



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE PÚBLICA
NOS TRÓPICOS**

GUILHERME MACHADO HOLZLSAUER

**ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO,
PROSPECTIVO, COMPARATIVO ENTRE QUATRO
MÉTODOS DE ANTISSEPSIA CIRÚRGICA EM GATAS
SUBMETIDAS À OVARIO-HISTERECTOMIA ELETIVA**

Araguaína/TO
2023

GUILHERME MACHADO HOLZLSAUER

**ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO, PROSPETIVO,
COMPARATIVO ENTRE QUATRO MÉTODOS DE ANTISSEPSIA CIRÚRGICA
EM GATAS SUBMETIDAS À OVARIO-HISTERECTOMIA ELETIVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos como requisito parcial ao Título de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Júnior

Coorientador: Prof^a. Dr^a. Andressa Francisca Silva Nogueira

Araguaína/TO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- H762e Hölzlsauer, Guilherme Machado.
Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, prospectivo, comparativo entre quatro métodos de antisepsia cirúrgica em gatas submetidas à ovari-histerectomia eletiva. / Guilherme Machado Hölzlsauer. – Araguaína, TO, 2023.
92 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, 2023.
Orientador: José Carlos Ribeiro Júnior
Coorientadora : Andressa Francisca Silva Nogueira
1. Infecção. 2. Microbiologia. 3. Sítio Cirúrgico. 4. Técnica Asséptica. I.
Título

CDD 636.089

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

GUILHERME MACHADO HOLZLSAUER

ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO, PROSPETIVO, COMPARATIVO
ENTRE QUATRO MÉTODOS DE ANTISSEPSIA CIRÚRGICA EM GATAS
SUBMETIDAS À OVARIO-HISTERECTOMIA ELETIVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos da Universidade Federal do Norte do Tocantins foi avaliada para a obtenção do grau de mestre e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação:

25/08/2023

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
JOSE CARLOS RIBEIRO JUNIOR
Data: 20/10/2023 19:25:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Júnior (Orientador)

Universidade Federal do Norte do Tocantins



Documento assinado digitalmente
BRUNA ALEXANDRINO
Data: 20/10/2023 17:15:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Bruna Alexandrino

Universidade Federal do Norte do Tocantins



Documento assinado digitalmente
FABIO ANDRE PINHEIRO DE ARAUJO
Data: 20/10/2023 19:30:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Fábio André Pinheiro de Araújo (membro externo)

Universidade Federal do Norte do Tocantins

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Agradeço minha mãe Alexandra, que me deu apoio, conselhos e incentivo nas horas difíceis, de desânimo e de cansaço.

Agradeço meu pai Frederico, que apesar de todas as dificuldades me fortaleceu, me aconselhou, me apoiou e que me foi muito importante.

Agradeço aos meus irmãos, Stephany e Iago, pelo apoio, pelos conselhos e pelas risadas.

Agradeço à Andréa, minha companheira, por me apoiar, por me empurrar para frente nos momentos de medo, por estar comigo sempre que precisei e por ser tão especial.

Agradeço aos meus amigos Caio, Lucas e Raphael pelo apoio e por tornar a vida mais divertida.

Agradeço aos amigos e colegas que a UFNT me permitiu conhecer e conviver. Agradeço por tornar este período mais fáceis e mais divertidos.

Em especial, agradeço a Cristiane, Yron, Lia, Beatriz, Dr^a Flávia, Me. Daiane, Prof. Fábio, Roberto, Jailson, Paulo Jhonatan, Prof^a. Roberta, Loydes e Bianca, pelos ensinamentos, pelos momentos vividos, por compartilharem comigo o melhor e o pior nestes anos.

Agradeço a todos os meus professores, pelos ensinamentos, pelos conselhos, pelas lições de vida, pelos “puxões de orelha”, pela inspiração, pela amizade e pelas cervejas tomadas.

Gostaria realizar um agradecimento especial ao meu orientador e amigo Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Júnior, pois diante de todas as dificuldades me acolheu e sempre me apoiou. Posso afirmar com certeza que sem ele este projeto não estaria concluído.

Agradeço à instituição pelo apoio oferecido para realização deste projeto.

Gratidão ☺

“O homem que move montanhas, começa carregando pedras pequenas.”

(Provérbio Chinês)

“O sábio não se exhibe, por isso brilha. Ele não se faz notar, e por isso é notado. Ele não se elogia, e por isso tem mérito. E porque não está competindo, ninguém no mundo pode competir com ele.”

(Lao Tsé)

RESUMO

A antissepsia cirúrgica do campo operatório tem como objetivo reduzir a microbiota transitória e residente presente na pele do paciente a ser operado. O presente estudo teve como objetivo comparar a carga microbiana na pele da região retrumbilical de gatas híginas submetidas à ovário-histerectomia eletiva antes e após a exposição às formulações antissépticas, utilizando técnicas preconizadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e comparando-as com as técnicas tradicionais utilizadas na medicina veterinária. Um total de 80 animais foram incluídos no estudo e submetidos à ovário-histerectomia eletiva. Durante o procedimento, a antissepsia cirúrgica foi realizada com um protocolo preestabelecido sendo separados em: grupo I - clorexidina a 2% com tensoativos e clorexidina 0,5% em solução alcoólica; grupo II - Iodo PVPI 10% com tensoativos e Iodo PVPI em solução alcoólica 1%; grupo III - Fórmula 01 da OMS (etanol 80%, glicerol 1,45% e peróxido de hidrogênio 0,125%) e grupo IV - Fórmula 02 da OMS (álcool isopropílico 75%, glicerol 1,45% e peróxido de hidrogênio 0,125%). Para a análise microbiológica, foi coletado material na pele do paciente (5 cm²) antes e após a antissepsia, utilizando um *swab* e armazenando-o em solução de transporte. O material foi processado por técnica *Pour Plate* e as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35±1°C por 48 horas. Os dados quantitativos foram expressos em unidades formadoras de colônias por cm² (UFC/cm²) e submetidos a análises estatísticas, incluindo teste t não pareado, ANOVA e teste de Mann-Whitney, com um nível de significância estabelecido em P < 0,05. Os resultados do estudo demonstraram que todos os métodos de antissepsia testados foram eficazes na redução do número de unidades formadoras de colônias <5 UFC/cm². Além disso, houve diferença estatística na eficácia de redução antimicrobiana, sendo que entre os grupos I e II, há uma tendência a superioridade do grupo I (redução de 91,07%) em relação ao grupo II (redução de 81,82%). Além disso, os grupos III e IV foram semelhantes estatisticamente (redução de 95,59% e 95,83%, respectivamente) ao grupo I e podem ser considerados métodos eficazes para antissepsia pré-operatória.

Palavras-chaves: Infecção, Microbiologia, Sítio Cirúrgico, Técnica Asséptica.

ABSTRACT

The surgical field antisepsis aims to reduce the transient and resident microbiota present on the patient's skin to be operated. The present study aimed to compare the microbial load on the retroumbilical region of healthy female cats undergoing elective ovariohysterectomy before and after exposure to antiseptic formulations, using techniques recommended by the World Health Organization (WHO) and comparing them to traditional techniques used in veterinary medicine. A total of 80 animals were included in the study and underwent elective ovariohysterectomy. During the procedure, surgical antisepsis was performed with a pre-established protocol, being divided into: group I - 2% chlorhexidine with surfactants and 0.5% chlorhexidine in alcoholic solution; group II - 10% Povidone-Iodine with surfactants and 1% Povidone-Iodine in alcoholic solution; group III - WHO Formula 01; group IV - WHO Formula 02. For microbiological analysis, material was collected from the patient's skin (5 cm²) before and after antisepsis, using a *swab* and storing it in a transport solution. The material was homogenized and subjected to serial decimal dilutions in saline solution. Then, duplicate seeding was performed in a flow hood, and bacterial counting was carried out using the pour-plate technique on Plate Count Agar (PCA) medium. The plates were incubated in a bacteriological incubator at 35±1°C for 48 hours. Quantitative data were expressed as colony-forming units per cm² (CFU/cm²) and subjected to statistical analyses, including unpaired t-test, ANOVA, and Tukey's test, with a significance level set at P < 0.05. The study results demonstrated that all tested methods of antisepsis were effective in reducing the number of colony-forming units to <5 CFU/cm². Furthermore, there was a statistically significant difference between groups I and II, with a tendency towards superiority of I compared to II. Additionally, groups III and IV were statistically similar to I and are effective methods for preoperative antisepsis.

Keywords: Infection, Surgical Site, Asseptic Technique

Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL	9
2. OBJETIVOS	11
3. CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3.1. O papel da antissepsia na prevenção de infecções pós-operatórias.....	12
3.2. Principais agentes antissépticos utilizados na medicina veterinária.....	15
3.2.1. Soluções alcoólicas.....	16
3.2.1.1. Mecanismo de ação	17
3.2.1.2. Aplicações e contra-indicações	18
3.2.2. Clorexidina	19
3.2.2.1. Mecanismo de ação	20
3.2.2.2. Aplicações e contra-indicações	21
3.2.3. Iodopovidona	25
3.2.3.1. Mecanismo de ação	26
3.2.3.2. Aplicações e contra-indicações	28
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
CAPÍTULO II – EFICÁCIA ANTISSEPTICA DE SOLUÇÕES HIDROALCOÓLICAS VERSUS SOLUÇÕES DE CLOREXIDINA OU IODOPOVIDONA: UM ENSAIO CLÍNICO DUPLO-CEGO RANDOMIZADO EM GATAS SUBMETIDAS A OVARIOHISTERECTOMIA ELETIVA	42
ABSTRACT	46
1. INTRODUCTION	47
2. MATERIALS AND METHODS.....	48
2.1. Experimental design	48
2.2. Sample size	48
2.3. Inclusion criteria	48
2.4. Animal selection and induction of double-blind randomized experimental design.....	49
2.5. Sample collection	50
2.6. Sample processing	52
2.7. Statistical analysis	52
3. RESULTS.....	54
4. DISCUSSION.....	55
3. REFERENCES	59
CAPÍTULO III – CONSIDERAÇÕES FINAIS	64

1. INTRODUÇÃO GERAL

Infecções nosocomiais são infecções adquiridas após o período de admissão do paciente, durante a hospitalização ou como resultado de procedimentos hospitalares e/ou cirúrgicos (ALMEIDA; FARIAS, 2014). Em especial, as infecções de sítio cirúrgico podem ser complicações relacionadas à técnica asséptica durante o procedimento cirúrgico ou defeitos no cuidado pós operatório, observadas dentre os 30 primeiros dias ou até anos após o procedimento cirúrgico (MILTON et al., 2015; BURGESS, 2019; TRAJANO, 2019).

Estas ocupam o terceiro lugar entre todas as infecções adquiridas em hospitais, representando um grande desafio para as instituições, uma vez que se tornaram uma das principais causas de infecções associadas a hospitais e foram considerados financeiramente debilitantes nas práticas cirúrgicas, tanto na prática humana como veterinária (ALMUHANNA; ALNADWI, 2018; ESPINEL-RUPÉREZ et al., 2019). Além disso, elevam o custo do tratamento devido ao requisito de cuidados adicionais, como administração de antimicrobianos, aumento no tempo de internação e aumento de morbidade e mortalidade (VERWILGHEN; SINGH, 2015).

Embora os dados atuais sejam limitados para o campo da medicina veterinária, foram relatadas taxas de Infecções de Ambiente Hospitalar (IAH) semelhantes (ou até mais altas) em comparação com estudos em humanos, como IAH em 16% dos pacientes de unidade de terapia intensiva em um estudo envolvendo cães e gatos (RUPLE-CZERNIAK et al., 2013). Portanto, embora as infecções nosocomiais sejam pouco quantificadas na medicina veterinária, são inegavelmente uma preocupação (STULL; WEESE, 2015).

No contexto da antissepsia cirúrgica, as substâncias mais utilizadas para a antissepsia da pele na medicina veterinária são álcoois (etanol, isopropanol e n-propanol), clorexidina, comumente disponível como gluconato de clorexidina (CHG) e iodopovidona (PVPI), um complexo de iodo (TRAJANO et al., 2018). Entre esses antissépticos, os álcoois são mais efetivos para redução da contaminação da pele, mas não possuem atividade residual apreciável (MAINWALD; CHAN, 2012). Outros protocolos de antissepsia cirúrgica são recomendados tanto nos procedimentos humanos quanto veterinários. Alguns desses protocolos, recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2009), podem apresentar efetividade para procedimentos veterinários (MAXWELL et al., 2018), reduzindo custos, o tempo de aplicação e, principalmente, o índice de infecções pós-cirúrgicas em animais como cavalos, bois, cães e animais de laboratório (VERWILGHEN et al., 2011; DEL VALLE et al., 2018; TANAHILL et al, 2018; DOYLE; SAAB; LEWIS, 2019; DOYLE; SAAB; MCCLURE, 2022).

Há décadas se discute qual o melhor antisséptico para a antissepsia cirúrgica, na qual atualmente, a recomendação é o uso de clorexidina ou a tintura de iodo em soluções alcoólicas (PEEL et al., 2021). Em metanálises recentes, notou-se que, em humanos, a clorexidina alcoólica é mais eficiente do que a iodopovidona na redução da microbiota da pele em preparações pré-cirúrgicas (MASTROCOLA et al., 2021). No entanto, quando aplicado à cirurgia veterinária, ainda faltam estudos clínicos randomizados de qualidade para determinar um grau de evidência que suporte a mesma afirmação que os estudos em humanos (MARCHIONATTI et al., 2022).

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a carga microbiana pertencente a microbiota residente na pele do sítio cirúrgico de gatas híidas submetidas a ovariectomia eletiva, comparando-se quatro métodos de antissepsia cirúrgica.

Objetivos Específicos

- 2.1 Avaliar a eficácia da clorexidina degermante 2% associada a clorexidina alcoólica 0,5%, iodopovidona degermante 10% associada à iodopovidona alcoólica 1%, Fórmula 01 da OMS (etanol 80%, glicerol 1,45% e peróxido de hidrogênio 0,125%) e Fórmula 02 da OMS (álcool isopropílico 75%, glicerol 1,45% e peróxido de hidrogênio 0,125%) na antissepsia cirúrgica de gatas híidas submetidas à ovariectomia eletiva;
- 2.2 Estimar as populações de micro-organismos presentes na epiderme do sítio cirúrgico antes e após a antissepsia cirúrgica, utilizando formulações antissépticas diferentes em gatas híidas submetidas à ovariectomia eletiva;
- 2.3 Mensurar a quantidade de unidades formadoras de colônias/cm² antes e após a antissepsia cirúrgica utilizando-se diferentes métodos e agentes antissépticos em gatas híidas submetidas à ovariectomia eletiva;

3. CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

3.1. O papel da antissepsia na prevenção de infecções pós-operatórias

A antissepsia e assepsia cirúrgica estabeleceram o padrão de uso de evidências científicas para determinar a prática cirúrgica. As descobertas Louis Pasteur (1822-1895) e Joseph Lister (1827-1912) como anti-séptico em feridas cirúrgicas, junto a protocolos de assepsia desenvolvidos por cirurgiões alemães com base nos estudos de Robert Koch (1843–1910) mudaram a história da humanidade, poupando milhões dos horrores da gangrena hospitalar e tornando qualquer parte do corpo humano acessível à intervenção cirúrgica (WOODS, 2018).

No entanto, durante o período de desenvolvimento da técnica asséptica, estes pesquisadores encontraram várias dificuldades de aceitação de outros colegas (NAKAYAMA, 2018). Essa resistência inicial pode ser exemplificada por um artigo editorial publicado na revista *The Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, do ano de 1891, no qual há a crítica de um resumo publicado na revista intitulada *Recueil de Médecine Vétérinaire*, que descreve o uso de antissépticos em duas cirurgias de orquiectomia em cavalos por um veterinário francês. Segundo o autor, a adoção geral da prática de antissepsia do campo operatório estaria fora de questão e nunca seria usado, senão em casos especiais nos quais existissem riscos extras ou em cavalos muito valiosos (DEWAR, 1891).

