

## Comparação da eficácia antimicrobiana na higienização das mãos: óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* versus triclosan<sup>1</sup>

Juliana Rizzo Gnatta<sup>2</sup>  
Flávia Morais Gomes Pinto<sup>3</sup>  
Camila Quartim de Moraes Bruna<sup>3</sup>  
Rafael Queiroz de Souza<sup>3</sup>  
Kazuko Uchikawa Graziano<sup>4</sup>  
Maria Julia Paes da Silva<sup>4</sup>

**Objetivos:** os objetivos deste estudo foram avaliar a eficácia da higienização das mãos, realizada com duas formulações diferentes de sabonetes: óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* a 0,3% versus triclosan a 0,5%, e compará-las com duas higienizações de referência: procedimento da metodologia oficial (soft soap) versus procedimento da versão draft (soft soap+propan-2-ol). **Método:** utilizando-se a metodologia europeia EN 1499, foram determinados fatores de redução logarítmica do número de unidades formadoras de colônia de *Escherichia coli* K12, antes e após a higiene das mãos, de 15 sujeitos voluntários e comparados pelo teste de Wilcoxon unicaudal. **Resultados:** tomando como referência o soft soap, não houve diferença entre o desempenho do sabonete com *M. alternifolia* a 0,3% ou sabonete contendo triclosan a 0,5%. O soft soap+propan-2-ol demonstrou ser mais eficaz em relação aos demais procedimentos de higienização das mãos. **Conclusão:** estudos que verifiquem a eficácia terapêutica de óleo essencial na higienização das mãos podem melhorar a adesão a essa prática.

**Descritores:** Desinfecção das Mãos; Óleo de Melaleuca; Triclosan; Controle de Infecções; Enfermagem.

<sup>1</sup> Apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2011/18448-2.

<sup>2</sup> MSc, Enfermeira, Hospital Universitário, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>3</sup> Doutorandos, Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>4</sup> PhD, Professor Titular, Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência:

Juliana Rizzo Gnatta  
Universidade de São Paulo. Hospital Universitário  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2565  
Bairro: Butantã  
CEP: 05508-000, São Paulo, SP, Brasil  
E-mail: juliana.gnatta@gmail.com

**Copyright © 2013 Revista Latino-Americana de Enfermagem**

Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Licença Creative Commons Atribuição-Não Comercial (CC BY-NC).

Esta licença permite que outros distribuam, editem, adaptem e criem obras não comerciais e, apesar de suas obras novas deverem créditos a você e ser não comerciais, não precisam ser licenciadas nos mesmos termos.

## Introdução

A higienização das mãos é a medida mais antiga e eficiente, simples e menos dispendiosa para prevenir a disseminação de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (Iras)<sup>(1)</sup>. A higienização das mãos efetiva é aquela que, além do seu propósito principal de redução microbiana, por meio de agentes de higienização, não causa impacto negativo na condição da pele, mas, sim, a preserva. É recomendado que os produtos para higiene das mãos sejam bem-aceitos, bem tolerados e formulados, com a garantia de evitar qualquer possível irritação<sup>(2)</sup>.

Os óleos essenciais são substâncias altamente voláteis, extraídas dos vegetais e que possuem princípios ativos devido à sua complexa composição química. O uso terapêutico de óleos essenciais com a finalidade de melhorar o bem-estar físico, mental ou emocional de um indivíduo é denominado aromaterapia. Embora o mecanismo de ação fisiológica da aromaterapia não esteja bem estabelecido, infere-se que ela produza estímulo que resulte na liberação de neurotransmissores, como encefalinas e endorfinas, os quais têm efeito analgésico e produzem sensação de bem-estar e relaxamento<sup>(3)</sup>. Têm sido crescentes, na literatura mundial, estudos sobre os efeitos antimicrobianos de óleos essenciais<sup>(4)</sup>, dentre os quais o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (árvore de chá, mirto-de-mel ou *Tea Tree* – OTT) tem se destacado por suas propriedades antissépticas na literatura científica. Publicações relatam que tal óleo essencial apresenta atividades antimicrobianas, dentre elas antibacteriana<sup>(5)</sup>, inclusive na descolonização de *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA)<sup>(6)</sup>, antifúngica<sup>(7-8)</sup> e antiviral<sup>(9)</sup>, além de efeito anti-inflamatório<sup>(10)</sup>.

Em relação à propriedade antibacteriana do OTT, estudos têm evidenciado essa atividade diante de ampla gama de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e vírus<sup>(5)</sup>. Inclusive já foi examinado o efeito do OTT sobre o desenvolvimento de resistência a antibióticos em *S. aureus* e *Escherichia coli* indicando que esse óleo e o terpinen-4-ol, seu principal componente ativo, têm pouco impacto sobre o desenvolvimento da resistência antimicrobiana<sup>(11)</sup>.

