

## مقایسه تأثیر اسکراب دست با بتادین و دکوسپت بر شمارش میکروبی

کبری رضایی<sup>۱</sup>، یداله صحرانورد<sup>۲</sup>، مجتبی ناظری<sup>۳</sup>، محمد جواد طراحي<sup>۱</sup>

۱- مربی، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی لرستان  
۲- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، بیمارستان تأمین اجتماعی  
۳- کارشناس ارشد پرستاری، بیمارستان تأمین اجتماعی

یافته / دوره هشتم / شماره 4 / زمستان 85 / مسلسل 30

### چکیده

دریافت مقاله: 85/2/14، پذیرش مقاله: 85/5/1

**مقدمه:** براساس لزوم استفاده از روش های جدید کنترل بیماریهای واگیر و کاهش عفونتهای بیمارستانی، امروزه در کشورهای پیشرفته، اسکراب جراحی تیم استریل اتاق عمل در مدت کوتاه با مواد مؤثر، جایگزین سایر روشهای سنتی گردیده است. درحالیکه، در بیشتر اتاق عملهای کشور ما هنوز از روش سنتی و معمول اسکراب دست (ابتادین و مدت بیش از 3 دقیقه) استفاده می شود. هدف از این کارآزمایی بالینی، بررسی تأثیر بتادین و دکوسپت بر میکروارگانسیم های پوست بود.

**مواد و روش ها:** این مطالعه در اردیبهشت ماه سال 1385 بر روی 20 نفر پرستار اتاق عمل بیمارستان تأمین اجتماعی شهر خرم آباد انجام شد. افراد به روش نمونه گیری مبتنی بر هدف با توجه به وجود معیارهای موردنظر انتخاب شدند. ابتدا همه افراد دستها را با صابون غیرآنتی باکتریال شسته و خشک کردند. جهت تعیین معیار پایه از دست آنها نمونه گیری در محیط TSB انجام گرفت. سپس، در دو مرحله (بعد از اسکراب با بتادین و یک هفته بعد، با دکوسپت)، جهت تعیین تأثیر فوری و دوام تأثیر دو ماده، بلافاصله بعد از اسکراب دستها با بتادین و دکوسپت و همچنین دو ساعت بعد از پوشیدن و خروج دستکش، از نوک انگشتان افراد، نمونه گیری به عمل آمده و کلنی های رشد یافته در نمونه های کشت شده شمارش شدند. آنالیز اطلاعات با نرم افزار آماری SPSS نسخه 12 انجام گرفت. با توجه به توزیع نرمال متغیرهای نمونه های تحت بررسی، از آزمون T دوتایی برای مقایسه تفاوت میانگین تعداد کلنی های رشد یافته در هر مرحله استفاده شد.

**یافته ها:** مقایسه فراوانی کاهش کلنی باکتریها بلافاصله بعد از اسکراب با بتادین و دکوسپت تفاوت داشت. مقایسه تفاوت میانگین کاهش کلنی باکتریهای پوست بلافاصله پس از اسکراب با بتادین و دکوسپت اختلاف آماری معنی داری داشت ( $p=0/011$ ). همچنین، مقایسه میانگین افزایش کلنی باکتری ها از زمان اسکراب تا دو ساعت بعد از پوشیدن دستکش در دو مرحله متفاوت بود ( $p=0/023$ ). رشد کلنی باکتری ها بعد از اسکراب (از بلافاصله تا دو ساعت بعد) با بتادین، نشاندهنده افزایش 1/7 بود. در حالیکه، این افزایش رشد کلنی باکتری ها در مرحله اسکراب با دکوسپت 1/15 بود که در دو مرحله تفاوت معنی داری مشاهده شد ( $p=0/001$ ).

**بحث و نتیجه گیری:** به طور کلی، مقایسه نتایج حاصله از کشت نمونه های دست افراد تحت بررسی در دو مرحله (اسکراب با بتادین و دکوسپت) چه در رابطه با تأثیر فوری و چه دوام تأثیر آنها مؤید این بود که ماده الکلی دکوسپت بطور مشخصی تأثیر بیشتر بر کاهش میکروارگانسیمها دارد. ما پیشنهاد می کنیم که جهت اسکراب جراحی به جای سایر مواد، بیشتر از مواد الکلی استفاده شود.