O objetivo da técnica asséptica é reduzir o risco de transmissão de patógenos, interrompendo o acesso à fonte, modo de transmissão ou hospedeiro (WILLEMSEN et al., 2019; SEIDELMAN, MANTYH e ANDERSON, 2023). Neste contexto, é fundamental que o protocolo de antissepsia pré-operatória seja realizada de forma adequada para reduzir a carga microbiana presente na pele do paciente e, assim, diminuir o risco de infecções (BRAGA, 2008; MILTON, PRYIA e ARAVIND, 2015).

A utilização de protocolos padronizados de antissepsia pré-operatória é essencial para garantir a qualidade da técnica, no entanto, a adesão a esses protocolos pelos profissionais de saúde é fundamental para garantir a eficácia da antissepsia pré-operatória e, conseqüentemente, reduzir o risco de ISC (CASEY, BADIA e HIGGINS, 2019). Apesar do aumento da conscientização médica e do público e dos avanços nas práticas de controle de infecção, a ISC continua sendo uma das complicações mais comuns após uma operação (SAVAGE; ANDERSON, 2013).

Dados dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), Organização Mundial da Saúde (OMS) e outros órgãos importantes estimam que cerca de 500.000 ISCs ocorrem a cada ano (ALLENGRAZI et al., 2016; BERRÍOS-TORRES et al., 2017; NHMRC, 2019), o que representa quase um quarto das infecções hospitalares nos Estados Unidos anualmente em humanos (MAGILL et al., 2013; KOLLEF et al., 2021).

Vários estudos relataram taxas de ISC em cirurgias veterinárias, incluindo infecção geral e infecções específicas do procedimento, nas quais a taxa de infecção do sítio cirúrgico é extremamente dependente do tipo de cirurgia (CORSINI et al., 2014; MILTON et al., 2015; LOPEZ et al., 2018). A maioria desses estudos, no entanto, enfrentam algumas limitações, principalmente devido à falta de definição correta, à ausência de programas de vigilância prospectiva adequados no setor veterinário e ao pequeno tamanho da amostra relatada (BURGESS, 2019).

Em ambientes de cirurgia humana, onde os programas de vigilância são mais ideais do que na medicina veterinária, a taxa geral de ISC é estimada em 5%, mas ainda é considerada amplamente subestimada devido às mesmas razões mencionadas acima (VERWILDHEN; SINGH, 2015). Alguns estudos brasileiros apontam que cerca de 5,24% a 9,5% dos cães e gatos submetidos a cirurgias possam desenvolver ISC (BRAGA, 2008; CORSINI et al., 2014).

As infecções do sítio cirúrgico diminuem a qualidade de vida relacionada à saúde, dobram o risco de readmissão, prolongam o tempo de internação e aumentam os custos hospitalares (MCGIRT; GODIL, 2013; MAPA, 2022). A peritonite e a sepse, que também podem ser decorrentes de infecções de sítio cirúrgico, tornaram-se um objeto de estudo mundial devido às altas taxas de morbidade e mortalidade, ainda, a sepse é condição médica mais cara tratada em hospitais humanos, com um custo estimado de US\$ 24 bilhões anuais (TORIO; ANDREWS, 2013).

Estas infecções podem ser de origem exógena, oriunda de micro-organismos presentes na equipe cirúrgica, no ambiente da sala de operação, inclusive no ar, e em instrumentos e materiais inseridos ou utilizados no sítio cirúrgico (SEVILHA et al., 2014) ou de origem endógena, nas quais, inclusive, os próprios pacientes podem ser fontes de contaminação, eliminando bactérias de grande patogenicidade e alta resistência antimicrobiana (LOEFFLER; LLOYD, 2010) e a maioria das bactérias isoladas são comuns ao sistema digestório, genitourinário e respiratório (TRAJANO et al., 2020). A técnica asséptica, portanto, é de extrema importância para prevenção das infecções de sítio cirúrgico e suas complicações (MEDEIROS et al., 2018; ALAMADA; SPRINGER, 2019).

Destacam-se ainda os riscos nos procedimentos, incluindo a ineficácia da antissepsia das mãos, o tempo cirúrgico, a remoção de pelos e preparo inadequado da pele, cirurgia prévia, excesso de pessoas no ambiente cirúrgico e não cumprimento do protocolo de curativo (CORSINI, 2014; ALAMANDA; SPRINGER, 2019; BURGESS, 2019; WILLEMSEM et al., 2019). Dentre os riscos envolvendo micro-organismos está a colonização prévia, virulência, aderência e inóculo (TRAJANO et al., 2020).

No ambiente médico veterinário, no entanto, estas infecções podem tanto ser um risco significativo para a possibilidade de infecções nosocomiais e de sítio cirúrgico, como também um risco à saúde pública, pois se isolados, estes agentes podem se adaptar e produzir infecções importantes em seres humanos (MOREIRA et al., 2018).

No estudo de Arksoy et al. (2010) foi realizada a quantificação da carga estafilocócica em vários locais em um grande hospital de referência de pequenos animais durante um período de cinco dias. As comparações foram feitas para os limites permitidos de contagens de estafilococos em hospitais humanos. Neste estudo, a metodologia aplicada foi capaz de identificar importantes áreas de risco, como a Unidade de Tratamento Intensivo (UTI), centro cirúrgico e o laboratório de análises clínicas, locais que apresentaram grandes taxas de contaminação quando comparados aos consultórios.

Segundo Fossum (2021), os objetivos da preparação pré-operatória da pele são promover a limpeza (sujidades) e desinfecção de micro-organismos transitórios da pele, reduzindo a contagem microbiana residente a níveis subpatogênicos em um curto espaço de tempo e com a menor quantidade de irritação tecidual e inibir rápido crescimento rebote destes micro-organismos. Para isso, são utilizados diversos agentes químicos capazes de reduzir a carga microbiana presente no sítio cirúrgico.

Em 2009, a OMS preconizou o uso de agentes à base de álcool para as mãos em procedimentos de rotina e como higienização pré-cirúrgica para reduzir a transmissão de patógenos pelas mãos de profissionais de saúde, com o objetivo de reduzir o risco de infecções hospitalares (OMS, 2009). Posteriormente, outros órgãos importantes como o *Centers for Disease Control* (CDC), o *National Health and Medical Research Council* (NHMRC), a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) e *American Animal Hospital Association* (AAHA) também publicaram suas diretrizes (ANVISA, 2009; ALLENGRAZI et al., 2016; BERRÍOS-TORRES et al., 2017; NHMRC, 2019; STULL et al., 2018; ANVISA, 2021). No âmbito da medicina veterinária no Brasil, não existem diretrizes semelhantes, mas existem estudos internacionais com antissepsia de campo operatório em cães (MAXWELL et al., 2018), cavalos (TANAHILL et al., 2018; DOYLE, SAAB e LEWIS, 2019) e ratos (DEL VALLE et al., 2018),

que demonstram o potencial destas soluções para antissepsia de campo operatório quando comparados à iodopovidona e clorexidine, considerados antissépticos tradicionais (MARCHIONATTI et al., 2022).

3.2. Principais agentes antissépticos utilizados na Medicina Veterinária

A antissepsia pré-operatória é uma medida importante na prevenção de infecções em cirurgias veterinárias, uma vez que tem o objetivo de reduzir a carga microbiana presente na pele e nas mucosas do paciente (TRAJANO et al., 2019). Desde a primeira década de 1800, várias substâncias têm sido utilizadas como antissépticos, incluindo fenol, iodo, cloro e álcool (NAKAYAMA, 2018). O desenvolvimento dos antissépticos tem sido acompanhados por preocupações com toxicidade, irritação da pele, alergias e resistência microbiana (ESPINEL-RUPÉREZ et al., 2019). Atualmente, os antissépticos utilizados com maior grau de eficácia comprovada na medicina veterinária incluem clorexidina, iodopovidona (MARCHIONATTI, CONSTANT e STEINER, 2022) e soluções alcoólicas (MAXWELL et al., 2018; TANAHILL et al., 2018; DEL VALLE et al., 2018; DOYLE, SAAB e LEWIS, 2019; DOYLE, SAAB e MCCLURE, 2022).

A preparação pré-operatória é uma etapa fundamental na prevenção de infecções de sítio cirúrgico, e a escolha adequada do antisséptico contribui para a segurança e sucesso do procedimento cirúrgico (CORSINI et al., 2014; KOLLEF et al., 2021). Um antisséptico ideal para preparação pré-operatória deve apresentar boa eficácia contra bactérias, fungos e vírus, baixa toxicidade, ação residual prolongada e ser de fácil aplicação. Além disso, deve ser compatível com o material cirúrgico e não interferir na cicatrização da ferida (FOSSUM, 2021). A escolha do antisséptico deve levar em conta o tipo de procedimento, o tipo de pele do animal e o histórico de alergias ou reações adversas (RUPLE-CZERNIAK et al., 2013; STULL et al., 2018).

Recomenda-se que os antissépticos para preparações de pele sejam preferencialmente à base de álcool ou associados à soluções alcoólicas, combinando clorexidina com álcool ou iodóforos com álcool, quando comparados aos produtos de base aquosa, pois os de base aquosa são indicados para antissepsia de mucosas, com base na eficácia demonstrada em ensaios controlados randomizados e metanálises (PEEL et al., 2021)

Atualmente não se recomenda a utilização de várias aplicações de antissépticos no mesmo protocolo de antissepsia cirúrgica em algumas espécies animais, pois podem promover a diminuição da temperatura corporal e prejudicar a recuperação anestésica, como é o caso dos

animais de laboratório, como ratos (DELL VALLE et al., 2018). O mesmo princípio era aplicado aos felinos durante muito tempo, principalmente com as soluções alcoólicas (HEMANI; LEPOR, 2009). Atualmente, no entanto, o experimento de Kreisler et al. (2021) demonstrou que não há diferenças na temperatura corporal de gatos quando utilizados álcool ou clorexidine, dois agentes antissépticos comuns à antissepsia de pele nesta espécie.

3.2.1. Soluções alcoólicas

Na década de 1990 foram introduzidos os produtos antissépticos hidroalcoólicos que mudaram os conceitos de antissepsia, uma vez que sua eficácia, velocidade de aplicação e tolerância superavam o método de lavagem de mãos com sabões comuns (PINNET et al., 2000; SLOTOCH, KAMPF e LOFFLER, 2007). No entanto, as soluções alcoólicas apresentaram um destaque especialmente durante surtos de H1N1 e COVID-19, uma vez que fazem parte das medidas de prevenção a essas enfermidades que as mãos estejam limpas, reduzindo assim a chance de estas por várias vias, como nariz, boca e outras. Estas soluções alcoólicas se popularizaram durante a estas pandemias, devido aos conceitos mencionados anteriormente, além de serem seguras e amplamente disponíveis no mercado para os consumidores (OMS, 2009; SEQUINEL et al., 2020).

O álcool é provavelmente o antisséptico mais antigo conhecido, sendo usado tanto em pele intacta quanto em feridas (SEQUINEL et al., 2020). Este é comumente usado para antissepsia rotineira da pele em hospitais e clínicas veterinárias, tanto por aplicação direta quanto em gazes e/ou algodões umedecidos com álcool. O álcool e as soluções alcoólicas são usados para limpeza, como auxiliar de secagem, desinfecção e antissepsia (ADDIE et al., 2015). Eles podem ser uma boa escolha para antissepsia uma vez que secam rapidamente após o contato com superfícies orgânicas, como a pele das mãos dos membros da equipe cirúrgica e do paciente (VERWILGHEN, GRULKE e KAMPF, 2011).

Atualmente, é altamente recomendado que soluções utilizadas para antissepsia da pele contenham álcool ou sejam à base de álcool, criando assim antissépticos aprimorados com dois componentes ativos (MAIWALD e CHAN, 2012), que podem reduzir a carga microbiana e destruir microorganismos patogênicos que são resistentes à antibióticos e, inclusive aos próprios antissépticos (BES et al., 2021). Destes destacam-se *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e principalmente *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), micro-organismos comumente identificados como causadores de ISCs (CIOTTI et al., 2020).

3.2.1.1. Mecanismo de ação

Em geral, os antissépticos à base de álcool são compostos por um ou mais tipos de álcool com ou sem agentes hidratantes e excipientes. As soluções antissépticas à base de álcool foram recomendadas pelo CDC e OMS porque possuem um amplo espectro de destruição de micro-organismos (OMS, 2009; WHO, 2016 BERRÍOS-TORRES et al., 2017.). Os álcoois são compostos com um ou mais grupos hidroxila (-OH) ligados a um átomo de carbono. Os componentes químicos do álcool, como o etanol e o isopropílico (álcool isopropílico, propan-2-ol), possuem a capacidade de romper as membranas celulares dos micro-organismos presentes na pele (MCDONNEL, 2017). Isso leva à perda da integridade da parede celular e, conseqüentemente, à morte bacteriana. Em formulações com emolientes, o álcool também possui uma ação residual, que permite a manutenção do efeito antimicrobiano por um período de tempo após a aplicação (VERWILGHEN et al., 2011b).

As soluções alcoólicas funcionam pela atividade do álcool, dissolvendo os lipídios componentes das membranas dos micro-organismos (MARKEY et al., 2013). Em seu espectro de ação, segundo McDonnel (2017), os álcoois têm rápida atividade bactericida e micobactericida. O álcool rompe a ligação aminoácido-amino para formar uma ligação de hidrogênio aminoácido-álcool. Acredita-se que no uso de soluções alcoólicas mais concentradas (>80%) o álcool coagula rapidamente a proteína na parte externa da parede celular e impede a penetração adicional na célula, limitando assim sua atividade antimicrobiana (REICHEL et al., 2009).

Os álcoois têm atividade bactericida e micobactericida rápida. Por exemplo, o etanol a 70% age em 30 segundos, sendo a concentração de álcool entre 60 a 80% observa-se penetração da parede celular bacteriana ou fúngica, com efeitos adicionais sobre a membrana celular e proteínas citoplasmáticas (RUSSEL, 2002; SEQUINEL et al., 2020). Os álcoois também rompem a estrutura de quaisquer membranas celulares à base de lipídios, paredes celulares e envelopes virais, causando perda de integridade e função. Além disso, os álcoois em geral levam à lise celular, mas demonstraram interferir diretamente na produção de metabólitos (e, portanto, na divisão celular) (MCDONNEL, 2017). Embora não sejam eficazes contra esporos bacterianos, os álcoois inibem a germinação dos esporos e são, portanto, esporistáticos (MCVEY et al., 2022).

Apesar de quanto maior a concentração, mais rápida é sua ação, em concentrações altas, o álcool tende a evaporar em tempo insuficiente para realizar sua ação bactericida (YOO, 2018). Géis antissépticos são exemplos de formulações que retardam a taxa de evaporação do álcool

e, assim, aumentam o tempo de contato com a pele e alcançam maior atividade antimicrobiana (MARKEY et al., 2013).

No entanto, com o uso excessivo destas soluções pode levar ao ressecamento da pele (RUSSEL, 2002). Diante disso, agentes hidratantes ou gelificantes foram adicionados à sua formulação. As formulações recomendadas pela OMS são amplamente aceitas e reconhecidas pelos pesquisadores, sendo o principal constituinte para fins hidratantes na formulação é o glicerol, que protege efetivamente a pele das mãos contra ressecamento e dermatites (OMS, 2009; SEQUINEL et al., 2020).

/

3.2.1.2. Aplicações e contra-indicações

Os álcoois são antimicrobianos rápidos e de amplo espectro com pouco ou nenhum resíduo ou preocupações ambientais após a aplicação. São relativamente estáveis, com pouco odor, barato, não tóxico e tem boa compatibilidade com superfícies (incluindo a pele e superfícies inanimadas). São excelentes solventes e são usados como conservantes em baixas concentrações (MCDONNEL, 2017).