Pesquisadores australianos demonstraram ações *in vitro* do OTT para se determinar as concentrações inibitórias e bactericidas mínimas para diversas cepas de microrganismos presentes na microbiota da pele<sup>(12)</sup>. Os resultados obtidos foram satisfatórios, com a concentração de OTT variando em torno de 0,06 a 5,00% para a grande maioria dos microrganismos. As concentrações inibitórias e bactericidas mínimas foram as mesmas para cada um dos Gram-negativos testados; já para os Gram-positivos

elas foram variáveis<sup>(12)</sup>. Esse estudo ainda sugere possível efeito residual contra microbiota transitória e que preparações contendo OTT, para lavagem das mãos, devem ser investigadas quanto à sua eficácia.

Tais resultados sugerem que o uso de óleos essenciais potencialmente antissépticos, como o OTT, pode, portanto, representar um recurso eficiente na prática de higienização das mãos, tanto na ação antimicrobiana quanto como alternativa natural aos antissépticos sintéticos presentes no mercado, melhorando a adesão dos profissionais de saúde.

Desde a década de 1980 são relatados pelos profissionais de saúde danos à integridade da pele causados por produtos recomendados pelos próprios programas de controle de infecção como, por exemplo, os sabonetes à base de triclosan ou clorexidina<sup>(13)</sup>. A seleção de produtos para higiene das mãos com boa aceitabilidade e, ao mesmo tempo, que sejam eficazes é um componente fundamental para a promoção e aumento da adesão à prática<sup>(14)</sup>. Dessa forma, a proposta desta pesquisa foi verificar se um sabonete líquido com um princípio ativo natural – óleo essencial de *M. alternifolia* a 0,3% – seria capaz de assegurar eficácia antimicrobiana e representar alternativa aos sabonetes antissépticos convencionais que contêm triclosan a 0,5%. Admitiu-se a hipótese de não inferioridade de que a formulação de um sabonete líquido contendo OTT pode superar a redução da carga microbiana do sabonete com triclosan.

O presente estudo teve como objetivos avaliar e comparar a eficácia antimicrobiana de sabonete líquido contendo óleo essencial de OTT a 0,3% e de sabonete líquido com triclosan, na concentração de 0,5%, na redução da carga microbiana, desafio presente nas mãos contaminadas artificialmente; comparar a eficácia antimicrobiana dos produtos testados com os de referência, indicados pela metodologia, os quais utilizam um sabão de referência (*soft soap*), seguido ou não pelo uso de propan-2-ol a 60%.

## Métodos

### Desenho e local do estudo

Trata-se de estudo com delineamento cruzado e duplo-cego (sujeito e estatístico), desenvolvido no Laboratório de Ensaio Microbiológicos (LEM) do Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo.

### Aspectos éticos

O estudo atendeu à Resolução 196/1996, do Conselho Nacional de Saúde, ao envolver seres humanos na pesquisa. A pesquisa foi iniciada após ter o aceite do

Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo e da Comissão de Pesquisa da mesma Instituição sob Processo nº1069/2011CEP-EEUSP – Sisnep Caae – 0082.0.196.000-11.

Critérios de inclusão dos sujeitos na amostra: ter entre 18 e 55 anos de idade (uma vez que há alterações na constituição da microbiota da pele após os 60 anos); não ter tido contato com antisséptico de efeito residual nas últimas 48 horas; não apresentar sinais aparentes de ressecamento das mãos ou lesões; estar com as unhas limpas, curtas e sem esmalte no momento da coleta; dispor-se a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Critério de exclusão dos sujeitos na amostra: ter conhecimento prévio sobre alergia a alguma das substâncias a serem utilizadas no experimento, estar grávida ou se recusar a permanecer no estudo.

### Protocolo do estudo

Antes do início do experimento, realizou-se o controle microbiológico negativo dos sabonetes contendo OTT (sabonete líquido Doctornatu® da Higinatu, Brasil) e triclosan (sabonete Rioderme® da Rioquímica, Brasil), seguindo as recomendações da Resolução 481/99 da Anvisa<sup>(15)</sup>. Os métodos para análise estavam em conformidade com as normas ABNT NBR ISO 21149, ABNT NBR ISO 21150, ABNT NBR ISO 22717 e ABNT NBR 22718, os quais estão descritos na Farmacopeia Brasileira<sup>(16)</sup>. Essa etapa teve a finalidade de verificar a ausência de contaminação prévia dos produtos testados.