واژه های کلیدی: بتادین، دکوسپت، اسکراب جراحی، شمارش میکروبی

## مقدمه

پاک کردن باکتری های انتقالی در کوتاهترین زمان، قادر به کنترل و توقف رشد باکتری های پایدار پوست در مدت زمان بیشتری هم هستند (8، 9). البته، نتایج یکی از مطالعات گویای تأثیر پوویدون آیدین 7/5 درصد در مدت بیشتر از 3 دقیقه اسکراب بر کاهش میکروبیهای دست با پایداری کمتر از 2 ساعت بوده اما در مقایسه با مواد الکلی این ماده قدرت کمتری بر حفظ و کنترل باکتری های پایدار پوست داشته است (10، 11).

هدف از این مطالعه مقایسه تأثیر بتادین و دکوسپت بر شمارش میکروبی پوست بعد از اسکراب جراحی می باشد.

## مواد و روش ها

تعداد 20 نفر (13 زن و 7 مرد) از پرستاران اتاق عمل بیمارستان تأمین اجتماعی خرم آباد در محدوده سنی 21-28 سال به صورت مبتنی بر هدف که دارای مشخصات نمونه های مورد مطالعه بودند، انتخاب شد. به منظور یکسان نمودن نمونه ها و حذف برخی عوامل مؤثر بر فلور باکتریال پوست، در هر دو مرحله از یک گروه استفاده شد. در مرحله اول با بتادین (پوویدون آیدین 7/5 درصد) و در مرحله دوم، (یک هفته بعد) با ماده دکوسپت (هر 100 گرم ماده حاوی 44/7 گرم ایزوپروپانول، 21/9 گرم ان - پروپانول و 0/1 گرم کلراید بنزال کانیوم)، اسکراب کردند. ابتدا افراد نمونه از نظر معیارهای زیر کنترل شدند:

\* از یک هفته قبل از مطالعه و در طول مدت نمونه گیری، هیچ ماده ضد باکتریال پوستی (پماد، کرم، صابون، شامپو) و همچنین آنتی بیوتیک سیستمیک استفاده نکرده باشند (جهت حفظ فلور باکتریال پوست).

\* پوست دست آنها سالم و بدون خراش بوده و ناخن ها کوتاه باشند.

از مهمترین اقدامات بهداشتی - درمانی برای کنترل عفونتهای بیمارستانی، شستن دستها است. برای انجام اقدامات غیر تهاجمی، دستها به روش طبی<sup>1</sup> شسته و ضدعفونی می شوند؛ اما جهت اجرای روشهای تهاجمی مثل انجام عمل جراحی باید دستها را به روش جراحی<sup>2</sup> ضدعفونی نمود.

هدف از اسکراب جراحی دستها، زدودن آلودگی و چربی، از بین بردن میکروارگانیسمهای انتقالی فلور پوست دست<sup>3</sup> و همچنین تا مدتی جلوگیری از رشد و تکثیر میکروارگانیسمهای پایدار پوست دست<sup>4</sup> می باشد (1 و 2).

کمیته کنترل بیماریهای واگیر همواره در پی معرفی روشهای جدید کاهش آلودگی جهت پیشگیری از بروز عفونتهای بیمارستانی است (3).

مواد مورد استفاده برای ضد عفونی دستها قبل از جراحی، باید دارای قدرت وسیع ضد میکروبی و سریع اثر باشند، ایجاد تحریک و حساسیت پوست نکرده، اثر بخشی آنها تا مدتی حفظ شده و در طول مدت جراحی، میکرو ارگانیسمها قادر به رشد و فعالیت نباشند (4).

تاکنون مواد متفاوتی مثل صابون های آنتی باکتریال، هی بی تان، کلرهگزیدین، بتادین (پوویدون آیدین 7/5 درصد)<sup>5</sup> برای اسکراب جراحی دستها مورد استفاده قرار گرفته است (5).

از میان این مواد، سالهاست که بتادین اسکراب به طور معمول و سنتی در کشور ایران به کار میرود. این در حالی است که در کشورهای اروپایی، مواد الکلی با اثر قوی و طولانی مدت ضد میکروبی که در مدت کم (3 دقیقه) قادر به ضد عفونی دستها باشند را به سایر مواد ترجیح داده و استفاده می کنند (6) که دلیل آن میتواند اثر بخشی بیشتر و ایجاد تحریک و حساسیت کمتر بعد از استفاده طولانی مدت آنها باشد (5 و 7).