Recentemente, as soluções alcoólicas têm sido combinados com outros biocidas em formulações antissépticas com compostos de clorexidine, iodopovidona e peróxido de hidrogênio (LINLEY et al., 2012; PEEL et al., 2021). Apesar das melhores evidências científicas apontarem o clorexidine e a iodopovidona como os melhores agentes antissépticos para antisepsia pré-operatória, ambas precisam ser associadas à soluções alcoólicas, uma vez que seu maior efeito se deve à sinergia entre estes agentes químicos (MARCHIONATTI et al., 2021). Nas soluções alcoólicas com clorexidine, o composto final se beneficia de dois componentes ativos. No caso da iodopovidona, a combinação com álcool aumenta a concentração de iodo livre maior do que o PVPI isolado (MAIWALD e CHAN, 2012; ECHOLS, 2015)

Em 2009, a OMS preconizou a utilização de soluções alcoólicas contendo álcool (etílico ou isopropílico) e peróxido de hidrogênio para antisepsia das mãos com o intuito de diminuir infecções e contribuir para o conceito *Clean Hands Saves Lives* (OMS, 2009; WHO, 2016). Na medicina veterinária, no entanto, este tipo de formulação para antisepsia da pele do paciente não é frequente mas sim para antisepsia das mãos dos profissionais envolvidos (VERWILGEN et al., 2011b). Em contrapartida, estas soluções alcoólicas foram testadas como antissépticos na antisepsia pré-operatória de pacientes veterinários e demonstraram resultados promissores, uma vez que têm eficácia similar aos antissépticos tradicionais, são menos irritantes para as

mãos, requerem menos tempo de aplicação e são mais baratos (MAXWELL et al., 2018; TANAHILL et al., 2018, DOYLE et al., 2018; DOYLE et al., 2022).

Se discute também o efeito residual destes antissépticos, pois os resíduos podem promover um efeito preventivo das ISCs, uma vez que tanto as mãos dos cirurgiões como a pele do paciente também podem ser fontes de contaminação (TRAJANO et al., 2020). Sabe-se que o clorexidine tem um efeito residual de aproximadamente 6h, enquanto que a iodopovidona não possui efeito residual (MCDONNEL, 2017). No entanto, estudos promissores demonstraram efeitos residuais de soluções alcoólicas isoladas de até 3h, tanto para antisepsia da equipe cirúrgica (VERWILGEN et al., 2011b) quanto da pele de cães (MAXWELL et al., 2018), de cavalos (TANAHILL et al., 2018, DOYLE et al., 2018), bois (DOYLE et al., 2022) e ratos (DEL VALLE, 2018), o que pode auxiliar na prevenção de ISCs nos pacientes veterinários, tanto por destruírem micro-organismos patogênicos e reduzir a carga microbiana presente na pele do paciente, como inibir sua multiplicação e recolonização da pele durante o período de duração da cirurgia.

Para realização da antisepsia de mucosas, incluindo também os olhos, não é recomendado a utilização destas soluções (WHO, 2016) devido ao álcool induzir uma redução do teor de água nas células epiteliais da mucosa, resultando em sua desidratação e consequente perda de integridade celular (SEIDELMAN, MANTYH e ANDERSON, 2023). Essa alteração pode aumentar a permeabilidade da membrana mucosa, afetando a integridade da barreira protetora e permitindo a entrada de patógenos (MARKEY et al., 2013). Isso pode potencialmente levar a uma resposta inflamatória local, bem como à colonização bacteriana, aumentando o risco de infecções (MCVEY, 2022). A mucosa é altamente innervada, e a aplicação de álcool pode causar irritação e sensação de queimação (MCDONNEL, 2017).

3.2.2. Clorexidina

Desde a introdução de agentes para a redução de microrganismos patogênicos em 1867 por Joseph Lister, uma melhor compreensão dos conceitos de higiene forneceu a base para uma explosão no número de produtos químicos para redução de microrganismos patogênicos (EMISTON JR et al., 2018). Em 1958 foi descrito um importante microbicida catiônico, hoje amplamente utilizados na prática hospitalar, denominado de clorexidine (MCDONNEL, 2017). A clorexidine é um agente químico pertencente à classe das biguanidas, com uma gama de aplicações na medicina veterinária e humana (MARKEY et al., 2013).

Este é um composto químico cationico com propriedades antimicrobianas, é insolúvel em água e, portanto, um sal orgânico, que se liga fortemente às superfícies celulares bacterianas, interferindo na sua integridade estrutural e função celular (MCVEY et al., 2022). O digluconato de clorexidina é considerado um dos agentes químicos desinfetantes mais seguros e eficazes disponíveis para uso clínico, embora deva ser usado com cautela em algumas situações clínicas (ESMISTON JR et al., 2010).

A principal utilização do clorexidine na prática clínica é durante a preparação da pele e mucosas antes de procedimentos cirúrgicos, bem como em soluções tópicas para feridas infectadas, produtos de higiene oral, antissépticos para as mãos e como desinfetante (MAIWALD e CHAN, 2012; ADDIE et al., 2015). Isto se deve ao efeito residual que ele produz na pele, além de ser eficaz contra uma ampla variedade de microrganismos, que permitem uma proteção antimicrobiana prolongada após a aplicação (ECHOLS, GRAVES e LEBLANC, 2015). O que contribuiu para sua popularização e principal recomendação pela OMS (BERRÍOS-TORRES et al., 2017; WHO, 2018; NHMRC, 2019) e outros órgãos importantes (STULL et al. 2018) para realização da preparação cirúrgica do paciente tanto em humanos (SEIDELMAN, MANTYH e ANDERSON, 2023), como em pacientes veterinários (WILLIEMSEN, COBBOLD e GIBSON, 2019; MARCHIONATTI et al., 2022).

3.2.2.1. Mecanismo de ação

A Clorexidina faz parte de uma família de biguanidas que surgiu de extensos estudos sintéticos e de triagem e atualmente está disponível como dicloridrato, diacetato e gluconato (FRAISE, MAILLARD e SATTAR, 2013). A clorexidina e seus sais ocorrem como pós brancos ou em cores ligeiramente cremes, não sendo solúveis em água e estão disponíveis em várias formulações farmacêuticas (MCVEY et al., 2022). O gluconato ou digluconato de clorexidina faz parte das formulações comerciais utilizadas para antisepsia de pele e mucosas pois é livremente solúvel (MARCHIONATTI, 2022).

O mecanismo de ação da clorexidina contra bactérias e leveduras é bem descrito na literatura. As biguanidas, incluindo a clorexidina, atuam principalmente nas membranas celulares, causando perda de estrutura e função (MARKEY et al., 2013). Em concentrações mais baixas, a clorexidine tem efeito bacteriostático e interfere na integridade da membrana citoplasmática, bem como na função das enzimas ligadas à membrana. Já em concentrações mais altas tem efeito bactericida, promovendo o vazamento citoplasmático e, finalmente,

coagulação e precipitação de constituintes intracelulares, como proteínas e ácidos nucleicos (MCDONNEL, 2017).

As biguanidas são biocidas bactericidas de amplo espectro que apresentam ação rápida contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (YOO, 2018). Em geral, as biguanidas são mais ativas contra bactérias gram-positivas, mesmo na presença de materiais orgânicos interferentes, como sangue ou soro (RUSSEL, 2002). Eles são menos ativos contra fungos, incluindo leveduras e bolores, mas sua eficácia pode ser aumentada em combinação com outros agentes ativos ou por efeitos de formulação, como álcoois, e não é esporicida em temperatura ambiente (ZHU et al., 2019). A clorexidina não é letal para organismos acidorresistentes, embora mostre um alto grau de bacteriostase. É, no entanto, tuberculicida em soluções etanólicas e esporicida a 98–100°C (FRAISE, MAILLARD e SATTAR, 2013).

Os trofozoítos, ou formas “vegetativas” de protozoários, são sensíveis à clorexidina devido a danos na membrana; no entanto, os cistos dormentes são muito menos sensíveis, presumivelmente devido à penetração limitada do biocida (MCDONNEL, 2017). Da mesma forma, a clorexidina é eficaz contra formas vegetativas de bactérias, mas não contra esporos bacterianos, embora alguma atividade esporicida tenha sido demonstrada em combinação com álcoois ou em temperaturas mais altas (maiores que 70°C) ao longo do tempo (FRAISE, MAILLARD e SATTAR, 2013). A clorexidina não inibe a germinação, mas inibe o crescimento de esporos bacterianos, apoiando a falta de penetração da estrutura de esporos intacta e ação rápida contra a membrana celular interna após a germinação (MCVEY et al., 2022).

A clorexidina não é considerada um agente antiviral particularmente eficaz e sua atividade é restrita aos vírus envelopados em lipídios e não inativa significativamente vírus não envelopados (KHOKAR et al., 2020). Qualquer atividade parece estar restrita ao núcleo de ácido nucleico ou ao revestimento externo, embora seja provável que o último seja um sítio alvo mais importante (MCDONNEL, 2017).

3.2.2.2. Aplicações e contra-indicações

A clorexidina tem seu uso como biocida ampliado à diversas aplicações. Pode ser aplicada para desinfecção de superfícies industriais, médicas e de produção animal, bem como para sanitização de água, particularmente como alternativa ao cloro e bromo em piscinas e spas aquáticos, além de usos como conservante, quando em solução de armazenamento de lentes de contato, por exemplo. (FRAISE, MAILLARD e SATTAR, 2013; ADDIE et al., 2015;

MCDONNEL, 2017). Além disso, também é utilizada para prevenção de mastite em vacas leiteiras, como post-dipping (VERDIER-METZ et al., 2022).

Há uma ampla gama de concentrações ativas de clorexidina, variando desde 0,02% em soluções de manutenção de cateter até 0,2% para enxaguatório bucal; 0,5% em curativos impregnados com clorexidina e soluções de 2 e 4% em produtos de banho de descolonização. Frequentemente encontra-se em associação com álcool, para antissepsia da pele. Além disso, também observa-se a inclusão na formulação de aventais cirúrgicos hospitalares (MCVEY, 2012).

Nesse contexto, a clorexidina também é integrada em vários tipos de curativos de pele, bem como tratamentos de infecção ou prevenção em feridas e tratamentos pós-operatórios (STULL et al., 2018). O uso generalizado da clorexidina deve-se à sua mínima irritação da pele, ampla atividade bactericida e substantividade à pele e membranas mucosas (MARCHIONATTI et al., 2022).

Atualmente diversos autores atribuem à clorexidina a classificação de melhor antisséptico disponível no mercado para utilização na antissepsia das mãos da equipe cirúrgica e na preparação do sítio cirúrgico da pele de pacientes humanos e animais, em diretrizes oficiais de órgãos importantes para a saúde animal e humana (ALLENGRAZI et al., 2016; BERRÍOS-TORRES et al., 2017; NHMRC, 2019; STULL et al., 2018), principalmente em virtude de fortes evidências científicas que suportam tanto seu efeito como biocida, na redução da microbiota residual e transitória da pele, bem como seu efeito residual após a aplicação, o que permite atuar na prevenção de ISCs durante o período perioperatório (WILLEMSSEN et al., 2019; MASTROCOLA et al., 2021; MARCHIONATTI et al., 2022; SEIDELMAN, MANTYH e ANDERSON, 2023).

Em humanos há o protocolo padronizado de banho com xampus e sabonetes antissépticos contendo clorexidine como princípio ativo na noite anterior à cirurgia, pois promove a diminuição da microbiota da pele e auxilia na prevenção de ISCs (EDMISTON et al., 2015). No entanto, ao estudar o mesmo efeito em cães, Coskun e Viskjer. (2022) observaram que o mesmo protocolo, ou seja, banhar cães com produtos à base de clorexidine na noite anterior à cirurgia, não produzem a diminuição de UFC/cm² como observados em humanos. Essa diminuição foi observada somente em locais onde havia sido realizada a tricotomia previamente, o que vai em oposição às recomendações atuais, as quais indicam a realização da tricotomia somente durante a preparação do paciente, em até 4h antes do início da cirurgia e nunca um dia antes, uma vez que causam microlesões na pele, o que favorece a multiplicação de micro-organismos (FOSSUM, 2021).

Seu efeito residual é devido à sua forte afinidade com a pele, ocasionada pelas interações eletrostáticas. A clorexidina tem afinidade pela pele e é predominantemente encontrada associada às camadas mais externas da epiderme, com pouca ou nenhuma penetração significativa na pele (MCDONNEL, 2017). Quando usado topicamente, o derivado N-clorado da clorexidina, um componente químico catiônico, se liga covalentemente a sítios aniônicos de proteínas do estrato córneo da pele e mucosa, podendo liberar sais de clorexidina de forma lenta e resultando em efeito antimicrobiano persistente, de até 24h (NEWMAN e KAISER, 2007; LIM e KAM, 2008; POPOVICH et al., 2012; MACIAS et al., 2016).

A atividade persistente pode ser alcançada por aplicação direta (por exemplo, no caso de 0,5% de clorexidina em fricções com álcool), por múltiplas aplicações de formulações com menor concentração (0,5 a 2%) ou por lavagens únicas de concentrações mais altas de produtos contendo clorexidina (NEWMAN e KAISER, 2007). A concentração persistente é geralmente suficiente para inibir o crescimento da maioria das bactérias Gram-positivas, incluindo *S. aureus*, algumas bactérias Gram-negativas e fungos (LIM e KAM, 2008). No entanto, como a clorexidina é um surfactante catiônico, essa atividade pode ser neutralizada por vários fatores, incluindo a presença de ânions inorgânicos (como fosfatos e cloretos) na água, sujeiras orgânicas, ânions orgânicos (como sabões) e outros detergentes e loções que contêm surfactantes aniônicos. Efeitos neutralizantes semelhantes foram encontrados com outros biocidas, como a iodopovidona (POPOVICH et al., 2012; MACIAS et al., 2016).

Há várias descrições de resistência bacteriana ao clorexidine na literatura, onde descreveram mecanismos de mutação genética demonstrando preocupações sobre o surgimento de resistência cruzada a antibióticos clinicamente relevantes (CIEPLIK et al., 2019; BUXER, 2021). Inclusive, relataram-se alguns casos onde foram identificadas bactérias resistentes ao clorexidine em diversos locais, inclusive dentro das almotolias que eram utilizadas para a antisepsia dos pacientes na sala de cirurgia (KECK et al., 2020).

A aquisição de elementos genéticos móveis é um mecanismo clinicamente relevante dentre as bactérias, impulsionados pela pressão seletiva do uso de antimicrobianos em comunidades e hospitais, uma vez que as alterações resultantes destas mutações genéticas podem incluir a absorção reduzida do agente antimicrobiano, a permeabilidade reduzida da membrana externa e um aumento na atividade da bomba de efluxo (ABBOOD, HIJAZI e GOULD). O aumento da resistência bacteriana à clorexidina tem implicações para uma ampla gama de aplicações, contribuem para a resistência cruzada mediada por plasmídeos aos antimicrobianos e podem representar um problema significativo de saúde pública, incluindo o comprometimento ao tratamento de feridas e a ocorrência de ISCs (WAND et al., 2017).

A clorexidina, apesar de ser amplamente utilizada como agente antisséptico em aplicações em preparações cirúrgicas da equipe e paciente, pode desencadear dermatite de contato por meio de reações alérgicas tardias do tipo IV (KRAUTHEIM, JERMANN e BIRCHER, 2004). Além disso, há evidências de que certos pacientes apresentam simultaneamente alergia imediata e de contato à clorexidina. Pacientes com hipersensibilidade tardia a esse princípio ativo podem experimentar reações desagradáveis ao entrar em contato com a mucosa e podem estar predispostos ao desenvolvimento de alergia mediada por IgE (ROSE et al., 2019). A identificação e a conscientização dessas reações alérgicas são essenciais para a segurança e o cuidado adequado dos pacientes. Por esse motivo, é recomendado que esses pacientes evitem o uso de produtos que contenham clorexidina, a fim de evitar possíveis complicações alérgicas (OPSTRUP, JEMEC e GARVEY, 2019).

A clorexidina é um agente amplamente utilizado como conservante em soluções oftálmicas, especialmente na concentração de 0,1% (MARKEY et al., 2013). Essa concentração tem demonstrado ser eficaz na prevenção de infecções oculares e na manutenção da integridade dos materiais (MCVEY, 2017). No entanto, é importante destacar que soluções contendo concentrações mais elevadas de clorexidina podem apresentar riscos para a saúde ocular, uma vez que estudos recentes têm demonstrado recomendações que a utilização de concentrações maiores que 0,1% pode resultar em danos corneanos, incluindo a toxicidade das células epiteliais da córnea (STEINSAPIR e WOODWARD, 2017).

