450-452.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Marcelo S Monnazzi
 Rua Voluntários da Pátria, 2777/1001
 Araraquara/SP - Cep 14801-320
 Fone: 16 33845822
 E-mail: monnazzi@ig.com.br