Para busca de evidências consistentes e plausíveis, foi utilizada uma metodologia europeia<sup>(17)</sup>, proposta pelo Comitê Europeu de Padronização – *European Standard*, em vigor desde 1997, com adição de algumas considerações existentes na sua versão *draft*<sup>(18)</sup>, proposta em abril de 2011, a qual ainda se encontra em avaliação. Tais considerações foram referentes à utilização do meio para recuperação da cepa-teste empregando ágar triptona de soja seletivo (*Tryptone Soya Selective Agar*, DIFCO®, BD®, Sparks, Estados Unidos da América – TSSA) e ao procedimento referência de higienização das mãos que utilizou *soft soap*, seguido do uso de propan-2-ol.

Antes do experimento, um neutralizante adequado para cada um dos produtos foi validado com a finalidade de 1) não apresentar efeito tóxico à cepa de *Escherichia coli* K12 e 2) apresentar ação neutralizante sobre a formulação dos produtos em teste, assegurando que a atividade bactericida e/ou bacteriostática residual dos princípios ativos antissépticos fosse neutralizada ou suprimida. Foram validados como neutralizantes o caldo triptona de soja (*Tryptone Soya Broth*, DIFCO®, BD®, Sparks, Estados

Unidos da América – TSB) para o sabonete com OTT a 0,3%, propan-2-ol e *soft soap*. Para o sabonete contendo triclosan a 0,5%, foi validado o *D/E Neutralizing Broth*, DIFCO®, BD®, Sparks, Estados Unidos da América.

Para o experimento, as mãos de todos os sujeitos foram preparadas por uma lavagem simples com duração de 60 segundos, utilizando 5mL do *soft soap*, depois enxaguadas com água mineral por 15 segundos e secas com papel toalha. Todos os participantes foram treinados para executar a técnica simples de higienização das mãos imediatamente antes de iniciar a coleta de dados e realizaram os procedimentos sob supervisão de um monitor.

As pontas dos dedos eram, então, imersas em uma placa de Petri contendo 10mL de TSB, durante um minuto, para obtenção do valor inicial de contagem bacteriana (pré-valores). Em seguida, foi realizada a contaminação artificial das mãos dos voluntários com suspensão contendo  $2 \times 10^8$  a  $2 \times 10^9$  unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL) do microrganismo-teste, no caso, *E. coli* K12 (cepa utilizada neste estudo: ATCC 14948; fluido de contaminação com  $5 \times 10^8$  UFC/mL). As duas mãos de cada voluntário foram imersas no fluido de contaminação durante cinco segundos até a altura dos metacarpos, com os dedos separados, em bacia de aço inox esterilizada. A mesma suspensão do ensaio foi utilizada por todos os sujeitos durante período máximo de três horas, após a exposição das mãos do primeiro voluntário<sup>(17)</sup>.

Após a secagem (três minutos) em ar ambiente, mantendo as mãos em posição horizontal e fazendo movimentos de rotação com os punhos para evitar a formação de gotículas, obteve-se o valor inicial de contagem bacteriana (pré-valores) de cada um dos sujeitos a partir do esfregaço das pontas dos dedos de cada mão, no fundo de uma placa de Petri, contendo 10mL de TSB, durante um minuto. Em seguida, foi realizado o procedimento referência de higienização (com uso de 5mL *soft soap*, durante 60 segundos ou uso de 5mL de *soft soap*, por 60 segundos, seguido de enxágue+uso de 3mL propan-2-ol por 30 segundos, por duas vezes consecutivas, seguido de enxágue) ou o procedimento com 1,5mL do produto em teste, de acordo com o grupo no qual o sujeito estava inserido, conforme randomização, e coletados os pós-valores. Os pós-valores foram obtidos a partir do esfregaço das pontas dos dedos em placas de Petri contendo 10mL de neutralizante específico para os respectivos produtos que haviam sido utilizados na higienização das mãos.

A amostra foi composta por 15 participantes voluntários, os quais foram randomizados em quatro grupos, identificados pelos algarismos romanos I, II, III e IV que tiveram a sequência de uso dos produtos

designadas por quadrado latino. Ressalte-se que todos os sujeitos realizaram a higiene das mãos com os quatro produtos em avaliação, variando apenas a ordem de uso.

As placas foram incubadas por 18 a 24h a 37°C e, em seguida, realizada a leitura para se determinar o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), tendo sido reincubadas por mais 24 horas para detecção do crescimento de novas colônias.