A utilização da clorexidina como antisséptico de pele em preparações pré-operatórias em região facial tem sido amplamente utilizada devido às suas propriedades antimicrobianas, no entanto, é importante considerar que existe a possibilidade de ocorrência de ototoxicidade associada ao uso desse agente (STEINSAPIR e WOODWARD, 2017). A ototoxicidade da clorexidina é atribuída à sua capacidade de penetrar no ouvido interno através do canal auditivo, podendo causar danos nas células ciliadas e no nervo coclear (RIKZ et al., 2020). Perez et al. (2000) relataram em seu estudo a ocorrência de ototoxicidade vestibular e coclear utilizando clorexidina a 0,5% em solução aquosa. Neste estudo, também foi possível observar que o gluconato de clorexidina aboliu completamente os potenciais vestibular e auditivo, demonstrando completa perda de audição em todos os animais tratados. Outros sinais clínicos também podem ser observados, como perda de audição, zumbido e tontura, após o uso tópico de clorexidina na região facial (RIKZ et al., 2020).

A clorexidina e outras biguanidas podem ser inativadas por surfactantes não iônicos, que podem estar presentes em alguns sabonetes e cremes para as mãos, sabonetes naturais e contaminantes inorgânicos da água (como fosfatos e cloro).

3.2.3. Iodopovidona

O iodo (I, peso atômico = 126,9) em sua forma purificada é um sólido brilhante preto-azulado que é facilmente solúvel em solventes orgânicos (como álcool ou clorofórmio), mas apenas ligeiramente solúvel em água. Também pode sublimar em um gás roxo-azulado com um odor irritante (MCDONNEL, 2017). É encontrado naturalmente na água do mar e em salmouras subterrâneas e pode ser sintetizado pela reação do iodeto de potássio com sulfato de cobre (MARKEY et al., 2013).

Os compostos de iodo são desinfetantes de amplo espectro, eficazes para uma variedade de bactérias, micobactérias, fungos e vírus (MCVEY et al., 2022). Os iodios são frequentemente formulados com sabonetes. Embora os compostos de iodo sejam considerados relativamente seguros, as soluções concentradas podem ser irritantes para a pele (BIBLIARDI et al., 2017). Esses produtos também podem manchar roupas e danificar a borracha e alguns metais. Os agentes de iodo são inativados por compostos de amônia quaternária e detritos orgânicos (RAZZAQ, SHNAN e ALI, 2019).

A química do iodo na água é complicada pela formação de sete principais espécies de iodo encontradas em solução aquosa (I_2 , HOI, OI^- , H_2OI^+ , I_3^- , I^- e IO_3^-) das quais apenas iodo hidratado (I_2), ácido hipoiado (HOI) e cátion iodo (H_2OI^+) possuem atividade antimicrobiana geral (COOPER, 2007). Soluções simples de iodo são preparadas pela dissolução de iodo, iodeto de potássio ou iodeto de sódio em água ou álcool (LEPELLETIER et al., 2020). Exemplos incluem tinturas de iodo (por exemplo, 2% de iodo e 2,4% de iodeto de potássio em etanol) e solução de Lugol (5% de iodo e 10% de iodeto de potássio em água) (BIGLIARDI et al., 2017).

Em outra formulação clinicamente relevante, o iodo forma um complexo com o polímero transportador sintético povidona, que por si só não possui atividade microbicida, sendo comumente conhecido como iodopovidona (RUSSEL, 2004). Em meio aquoso, o iodo livre é liberado na solução a partir do complexo de iodopovidona e um equilíbrio é estabelecido, com mais iodo livre sendo liberado do reservatório de iodopovidona como atividade germicida consumidora de iodo (COOPER, 2007).

O iodo tem sido amplamente utilizado como antisséptico (MASTROCOLA et al., 2021; MARCHIONATTI et al., 2022). Seus usos incluem a redução de populações microbianas na pele intacta em preparações pré-operatórias e para aplicações terapêuticas em feridas e queimaduras (COOPER, 2007, DURANI et al., 2008; BIGLIARDI et al., 2017). Soluções

“tradicionais” de iodo diluídas em água ou álcool ainda são frequentemente usadas para feridas e outras aplicações tópicas localizadas, mas, por outro lado, essas soluções podem ser irritantes, principalmente em aplicações repetidas (CALDERWOOD et al., 2022).

As formulações de iodóforos também são usadas como desinfetantes gerais de superfície, em particular, em aplicações agrícolas, alimentícias e veterinárias, para equipamentos, paredes e pisos (EGGERS, 2019; MCVEY et al., 2022). Eles são menos usados para desinfecção de dispositivos médicos e geralmente apenas para aplicações não críticas (RAZZAQ, SHNAN e ALI, 2019). O termo “Iodação” é definido como o uso de iodo para desinfecção de água, incluindo água potável, águas residuais e tratamento de piscinas (MARKEY et al., 2013).

3.2.3.1. Mecanismo de ação

O iodo hidratado (I_2) é um biocida de amplo espectro com potente atividade contra os principais microrganismos causadores de enfermidades, bactérias como *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, além disso, também pode ter atuação, fungicida, como *C. albicans*, tuberculicida e viricida (RAZZAQ, SHNAN E ALI, 2019; ŞAHİNER, HALAT e ALĞİN-YAPAR, 2019). A atividade antimicrobiana observada varia dependendo da formulação, como a disponibilidade e concentração dos biocidas e condições de teste, como pH, temperatura, entre outros (COOPER, 2007).

Os mecanismos precisos de ação do iodo como agente desinfetante ainda não são totalmente compreendidos, assim como ocorre com outros halogênios (MCDONNEL, 2017), e surpreendentemente, pouca literatura especializada no assunto está disponível. No entanto, é sabido que moléculas ativas de iodo, que são agentes oxidantes altamente reativos, exercem múltiplos efeitos na superfície celular, incluindo a parede celular e a membrana, bem como no citoplasma de organismos microscópicos (BIBLIARDI et al., 2017).

O iodo apresenta um efeito significativo na superfície microbiana, além de penetrar rapidamente nas estruturas desses organismos (MARKEY et al., 2013), uma vez que as formulações à base de iodo contêm íons negativamente carregados, que interagem com as proteínas dos microrganismos, provocando sua desnaturação e danos celulares (LEPELLETIER et al., 2020).

A ligação do iodo às proteínas leva à sua desnaturação de várias maneiras, incluindo a oxidação de aminoácidos como cisteína e metionina e prevenção de pontes de hidrogênio pela reação com arginina, histidina e lisina ou o fenólico grupo de tirosina (COOPER, 2007). Essas

mudanças afetam a estrutura e a função de ambas as enzimas e proteínas estruturais e, portanto, têm extensos efeitos deletérios na função microbiana (EGGERS, 2019). Além disso, a estrutura da membrana é comprometida pela reação do iodo ácidos graxos e a ligação de hidrogênio em ácidos nucleicos é impedida pela ligação de iodo a nucleotídeos como adenina, citosina e guanina (DURANI e LEAPER, 2008).

As moléculas reativas de iodo demonstraram atacar aminoácidos (em particular, lisina, histidina, cisteína e arginina) para causar ruptura de proteínas e perda de estrutura e função. O iodo reage e substitui vários grupos funcionais nesses aminoácidos. Além disso, o iodo reage com ácidos nucléicos, lipídios e ácidos graxos (incluindo aqueles nas estruturas da membrana celular) (COOPER, 2007). Estas interações resultam em uma ação eficaz na eliminação desses organismos, contribuindo para a capacidade desinfetante do iodo (ŞAHİNER, HALAT e ALĞIN-YAPAR, 2019).

Alternativamente, o iodo elementar pode ser complexado ou ligado a polímeros neutros de alto peso molecular, incluindo álcool, amida e polímeros de açúcar (MCDONNEL, 2017). Esses complexos são conhecidos como iodóforos e aumentam a concentração de iodo livre e a atividade antimicrobiana (EGGERS, 2019). O objetivo é aumentar solubilidade e a estabilidade do iodo, permitindo que as espécies ativas de iodo sejam liberadas lentamente ao longo do tempo. O iodóforo mais amplamente utilizado é a poli(N-vinil-2-pirrolidona), que é complexada com iodo na forma de triiodeto, também conhecida como iodopovidona ou PVPI (DURANI e LEAPER, 2008; BIGLIARDI et al., 2017). Esses agentes são bons para desinfecção geral e são inativados com menos facilidade por matéria orgânica do que compostos de iodo elementar (RAZZAQ, SHNAN e ALI, 2019).

Em solução aquosa, ocorre um equilíbrio dinâmico entre o iodo livre (I_2), o agente bactericida ativo, e o complexo PVP-I (COOPER, 2007). Depois de diluir a solução de PVP-I a 10%, os níveis de iodo seguem uma curva em forma de sino e aumentam com a diluição, atingindo um máximo em aproximadamente 0,1% de concentração da solução e, em seguida, diminuindo com diluição adicional (BERKELMAN, HOLLAND e ANDERSON, 1982). Isso pode ser explicado devido à competição pelo local de fixação e penetração dentro das paredes do endósporo (RAZZAQ, SHNAN e ALI, 2019). No entanto, observa-se que em baixas concentrações, sua atividade pode ser afetada pela matéria orgânica (BIBLIARDI et al., 2017).

Em seu estudo, Schreier et al. (1997) observaram efeitos estruturais de PVP-I em células microbianas por microscopia eletrônica e análise bioquímica. Neste estudo foram observadas rápida partição do citoplasma, coagulação do material nuclear e perda da atividade enzimática em microorganismos expostos ao iodo. As células não pareciam mostrar ruptura

completa, mas a formação de poros nas paredes celulares levou ao vazamento de materiais celulares selecionados, ocasionando sua morte.

As soluções aquosas de iodo são mais ativas em pH ácido devido à presença ideal de espécies moleculares ativas de iodo, com prevalência de outros íons em pH alcalino (MCDONNEL, 2017). Os iodóforos podem ser formulados em uma faixa de pH mais ampla devido à liberação lenta de iodo (MCVEY et al., 2022). Embora a atividade antimicrobiana seja mantida ao longo do tempo, os iodóforos são considerados menos ativos contra certos fungos e esporos em comparação com as tinturas. O iodo pode ser esporicida, particularmente em desinfetantes de superfícies duras, mas geralmente não nas concentrações usadas para aplicações antissépticas (MARKEY et al., 2013).

Por exemplo, bactérias vegetativas são rapidamente mortas em 0,01 a 1 mg iodo disponível/litro em 1 minuto, em contraste com a necessidade de 10 mg/litro para atividade de esporos bacterianos por até 5 horas de tempo de contato (MCDONNEL, 2017). Vírus sem envelope, como outros halogênios, demonstram alta resistência ao iodo, mas geralmente são sensíveis em concentrações tão baixas quanto 15 µg/litro (COOPER, 2007).

Pouco se sabe sobre a ação antiviral do iodo, mas os vírus não lipídicos e os parvovírus são menos sensíveis a ele do que os vírus com envelope lipídico (DURANI e LEAPER, 2008). É provável que o iodo ataque as proteínas de superfície dos vírus envelopados, mas também pode desestabilizar os ácidos graxos da membrana ao reagir com ligações insaturadas de carbono (LEPELLETIER et al., 2020). Efeitos semelhantes são observados contra vírus não envelopados, particularmente com qualquer exposição a aminoácidos proteicos. Os efeitos do iodo e iodóforos contra parasitas protozoários e príons não foram bem investigados (MCDONNEL, 2017).

3.2.3.2. Aplicações e contra-indicações

Como biocidas tópicos, as soluções de iodo estão amplamente disponíveis e são fáceis de preparar (MCDONNEL, 2017). Eles demonstram atividade antimicrobiana de amplo espectro em concentrações relativamente baixas na pele e podem ter alguma atividade persistente de curta duração, permanecendo na pele após a aplicação para oferecer atividade antimicrobiana residual (COOPER, 2007).

O iodo causa manchas marrons em certas superfícies, incluindo a pele, roupas e materiais porosos, como plásticos. As soluções de iodo são venenosas em altas concentrações (>5%) e podem ser irritantes para a pele lesada e membranas mucosas, particularmente em

combinação com álcool (DURANI e LEAPER, 2008). O uso de concentrações mais baixas de iodo reduz os riscos associados à toxicidade, descoloração e irritação. Deve-se notar que muitas dessas desvantagens podem ser significativamente reduzidas com o uso de iodóforos como o PVPI (MCVEY et al., 2013).

As grandes vantagens do uso destas substâncias são atribuídas aos iodóforos, como a Iodopovidona, principalmente porque geralmente não mancham e são solúveis em água, têm pouco ou nenhum odor, aumentam a estabilidade dos componentes ativos de iodo liberadas em solução e minimizam a concentração de iodo necessária para a atividade antimicrobiana (MARKEY et al., 2022). Atualmente recomenda-se que estes antissépticos em protocolos para preparações de pele sejam associados à soluções alcoólicas, quando comparados aos produtos de base aquosa, pois os de base aquosa são indicados para antissepsia de mucosas, com base na eficácia demonstrada em ensaios controlados randomizados e metanálises (PEEL et al., 2021)

Em revisões sistemáticas recentes com estudos na medicina humana, as evidências sugerem que o potencial antimicrobiano da iodopovidona é inferior ao clorexidine, pondo um fim na grande discussão de eficácia em protocolos de antissepsia pré-operatória com estes dois agentes (PEEL et al., 2021). Na medicina veterinária, no entanto, ainda não se pode afirmar tal evidência (MARCHIONATTI et al., 2022). Apesar disso, a iodopovidona é o antisséptico de eleição para preparação cirúrgica em cirurgias oftalmológicas e de conduto auditivo (GRYBOWSKI, KANCLERZ e MYERS, 2018). Isso acontece devido à grande irritação corneal e ao poder ototóxico atribuído à clorexidina, que ao ser aplicada nestes lugares pode ocasionar efeitos adversos irreparáveis (STEINSAPIR, 2016; ROSE et al., 2019). O que não acontece com a iodopovidona, e, inclusive, há protocolos bem definidos para preparações cirúrgicas neste local utilizando este antisséptico (GRYBOWSKI, KANCLERZ e MYERS, 2018).

Como desinfetantes, iodóforos e soluções de iodo podem tolerar melhor a presença de solos contaminantes em comparação com outros halogênios, como o cloro. Como desinfetantes de água, eles têm pouco ou nenhum odor ou sabor e não são irritantes para os olhos nas concentrações normalmente usadas. O iodo é geralmente utilizado para tratamento de água apenas em situações de emergência (MARKEY et al., 2013).

Em um estudo utilizando a iodopovidona em diversas concentrações, foi observado por Razzaq, Shnan e Ali (2019) que a concentração de 7% foi responsável por controlar o crescimento bacteriano de materiais cirúrgicos, mas não conseguiu realizar a esterilização química. Já em outro grupo realizando a utilização de associações de iodopovidona com etanol não foram observados crescimento bacteriano dos instrumentais, demonstrando a eficácia em

realizar a esterilização química. No entanto, a compatibilidade da superfície pode ser uma preocupação com algumas superfícies metálicas e plásticas, pois os iodóforos causam corrosão e podem danificar permanentemente estes materiais.

Várias revisões sistemáticas e meta-análises apoiam o uso de irrigação intraoperatória profilática da ferida com lavagem estéril diluída de iodopovidona para diminuir o risco de ISCs. Uma revisão sistemática e metanálise publicada em 2017 avaliou 21 RCTs e concluiu que a lavagem com iodopovidona diluída estéril diminuiu o risco de ISC em comparação com a lavagem não antisséptica. Este estudo não relatou nenhum benefício da irrigação com antibióticos e desencorajou esta prática (DE JONJE et al., 2017).

Durante a década de 1980 e até recentemente, a iodopovidona foi amplamente utilizada principalmente devido ao fato de que soluções de iodo diluídas possuíam um maior espectro de ação e tornou-se economicamente mais barata de se utilizar quando comparado ao seu concorrente recém introduzido ao mercado, denominado digluconato de clorexidine, que possuía um custo-benefício menos interessante que o PVPI, gerando preferência dos profissionais ao PVPI devido seu baixo custo (BERKELMAN, HOLLAND e ANDERSON, 1982). No entanto, em estudos recentes de custo-benefício de protocolos de antisepsia pré-cirúrgica comparando estes dois antissépticos, observou-se que o protocolo utilizando clorexidine tem o melhor custo-benefício, mostrando um custo total de uma preparação da pele do local cirúrgico em média de $46,8 \pm 4,2$ euros quando comparado com o PVPI ($155,8 \pm 10,9$ euros), uma vez que custa mais barato e requer menor tempo de aplicação que o PVPI (ROUGEREAU et al., 2022).