نتایج بررسی های متعدد نشان می دهند موادی که پایه الکلی دارند (اتانل یا پروپانول) در مقایسه با سایر مواد، تأثیر بیشتری بر ضد عفونی سریع و با دوام دستها دارند. یعنی ضمن

1. Medical Hand Scrub
2. Surgical Hand Scrub
3. Transient skin bacteria
4. Resistent skin bacteria
5. Betadine (Povidone Iodine 7.5%)

اسپچولای استریل در محیط TSA پهن شد. فاصله زمانی از نمونه گیری تا شروع کشت نمونه ها از 30 دقیقه بیشتر نشد. دیش ها به مدت 48 ساعت در درجه حرارت  $36 \pm 1$  درجه سانتی گراد اینکوبه شده و بعد تعداد کلی باکتری ها (CFU)<sup>4</sup> در هر دیش شمارش شد.

تعیین معیار بلافاصله بعد از ضد عفونی (postvalue I):

بعد از ضد عفونی دست ها با هر یک از مواد (بتادین یا دکوسپت)، همه افراد به مدت یک دقیقه سر انگشتان یکی از دستها را در محیط TSB قرار داده و نمونه گیری انجام شد به هر کدام از دیش ها مواد خنثی کننده اضافه شد (3 درصد توئین 80، 3 درصد ساپونین، 1 درصد هیستیدین و 0/1 درصد سیستئین<sup>5</sup>). سپس به دست دیگر دستکش استریل پوشانده شد.

تعیین معیارهای دوام تأثیر ماده ضد عفونی کننده (postvalue II):

بعد از دو ساعت دستکش ها خارج شده و نمونه گیری از نوک انگشتان دست به مدت یک دقیقه با همان روش انجام گرفت (برای بررسی تأثیر بلافاصله).

از ماده رقیق شده در TSB از هر ظرف برداشته و با یک اسپچولای استریل به ظرف حاوی TSA منتقل و پهن شد. بلافاصله دیش ها به مدت 48 ساعت در اینکوباتور با درجه حرارت  $36 \pm 1$  درجه سانتی گراد قرار گرفت. مدت زمان بین برداشتن نمونه ها و قرار دادن آنها در اینکوباتور، حداکثر 30 دقیقه بود. بعد از خروج از اینکوباتور، تعداد کلنی (CFU) هر ظرف شمارش گردید.

کلنی های با کتری رشد کرده در هر مرحله (معیار پایه، معیار بلافاصله بعد از ضد عفونی و 2 ساعت بعد از ضد عفونی) با تعیین فاصله لگاریتم 10 مربوط به هر سه معیار شمارش و دسته بندی شدند.

\* مدت اسکراب برای هر دو گروه سه دقیقه بود که از نوک انگشتان تا بالاتر از مچ دست (بدون استفاده از برس) ضد عفونی شد.

\* روش اسکراب در مرحله ضد عفونی با بتادین طبق روش معمول و در مرحله ضد عفونی با دکوسپت بر حسب دستورالعمل انجام گرفت.

\* در مرحله اول، بعد از شستشوی دستها به مدت یک دقیقه با 5 میلی لیتر صابون غیر ضد باکتری و خشک کردن آنها، نمونه کشت جهت تعیین معیار پایه<sup>1</sup> گرفته شد. سپس، دستها به مدت سه دقیقه (سه مرتبه هر بار یک دقیقه با 5 میلی لیتر بتادین) اسکراب شدند. به این صورت که بعد از خیس کردن دستها، از نوک انگشتان تا بالاتر از مچ دست ها ضد عفونی، آبکشی و سپس با حوله استریل خشک شدند.

\* بعد از یک هفته، همه افراد گروه (20 نفر) ابتدا دستها را به مدت یک دقیقه با صابون شسته و خشک کرده، سپس نمونه گیری جهت تعیین معیار پایه انجام گرفت. بعد هر کدام دستها را به مدت سه دقیقه با 10 تا 12 میلی لیتر دکوسپت مالش دادند (طبق دستورالعمل و بدون آبکشی). در طول مدت ضد عفونی با دکوسپت، باید رطوبت دستها با این ماده حفظ می شد (3). در مجموع، 120 نمونه (در هر مرحله 60 نمونه) گرفته و کشت داده شد. بعد از نمونه گیری، هر ظرف با کد مشخص شد.