### Análise dos resultados e estatística

Para obtenção dos dados, foi realizada a contagem média entre as colônias das mãos direita e esquerda e o Fator de Redução logarítmica (FR) foi determinado pelo cálculo da diferença entre os valores finais e iniciais do número de UFC de *E. coli*. Conforme indicação da metodologia, para cada uma das etapas de diluição dos fluidos de amostragem, foi calculada a redução logarítmica utilizando-se a média ponderada do número de UFC/mL do pré-valor ou pós-valor.

Para que o ensaio fosse válido, o FR da média do log obtido para os produtos em teste deveria ser estatisticamente maior do que o encontrado para o sabão de referência para, pelo menos, doze sujeitos e a média logarítmica total dos "pré-valores" para os procedimentos com o produto referência. Além disso, os resultados dos procedimentos com produtos em teste deveriam ser, no mínimo, 5 log. Os dados foram digitados em uma planilha do Microsoft Excel® e processados pelo R 2.14.1 para a análise estatística. Foram realizadas estatísticas descritivas (média e desvio-padrão), tendo sido feita a comparação dos grupos de forma pareada pelo teste não paramétrico de Wilcoxon (teste recomendado pela metodologia EN 1499<sup>(17)</sup>). O nível de significância foi estabelecido em  $p=0,01$  unicaudal. O ajuste do teste é capaz de detectar uma diferença de 0,5 log com um poder de 80 a 90%. Para verificar se houve diferença entre os pré-valores e avaliação do *design* quadrado latino foi aplicado ANOVA (nível de significância de 5%) e para verificar a correlação da contaminação das mãos antes e após os procedimentos de higienização das mãos, foi utilizada a correlação de Pearson.

### Resultados

Os resultados das análises microbiológicas dos sabonetes em teste indicaram que houve ausência de contaminação microbiana dos produtos.

Dos 15 voluntários que participaram do ensaio, 11 eram do sexo feminino (73,4%) e quatro do sexo masculino (26,6%). A idade mínima foi de 23 anos e máxima de 50 anos (média=31 anos; mediana=30 anos; desvio-

padrão=7,67). Doze sujeitos eram enfermeiros, dois eram estudantes de graduação do 4º ano de enfermagem e um exercia atividade administrativa.

Para avaliar o efeito do modelo quadrado latino, foi utilizada ANOVA (Tabela 1). Observou-se que não houve diferença significativa para a posição que o indivíduo ocupava no grupo ( $p=0,81$ ) ou para a sequência de procedimentos executada ( $p=0,31$ ), ou seja, não houve efeito de coluna ou grupo. Contudo, houve diferença no tratamento ( $p<0,001$ ) que, no caso, foi ocasionada exclusivamente pelos diferentes procedimentos.

Tabela 1 - ANOVA para avaliação do modelo quadrado latino para efeitos de grupo, coluna e tratamento. São Paulo, SP, Brasil, 2012

Fator	Graus de liberdade	p-valor
Tratamento	3	<0,001
Grupo	3	0,31
Coluna	3	0,81

O procedimento de contaminação das mãos com a suspensão microbiana do ensaio foi bem-sucedido. Pela ANOVA, não houve diferença estatística entre os pré-valores para cada um dos quatro produtos utilizados como tratamento ( $p$ -valor=0,2804; nível de significância estabelecido  $p$ -valor=0,05). Na Tabela 2 estão explicitadas as correlações entre a contaminação das mãos direita e esquerda dos sujeitos antes (pré-valores) e após (pós-valores) o procedimento de higienização das mãos, por meio da correlação de Pearson.

Pela aplicação da correlação de Pearson, observa-se que os valores estão mais correlacionados entre si nos pré-valores (mais próximos de +1 nas diluições de  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$ ), indicando que o fluido contaminou de maneira bastante semelhante as duas mãos, do que nos pós-valores (diluições de  $10^0$  a  $10^{-2}$  - valores menos próximos de +1).

A Tabela 3 representa os pré-valores (logaritmos de *E. coli* presentes nas mãos dos sujeitos antes da higienização), pós-valores (logaritmos de *E. coli* presentes nas mãos dos sujeitos após a higienização) e fator de redução logarítmica ( $FR = \text{pré-valor} - \text{pós-valor}$ ) por sujeito de pesquisa, após o cálculo indicado pela metodologia<sup>(17)</sup>, conforme o procedimento de higienização das mãos. Observa-se que todas as médias logarítmicas dos pré-valores, para quatro procedimentos de higienização das mãos, foram maiores do que 5, contemplando os requisitos necessários já citados para que o ensaio fosse válido (média=5,63 para *soft soap*, 5,98 para o sabonete contendo OTT, 6,38 para o sabonete contendo triclosan e 6,29 para o *soft soap*+propan-2-ol).