No passado, acreditava-se que o uso de campos plásticos estéreis adesivos impregnados com iodopovidona ofereciam um mecanismo para eliminar a contaminação da pele em procedimentos cirúrgicos. Esses campos cirúrgicos cobrem as feridas e têm como objetivo impedir que as bactérias da pele ou dos folículos pilosos entrem na incisão cirúrgica durante o procedimento (MCDONNEL, 2017). Em um estudo clínico randomizando comparando a ocorrência de ISCs em pacientes submetidos à cirurgias abdominais utilizando campos cirúrgicos estéreis adesivos impregnados com iodopovidona ($n = 56$) com preparações de pré-operatórias de pele com PVPI, mas sem o campo adesivo, Moores et al. (2017) observaram que o grupo dos campos adesivos possuiu um menor espectro de ação e eficácia, e além disso, proporcionou um crescimento bacteriano maior que no grupo sem o campo, demonstrando um aumento de 5% nas taxas de ISC pós-operatórias. Corroborando com este fato, atualmente a utilização de campos plásticos estéreis adesivos impregnados com iodopovidona é

desencorajada por diretrizes importantes principalmente devido a essa teoria não ter a veracidade proposta (CALDERWOOD et al., 2023).

Apesar de comumente utilizada como forma de tratamento para a endometrite equina pós-cobertura, Kalpokas et al. (2010) observaram que lavagem uterina com adição de iodopovidona a 1% aos fluidos de lavagem uterina causou inflamação e também reduziu a expressão dos receptores endometriais de progesterona, o que pode ter implicações na fertilidade.

Embora não seja totalmente fundamentado, no passado especulações sobre complicações, efeitos alérgicos e tóxicos associados ao uso de iodo foram descritas em gatos, como no trabalho de Wilkinson (1968), onde foi exposto sinais clínicos de êmese, tremores musculares, hipotermia, cardiomiopatia e coma. Outros trabalhos também postularam associações entre a exposição ao iodo com disfunção tireoidiana, injúria renal e bócio em gatos (STANBURY et al., 1998; KASS et al., 1999), mas a correlação entre a exposição ao iodo durante a antissepsia pré-operatória e o hipertireoidismo ou injúria renal estão ausentes e umnexo causal não foi estabelecido (YU, LACORCIA e JOHNSTONE, 2022).

Entretanto, isso é considerado improvável com as concentrações de iodo normalmente usadas ao longo do tempo para antissepsia pré-operatória, uma vez que os gatos parecem autorregular a síntese do hormônio tireoidiano em face da exposição variável de iodo na maioria das circunstâncias, incluindo iodo em alimentos, contrastes e antissépticos (EDINBORO et al., 2013). Em contrapartida, esses relatos estão associados a tinturas e não com iodóforos e, além disso, pode estar relacionado à sensibilidade individual relacionada à doença subjacente da tireoide (MCDONNEL, 2017).

Como discutido anteriormente, tal como acontece com os antibióticos, a resistência aos antissépticos como acontece com o digluconato de clorexidina, por exemplo, pode ocorrer em bactérias por causa de propriedades intrínsecas (formação de biofilme, endosporos, expressão de mecanismos intrínsecos) ou podem ser adquiridos por meio de mutação ou material genético externo (plasmídeos ou transposons) (LEPELLETIER et al., 2020). Foram propostos protocolos de avaliação da mudança no perfil de suscetibilidade aos antissépticos e antibióticos, entretanto, atualmente nenhuma ligação foi observada entre PVP-I e o desenvolvimento de resistência, provavelmente devido aos seus numerosos e simultâneos alvos moleculares (por exemplo, ligações duplas, grupos amino e grupos sulfidrais) (BIBLIARDI et al., 2017; EGGERS, 2019).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOOD, H. M.; HIJAZI, K.; GOULD, I. M. Chlorhexidine Resistance or Cross-Resistance, That is the Question. **Antibiotics**, v. 12, n. 1, p. 1-17.

ADDIE, D. D.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; GRUFFYDD-JONES, T. et al. Disinfectant choices in veterinary practices, shelters and households: ABCD Guidelines on safe and effective disinfection for feline environments. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 17, n. 7, 2015. p. 594-605.

ALAMADA, V. K.; SPRINGER, B. D. The prevention of infection: 12 modifiable risk factors. **The Bone & Joint Journal**, v. 101, 2019. p. 3-9.

ALLENGRAZI, B.; BISCHOFF, P.; JONGE, S. et al. New WHO recommendations on preoperative measures for surgical site infections prevention: an evidence-based global perspective. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 12, 2016. p. 276-287.

ARKSOY, E.; BOAG, A.; BRODBELT, D. et al Evaluation of surface contamination with staphylococci in a veterinary hospital using a quantitative microbiological method. **Journal of Small Animal Practice**, v.51, n.1, 2010. p. 574-580.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGIÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Segurança do Paciente em Serviços de Saúde: Higienização das Mãos**. Brasil: Anvisa, 2009. Disponível em: <https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/seguranca_paciente_servicos_saude_higienizacao_maos.pdf> Acesso em 15/07/2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Técnica para Antissepsia Cirúrgica das Mãos com Produto à Base de Álcool**. Brasil: Anvisa, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/cartazes/cartaz_6.pdf/view> Acesso em 15/07/2023.

BAN, K. A.; MINEI, J. P.; LARONGA, C. et al. American College of Surgeons and Surgical Infection Society: Surgical Site Infection Guidelines, 2016 Update.

BERKELMAN, R. L.; HOLLAND, B. W.; ANDERSON, R. L. Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 15, n. 4, 1982. p. 635-639.

BERRÍOS-TORRES, S. I.; UMSCHIED, C. A.; BRATZLER, D. W. et al. Centers for Disease Control and Prevention Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection, 2017. **Journal of American Medical Association: Surgery**, v. 152, n. 8, 2017. p. 784-791.

BES, T. M.; PERDIGÃO-NETO, L.; MARTINS, R. R.; HEIJDEN, I. et al. Susceptibility to chlorhexidine and mupirocin among methicilin-resistant Staphylococcus aureus clinical isolates from a teaching hospital. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 63, n.1, 2021. p. 1-7.

BHOOSHAN, S.; NEGI, V.; KHATRI, P. K. Staphylococcus pseudintermedius: an undocumented, emerging pathogen in humans. **GMS Hygiene and Infection Control**, v. 15, 2020. p.1-11.

BIBLIARDI, P. L.; ALSAGOFF, S. A. L.; KAFRAWI, H. Y. E.; PYON, J. K.; WA, C. T. C.; VILLA, M. A. Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices. **International Journal of Surgery**, v. 44, n. 1, 2017. p. 260-268.

BIEROWIEC, K.; KORZENIOWSKA-KOWAL, A.; WZOREK, A. et al. Prevalence of Staphylococcus Species Colonization in Healthy and Sick Cats. **BioMed Research International**, v. 2019, Article ID 4360525, 2019. p. 1-10.

BRAGA, D. P. **Incidência e fatores de risco associados à infecção do sítio cirúrgico na clínica de cães e gatos do hospital veterinário da Universidade Federal de Viçosa**. 2008. 104f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa

BURGESS, B. A. Prevention and Surveillance of Surgical Infections: A review. **Veterinary Surgery**, v. 48, n. 3, 2019. p. 284-290.

BUXSER, S. Has resistance to chlorhexidine increased among clinically-relevant bacteria? A systematic review of time course and subpopulation data. **PLoS One**, v. 16, n. 8, 2021. p. 1-26.

CALDERWOOD, M. S.; ANDERSON, D. J.; BRATZLER, D. W.; DELLINGER, E. P.; GARCIA-HOUCHINS, S.; MARAGAKIS, L. L.; NYQUIST, A. C.; PERKINS, K. M.; PREAS, M. A.; SAIMAN, L.; SHAFFZIN, J. K.; SCHWEIZER, M.; YOKOE, D. S.; KAYE, K. S. Strategies to prevent surgical site infections in acute care hospitals: 2022 Update. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 43, n. 6, 2022.

CASEY, A. L.; BADIA, J. M.; HIGGINS, A. et al Skin antisepsis: it's not Only what you use, it's the way that you use it. **Journal of Hospital Infection**, v. 96, n.3, 2017. p. 221-222.

CIEPLIK, F.; JAKUBOVICS, N. S.; BUCHALLA, W.; MAISCH, T.; HELLWIG, E. AL-HAMAD, A. Resistance Toward Chlorhexidine in Oral Bacteria – Is There Cause for Concern? **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 1, 2019. p. 1-11.

CIOTTI, C.; FERRAO, B.; GARRIGUES, I.; NÉROME, S. Bacteria which are highly resistant to antibiotics are not resistant hydro-alcoholic products. **Médecine et Maladies Infectieuses**. v. 51, n. 1, 2020. p. 77-80

COOPER, R. A. Iodine Revisited. **International Wound Journal**, v. 4, n. 2, 2007. p. 124-127.

CORSINI, C. M. M.; BORGES, A. P. B.; ALBERTO, D. S. et al. Incidência de infecção do sítio cirúrgico e fatores de risco associados na clínica cirúrgica de pequenos animais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 66, n. 3, 2014. p. 737-744.

COSKUN, Ö.; VISKJER, S. Chlorhexidine shampooing of dogs the night before elective surgery: Are human recommendations applicable to veterinary medicine? **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 86, n.4, 2022. p. 306-310.

DE JONGE, S. W.; BOLDINGH, Q. J. J.; SOLOMKIN, J. S.; ALLENGRANZI, B.; EGGER, M.; DELLINGER, E. P.; BOERMEEESTER, M. A. Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials Evaluating Prophylactic Intra-Operative Wound Irrigation for the Prevention of Surgical Site Infections. **Surgical Infections**, v. 18, n. 4, 2017. p. 508-519. DOI: 10.1089/sur.2016.272

DEL VALLE, J. M.; FISK, E. A.; NOLAND, E. L. et al. Comparison of Aqueous and Alcohol-based Agents for Presurgical Skin Preparation Methods in Mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 57, n.4, 2018. p. 401-414.

DEWAR, J. R. U.; Antiseptic Veterinary Surgery. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v. 4, n. 1, 1891. p. 330-333.

DOYLE, A. J.; SAAB, M. E.; LEWIS, K. et al. Equine skin antiseptics using an alcohol-based rub. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 80, n. 1, 2019. p. 61-63.

DOYLE, A. J.; SAAB, M. E.; MCCLURE, J. T. Comparison of Chlorhexidine and Alcohol-based Antiseptics on the Paralumbar Fossa in Cattle. **Veterinary Surgery**, v. 51, n.1, 2022. p. 1191-1195.

DURANI, P.; LEAPER, D. Povidone-iodine: Use in hand disinfection, skin preparation and antiseptic irrigation. **International Wound Journal**, v. 5, n. 3, 2008. p. 376-387.

ECHOLS, K.; GRAVES, M.; LEBLANC, K. G. et al. Role of Antiseptics in the Prevention of Surgical Site Infections. **Dermatological Surgery**, v. 41, n. 1, 2015. p. 667-676.

EDINBORO, C. H.; PEARCE, E. N.; PINO, S.; BRAVERMAN, L. E. Iodine concentration in commercial cat foods from three regions of the USA, 2008-2009. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 8, 2013. p. 717-724.

EDMISTON, C. E.; LEE, C. J.; KREPEL, C. J.; SPENCER, M.; LEAPER, D.; BROWN, K. R.; SEABROOK, G. R. Evidence for a Standardized Preadmission Showering Regimen to Achieve Maximal Antiseptic Skin Surface Concentrations of Chlorhexidine Gluconate, 4%, in Surgical Patients. **Journal of American Medical Association: Surgery**, v. 150, n. 11, 2015. p. 1-7.

EGGERS, M. Infectious disease management and control with Povidone Iodine. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 8, n. 1, 2019. p. 581-593.

EDMISTON JR, C. E.; BRUDEN, B.; RUCINSKI, M. C.; HENEN, C.; GRAHAM, M. B.; LEWIS, B. L. Reducing the risk of surgical site infections: Does chlorhexidine gluconate provide a risk reduction benefit? **American Journal of Infection Control**, v. 41, n. 1, 2013. p. 549-555.

EDMISTON JR, C. E.; OKOLI, O.; GRAHAM, M. B.; SINSKI, S.; SEABROOK, G. R. Evidence for using chlorhexidine gluconate preoperative cleansing to reduce the risk of surgical site infection. **AORN Journal**, v. 92, n. 5, 2010. p. 509-518.

ESPINEL-RUPÉREZ, J.; MARTÍN-RIOS, M. D.; SALAZAR, V. et al. Incidence of surgical site infections in dogs undergoing soft tissue surgery: Risk Factors and Economic Impact. **Veterinary Record Open**, v. 6, n.1, 2019. p.1-10.

FERNANDO, F. S.; SILVA, K. R.; VIGNOTO, V. K. C. et al. Avaliação Microbiana de Sítio Cirúrgico relacionado ao tempo de procedimento e resistência a antimicrobianos em cães e gatos. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v.2, n.1, 2015. p. 26-33.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021. 2139p.

FRAISE, A. P.; MAILLARD, J. Y.; SATTAR, S. A. **Principles and Practice of Disinfection Preservation and Sterilization**. Hoboken: Wiley Blackwell, 2013. 616p.

GRZYBOWSKI, A.; KANCLERZ, P.; MYERS, W. G. The use of povidone-iodine in ophthalmology. **Current Opinion in Ophthalmology**, v. 29, n.1, 2018. p. 19-32.

HEMANI, M. L.; LEPOR, H. Skin Preparation for the prevention of Surgical Site Infection: Which agent is best? **Reviews in Urology**, v. 11, n. 4, 2009. p. 190-195

HOFFMANN, A. R. The cutaneous ecosystem: The roles of skin microbiome in health and its association with inflammatory skin conditions in human and animals. **Veterinary Dermatology**, v. 28, 2017. p. 60-75.

KALPOKAS, I.; PERDIGÓN, F.; RIVERO, R.; TALMON, M.; SARTORE, I.; VIÑOLES, C. Effect of a povidone-iodine intrauterine infusion on progesterone levels and endometrial steroid receptor expression in mares. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 52, n. 1, 2010. p. 1-8.

KASS, P. H.; PETERSON, M. E.; LEVY, J.; JAMES, K.; BECKER, D. V.; COWGILL, L. D. Evaluation of Environmental, Nutritional and Host Factors in Cats with Hyperthyroidism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 4, 1999. p. 289-391.

KECK, N.; DUNIE-MERIGOT, A.; DAZAS, M.; HIRCHAUD, E.; LAURENCE, S.; GERVAIS, B.; MADEC, J. Y.; HAENNI, M. Long-lasting nosocomial persistence of chlorhexidine-resistant *Serratia marcescens* in a veterinary hospital. **Veterinary Microbiology**, v. 245, n.1, 2020. p. 1-6.

KHOKAR, M.; ROY, D. P.; GOYAL, P.; SETIA, P. Viricidal treatments for prevention of coronavirus infection. **Pathogens and Global Health**, v. 114, n. 7, 2020. p. 349-359.

KOLLEF, M. H.; TORRES, A.; SHORR, A. F. et al. Nosocomial Infection. **Critical Care Medicine**, v. 49, n. 2, 2021. p. 169-187.

KRAUTHEIM, A. B.; JERMANN, T. H. M.; BIRCHER, A. J. Chlorhexidine Anaphylaxis: Case report and review of the literature. **Contact Dermatitis**, v. 50, n.3, 2004. p. 113-116.

