## COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS SABONETES CONTENDO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINE, TRICLOSAN E ÓLEO ESSENCIAL DE *Achillea milefollium* L. (ASTERACEAE)

Jakeline Giaretta<sup>1</sup>
Tatiana Gomes Barbosa Santos<sup>1</sup>
Isalina Ansilieiro Nascimento<sup>2</sup>
Regiane Matta<sup>3</sup>
Mariângela Frabetti Gomes<sup>3</sup>
Zilda Cristiani Gazim<sup>4</sup>

GIARETTA, J.; SANTOS, T. G. B.; NASCIMENTO, I. A.; MATTA, R.; GOMES, M. F.; GAZIM, Z. C. Comparação da atividade antimicrobiana dos sabonetes contendo digluconato de clorexidine, triclosan e óleo essencial de achillea milefollium. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama*, v. 11, n. 1, p. 27-32, jan./abr. 2007.

**RESUMO:** Amostras de sabonete contendo, como agentes antissépticos, triclosan, na concentração de 1,0%; digluconato de clorexidine a 2,0%; óleo essencial de Achillea millefolium nas concentrações de 1,0% e 2,0%, foram avaliadas quanto à atividade antimicrobiana frente aos microorganismos S. aureaus, E. coli, P. aeruginosa e C. albicans pela técnica de Pour Plate. Os resultados demonstraram um poder inibitório total do triclosan frente aos microorganismos testados e observou-se poder inibitório superior do óleo essencial de achillea millefolium na concentração de 2,0% em relação ao sabonete de digluconato de clorexidine, muito utilizado em ambientes hospitalares. **PALAVRAS-CHAVE:** óleo essencial de *Achillea milefollium*, atividade antimicrobiana, sabonetes líquidos, triclosan, digluconato de clorexidine.

# COMPARISION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOAP CONTAINING CLORHEXIDINE DIGLUCONATE, TRICLOSAN, AND THE ESSENTIAL OIL OF THE Achillea millefolium L. (ASTERACEAE).

**ABSTRACT:** Soap samples containing antiseptics agents such as 1%-triclosan, 2%-clorexidine digluconato, and 1-2% essential oil of Achillea millefolium was assessed according to its antimicrobial activity against Sthaphylococus aureus, E. coli, P. aeruginosa, and C. albicans by the Pour Plate technique. The results demonstrated a total inhibition of the triclosan to the tested microorganisms and a superior inhibition of the essential oil of *Achillea millefolium* was observed at the concentration of 2% in relation to the clorhexidine digluconate soap, very used in hospital atmospheres.

**KEYWORDS:** Essential oil of *Achillea millefolium*; Antimicrobial Activity; Soap, Triclosan; Clorhexidine Digluconate.

#### Introdução

Produtos anti-sépticos extensamente são utilizados em hospitais, sendo geralmente selecionado de acordo com a redução da microflora transitória ou normal das mãos após aplicação única. Entretanto, em aplicações regulares, certos anti-sépticos podem permanecer após a lavagem, exibindo sustentada atividade antimicrobiana (PETERSON et al., 1978; BARTZOKAS et al., 1983a., b). Segundo a Food and Drug Administration, o valor potencial de produtos anti-sépticos em higiene de hospitais é primeiramente baseado em sua atividade degermante, seguido de uma aplicação única. No entanto, aplicações múltiplas demonstram acentuar a eficácia do antimicrobiano pela deposição deste ativo na pele, sendo este procedimento reconhecido e especificado por aquele órgão (FDA, 1978).

Infecções do Centro Cirúrgico (CC) causadas principalmente por Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa e Candida albicans, estão ainda entre a maioria das infecções adquiridas nos

hospitais (MARCHETTI et al., 2003). A candidíase é a principal infecção fúngica oportunista do ser humano, provocada por leveduras do gênero Candida, que fazem parte da microbiota endógena do corpo humano, em especial a Candida albicans, principal espécie do gênero associada à candidíase, mas outras também são relatadas (FISHER, F.; COOK, N. B., 2001).

As infecções fúngicas de origem hospitalar passaram a ser de grande importância nos últimos anos, pelo seu aumento progressivo e pelas elevadas taxas de morbidade e mortalidade (COLOMBO, A.L., 2000; PFALLER, M.A., 1996). Muitas dessas infecções são de origem endógena e outras podem também ser adquiridas por via exógena, pelas mãos dos trabalhadores da área da saúde, infusos contaminados, biomateriais e fontes inanimadas ambientais (PFALLER, M.A., 1996; WENZEL, R.P., 1995). Porém, apesar do aumento no número de antifúngicos comercialmente disponíveis nos últimos anos, eles ainda se encontram em desvantagem quando comparados às drogas antibacterianas (BATISTA, J. M. et al., 1999).