Tabela 2 - Correlação entre a média de contaminação das mãos direita e esquerda dos sujeitos antes (pré-valores) e após (pós-valores) o procedimento de higienização das mãos. São Paulo, SP, Brasil, 2012

Tratamento	Momento							
	Pré-valor				Pós-valor			
	Diluição			Média UFC	Diluição			Média UFC
10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>0</sup>		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>		
Soft soap	0,981	0,986	0,999	5,63	0,535	0,697	0,598	1,76
Sabonete com OTT a 0,3%	0,774	0,817	0,892	5,98	0,565	0,356	0,792	2,10
Sabonete com triclosan a 0,5%	0,763	0,986	0,934	6,38	0,343	0,805	0,750	2,79
Soft soap + propan-2-ol	0,830	0,917	0,916	6,29	0,359	0,386	0,445	1,40

Tabela 3 - Logaritmos referentes aos pré e pós-valores e fator de redução logarítmica, para cada um dos procedimentos de higienização das mãos de cada sujeito, de acordo com o grupo. São Paulo, SP, Brasil, 2012

Grupo	Sujeito	Soft soap			OTT			Triclosan			Soft soap + propan-2-ol		
		Pré	Pós	FR	Pré	Pós	FR	Pré	Pós	FR	Pré	Pós	FR
I	1	6,31	2,02	4,29	5,88	3,37	2,52	6,26	1,10	5,16	5,48	1,07	4,41
	2	4,56	1,13	3,43	5,36	1,00	4,36	7,29	3,65	3,63	7,18	1,35	5,83
	3	5,02	1,18	3,84	5,25	1,02	4,23	6,00	1,79	4,21	5,44	1,00	4,44
	4	6,25	1,06	5,19	5,68	1,12	4,56	6,11	2,23	3,88	7,42	1,00	6,42
II	5	4,76	1,22	3,54	5,24	1,90	3,34	5,41	2,47	2,94	5,97	1,22	4,76
	6	7,52	4,52	3,00	7,52	4,22	3,30	7,52	4,41	3,10	7,52	2,85	4,67
	7	7,44	3,86	3,57	5,85	1,41	4,44	6,16	1,90	4,26	6,02	1,00	5,02
	8	7,52	3,38	4,14	5,95	1,94	4,01	5,06	1,75	3,31	7,52	1,90	5,61
III	9	5,37	1,13	4,23	6,08	2,36	3,71	7,52	4,44	3,08	4,76	1,06	3,70
	10	7,52	1,06	6,46	7,16	2,78	4,39	7,52	4,23	3,29	6,55	1,00	5,55
	11	6,32	1,00	5,32	3,60	1,04	2,56	5,38	1,35	4,03	4,54	1,00	3,54
	12	3,30	1,18	2,12	6,49	2,18	4,31	7,17	3,56	3,61	6,74	2,00	4,74
IV	13	4,21	1,57	2,65	5,42	1,00	4,42	5,29	1,88	3,41	4,44	1,02	3,42
	14	4,51	1,04	3,47	7,05	3,43	3,61	5,53	3,45	2,08	7,52	2,41	5,10
	15	3,78	1,00	2,78	7,22	2,67	4,55	7,52	3,63	3,89	7,19	1,06	6,13
Média		5,63	1,76	3,87	5,98	2,10	3,89	6,38	2,79	3,59	6,29	1,40	4,89

Para verificar se houve diferença significativa estatisticamente na redução microbiana, proporcionada pelos produtos, foi utilizado o teste de Wilcoxon (Tabelas 4 e 5). Foram realizados dois testes de Wilcoxon, um tendo como produto referência o *soft soap*+propan-2-ol (procedimento referência da versão *draft*<sup>(18)</sup> – Tabela 4) e, o outro, comparando os produtos em teste ao *soft soap* (procedimento referência da versão oficial<sup>(17)</sup> – Tabela 5).

Observa-se, na Tabela 4, que o desempenho do procedimento realizado com *soft soap*+propan-2-ol foi

superior aos demais produtos em teste, uma vez que o p-valor para todos os produtos foi menor do que 0,01.

Verifica-se, na Tabela 5, que, quando o *soft soap* é adotado como produto referência, não há diferença significativa estatisticamente entre ele e o desempenho do sabonete com OTT a 0,3% (p=0,2470) ou sabonete com triclosan a 0,5% (p=0,2975). Houve diferença significativa em relação ao *soft soap*+propan-2-ol, o qual apresentou eficácia antimicrobiana superior.