KREISLER, R. E.; DOUGLAS, M. L.; HARDER, K. N. Comparison of the effect of isopropyl alcohol and chlorhexidine solution rinses on body temperature of female cats undergoing sterilization surgery. **Journal of Feline Medicine and Surgery**,

LECHAPELLE, J. M.; CASTEL, O.; CASADO, A. F.; LEROY, B.; MICALI, G.; TENNSTEDT, D.; LAMBERT, J. Antiseptics in the era of bacterial resistance: a focus on povidone iodine. **Clinical Practice**. v. 10, n. 5, 2013. p. 579-592.

LEPELLETIER, D.; MAILLARD, J. Y.; POZZETTO, B.; SIMON, A. Povidone Iodine: Properties, Mechanisms of Action, and Role in Infection Control and Staphylococcus aureus Decolonization. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 20, n. 8, 2020. p. 682-720.

LIM, S.; S.; KAM, P. C. A. Chlorhexidine – Pharmacology and clinical applications. **Anaesthesia and Intensive Care**, v. 36, n. 4, 2008. p. 502-512.

LINDER, K. E. Structure and Function of the Skin IN: NOLI, C.; COLOMBO, S. **Feline Dermatology**. Cap. 1. Cham: Springer, 2020. p. 3-21.

LINLEY, E.; DENYER, S. P.; MCDONNELL, G. et al. Use of hydrogen peroxide as a biocide: New consideration of its mechanisms of biocidal action. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 67, n. 7, 2012. p. 1589-1596.

LOEFFER, A.; LLOYD, D. H. Companion animals: a reservoir for methicillin-resistant Staphylococcus in the community? **Epidemiology and Infection**. v. 138, n. 5, 2010. p. 595-605.

LOPEZ, D. J.; VANDEVENTER, G. M.; KROTSCHHECK, U. Retrospective study of factors associated with surgical site infection in dogs following tibial plateau leveling osteotomy. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 253, n. 3, 2018. p. 315-351.

LU, Y.; McEWAN, N. A. Staphylococcal and micrococcal adherence to canine and feline corneocytes: quantification using a simple adhesion assay. **Veterinary Dermatology**, v. 18, n.1, 2007. p. 29-35.

MA, G. C.; WORTHING, K. A.; WARD, M. P. et al. Commensal Staphylococci Including Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus from Dogs and Cats in Remote New South Wales, Australia. **Microbial Ecology**, v. 79, 2020. p. 164-174.

MACIAS, J. H.; ALVAREZ, M. F.; ARREGUIN, V.; MUÑOZ, J. M.; MACIAS, A. E.; ALVAREZ, J. A. Chlorhexidine avoids skin bacteria recolonization more than triclosan. **American Journal of Infection Control**, v. 44, n. 12, 2016. p. 1530–1534.

MAGILL, S. S.; EDWARDS, J. R.; BAMBERG, W. et al. Multistate Point-prevalence survey of health care-associated infections. **The New England Journal of Medicine**, v. 270, n. 13, 2013. p. 1198-1208.

MAIWALD, M.; CHAN, E. S. Y. The Forgotten Role of Alcohol: A Systematic Review and Meta-Analysis of the Clinical Efficacy and Perceived Role of Chlorhexidine in Skin Antisepsis. **PLoS One**, v. 7, n. 9, 2012. p. 1-12.

MAIWALD, M.; WIDMER, A. F.; ROTTER, M. L. Chlorhexidine is not the main active ingredient in skin antiseptics that reduce blood culture contamination rates. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v.31, n.10, 2010. p. 1095-1096.

MARCHIONATTI, E. The Preparation of the Surgical Site and the Disinfection of the Surgeon's Hands - Standards and their Implementation in a Field Setting. In: **Anais...** Leipziger Tierärztkongress, 11, 2022, Leipzig

MARCHIONATTI, E.; CONSTANT, C.; STEINER, A. Preoperative skin asepsis protocols using chlorhexidine versus povidone-iodine in veterinary surgery: A systematic review and meta-analysis. **Veterinary Surgery**, v. 51, n.5, 2022. p. 744-752.

MARKEY, B.; LEONARD, F.; ARCHAMBAULT, M.; CULLINANE, A. MAGUIRE, D. **Clinical Veterinary Microbiology**. 2ed. Edinburgh: Mosby Elsevier, 2013. 915p.

MASTROCOLA, M.; MATZIOLIS, G.; BÖHLE, S.; LINDEMANN, C.; SCHLATTMANN, P.; EIJER, H. Meta-analysis of the efficacy of preoperative skin preparation with alcoholic chlorhexidine compared to povidone iodine in orthopedic surgery. **Scientific Reports**, v. 11, n.1, 2021. p. 18634-18641.

MAXWELL, E. A.; BENETT, R. A.; MITCHELL, M. A. Efficacy of Application of an alcohol-based antiseptic hand rub or a 2% chlorhexidine gluconate scrub for immediate reduction of the bacterial population on the skin of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 79, n. 9, 2018. p. 1001-1007.

McDONNELL, G. E. **Antisepsis, Disinfection and Sterilization**: Types, action and resistance. Washington: ASM Press, 2017. 2^a ed. 433p.

MCGIRT, M. J.; GODIL, S. S. Surgical site infections in spine surgery: An opportunity for quality improvement and cost reduction. **Veterinary Surgery**, n. 44, 2014. p. 2-8.

MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M.; WILKES, R. **Veterinary Microbiology**. 4ed. Hoboken: Wiley Blackwell, 2022.

MILOVANCEV, V.; TOWNSEND, K. L. Current Concepts in Minimally Invasive Surgery of the Abdomen. **Veterinary Clinics: Small Animal**, v. 45, n.3, 2015. 507-522.

MILTON, A. A. P.; PRIYA, G. B.; ARAVIND, M. Nosocomial Infections and Their Surveillance in Veterinary Hospitals. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 3, n. 2, 2015. p. 1-24.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Guia de Uso Racional de Antimicrobianos para Cães e Gatos**. Brasília: MAPA, 2022. 110p. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aosantimicrobianos/publicacoes/livroantimicrobianosv22.pdf>> Acesso em 09/02/2023.

MOORES, N.; ROSENBLATT, S.; PRABHU, A.; ROSEN, M. Do Iodine-Impregnated Adhesive Surgical Drapes Reduce Surgical Site Infections during Open Ventral Hernia Repair? A Comparative Analysis. **The American Surgeon**, v. 83, n. 6, 2017. p. 617-622.

MEDEIROS, L. K. G.; REGO, R. O.; SILVA, M. M.; HENRIQUE, F. V.; OLIVEIRA, K. D. S.; JÚNIOR, F. G.; SOUZA, A. P.; NÓBREGA NETO, P. I. Efeitos do banho prévio, da tricotomia e da antisepsia na redução da contaminação do sítio cirúrgico em cadelas

submetidas à OSH eletiva. **Brazilian Journal of Veterinary Research**, v. 38, n. 9, 2018. p. 1787-1792.

MOREIRA, T. S.; SOUZA, J. B. B.; PAULA, E. M. N.; STELLA, A. E. Infecções nosocomiais por estafilococos multirresistentes: um risco eminente no ambiente hospitalar veterinário. IN: **Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar (ISSN-2527-2500) & Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar**. 2018.

NAKAYAMA, D. K. Antisepsis and Asepsis and how They Shaped Modern Surgery. **The American Surgeon**, v. 84, n. 6, 2018. p. 766-711.

NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC). **Australian guidelines for the prevention and control of infection in healthcare**. Canberra: Commonwealth of Australia, 2019. Disponível em: www.nhmrc.gov.au/health-advice/public-health/preventing-infection.

NEWMAN J. L., KAISER N. E. Extended activity of healthcare antiseptic products. In: Manivannan G. **Disinfection and decontamination. Principles, applications and related issues**. Cap. 8. St. Louis: CRC Press; 2007. p.155-62.

OLDER, C. E.; DIESEL, A.; PATTERSON, A. P. et al. The feline skin microbiota: The bacteria inhabiting the skin of healthy and allergic cats. **PLoS ONE**, v.12, n.6, 2017. p. 1-18.

OPSTRUP, M. S.; JEMEC, G. B. E.; GARVEY, L. H. Chlorhexidine Allergy: On the Rise and Often Overlooked. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 19, n. 5, 2019. p. 1-10

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care**. Geneva: World Health Organization Press, 2009.

PEEL, T. N.; WATSON, E.; LEE, S. J. Randomised Controlled Trials of Alcohol-based Surgical Site Skin Preparation for the Prevention of Surgical Site Infections: Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Clinical Medical**, v.10, n. 663, 2021. p. 1-21.

PEREZ, R.; FREEMAN, S.; SOHMER, H.; SICHEL, J. Y. Vestibular and Cochlear Ototoxicity of Topical Antiseptics Assessed by Evoked Potentials. **The Laryngoscope**, v. 110, n. 9, 2000. p. 1522-1527

PINNET, D.; HUGONNET, S.; HARBARTH, S. et al. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. Infection Control Programme. **Lancet**. v. 356, n. 9238, 2000. P. 1307-1312.

POPOVICH, K. J.; LYLES, R.; HAYES, R.; HOTA, B.; TRICK, W.; WEISTEIN, R. A.; HAYDEN, M. K. Relationship between Chlorhexidine Gluconate Skin Concentration and Microbial Density on the Skin of Critically Ill Patients Bathed Daily with Chlorhexidine Gluconate. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 33, n. 9, 2012. p. 889–896.

RAZZAQ, T. T.; SHNAN, A. J. D.; ALI, A. B. M. Sterilization of Surgical Tools: Removing Bacterial Endospores with a Combination of Povidone-iodine, Chlorhexidine Gluconate, Ethanol, and Methanol. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 13, n. 4, 2019. p. 2499-2506.

REICHEL, M.; HEISIG, P.; KOHLMANN, T.; KAMPF, G. Alcohols for Skin Antisepsis at Clinically Relevant Skin Sites. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 53, n. 11, 2009. p. 4774-4782.

RIZK, H. G.; LEE, J. A.; ENDRIUKAITIS, L.; ISAAC, J. L.; BULLINGTON, W. N. Drug-Induced Ototoxicity: A comprehensive review and reference guide. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**. V. 40, n. 12, 2020. p. 1173-1275.

ROSE, M. A.; GARCEZ, T.; SAVIC, S.; GARVEY, L. H. Chlorhexidine allergy in the perioperative setting: A narrative review. **British Journal of Anaesthesia**, v. 123, n. 1, 2019. p.95-103.

ROSS, A. A.; HOFFMANN, A. R.; NEUFELD, J. D. The Skin Microbiome of Vertebrates. **Microbiome**, v. 7, n.1, 2019. p.1-14.

ROUGEREAU, G.; CHATELAIN, L.; TERRACHER, R.; ZADEGAN, F.; OLLAT, D. Surgical solutions for preoperative skin preparation in total hip arthroplasty: A cost-effectiveness analysis of Betadine® and Chloraprep®. **Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research**, v. 108, n. 8, 2022.

RUPLE-CZERNIAK, A. et al. Using Syndromic Surveillance to Estimate Baseline Rates for Healthcare-Associated Infections in Critical Care Units of Small Animal Referral Hospitals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n.6, 2013. p. 1392-1399.

RUSSEL, A. D. Mechanisms of antimicrobial action of antiseptics and disinfectants: an increasingly important area of investigation. **Journal of Animicrobial Chemotherapy**, v. 49, n. 1, 2002. P. 597-599.

SAVAGE, J. W.; ANDERSON, P. A. An Update on Modifiable factors to reduce the risk of Surgical Site Infection. **The Spine Journal**, v. 13, n. 1, 2013. p. 1017-1019.

ŞAHİNER, A.; HALAT, E.; ALĞİN-YAPAR, E. Comparison of bactericidal and fungicidal efficacy of antiseptic formulations according to EN 13727 and EN 13624 standarts. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 49, n. 1, 2019. p. 1564-1567.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Estudos de revisão sistemática: Um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 11, n. 1, 2007. p. 83-89.

SCHREIER, H.; ERDOS, G.; REIMER, K.; KÖNIG, B.; KÖNIG, W.; FLEISCHER, W. Molecular Effects of Povidone-Iodine on Relevant Microorganisms: An Electron-Microscopic and Biochemical Study. **Dermatology**, v. 195, n. 2, 1997. p. 111–116.

SEIDELMAN, J. L.; MANTYH, C. R.; ANDERSON, D. J. Surgical Site Infection Prevention: A review. **Journal of American Medical Association**, v. 329, n.3, 2023. p. 244-252.

SEQUINEL, R.; LENZ, G. F.; SILVA, J. L. B.; SILVA, F. R. Soluções a base de álcool para higienização das mãos e superfícies na prevenção da COVID-19: Compêndio informativo sob o ponto de vista da química envolvida. **Química Nova**, v. 43, n. 5, 2020. p. 679-684

SEVILHA, H. A.; PAIVA, L. S. J.; POVEDA, V. B. Análise das variáveis ambientais em salas cirúrgicas: Fontes de contaminação. **Revista SOBECC**. v. 19, n.3, 2014. p. 123-128.

SLOTOCH, C. M.; KAMPF, G.; LOFFLER, H. Effects of disinfectants and detergents on skin irritation. **Contact Dermatitis**. v. 57, n.4, 2007. p. 235-241.

STANBURY, J. B.; ERMANS, A. E.; BOURDOUX, P.; TODD, C.; OKEN, E. TONGLET, R.; VIDOR, G.; BRAVERMAN, L. E.; MEDEIROS-NETO, G. Iodine-induced hyperthyroidism: Occurrence and epidemiology. **Thyroid**, v. 8, n. 1, 1998. p. 83-100.

STEINSAPIR, K. D. WOODWARD, J. A. Chlorhexidine Keratitis: Safety of Chlorhexidine as a Facial Antiseptic. **Dermatologic Surgery**, v. 43, n. 1, 2017. p. 1-6

STULL, J. W.; BJORVIK, E.; BUB, J. et al. 2018 AAHA Infection Control, Prevention, and Biosecurity Guidelines. **Journal of American Animal Hospital Association**. v. 54, n.1, 2018. p. 1-30.

STULL, J. W.; WEESE, J. S. Hospital-Associated Infections in Small Animal Practice. **Veterinary Clinics: Small Animal**, v. 45, n.2, 2015. p. 217-233.

TANAHILL, V. J.; COGAN, T.; ALLEN, K. et al. Efficacy and dermal tolerance of a novel alcohol-based skin antiseptics in horses. **Veterinary Surgery**, v. 47, n. 4, 2018. p. 572-577.

TORIO, C. M.; ANDREWS, R. M. Statistical brief#160. IN: Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ). **Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs**, 2013.

TRAJANO, S. C.; ARAGÃO, B. B.; PENAFORTE JÚNIOR, M. A. et al. A importância da antisepsia cirúrgica na prevenção de infecção no pós operatório em pequenos animais. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 13, n.3, 2019. p. 343-371

TRAJANO, S. C.; ARAGÃO, B. B.; PENAFORTE JÚNIOR, M. A. et al. Bacterial isolation and evaluation of antiseptics protocols of the operative field of bitches submitted to ovariohysterectomy. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v.42, n.1, 2018. p. 1-10.

VERDIER-METZ, I.; DELBÈS, C.; BOUCHON, M.; PRADEL, P.; THEIL, S.; RIFA, E.; CORBIN, A.; CHASSARD, C. Influence of Post-Milking Treatment on Microbial Diversity on the Cow Teat Skin and in Milk. **Dairy**, v. 3, n. 2, 2022. p. 262-276.

VERWILGHEN, D. R. MAINIL, J. MASTROCICCO, E. et al. Surgical hand antiseptics in veterinary practice: Evaluation of soap scrubs and alcohol based rub techniques. **The Veterinary Journal**, v. 190, n. 1, 2011. p. 372-377.

VERWILGHEN, D.; GRULKE, S.; KAMPF, G. Presurgical Hand Antiseptics: Concepts and Current Habits of Veterinary Surgeons. **Veterinary Surgery**, v. 40, n. 5, 2011. p. 515-521.

VERWILGHEN, D.; SINGH, A. Fighting Surgical Site Infection in Small Animals: Are we getting anywhere? **Veterinary Clinics: Small Animal**. v. 45, 2015. p. 243-276.

WAND, M. E.; BOCK, L. J.; BONNEY, L. C; SUTTON, J. M. Mechanisms of Increased Resistance to Chlorhexidine and Cross-resistance to Colistin following Exposure of *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates to Chlorhexidine. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 1, 2017. p. 1-12.