تعیین معیار پایه (prevalue)

در این مطالعه از محیط های TSB<sup>2</sup> و TSA<sup>3</sup> استاندارد شرکت مرک آلمان استفاده شد. نمونه گیری در دیش هایی به قطر 9 سانتی متری حاوی 10 میلی لیتر TSB طبق روش استاندارد Pr EN 12791 انجام گرفت (5). این روش نمونه گیری را به منظور تعیین آمادگی و تمیز شدن دستها بعد از شستشوی اولیه، در کشورهای اروپایی انجام می دهند (11). در این روش، یک دهم از ماده رقیق شده نمونه دستها در محیط TSB قرار گرفت. سپس، با یک

1. Prevalue  
2. Tryptic Soy Broth  
3. Tryptic Soy Agar  
4. Colony Forming Unit (CFU)  
5. Tween, saponin, histidine, and cystein

دست باصابون و بلافاصله ضد عفونی با دکوسپت، اختلاف داشت ( $p=0/000$ ).

- مقایسه افزایش کلنی های رشد کرده جهت تعیین تأثیر فوری و دو ساعت بعد از ضد عفونی با دکوسپت تفاوت آماری معنی داری را نشان داد ( $p=0/001$ ).

- بین میانگین کاهش کلنی های رشد کرده بلافاصله بعد از ضد عفونی با بتادین و بلافاصله بعد از ضد عفونی با دکوسپت، تفاوت آماری مشخصی مشاهده شد ( $p=0/011$ ).

- مقایسه میانگین افزایش کلنی های رشد کرده تا دو ساعت بعد از ضد عفونی با بتادین و دکوسپت جهت تعیین دوام تأثیر دو ماده، اختلاف مشخص آماری را نشان داد ( $p=0/023$ ) (جدول 1).

مقایسه تأثیر ضد عفونی دست ها بلافاصله و دو ساعت بعد از ضد عفونی با بتادین نشان داد که رشد کلنی ها به طور متوسط 1/7 افزایش یافته است ( $p=0/001$ ). در مقابل، این افزایش رشد کلنی ها از بلافاصله بعد از ضد عفونی تا دو ساعت بعد از ضد عفونی در گروهی که دست ها را با دکوسپت اسکراب کرده بودند، به طور متوسط 1/15 افزایش یافته است ( $p=0/001$ ) (جدول 2).

پس از تنظیم اطلاعات، آنالیز آماری آنها به وسیله نرم افزار SPSS نسخه 12 انجام گرفت. ابتدا با استفاده از آزمون آماری یک نمونه ای کولموگوروف اسمیرنوف<sup>1</sup> توزیع متغیرهای تحت مطالعه بررسی شد که نرمال بود. سپس با توجه به طبیعی بودن توزیع متغیرهای تحت مطالعه، از آزمون T زوج<sup>2</sup> استفاده شد.

## یافته ها

نتایج 120 نمونه کشت که در دو مرحله (هر مرحله 60 نمونه) از 20 نفر پرستار اتاق عمل گرفته شد عبارت بودند از:

- مقایسه میانگین تعداد کلنی های رشد کرده بعد از تمیز کردن دست ها با صابون غیر ضد باکتری در هر دو مرحله از نظر آماری تفاوت مشخص را نشان نداد.

- مقایسه میانگین کلنی رشد کرده بعد از تمیز کردن دست با صابون و بلافاصله بعد از ضد عفونی با بتادین اختلاف داشت ( $p=0/000$ ).

- مقایسه میانگین کاهش کلنی های رشد کرده جهت تعیین تأثیر فوری و دو ساعت بعد از ضد عفونی با بتادین تفاوت مشخص آماری را نشان داد ( $p=0/001$ ).

- مقایسه میانگین کلنی های رشد کرده بعد از تمیز کردن

جدول شماره 1- مقایسه تفاوت میانگین کلنی در کشت نمونه های بعد از اسکراب با بتادین و دکوسپت

گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	T	P.V
بتادین بلافاصله	20	1/90	1/55	2/83	0/011
دکوسپت بلافاصله	20	0/75	0/85		
بتادین دو ساعته	20	3/60	2/81	2/48	0/023
دکوسپت دو ساعته	20	1/90	1/29		

جدول شماره 2- مقایسه تفاوت میانگین افزایش کلنی های پوست بلافاصله و دو ساعت بعد از ضد عفونی با بتادین و دکوسپت

گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	T	P.V
بلافاصله بعد از بتادین	20	-1/7	88	07	0/001
دو ساعت بعد از بتادین	20	-1/7	1/88	-4/07	
بلافاصله بعد دکوسپت	20	15	1/38	-3/70	0/001
دوساعت بعد از دکوسپت	20	-1/15	1/38	-3/70	