O triclosan é efetivo contra microrganismos gram-

27

<sup>1.</sup> Discente do Programa de Pós-graduação em Manipulação de Produtos Farmacêuticos e Cosméticos da Universidade Paranaense — UNIPAR — Campus Sede Umuarama — PR — Brasil.

<sup>2.</sup> Farmacêutica Bioquímica, responsável pelo laboratório de Microbiologia de Alimentos e Cosméticos da Universidade Paranaense– UNIPAR – Campus Sede Umuarama – PR – Brasil.

<sup>3.</sup> Discente do curso de Farmácia Bioquímica Universidade Paranaense- UNIPAR - Campus Sede Umuarama - PR - Brasil.

<sup>4.</sup> Professora orientadora do Programa de Pós-graduação em Manipulação de Produtos Farmacêuticos e Cosméticos da Universidade Paranaense - UNIPAR

<sup>-</sup> Campus Sede Umuarama - PR - Brasil

positivos e gram-negativos, bem como contra fungos e bolores. Em altas dosagens, demonstra atividade bactericida com um amplo espectro de ação, o que ajuda a impedir a propagação dos microrganismos, reduzindo o risco de infecções, justificando seu emprego hospitalar na desinfecção das mãos, sendo esta uma maneira de prevenção tanto do paciente como dos profissionais (LILLY et al., 1974). Para uso hospitalar, pode-se empregar este ativo na forma de solução tópica ou como sabonete, visto que estas formas de apresentação do produto demonstraram eficácia na diminuição da microflora bacteriana da pele (MORRINSON et al., 1986).

O digluconato de clorexidine, assim como o triclosan, é um anti-séptico antimicrobiano ativo contra microrganismos gram-positivos e gram-negativos, microrganismos fermentadores, anaeróbios e aeróbios facultativos (BRINER et al., 1986; KAMPF et al., 1998). O uso da solução tópica de digluconato de clorexidine é eficaz para reduzir a contagem bacteriana total da pele; entretanto, a incidência de infecção da ferida em pacientes cirúrgicos pode não ser influenciada (MURIE et al., 1980). Preparações deste ativo são indicadas para uso tópico, em feridas na pele e na limpeza préoperatória geral (ASTRA, 2000), sendo a lavagem de mãos um dos principais cuidados dos profissionais de saúde (BUTZ et al., 1990).

A Achillea millefolium, conhecida popularmente como mil-folhas, é uma planta herbácea, perene, rizomatosa, aromática entouceirada, nativa da Europa e amplamente cultivada em hortas domésticas em quase todo o Brasil. Além de seu uso ornamental, é também empregada na medicina tradicional, cuja origem remonta à idade média na Europa, de onde foi trazida pelos colonizadores. Na sua composição química destacam-se a presença de óleo essencial com terpenos (cineol, borneol, pinenos, cânfora, azuleno), derivados terpênicos e sesquiterpênicos, taninos, mucilagens, cumarinas, resinas, saponinas, esteróides, ácidos graxos, alcalóides e princípio amargo. Foram também detectados compostos do tipo lactonas e flavonóides, sendo estes últimos relacionados com a atividade antiespasmódica (LORENZI, 2002). O óleo essencial de Achillea millefolium possui atividade antimicrobiana moderada contra Streptcoccus pneumoniae, Clostridium perfringens e Candida albicans (CANDAN et al., 2003).

Em análise comparativa de digluconato de clorexidine a 4% e triclosan a 1%, ambos sabonetes anti-sépticos, o digluconato de clorexidine mostrouse mais eficaz em reduzir a contagem microbiana total da mão que o triclosan, evidenciando a significativa eficácia deste em eliminar bactérias gram-negativas quando comparado ao triclosan. Entretanto, o triclosan demonstrou ser mais eficaz para eliminar o *Staphylococcus aureus* Methicillin-resistente que o clorexidine. A resistência ao clorexidine foi agravada com *Peroneus mirabilis*, *Serratia marcescens*,

Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa e outras bactérias gram-negativas (KAMPF et al., 1998).