WEESE, J. S. The canine and feline skin microbiome in health and disease. **Veterinary Dermatology**, v. 24, 2013. p. 137-147.

WILKINSON, G. T. A Review of Drug Toxicity in the Cat. **Journal of Small Animal Practice**, v. 9, n. 1, 1968. p. 21-32.

WILLEMSSEN, A.; COBBOLD, R.; GIBSON, J.; WILKS, K.; LAWLER, S.; REID, S. Infection control practices employed within small animal veterinary practices – Systematic review. **Zoonoses and Public Health**, v. 66, n. 1, 2019. 439-457.

WOODS, A. **Between Human and Veterinary Medicine: The History of Animals and Surgery**. IN: SCHLICH, T. **The Palgrave Handbook of The History of Surgery**. London: Palgrave Macmillan, 2018. Cap. 5. p. 115-132.

World Health Organization (WHO). **Global Guidelines for the Preventions of Surgical Site Infection**. Geneva: World Health Organization, 2018. 186p.

YOO, J. H. Review of Disinfection and Sterilization – Back to the Basics. **Infection & Chemotherapy**. v. 50, n. 2, 2018. p. 101-109.

YU, L.; LACORCIA, L.; JOHNSTONE, T. Hyperthyroid cats and their kidneys: A literature review. **Australian Veterinary Journal**, v. 100, n. 9, 2022. p. 415-432.

ZHU, J.; HUANG, Y.; CHEN, M.; HU, C.; CHEN, Y. Functional Synergy Of Antimicrobial Peptides And Chlorhexidine Acetate Against Gram-Negative/Gram-Positive Bacteria And A Fungus In Vitro And In Vivo. **Infection and Drug Resistance**, v. 12, n. 1, 2019. p. 3237-3239.

CAPÍTULO II – Eficácia antisséptica de soluções hidroalcoólicas versus soluções de clorexidina ou iodopovidona: um ensaio clínico duplo-cego randomizado em gatas submetidas a ovariectomia eletiva

*Artigo submetido ao periódico internacional *Veterinary Surgery*, ISSN 0161-3499 com avaliação QUALIS 2017-2020 como A3 e Fator de Impacto 1,8 (2023), após a defesa da dissertação de mestrado. As normas podem ser encontradas no Anexo II.



Antiseptic efficacy of hydroalcoholic versus chlorhexidine or povidone-iodine solutions: A double-blind randomized clinical trial for cats undergoing elective ovariohysterectomy

Journal:	<i>Veterinary Surgery</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Clinical Research
Keywords:	microbiology, surgical site, aseptic technique, infection

SCHOLARONE™
Manuscripts



Figure 1. Photograph to illustrate the collection of superficial skin microbiota. This method involves using a sterile isolation template in the retro-umbilical region and a sterile swab on the skin, applying moderate pressure and rolling movements to ensure the cotton fibers adequately contact the skin surface.

240x238mm (96 x 96 DPI)



Figure 2. Photograph to illustrate the parallel antiseptic technique. This method involves the use of sterile Foerster forceps and folded sterile gauze for pre-operative antiseptic using the parallel antiseptic technique.

423x318mm (96 x 96 DPI)

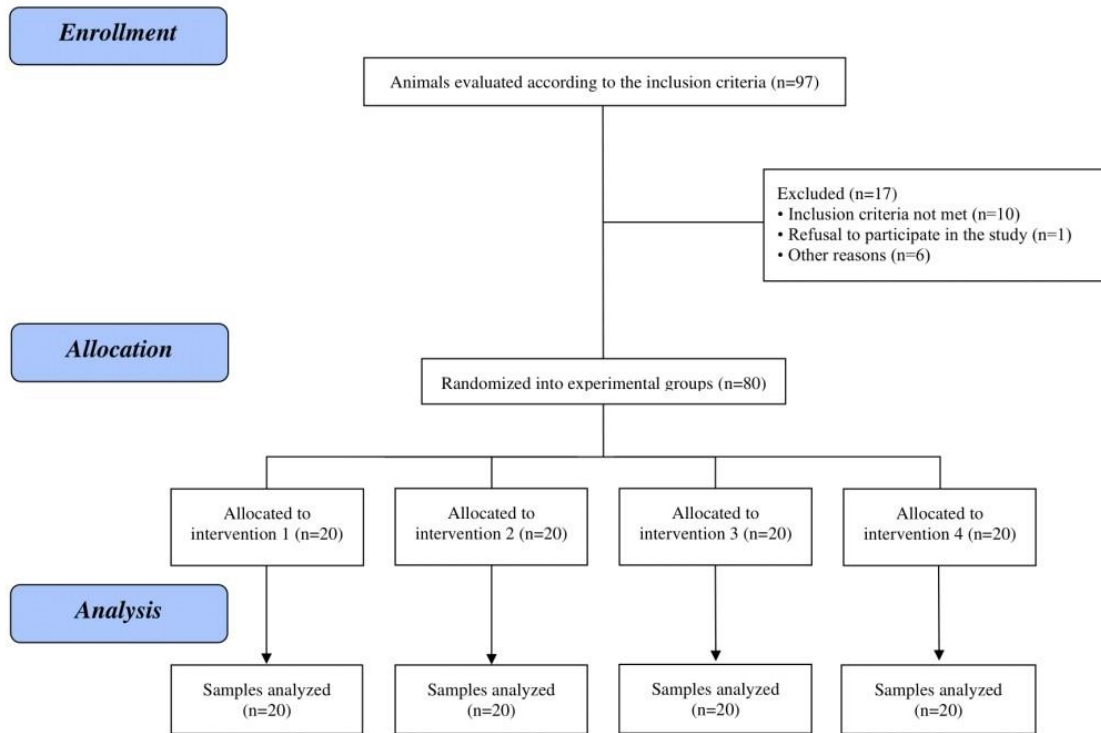


Figure 3. CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) flow diagram of cat enrollment, treatment allocation, and analysis during the study period.

637x399mm (79 x 79 DPI)

1 ABSTRACT

2 **Objective:** We aimed to compare the microbial load on the skin of healthy cats undergoing elective
3 ovariohysterectomy before and after exposure to four antiseptic protocols.

4 **Study Design:** A randomized double-blind clinical study was conducted with 80 healthy cats divided into
5 four intervention groups: group I, 2% chlorhexidine with surfactants and 0.5% chlorhexidine in alcoholic
6 solution; group II, 10% povidone-iodine (PVPI) with surfactants and 1% PVPI in alcoholic solution; group
7 III, World Health Organization (WHO) Formula 01 (80% ethanol, 1.45% glycerol, and 0.125% hydrogen
8 peroxide); and group IV, WHO Formula 02 (75% isopropyl alcohol, 1.45% glycerol, and 0.125% hydrogen
9 peroxide).

10 **Methods:** Surgical antisepsis was performed according to a previously established protocol. Skin samples (5
11 cm²) were collected before and after antisepsis. The collected material was processed, and the culture plates
12 were incubated in a bacteriological incubator at 35±1°C for 48 hours.

13 **Results:** All tested antiseptic methods were effective in reducing the microbial load to <5 colony forming
14 units (CFU)/cm². There was a statistically significant difference in the antimicrobial reduction efficacy
15 between groups I and II. Groups III and IV were statistically similar to group I and can be considered effective
16 methods for preoperative antisepsis, indicating their equivalence. The WHO solutions can be used as low-cost
17 alternatives for preoperative purposes.

18 **Conclusion:** Surgical field antisepsis using the tested protocols was effective in reducing the microbial load
19 on the skin of the retro-umbilical region in healthy cats undergoing ovariohysterectomy.

20 **Keywords:** Infection, microbiology, surgical site, aseptic technique

21

22

1. INTRODUCTION

Healthcare-Associated Infections (HAI) are infections acquired after the admission of a patient, during their stay in the hospital environment, or as a result of hospital and/or surgical procedures.¹ These infections can occur within the first 30 days after surgery or even years after the procedure, underscoring the importance of continuous and rigorous surveillance in hospital infection control.² The emergence of Surgical Site Infections (SSI) is associated with multiple factors, including the presence of pathogenic microorganisms, bacterial resistance, duration of surgery, presence of invasive devices, and patient health.³

In the context of surgical antisepsis for small animals, the agents most used for surgical skin preparation are alcohols (ethanol, isopropanol, and n-propanol), chlorhexidine gluconate (CHG), and povidone-iodine (PVPI).⁴ Among these antiseptics, alcohols have shown greater effectiveness in reducing skin contamination, but they have limited residual activity.⁵

Different surgical antisepsis protocols have been recommended for both humans, companion, and production animals.⁶ Some of these protocols, recommended by the World Health Organization (WHO), advocate the use of alcohol-based hand agents for routine procedures and as pre-surgical hand hygiene to reduce the risk of HAI.⁷ These recommendations have continued and are present in the most recent guidelines.⁸ These protocols have also shown effectiveness in skin antisepsis for veterinary patients, resulting in cost reduction, shorter application time, and, most importantly, a decrease in the incidence of post-surgical infections in animals, including horses, cattle, dogs, and laboratory animals.^{6,9,10}

In veterinary surgery, there are few randomized clinical studies that evaluate antiseptic protocols in domestic animals; there is a lack of clinical studies that provide a similar level of evidence as seen in human studies.¹¹ Furthermore, there are currently no specific guidelines or recommendations for cats due to the lack of targeted randomized clinical studies. Given the need to determine the most suitable antiseptic for surgical antisepsis in cats, the objective of this study was to conduct a double-blind, randomized, comparative clinical trial of four chemical agents (PVPI, chlorhexidine, and two solutions recommended by the WHO) to evaluate the effectiveness of surgical antisepsis for the resident skin microbiota of healthy female cats undergoing elective ovariohysterectomy.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Experimental design

A double-blind, randomized clinical study was conducted to assess the microbiological reduction efficacy of four preoperative antiseptics protocols in female cats undergoing elective ovariohysterectomy by comparing the number of colony-forming units (CFUs) per cm² before exposure to chemical agents (time-zero; T0) with the number of CFUs/cm² after exposure to chemical agents (time-1; T1). This research was based on the CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) methodology¹² and was submitted to and approved by the Animal Research Ethics Committee (CEUA) of the Faculty of Sciences of Tocantins under protocol number 13.2022/01.

2.2. Sample Size

Eighty healthy female cats were prospectively selected for elective ovariohysterectomy. This number was based on a sample size calculation for studies comparing four independent means, takes into account a previous study where an antiseptic agent achieved 98.7% microbial reduction, and adopts a significance level of 5 %, a minimum clinically relevant difference of 5 %, and a population standard deviation of 5%, with a statistical power of 95%.

This analysis revealed the need for 15.68 patients in each study group, totaling 62.72 patients for the primary outcome. Assuming a 25% rate of material and patient loss, a total number of 78.4 patients was computed (19.6 patients in each group). However, as only whole numbers could be used in the experimental groups, a sample size of 20 patients in each group was chosen, leading to a total of 80 patients.

2.3. Inclusion Criteria

Experimental animals of the domestic cat species, *Felis silvestris catus* (Linnaeus, 1758), of the female sex, who had not previously undergone elective or therapeutic ovariohysterectomy surgery, were evaluated.

77 These cats were between 6 and 36 months of age, appeared healthy with no abnormalities in their complete
78 blood count and serum biochemistry, showed no signs of ectoparasites, exhibited no clinical signs of disease
79 or infection, had not received antimicrobial therapy in the last 4 weeks, had not undergone surgical procedures
80 in the last 3 months, were not pregnant or lactating, were maintained in appropriate hygienic and nutritional
81 conditions at their residence, and their owner had signed an informed consent form (ICF).

82 83 **2.4. Animal selection and induction of double-blind randomized experimental design**

84
85 Healthy female cats were randomly selected from a veterinary teaching hospital in Brazil between July,
86 2022 and April, 2023. The experimental animals were screened for eligibility for ovariohysterectomy
87 according to the previously mentioned inclusion criteria. Laboratory tests were conducted at least 24 hours
88 before the surgical procedure. Animals aged 6–12 months underwent complete blood count and hemoparasite
89 screening. For animals aged above 12 months, in addition to the previous tests, serum levels of alanine
90 aminotransferase, alkaline phosphatase, urea, and creatinine were also measured.

91 After approval of the eligibility criteria, the animals were given a random number ranging from 1 to
92 80. The animals were then randomly assigned to one of the four antiseptics protocol groups and the number of
93 animals in each group were recorded. The group assignment of animals was accomplished through a draw
94 conducted by one of the collaborators while the other project collaborators were blind to these assignments.
95 This characterized the first part of the completely randomized design using a double-blind methodology, as
96 shown below, to prevent researcher bias.

97 Group I: 2% CHG with surfactants combined with 0.5% CHG in an alcoholic solution.

98 Group II: 10% PVPI with surfactants combined with 1% PVPI in an alcoholic solution.

99 Group III - WHO Formula 01 (80% ethanol, 1.45% glycerol, and 0.125% hydrogen peroxide).

100 Group IV - WHO Formula 02 (75% isopropyl alcohol, 1.45% glycerol, and 0.125% hydrogen
101 peroxide).

102 On prescheduled days, the animals were sent to the small animal surgery department of our teaching
103 hospital for ovariohysterectomy. The patients were accommodated in individual cat-friendly containment

104 cages (1.5 m x 1.5 m x 1.5 m) inside their own transport vehicle (provided by the owner) with a washable
105 mattress covered with a towel made of denim fabric and sprayed with feline facial pheromones and lavender
106 essential oils. In cases where the owner did not have a transport vehicle or had transported more than one
107 animal in a single vehicle, a cardboard box was used as a substitute. This cardboard box had eight 2 cm
108 diameter holes and an entrance door, allowing air circulation and ensuring a safe environment for the animals
109 during their stay in the containment cage.

110 The preoperative preparation and medication room of the surgical center at the teaching hospital was
111 maintained at a temperature of 23°C through the air conditioning system during the perioperative period. The
112 animals were kept away from noise that could stress them, separated from dogs and other animals, and covered
113 with heavy denim fabric to reduce visual acuity and visual field, aiming to decrease fear, acute stress, and the
114 subsequent release of catecholamines that can increase heart and respiratory rates as well as alter the response
115 and metabolism of anesthetic drugs, potentially leading to cardiorespiratory anesthetic complications during
116 the surgical procedure.

117 The animals remained in these cages for up to 4 hours during the preoperative period and up to 6 hours
118 during the postoperative period. The owners were also instructed to ensure that the animals underwent an 8-
119 hour preoperative fasting period for food and a 4-hour preoperative fasting period for water before being
120 transported to the facility.

121 During the preoperative period, the animals were placed on the procedure table with a restraint towel
122 and pre-anesthetic medications were administered intramuscularly, including ketamine (10 mg/kg),
123 methadone (1 mg/kg), and morphine (0.3 mg/kg). Ten minutes after drug administration, the animals were
124 positioned in dorsal recumbency and preparation of the surgical site was initiated. These preparations began
125 with abdominal hair clipping using an electric clipper with a blade previously cleaned with 70% alcohol,
126 followed by removal of the clipped hair with sterile gauze. The right forearm was clipped of hair to establish
127 access to the cephalic vein for intraoperative fluid therapy.

129 **2.5. Sample collection**

130 To collect samples of skin microbiota from the experimental animals, two 5 cm² surface area
131 polypropylene isolation templates were used that had been pre-cut, wrapped in surgical-grade paper, and
132 sterilized in an autoclave at 121±1°C for 20 minutes. The two sterile swabs were used for sample collection,
133 placed in two 5 mL transport vials containing 0.9% NaCl solution, and refrigerated at 4°C.

134 The duplicate microbiota samples collected without cross-contamination from the intact skin of each
135 animal after surgical preparation were referred to as Time 0 (T0) samples. This sample collection was
136 conducted by a trained collaborator who was blind to the tag number or identity of the animal being sampled,
137 as per requirements of double-blinded methodology. Samples were collected by wearing sterile gloves and
138 using sterile swabs (removed from the sterile packaging using an aseptic technique and handled only by the
139 sterile shaft) at the retro-umbilical surgical site. The swab was rubbed onto the animal skin in the retro-
140 umbilical surgical site by using rolling movements and applying moderate pressure to ensure that the cotton
141 fibers adequately contacted the skin surface (Figure 1). After sample collection, the shaft of the swab was cut
142 with sterile surgical scissors, and the swab itself was placed in a transport vial. Considering the 5 cm² sampling
143 area and 5 mL of transport saline solution, each mL of this solution was considered representative of 1 cm² of
144 the sampling swab.