Tabela 4 - Aplicação do teste de Wilcoxon nos fatores de redução logarítmica, para cada um dos produtos em teste em relação ao procedimento de referência com *soft soap*+propan-2-ol. São Paulo, SP, Brasil, 2012

Produto	Média log		FR	Wilcoxon p-valor
	Pré-valor	Pós-valor		
Soft soap	5,63 (1,46)	1,76 (1,17)	3,87 (1,13)	0,0065
OTT a 0,3%	5,98 (1,01)	2,10 (1,03)	3,89 (0,69)	0,0010
Triclosan a 0,5%	6,38 (0,95)	2,79 (1,16)	3,59 (0,71)	0,0001
Soft soap + propan-2-ol	6,29 (1,14)	1,40 (0,60)	4,89 (0,91)	-

Tabela 5 - Aplicação do teste de Wilcoxon nos fatores de redução logarítmica, para cada um dos produtos em teste em relação ao procedimento de referência com *soft soap*. São Paulo, SP, Brasil, 2012

Produto	Média log		FR	Wilcoxon p-valor
	Pré-valor	Pós-valor		
<i>Soft soap</i> + propan-2-ol	6,29 (1,14)	1,40 (0,60)	4,89 (0,91)	0,0065
OTT a 0,3%	5,98 (1,01)	2,10 (1,03)	3,89 (0,69)	0,2470
Triclosan a 0,5%	6,38 (0,95)	2,79 (1,16)	3,59 (0,71)	0,2975
<i>Soft soap</i>	5,63 (1,46)	1,76 (1,17)	3,87 (1,13)	-

Para que um produto em teste seja considerado conforme, segundo a padronização, sua média do FR deve ser significativamente maior do que a obtida pelo procedimento referência<sup>(17)</sup>. Como em nenhum dos testes de Wilcoxon realizados houve diferença significativa estatisticamente (Tabelas 4 e 5), os sabonetes com OTT a 0,3% e triclosan a 0,5% foram considerados *não conformes* para redução antimicrobiana na higienização das mãos, de acordo com essa padronização.

## Discussão

Os resultados encontrados com a realização do ensaio proposto evidenciaram que não houve diferença significativa da carga microbiana após a higiene das mãos, realizada com sabonete contendo óleo essencial de OTT a 0,3% ou com o sabonete contendo triclosan a 0,5%. Além disso, nenhum dos dois produtos avaliados apresentou desempenho superior aos dois procedimentos referência (higienização das mãos com *soft soap* ou *soft soap*+propan-2-ol).

A escolha das concentrações dos agentes antimicrobianos presentes nos sabonetes estudados justifica-se porque são produtos que já circulam no mercado consumidor, além de serem registrados pela Anvisa. Isso assegurou que havia baixo risco para a saúde dos voluntários que se dispuseram a participar do ensaio, bem como foi permitido verificar quais são os resultados obtidos por formulações que já são utilizadas em estabelecimentos de assistência à saúde, como é o caso do triclosan, e estão comercialmente à disposição para uso, no caso do sabonete com OTT. Ressalta-se que a formulação do OTT, comercialmente disponível, apresenta concentração bem abaixo daquela considerada segura para ser empregada em humanos sem ocasionar efeitos alérgicos<sup>(19)</sup>.

Os resultados obtidos pelos procedimentos de higienização das mãos de referência demonstraram que o uso do *soft soap*, associado ao propan-2-ol, ocasionou maior redução logarítmica (4,89 log) do que o uso isolado do *soft soap* (3,87 log), o que era esperado em função da ação sinérgica do propan-2-ol. Compreende-se, portanto, a incorporação do álcool ao procedimento de referência

do método, conforme propõe a versão *draft*<sup>(18)</sup>, para assegurar maior rigor metodológico.

A redução logarítmica do número de UFC de *E. coli*, presente nas mãos dos sujeitos, proporcionada pelo sabonete contendo triclosan a 0,5% (3,59 log), neste estudo, foi superior à encontrada em uma pesquisa que avaliou a higiene das mãos com esse mesmo agente antimicrobiano, porém, em concentração menor de 0,1% (2,8 log)<sup>(20)</sup>. Além disso, o presente ensaio corrobora resultados obtidos em outros estudos, nos quais verificaram-se que as reduções logarítmicas com triclosan foram menores quando comparadas a outros produtos antimicrobianos para higiene das mãos<sup>(2,21)</sup>.