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana de sabonete líquido de Triclosan na concentração de 1,0%, sabonete líquido de Clorexidine na concentração de 2,0% e sabonete líquido de óleo essencial de Achillea millefolium nas concentrações de 1,0% e 2,0% e comparar os resultados.

#### Materiais e Métodos

#### Obtenção do material vegetal

Achillea millefolium foi cultivada no Horto Medicinal da Universidade Paranaense – Unipar, localizado na cidade de Umuarama, estado do Paraná, e sua exsicata está depositada no Herbário Educacional da Unipar (H.E.U.) sob o nº 1896.

A parte utilizada da planta foram suas folhas coletadas no período da manhã (7:30h), tomando-se cuidado para esperar que todo o orvalho evaporasse antes da coleta, evitando-se coletar nos dias chuvosos (SIMÕES, 2001).

### Obtenção do óleo essencial de Achillea millefolium

A técnica utilizada foi destilação por arraste a vapor com coobação em aparelho tipo Clevenger modificado (GAZIM, 2005).

Foi realizada a destilação das folhas recém coletadas, pesando-se 50g de planta e para 500 m de água destilada. A destilação ocorreu por um período de 3h. O óleo foi retirado do aparelho com hexano (P.A.) e foi filtrado com Na2So4 anidro (SIMÕES 2001) e armazenado em frasco escuro, sob refrigeração, aberto para evaporar o hexano.

# Índices físico-químicos do óleo essencial de Achillea millefolium

Foram determinados os índices de refração, rotação ótica e densidade específica do óleo essencial de *A. millefolium*.

### Densidade relativa

A densidade relativa da substância é a razão de sua massa, pela massa igual ao volume de água, ambas a 20°C, conforme técnica descrita (FARMACOPÉIA, 1988).

#### Rotação ótica

A rotação ótica foi determinada num polarímetro digital modelo WXG-4 (FARMACOPÉIA, 1988).

### Índice de refração

Os índices de refração foram determinados em refratômetro do tipo ABBE, modelo RL 3, marca: PZO warszawa (FARMACOPÉIA, 1988).

#### Desenvolvimento das formulações

Foram desenvolvidos cinco (5) produtos para posterior análise microbiana:

**Produto 1:** Sabonete base

**Produto 2:** Sabonete contendo óleo essencial de *Achillea millefolium* 1,0%

**Produto 3:** Sabonete contendo óleo essencial de *Achillea millefolium* 2,0%

**Produto 4:** Sabonete contendo digluconato de clorexidine 2,0%

**Produto 5:** Sabonete contendo triclosan 1,0%

A composição química da base para o preparo dos sabonetes foi: Lauril éter sulfato de sódio - 25%; dietanolamina do ácido graxo de côco-4,0%; cloreto de sódio - 0,8%; solução de ácido cítrico a 10% - qsp pH 6.0; água destilada - qsp 100ml; triclosan - 1,0%; Digluconato de clorexidine - 2,0%; Óleo essencial de Achillea millefolium a 1% e 2%. A técnica de preparo dos sabonetes consistiu na pesagem dos componentes e, num cálice, foi solubilizado o triclosan na dietanolamina do ácido graxo de côco. Acrescentou-se o lauril éter sulfato de sódio, previamente diluído em qsp de água. O cloreto de sódio foi dissolvido em qs de água. Após o preparo da base o pH foi aferido para 6,0. No preparo do sabonete à base de clorexidine e de óleo essencial de Achillea milefollium, os princípios ativos foram adicionados no final da formulação, visto que estas substâncias não necessitaram de diluição prévia.

Determinação da atividade antimicrobiana dos sabonetes de *Achillea millefolium* nas concentrações de 1,0% e 2,0%; Clorexidine a 2,0% e Triclosan a 1,0%

#### Ensaios microbiológicos

Utilizou-se o meio de cultura Plate Count Agar PCA (lote VM 900963223) para as bactérias e Agar Saboraud (lote VM 932338232) para a levedura, ambos da marca Merck. A técnica utilizada para a determinação microbiana foi a de Pour Plate, técnica utilizada para determinação de produtos semisólidos. Os ensaios microbiológicos foram realizados no laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense - UNIPAR.

#### Microorganismos utilizados

Como inóculo Gram-positivo, utilizouse *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538); como Gram-negativos, *Escherichia coli* (ATCC 8739) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027); como fungo, *Candida albicans* (ATCC 10231), ambas as amostras fornecidas pela New Prov (Produtos para laboratório).