1. One – sample kolmogorov smirnov test

2. Paired T test

بر اساس هدف اصلی مطالعه، نتایج کشت نمونه های افراد تحت مطالعه نشان دهنده اختلاف واضح بتادین و دکوسپت بر کاهش بلافاصله تعداد کلنی های پوست دست بود که با نتایج بررسی های انجام شده در خصوص تأثیر بیشتر مواد الکلی بر کاهش کلنی باکتریهای پوست در مقایسه با مواد مورد استفاده معمول (سنتی)، یکسان میباشد (10 و 12). از آنجا که پاک کردن سریع باکتریهای انتقالی پوست دست در کمترین مدت حائز اهمیت زیادی می باشد بنابراین به منظور کنترل عفونت های بیمارستانی و با توجه به اینکه استفاده از دکوسپت در مدت سه دقیقه دارای اثربخشی بیشتر و طولانی مدت بر کاهش میکروارگانیسرهاست، لذا بهتر است این ماده جهت اسکراب دست جایگزین بتادین گردد.

هنگام استفاده از مواد الکلی مثل دکوسپت، باید توجه نمود که در طول مدت زمان اسکراب، رطوبت پوست با ماده حفظ شود. در این مطالعه، 10 - 12 میلی لیتر دکوسپت برای هر بار اسکراب کافی بود. نتایج بررسی کمپف و اوسترمیر<sup>2</sup> (2004) نشان داد که حجم متفاوت ماده آن - پروپانل 60 درصد در مقایسه با میزانی از ماده که رطوبت پوست حفظ شود، بر کاهش کلنی ها یکسان است (11).

جهت حفظ شرایط ضد عفونی پوست دست در دستکش برای اعمال جراحی بزرگ و گسترده و همچنین، روش های طولانی مدت (بیش از یک ساعت) لازم است از ماده ای استفاده شود که دارای تأثیر طولانی مدت بیشتری نسبت به بتادین باشد. در این مطالعه، مقایسه میانگین کاهش کلنی های رشد کرده روی پوست دستی که درون دستکش است بعد از اسکراب با دکوسپت در مقایسه با بتادین نشان دهنده اختلاف مشخصی بود. این تفاوت دوام تأثیر مواد الکلی بر کاهش و حفظ شرایط ضد عفونی پوست دست در طول مدت جراحی در مطالعه انجام شده توسط بریس<sup>3</sup> نیز مشخص شده است (12).

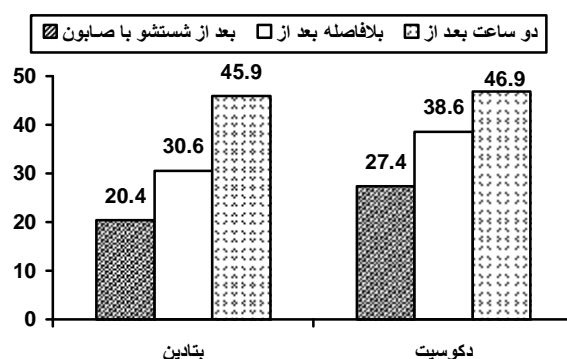
- فراوانی کلنی باکتریهای که بعد از تمیز کردن دست ها با صابون در محیط کشت رشد کرده بودند از 2 تا 14 کلنی بود (در مجموع 114 و 122).

- فراوانی کلنی باکتری که بلافاصله بعد از ضد عفونی دست ها با بتادین در محیط کشت رشد کرده بود، از 1 تا 7 کلنی بود (مجموع 38).

- فراوانی کلنی باکتریهای که دو ساعت بعد از ضد عفونی دست ها با بتادین در محیط کشت رشد کرده بودند از یک تا سیزده کلنی بود (مجموع 72).

- فراوانی کلنی باکتریهای که بلافاصله بعد از ضد عفونی دست ها با دکوسپت در محیط کشت رشد کرده بودند، از صفر تا دو بود (مجموع 25).