Os resultados encontrados para o sabonete contendo OTT a 0,3% demonstram não haver diferença significativa na eficácia da higiene das mãos realizada com sabonete contendo OTT, triclosan ou *soft soap* (Tabelas 4 e 5) e, portanto, tais produtos em teste não foram aprovados pela metodologia. Contudo, é importante ressaltar que, pautando-se na literatura científica, apesar de estudos enfatizarem o potencial da atividade antimicrobiana do OTT<sup>(5-9,11-12)</sup>, ainda não existe uma padronização determinando a concentração mínima eficaz, tempo de aplicação e melhor forma de utilização do OTT. Existem evidências de que, possivelmente, uma concentração de 5% em uma formulação para higienização, utilizando a mesma metodologia aplicada no presente ensaio (EN 1499), seja eficaz<sup>(22)</sup>. Assim, a elaboração de novos estudos que apliquem o OTT em maiores concentrações, como produtos para higiene das mãos, devem ser desenvolvidos e representam vasto campo a ser explorado, respeitando um limite de até 10% desse óleo essencial em função de possíveis reações alérgicas<sup>(19)</sup>.

É importante ressaltar que todos os resultados obtidos nas reduções logarítmicas foram decorrentes dos procedimentos de higienização das mãos com duração de 60 segundos, fato que não é corriqueiro na prática assistencial. Um estudo verificou que, na assistência, os profissionais de saúde despendem um tempo de 6 a 24 segundos para lavagem das mãos, e que uma expectativa realista seria a duração de 15 segundos<sup>(23)</sup>. Nesse caso, talvez um produto que proporcione sensação prazerosa,

durante o procedimento, possa contribuir para aumentar a adesão, especialmente no tempo necessário para realização da técnica.

Uma questão que está inclusa na aceitabilidade de um produto para higienização das mãos é o aroma. Diversos voluntários, durante a coleta, fizeram referência à característica olfativa do produto que continha o OTT, dizendo ser muito agradável. Tal fato foi apenas observado pelos monitores, sem que houvesse interferência desses durante a exposição de ideias dos sujeitos, porém, tais comentários levam à inferência de que o aroma agradável do OTT possa aumentar a adesão dos profissionais de saúde à higienização das mãos. Dessa forma, o sabonete com óleo essencial poderia contribuir como "facilitador" para o controle de infecção, visando a profilaxia e o controle de infecção em serviços de saúde, conforme sugerido por um estudo que avaliou o impacto de estratégias de incentivo à adesão à higienização das mãos<sup>(24)</sup>.

A seleção de um produto para higiene das mãos deve ser feita baseando-se na boa aceitabilidade e eficácia, pois ambas são fatores que contribuem para a promoção e aumento da adesão à prática<sup>(2,14)</sup>. Embora não tenha sido objeto de estudo da pesquisa em questão, a coleta de dados evidenciou que a utilização de óleos essenciais contribui para incentivar o uso do produto pelo fato de esse produto apresentar aroma agradável, o que possivelmente é aplicável aos aromas de outros óleos essenciais. O estímulo ao sistema olfativo, quando se usa um óleo essencial, é inevitável, portanto, não é possível dissociar o efeito aromaterapêutico do efeito físico ocasionado por um óleo, o que poderá ser explorado em estudos futuros. Nesse sentido, a utilização de um produto com óleo essencial na higienização das mãos, com eficácia terapêutica associada à experiência agradável de uso, pode auxiliar no aumento da adesão a essa prática essencial na prevenção e controle de Iras, tanto pela equipe de enfermagem quanto pela equipe multiprofissional de saúde.

## Conclusões

Quanto à eficácia antimicrobiana não houve diferença entre a higiene das mãos, realizada com sabonete, contendo óleo essencial de OTT a 0,3%, e a higiene das mãos com o sabonete, contendo triclosan a 0,5%. Nenhum dos dois sabonetes apresentou desempenho superior a qualquer um dos dois procedimentos referência (*soft soap* ou *soft soap*+propan-2-ol), apesar de ambos serem produtos aprovados pela Anvisa. Por fim, o procedimento de higienização das mãos de referência utilizando *soft soap*+propan-2-ol, proposto pela versão

*draft*, demonstrou-se mais eficaz do que o uso isolado do *soft soap*, descrito na metodologia oficial.

## Considerações Finais

Estudos para avaliar a eficácia antimicrobiana de novas formulações de sabonetes com maiores concentrações do OTT, dentro de dosagens consideradas seguras pela literatura científica (entre 5 e 10%), devem ser desenvolvidos. Posteriormente, devem ser conduzidas pesquisas que verifiquem a aceitabilidade do produto e a comparem à adesão à higiene das mãos realizada com formulações contendo óleo essencial àquela feita com produtos tradicionalmente utilizados em estabelecimentos de assistência à saúde.