#### Padronização da Suspensão Microbiana

O preparo da suspensão bacteriana foi realizado segundo técnica descrita em Soares, (1993) para contagem de 30 a 300 colônias de cepa, a qual consistiu na agitação da cultura do respectivo microrganismo e transferência de 0,1 ml desta para um tubo de ensaio contendo 9.9 ml de líquido de diluição (1:100), repetindose este procedimento por mais duas vezes para obtermos uma diluição de (1: 1.000.000). O procedimento de inoculação utilizado para contagem total de bactérias foi a técnica de semeadura em Pour Plate, que consiste na inoculação de 0,05 ml da suspensão bacteriana (+) 1,0 ml do produto a ser testado, no caso, os sabonete líquidos de triclosan, clorexidine e óleo essencial de A. millefolium (+) em Agar PCA fundido a 45°C, seguido de homogeneização e solidificação. Incubou-se a 35°C por 48 horas.

A técnica de inoculação para contagem da levedura Candida albicans consistiu igualmente na técnica de Pour Plate em Agar Sabouraud fundido a 45°C. Incubou-se a 25°C por cinco dias. Foram realizadas semeaduras de placas contendo somente cepa e placas contendo cepa positiva, produto para contagem de colônias e posterior comparação.

#### Resultados e Discussão

#### Índices Físico-químicos

**Tabela 1:** Índices físico-químicos do óleo essencial da *Achillea millefolium* 

Óleo essencial	Índices físico- químicos		
Índice de refração	Rotação ótica	Densidade relativa	
$N^{20}D$	$\mid$ á $\mid$ $^{20}D$	$d^{20} 20$	
n.d	n.d	0,86	

n.d: não detectado

A determinação dos índices físico-químicos de densidade, rotação ótica e índice de refração são de extrema importância para detectar adulterações, muito comuns na comercialização dos óleos essenciais. O óleo essencial de *Achillea millefolium* possui uma coloração azul, o que não permitiu a determinação da rotação ótica e do índice de refração.

# Resultado da atividade antimicrobiana pelo método de micro-diluição em caldo.

Os resultados da atividade antimicrobiana das diferentes formas farmacêuticas testadas frente aos microorganismos mais encontrados em ambientes hospitalares encontram-se na Tabela 2, que mostra a percentagem de inibição dos produtos em relação ao crescimento microbiano

Com base nos resultados obtidos através

da análise realizada, verificou-se uma inibição no crescimento microbiano do sabonete contendo óleo essencial de *A. millefolium* na concentração de 2,0% (produto 3), quando comparada ao sabonete contendo clorexidine na concentração de 2,0% (produto 4). No entanto, pode-se observar que os sabonetes contendo clorexidine a 2,0% (produto 4) e óleo essencial de *A. millefolium* a 1,0% demonstraram resultados similares frente à inibição no crescimento microbiano. O sabonete contendo Triclosan na concentração de 1,0%

**Tabela 2:** Atividade antimicrobiana de sabonete líquido de A. millefolium nas concentrações de 1,0% e 2,0%; Triclosan na concentração de 1,0% e Clorexidine na concentração de 2,0%.

Cepa	UFC (somente cepas)	Cepa + Produto 1	Cepa + Produto 2	Cepa + Produto 3	Cepa + Produto 4	Cepa + Produto 5
E. coli	137	89	60	76,8	66,5	100
P. aeruginosa	55	77	79	95,8	83	100
S. aureus	55	100	100	100	100	100
C. albicans	149	100	100	100	100	100

UFC: Unidade formadora de colônias; Produto 1 (sabonete-base); Produto 2 (óleo essencial de Achillea millefolium 1,0%); Produto 3 (óleo essencial de Achillea millefolium 2,0%); Produto 4 (clorexidine - 2,0%); Produto 5 (triclosan 1,0%).

apresentou um poder inibitório de 100%.

No entanto, observou-se a inibição das cepas *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* na presença do sabonete-base (produto 1), o qual não contém nenhum dos princípios ativos (óleo essencial de *Achillea millefolium*, Triclosan e Clorexidine), revelando atividade antimicrobiana dos detergentes utilizados na formulação da base contra microrganismos Grampositivos (*S. aureus*) e fungos (*C.albicans*), indicando que o simples hábito de lavar as mãos já é suficiente para a eliminação total de alguns microrganismos.