- فراوانی کلنی باکتریهای که دو ساعت بعد از ضد عفونی دست ها با دکوسپت در محیط کشت رشد کرده بودند، از صفر تا پنج بود (مجموع 40) (نمودار 1)



نمودار شماره 1- مقایسه فراوانی کاهش کلنی باکتریها بعد از شستشو با صابون، بلافاصله و دو ساعت بعد از ضد عفونی دست ها با بتادین و دکوسپت

## بحث و نتیجه گیری

نتایج این بررسی در مرحله اول نشان داد که ماده بتادین (پروپانل آیدین 7/5 درصد) و دکوسپت (حاوی پروپانول) هر دو بر کاهش سریع و طولانی مدت تعداد کلنی های پوست دست مؤثر بودند که با یافته های حاصل از بررسی کمپف و نیشی مورا<sup>1</sup> (5، 9) مطابقت دارد.

1. Kampf & Nishimura 2. Kampf & Ostermeyer  
3. Bryse

روی عوارض احتمالی فلور باکتریال و همچنین خشکی پوست دست در اثر استفاده طولانی مدت از مواد الکلی در کشور ما انجام گیرد.

### تقدیر و تشکر

در پایان، از معاونت آموزشی و پژوهشی و شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان که با تصویب و حمایت مالی، امکان انجام این پژوهش را فراهم نمودند، تشکر می‌کنم. همچنین از پرسنل محترم بیمارستان تأمین اجتماعی خرم آباد در حوزه های ریاست، اتاق عمل و آزمایشگاه برای همکاری و مساعدت بی دریغ آنها در انجام مطالعه تقدیر می‌گردد.

لذا توصیه میشود تا حدود امکان از مواد الکلی که در حال حاضر با نام دکوسپت در بازار موجود است، به جای سایر مواد ضد عفونی کننده استفاده شود.

به طور کلی، فراوانی کاهش کلنی باکتری ها بلافاصله و افزایش کلنی باکتریها دو ساعت بعد از ضد عفونی دستها با بتادین و دکوسپت در نمونه های تحت بررسی تفاوت مشخصی را نشان داد. در نتیجه، با توجه به هدف و مأموریت مهم افراد تیم بهداشتی درمان در کنترل عفونت های بیمارستانی، باید در جهت اشاعه استفاده بیشتر از مواد الکلی (دکوسپت) آنها را تشویق نمود. همچنین، لازم است پژوهش های دیگری نیز بر

## References

1. Rotler ML. Hand washing and hand disinfection. Hospital epidemiology and infection control. Lippincott willies Wilkins, Philadelphia, 1999: 1339-1355
2. Fry DA, Burger T. Hand hygiene compliance: Step up, reach out. Nursing Management, March 2006, 37(3): 40-44
3. Boyce JM, Pittet D. Guideline for hand hygiene in health-care setting. Recommendation of the Health care Infection control practices Advisory Committee and the HICAC/ SHEA/ APIC/ IDSA Hand Hygiene Task Force. Wkly. Rep 2002 (51): 1-45
4. Fortunato N. In: Berry & Kohn's Operating Room Technique. 9th ed. St. Louis: Mosby; 2000, 174-175
5. Kampf G, Kramer A. Epidemiology background of hand hygiene and evaluation of most important agents for scrubs and rubs. Clinical Microbiology Review 2004; (17): 663-893
6. Twomey C. Hand Hygiene, Best practice for 2006. May 2006. TCT-Main Articles. [WWW.infectioncontrolday.com](http://WWW.infectioncontrolday.com)
7. Betadine surgical scrub complications. [www.netdoctor.com.uk/medicine](http://www.netdoctor.com.uk/medicine), update: 2004. Copyright 2006
8. Hsieh HF, Chiu H H, Lee FP. Surgical hand scrub in relation to microbial count: Systematic literature review. Journal of Advanced Nursing 2006; 55(1): 68-72
9. Nishimura C. Comparison of the antimicrobial Efficacy of Povidone Iodine-Ethanol and Chlorhexidine Gluconate-Ethanol Surgical Scrub. Dermatology 2006; 212(1): 21-25
10. Labadie JC, Kampf G, Lejeune B, Exner M, Cottron O, Girard R, et al. Recommendation for surgical hand disinfection—requirements, implementation and need for research. A proposal by representative of the SFHH, DGHM and DGKH for a European discussion. J. Hosp Infect. 2002; (51):312-315
11. Kampf G, Ostermeyer C. Influence of Applied Volume on Efficacy of 3 – Minute Surgical Reference Disinfection Method PrEN 12791. Applied and Environmental Microbiology, Dec 2004, 70 (12): 7066-7069
12. Bryce E A. Spence F; and Roberts FJ. An in use evaluation of on alcohol based pre – surgical hand disinfectant. Infect control Hosp Epidemiol. 2001; 22(10): 635-9