## Referências

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Higienização das mãos em serviços de saúde [Internet]. [acesso 24 ago 2012]. 2007. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/higienizacao\\_maos.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/higienizacao_maos.pdf)
2. Centers for Disease Control and Prevention (USA). Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the Health Care Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. 2002 [Internet]. [acesso 27 ago 2012] Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5116a1.htm>
3. Potts J. Aromatherapy in nursing practice. *Aust Nurs J*. 2009;16(11):55.
4. Kunicka-Styczynska A, Sikora M, Kalemba D. Lavender, tea tree and lemon oils as antimicrobials in washing liquids and soft body balms. *Int J Cosmetic Sci*. 2011;33(1):53-61.
5. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19(1):50-62.
6. Dryden MS, Dailly S, Crouch M. A randomized, controlled trial of tea tree topical preparations *versus* a standard topical regimen for the clearance of MRSA colonization. *J Hosp Infect*. 2004;56(4):283-6.
7. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *J Appl Microbiol*. 2003;95(4):853-900.
8. Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H, Trabelsi N, Ksouri R, Valentin E, et al. Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) and Eucalyptus globulus essential oils against oral Candida species. *J Med Plant Res*. 2011;5(17):4147-56.

9. Garozzo A, Timpanaro R, Bisignano B, Furneri PM, Bisignano G, Castro A. In vitro antiviral activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil. *Lett Appl Microbiol*. 2009;49(6):806-8.
10. Brand C, Ferrante A, Prager RH, Riley TV, Carson CF, Finlay-Jones JJ, et al. The water soluble components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) suppress the production of superoxide by human monocytes, but not neutrophils, activated in vitro. *Inflamm Res*. 2001;50(4):213-9.
11. Hammer KA, Carson CF, Riley TV, Riley TV. Effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil and the major monoterpene component terpinen-4-ol on the development of single- and multistep antibiotic resistance and antimicrobial susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(2):909-15.
12. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree oil). *Am J Infect Control*. 1996;24(3):186-9.
13. Seitz JC, Newman JL. Factors affecting skin condition in two nursing populations: implications for current handwashing protocols. *Am J Infect Control*. 1988;16(2):46-53.
14. Larson E, Girard R, Silva CLP, Boyce J, Donaldson L, Pittet D. Skin reactions related to hand hygiene and selection of hand hygiene products. *Am J Infect Control*. 2006;34(10):627-35.
15. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes conforme o anexo desta resolução. *Diário Oficial da União*. 27 set 1999. Brasília; 1999.
16. Farmacopéia brasileira. 5 ed. São Paulo: Atheneu; 2010.
17. European Committee for Standardization. Chemical disinfectants and antiseptics – hygienic handwash – test method and requirements (phase2/step2) [European standard EN 1499]. Brussels, Belgium: Central Secretariat; 1997.
18. European Committee for Standardization. Chemical disinfectants and antiseptics – hygienic handwash – test method and requirements (phase2/step2) [European standard EN 1499]. [Internet]; Brussels, Belgium [acesso 18 abr 2012]. Disponível em: <https://www.astandis.at/shopV5/Preview.action;jsessionid=9678A87F9CB216A588CBFF40AFBD5E8A?preview=&dokkey=393356&selectedLocale=en>
19. Rutherford T, Nixon R, Tam M, Tate B. Allergy to tea tree oil: retrospective review of 41 cases with positive patch tests over 4.5 years. *Australas J Dermatol*. 2007;48(2):83-7.
20. Rotter ML. Hand washing and hand disinfection. In: Mayhall CG, editor. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Baltimore: Williams & Wilkins; 2004. p. 1727-46.
21. World Health Organization. World Alliance for Patient Safety. Forward Programme 2006-2007. [Internet]; Geneva [acesso 28 ago 2012]. Disponível em: [http://www.who.int/patientsafety/information\\_centre/WHO\\_EIP\\_HDS\\_PSP\\_2006.1.pdf](http://www.who.int/patientsafety/information_centre/WHO_EIP_HDS_PSP_2006.1.pdf)
22. Messenger A, Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Effectiveness of hand-cleansing formulations containing Tea Tree oil assessed ex vivo on human skin and in vivo with volunteers using European standard EN 1499. *J Hosp Infect*. 2005;59(3):220-8.
23. Boyce JM, Pittet D. Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA hand hygiene task force. *MMWR Recomm Rep*. 2002;51(RR-16):1-45 [quiz: CE1-4].
24. Neves ZCP, Tipple AFV, Souza ACS, Pereira MS, Melo DS, Ferreira LR. Hand hygiene: the impact of incentive strategies on adherence among healthcare workers from a newborn intensive care unit. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2006;14(4):546-52.