A resistência microbiana pode estar relacionada a métodos com reduzida suscetibilidade, principalmente em bactérias gram-negativas, frente ao clorexidine, sendo que a exposição crônica aos desinfetantes parece agravar este fenômeno (KAMPF et al., 1998). Sugere-se que o regime de lavagem das mãos possa ser melhorado, alternando o uso dos anti-sépticos, como em trabalho realizado por Faoagali et al., (1999) e Kac et al. (2005), evitando-se a transmissão em cascata.

Recentemente, vários novos agentes têm sido produzidos com a finalidade de diminuir a resistência microbiana, incluindo formulações contendo PCMX (paracloro-meta-xilenol), triclosan (2,4,4-tricloro-2-hielroxidifeinil éter), soluções contendo baixa concentração de iodo, formulações que combinam o tradicional álcool isopropílico com agentes como o digluconato de clorexidine (MORRINSON et al., 1986), e a utilização de álcool gel na rotina de lavagem das mãos como em trabalho realizado por Santana et al. (2007).

Entretanto, algumas bactérias Gram-negativas têm mostrado alto nível de resistência a muitos anti-

sépticos e desinfetantes, como *P. aeruginosa*, *B. cepacia*, e *Proteus spp*, havendo ainda relatos de sobrevivência de *S. marcescens* em clorexidina, *P. aeruginosa* e *P. cepacia* em soluções à base de iodo. (MIYAGI et al., 2000). A maior resistência dessas bactérias parece estar relacionada a uma adaptação fisiológica em resposta à mudança no ambiente, principalmente com alterações na membrana externa das células (MCDONELL; RUSSELL, 1999).

A utilização de substâncias naturais no tratamento de diferentes enfermidades, incluindo as de etiologia infecciosa, constitui na atualidade um desafio na medicina e é oferecido como uma alternativa, especialmente naquelas doenças para as quais não existe um remédio adequado (LOPEZ, 2003); Em estudo realizado por Groppo et al., (2007) observou-se o efeito antimicrobiano utilizando-se produtos naturais (solução de alho) contra nove espécies de sptreptococcus.

#### Conclusão

Os anti-sépticos são principalmente utilizados na desinfecção das mãos, visto que estes produtos demonstram ser eficazes na redução da propagação dos principais microrganismos responsáveis pelas infecções em ambientes de saúde. Estes produtos podem ser utilizados na forma de sabonetes líquidos, que exibiram significativa atividade antimicrobiana. Através da análise comparativa realizada neste estudo, pode-se observar que os sabonetes contendo óleo essencial de *A. millefolium* nas concentrações de 1,0% e 2,0% demonstraram atividade antimicrobiana semelhante e superior, respectivamente, ao sabonete de clorexidine

na concentração de 2.0%, enquanto que o sabonete contendo triclosan inibiu em 100% o crescimento dos microrganismos testados.

As plantas medicinais possuem em sua composição química substâncias ativas que podem atuar nas interações planta patógeno, como fungitóxicos ou ativando os mecanismos de defesa da planta hospedeira e isto mostra a importância de se testar novos ativos farmacológicos, principalmente ativos naturais, como o óleo essencial de *Achillea millefolium*, uma alternativa para produtos de uso hospitalar, sabendo-se da alta resistência dos microrganismos frente aos anti-sépticos mais utilizados em ambientes hospitalares.

#### Referências

ASTRA ZENECA PHARMACEUTICALS. **Product information:** Hibiclens(R), chlorhexidine. Wilmington, 2000.

BARTZOKAS, C. A. et al. Assessment of the remanent antibacterial effect of a 2% triclosan-detergent preparation on the skin. **Journal of Hygiene**, v. 91, p. 521-528, 1983a.

BARTZOKAS, C. A. et al. A comparison of triclosan and chlorhexidine preparations with 60 per cent isopropyl alcohol for hygienic hand disinfection. **The Journal of Hospital Infection**, v. 4, n. 4, p. 245-255, 1983b.

BATISTA, J. M.; BIRMAN, E. G.; CURY, A. E. Susceptibilidade a antifúngicos de cepas de *Candida albicans* isoladas de pacientes com estomatite protética. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, v. 13, n. 4. p. 343-348, 1999.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

BRINER W. W. et al. Effect of chlorhexidine gluconate mouthrinse on plaque bacteria. **J. Periodontal Res.** v. 21, p. 44-52, 1986.

BUTZ, A. M. et al. Alcohol-impregnated wipes as an alternative in hand hygiene. **Am. J. Infect Control**, v. 18, n. 2, p. 70-76, 1990.

CANDAN, F. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. Millefolium afan. (Asteraceae), **Journal of Ethmopharmacology**, v. 87. p. 215-220, 2003.

COLOMBO, A. L. Epidemiology and treatment of hematogenous candidiasis: a Brazilian perspective. **Braz. J. Infect Dis.** v. 4, p. 113-118, 2000.

FAOAGALI, J. L. et al. Comparison of the antibacterial efficacy of 4% chlorhexidine gluconate and 1% triclosan handwash products in an acute clinical ward. **Am. J. Infect. Control**, v. 27, n. 4, p. 320-326, 1999.

FISHER, F.; COOK, N. B. **Micologia**: fundamentos e diagnóstico. p. 193-226, 2001.

GAZIM, Z. C. Determinação qualitativa e quantitativa dos constituintes químicos do óleo essencial de calêndula (Calendula officinalis L. Asteraceae) por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) e

avaliação da atividade antimicrobiana e condições de plantio. 2005. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Departamento de Farmácia e Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005

GROPPO, F. C. et al. Antimicrobial activity of garlic against oral streptococci. **J. Dent Hyg.** v. 5, n. 2, p. 109-115, 2007. KAC, G. et al. Microbiological evaluation of two hand hygiene procedures achieved by healthcare workers during routine patient care: a randomized study. **J. Hosp. Infect.** v. 62, n. 1, p. 32-39, 2005.

KAMPF, G.; JAROSCH, R.; RUDEN, H. Limited effectiveness of chlorhexidine based hand disinfectants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **J. Hosp. Infect**. n. 38, p. 297-303, 1998.

LILLY, H. A.; LOWBURY, E. J. L. Disinfection of the skin with detergent preparations of Irgassan DP 300 and other antiseptics. **British Medical Journal**, n. 4, p. 372-374, 1974.

LOPEZ-BREA, D. D. Y. M. Plantas con acción antimicrobiana. **Rev. Esp. Quimioterap.** v. 16, n. 4, p. 385-393, 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p. 129-130.

MARCHETTI, M. G. et al. Evaluation of the bactericidal effect of five products for surgical hand disinfection according to prEN 12054 and prEN 12791. **The Journal of Hospital Infection**, v. 54, n. 1, p. 63-67, 2003.

MCDONELL, G.; RUSSELL, A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. **Clin. Microbiol.** v. 12, p.147-179, 1999.

MIYAGI, F.; TIMENETSKY, J.; ALTERTHUM, F. Evaluation of bacteria contamination in disinfectants for domestic use. **Rev. Saúde Pública**, v. 34, n. 5, 2000.

MORRINSON JUNIOR, A. J. et al. The efficacy of Several New Hanwashing agents for removing non-transient bacterial flora from hands. **Am. J. Infect Control**, v. 7, n. 5, p. 268-272, 1986.

MURIE, J. A.; MACPHERSON, S. G. Chlorhexidine in methanol for the preoperative cleansing of surgeons' hands: a clinical trial. **Scott Med. J.** v. 25, p. 309-311, 1980.

PETERSON, A. F.; ROSENBERG, A.; ALATARY, S. D. Comparative evaluation of surgical scrub preparation. **Gynaecology and Obstetrics**, v. 146, p. 63-65, 1978.

PFALLER, M. A. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. **Clin. Infect Dis.** v. 22, n. 2, p. 89-94, 1996.

RENTON-HARPER, P. et al. A comparison of chlorhexidine, cetylpyridinium chloride, triclosan, and C31G mouthrinse products for plaque inhibition. **J. Periodontol**, v. 67, p. 486-489, 1996.

SANTANA, S. L. et al. Assessment of healthcare professionals' adherence to hand hygiene after alcohol-based hand rub

introduction at an intensive care unit in São Paulo, Brazil. **Infect**. **Control Hosp. Epidemiol**. v. 28, n. 3, p. 365-367, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Farmacognosia da planta ao medicamento. In: **Óleos essenciais**. 3. ed. Porto Alegre: Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina. 2001.

SOARES, M. M.; RIBEIRO, M. C. **Microbiologia prática**: roteiro e manual bactérias e fungos. Campinas: Atheneu, 1993. p. 33.

UNITED STATES OF AMERICA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION, AND WELFARE: OTC. **Topical antimicrobial products. Federal Register**. 1978. p. 1210-1249.

WENZEL, R. P. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. **Clin. Infect. Dis.** v. 20, p. 1531-1534, 1995.

Recebido em: 13/12/2006 Aceito em: 05/06/2007 Received on: 13/12/2006 Accepted on: 05/06/2007