145 The experimental surgical antisepsis procedure (Figure 2) was carried out by a trained collaborator
146 who was blind to the antisepsis group assigned to each animal and the chemical identity of the antiseptic agent
147 being employed: the squeeze bottles containing the antiseptic formulations corresponding to the antisepsis
148 groups (I, II, III, and IV) were not labeled with the active ingredients contained within the bottle to keep the
149 operating team members blind to animals and reagents. The surgical antisepsis protocol was a linear antisepsis
150 technique using a sterile folded gauze.¹³

151 Antiseptic solutions were poured onto the surgical site without the tip of the squeeze bottle touching
152 the animal skin or the gauze. In Group I, three applications of the degreasing formulation and three
153 applications of the alcoholic formulation were used, in contrast to Group II, where three applications of the
154 degreasing formulation were followed by a 2-minute waiting period for the chemical agent to take effect,
155 followed by an additional three applications of the alcoholic formulation. Groups I and II followed this
156 protocol to simulate pre-operative antisepsis and surgical/definitive antisepsis that are commonly performed

157 as part of a routine protocol with these antiseptics. In contrast, Groups III and IV used only three applications
158 of the proposed formulations, since they did not involve combinations of degreasing and alcoholic
159 formulations, as was the case with Groups I and II.

160 After completing the alcoholic applications, approximately 60 seconds were allowed to elapse and the
161 sample collection procedure for the surgical site was conducted by using the technique described earlier, and
162 these were referred to as Time 1 (T1) samples. Since this was an experimental study, after antisepsis according
163 to the predefined groups, the standard antisepsis procedure for ovariohysterectomy was carried out as per
164 standard operating procedures of the teaching hospital.

166 **2.6. Sample processing**

167
168 The microbiological evaluation involving total bacterial colony counts at times T0 and T1 was
169 conducted using the pour plate method.¹⁴ The sampling swab was homogenized using a Vortex Shaker for 60
170 s, and serial decimal dilutions were made in sterile saline solution up to a dilution of 10^{-2} .

171 For each swab homogenate dilution and the transport solution itself (integral), a seeding technique was
172 carried out in duplicate while working in a microbiological isolation cabinet. In this process, 1 mL of the
173 diluted sample or transport solution was introduced into Petri dishes containing 20 mL of Plate Count Agar
174 (PCA) at a temperature of 50°C was distributed and mixed. After a cooling period and the formation of semi-
175 solid gels, the plates were inverted and incubated in a bacteriological incubator at $35\pm 1^\circ\text{C}$ for 48 hours.

176 CFUs were manually counted using the direct counting method and by using a Colony Counter from
177 the bacterial culture plates corresponding to T0 and T1 time-points that contained samples of the Integral,
178 Time⁻¹, and Time⁻² dilutions. After counting the raw CFUs, the number of CFU/cm² was calculated and
179 recorded on computer software spreadsheets.

181 **2.7. Statistical Analysis**

182 For each experimental group of animals and assessed time points (T0 and T1), the mean CFU/cm²
183 values were computed using the raw CFU values obtained by visually counting bacterial colonies appearing

184 on the corresponding culture plates. Additionally, the standard deviation and variance values were calculated
185 for each antiseptic formulation group and time-point to assess the data dispersion and variability of bacterial
186 counts.

187 Statistical analysis of the data was performed using Student's t-test and analysis of variance. Tukey's
188 test was used to compare the means between two independent groups, allowing for the identification of
189 significant differences in colony counts among individuals within each group. The null hypothesis assumed
190 that there was no significant difference in the means between groups, whereas the alternative hypothesis
191 considered the presence of statistically significant differences. For both analyses, a statistical significance
192 level of 5% ($\alpha = 0.05$) was considered, indicating that differences with p-values less than 0.05 would be
193 considered statistically significant.

3. RESULTS

We analyzed 80 experimental animals, as shown in the CONSORT diagram (Figure 3). We found that the baseline level of bacterial colonization prior to the surgical site antiseptis protocol was 23 CFU/cm² for the cats included in our study and ranged from 1 to 234 CFU/cm². The CFU/cm² value before antiseptis in female cats did not differ between the four experimental groups ($p = 0.295$). Among the different antiseptic formulations studied, that of Group II was less effective than Groups I, III, and IV ($P = 0.0065$). Additionally, Groups I, III, and IV demonstrated statistically similar efficacy ($p < 0.05$), reducing the CFU/cm² value at the surgical site by up to 95.83% post-antiseptis (Table 1).

Regardless of the antiseptic agent used for pre-surgical skin preparation, all groups showed a reduction in the CFU/cm² value to sub-pathogenic levels (< 5 CFU/cm²) and did not differ significantly among the four types of antiseptic formulations, demonstrating that all of these can be used as chemical agents for surgical antiseptis ($p < 0.05$). No allergic reactions to the antiseptic agents used were observed within 3 hours post-application in any of the experimental animals ($n=80$).

4. DISCUSSION

Regarding the immediate reduction in the bacterial population on the skin of cats, no statistical differences were observed between the groups, demonstrating that all groups were successful in significantly reducing the microbial load on the skin of the animal patient to levels below 5 CFU/cm² after employing one of four antiseptic protocols. In a systematic review and meta-analysis evaluating the efficacy of antiseptic methods in species of veterinary interest, an intervention that achieved <5 CFU/cm² was considered successful.¹¹ However, it is important to emphasize that the presence of more than 5 CFU/cm² in a wound does not necessarily mean the immediate development of a surgical site infection (SSI), as the pathophysiology of SSI is multifactorial and involves the host immune response, bacterial virulence, and the adequacy of infection control measures.^{11, 15} Further studies are needed to evaluate all risk factors associated with SSIs in cats.

In studies of the efficacy of skin antiseptics conducted on different animal species, it was observed that the number of CFU/cm² before exposure to the antiseptic can vary depending on the species, including 7 CFU/cm² in humans¹⁶, 27 CFU/cm² in dogs⁶, and 20 CFU/cm² in horses¹⁷. In our study, we observed a mean of 23.7 CFU/cm² in 80 cats, ranging from 1 to 284 CFU/cm².

In studies comparing the use of traditional antiseptics (similar to groups I and II) in veterinary medicine, there is a tendency to believe that CHG is superior to PVPI in terms of microbiological reduction efficacy, both in dogs and cats^{18, 19}, as well as in cattle²⁰, rats^{21, 22} and ponies.²³ In the present study, group II differed statistically from groups I, III, and IV, demonstrating that the CHG antiseptic protocol was superior to that with PVPI. Furthermore, groups III and IV did not differ significantly from group I, demonstrating equivalence to CHG and validating these as effective surgical site antiseptic agents in cats.

In addition, groups III and IV were superior to groups I and II in terms of microbiological reduction efficacy at the surgical site (Table 1). These results are consistent with those of studies conducted with hydroalcoholic solutions in other veterinary species of interest, such as cattle, horses, rats, and dogs.^{6, 10, 17, 21, 24} In contrast, this is the first study in the field of veterinary medicine using WHO formulas based on

234 ethanol 80%, glycerol 1.45%, and hydrogen peroxide 0.125% (WHO formula 01–III) and isopropyl alcohol
235 75%, glycerol 1.45%, and hydrogen peroxide 0.125% (WHO formula 02–IV).

236 In addition, as a differentiating factor in the present study, the components used in the formulations of
237 groups III and IV differed from other studies evaluating the efficacy of alcohol-based solutions when
238 compared to traditional ones in veterinary patients, as these studies used 70% ethanol²¹ and 80%^{6, 10, 25},
239 isopropanol 70%¹⁰ and 72% isopropanol + 1% benzalkonium chloride.¹⁷ The formulations used in similar
240 studies did not include emollients and humectants, as is the purpose of the 1.45% glycerol used in these groups.
241 The hydroalcoholic formulation used in another study most closely resembled groups III and IV in this study,
242 in which 80% ethanol, 1.99% isopropanol, and unspecified humectants were used.²⁴

243 In a study comparing the effectiveness of 4% CHG in a degreasing solution combined with 0.5% CHG
244 in an alcoholic solution, similar to Group I in the present study (2% CHG in a degreasing solution combined
245 with 0.5% CHG in an alcoholic solution), versus a hydroalcoholic solution containing isopropyl alcohol and
246 ethyl alcohol combined with humectants²⁴, similar to Groups III and IV in the present study, we observed
247 that the tested protocols were effective in reducing the microbiota at the surgical site to <5 CFU/cm² in dogs.
248 Corroborating the results of our study, alcoholic solutions showed similar results in cats.

249 The glycerol present in the WHO formulations evaluated in the present study may contribute to the
250 effectiveness of these formulations when compared to formulations without humectants, as the function of
251 this component is to help the antiseptic remain effective for a longer duration by reducing its evaporation
252 rate.²⁶ Furthermore, the glycerol present in WHO formulations 01 and 02 also has emollient properties,
253 protecting the skin from dryness and dermatitis caused by their application.²⁷ In line with this reasoning, no
254 skin alterations were observed in the animal patients after the application of these antiseptics in the present
255 study.

256 Recently, other studies proposed modifications to the amount of glycerol in WHO formulations 01 and
257 02 and observed that the antiseptic efficacy of these formulations can be enhanced at different concentrations
258 of glycerol, with an inverse correlation between the amount of glycerol and increased efficacy.²⁷ That study
259 also observed that reducing glycerol from 1.45% to 0.5% in WHO formulations 01 and 02 increased the
260 efficacy of these formulations and provided a residual effect for up to 3 hours. The use of 1.45% glycerol in

261 these formulations is recommended by the WHO because of repeated exposure of the skin of healthcare
262 workers to this antiseptic agent that does not occur in the present surgical antiseptic protocol, as it is only
263 performed perioperatively. Further studies are needed to evaluate whether reducing the amount of glycerol in
264 WHO formulations can increase the efficacy of these solutions for preoperative antisepsis in female cats
265 without causing dryness or adverse reactions in these animals.

266 The discussion regarding the residual effect of these antiseptics is relevant since it can play a crucial
267 role in SSIs, considering that both the hands of veterinary surgeons and the skin of the animal patient can be
268 sources of contamination.¹³ It is believed that CHG has a residual effect of approximately 6 hours, while
269 PVPI does not have a significant residual effect.^{28, 29} However, studies have shown residual effects for WHO
270 Formula 01 and 02 of up to 3 hours, both for the antisepsis of the surgical team³⁰, as well as the skin of
271 animals, such as dogs, horses, cattle, and rats^{6, 10, 17, 21, 24}. These residual effects can be beneficial in
272 preventing SSIs in veterinary patients because, in addition to destroying pathogenic microorganisms and
273 reducing the microbial load on the skin of the patient, they also inhibit their growth and recolonization during
274 surgery.

275 Currently, there is no evidence suggesting that the application protocol itself significantly affects the
276 amount of skin microbiota. The WHO⁸ specifically suggests that two to three applications of the chosen
277 antiseptic should be administered during surgical preparation. However, other studies¹⁶ evaluated the efficacy
278 of microbial reduction on the skin using antiseptic protocols by comparing two or three applications of CHG
279 and PNPI in alcoholic solutions and found that the best method involved three applications. This corroborates
280 the present study because our methodology used three applications of the antiseptic in the degreasing
281 formulation associated with three applications of the antiseptic in the alcoholic formulation for groups I and
282 II, and only three applications for groups III and IV, as there were no combinations of formulations in these
283 groups.

284 The results obtained in this study suggest that all evaluated antiseptic methods are effective in reducing
285 potentially pathogenic microorganisms. Additionally, there was a statistical similarity between groups I, III,
286 and IV, demonstrating that these hydroalcoholic solutions have comparable efficacy in reducing the
287 microbiota at the surgical site. This study represents an initial advancement in optimizing surgical asepsis

288 methods in felines, providing microbiological quantification and validation for antiseptic protocols using
289 hydroalcoholic solutions recommended by the WHO, in addition to comparisons with traditional chemical
290 agents. The scarcity of specific and targeted studies on feline species highlights the need for future research
291 that deepens knowledge in this area and enhances surgical asepsis practices in surgical procedures for this
292 species. These research efforts can further contribute to the establishment of more efficient and safe clinical
293 guidelines, resulting in better clinical outcomes and animal well-being during surgical procedures and the
294 postoperative period.

295

296

297

298

299

3. REFERENCES

1. ALAMADA VK, SPRINGER BD. The revention of infection: 12 modifiable risk factors. *The Bone & Joint Journal*. 2019;101:3-9. doi: 10.1302/0301-620X.101B1.BJJ-2018-0233.R1
2. CASEY AL, BADIA JM, HIGGINS A, et al. Skin antiseptics: it's not only what you use, it's the way that you use it. *Journal of Hospital Infection*. 2017;96:221-222. doi: 10.1016/j.jhin.2017.04.019.
3. CORSINI CMM, BORGES APB, ALBERTO DS, et al. Incidência de infecção do sítio cirúrgico e fatores de risco associados na clínica cirúrgica de pequenos animais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2014;66:737-744. doi: doi.org/10.1590/1678-41626092
4. TRAJANO SC, ARAGÃO BB, PENAFORTE JÚNIOR MA, et al. A importância da antissepsia cirúrgica na prevenção de infecção no pós operatório em pequenos animais. *Medicina Veterinária (UFRPE)* ;13:343-371. doi: <https://doi.org/10.26605/medvet-v13n3-3306>
5. MAIWALD M, CHAN ESY. The forgotten role of alcohol: A systematic review and meta-analysis of the clinical efficacy and perceived role of chlorhexidine in skin antiseptics. *PLoS One*. 2012;7:1-12. doi: 10.1371/journal.pone.0044277
6. MAXWELL EA, BENETT RA, MITCHELL MA. Efficacy of application of an alcohol-based antiseptic hand rub or a 2% chlorhexidine gluconate scrub for immediate reduction of the bacterial population on the skin of dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 2018;79:1001-1007. doi: 10.2460/ajvr.79.9.1001
7. World Health Organization (WHO). *WHO Guidelines On Hand Hygiene in Health Care: A Summary*. Geneva: World Health Organization; 2009.
8. World Health Organization (WHO). *Global Guidelines for the Prevention of Surgical Site Infection*. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2018.
9. VERWILGHEN DR, MAINIL J, MASTROCICCO E, et al. Surgical hand antiseptics in veterinary practice: Evaluation of soap scrubs and alcohol based rub techniques. *The Veterinary Journal*. 2011;190:372-377. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.12.020
10. DOYLE AJ, SAAB ME, MCCLURE JT, et al. Comparison of chlorhexidine and alcohol-based antiseptics on the paralumbar fossa in cattle. *Veterinary Surgery*. 2022;51:1191-1195. DOI: <https://doi.org/10.1111/vsu.13878>
11. MARCHIONATTI E, CONSTANT C, STEINER A. Preoperative skin antiseptics protocols using chlorhexidine versus povidone-iodine in veterinary surgery: A systematic review and meta-analysis. *Veterinary Surgery*. 2022;51:744-752. DOI: 10.1111/vsu.13810
12. BUTCHER NJ, MONSOUR A, MEW EJ, et al. Guidelines for Reporting Outcomes in Trial Reports: The CONSORT-Outcomes 2022 Extension. *Journal of American Medical Association*. 2022;328. doi:10.1001/jama.2022.21022

13. FOSSUM TW. Preparation of the Operative Site. *Small Animal Surgery*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier; 2019.
14. TORTORA GJ, FUNKE BR, CASE CL. *Microbiologia*. 12^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2017.
15. SEIDELMAN JL, MANTYH CR, ANDERSON DJ. Surgical Site Infection Prevention: A Review. *Journal of American Medical Association*.. 2023;329. doi: 10.1001/jama.2022.24075.
16. ROTH JA, SCHWAB C, ATKINSON A, et al. Are three antiseptic paints needed for safe preparation of the surgical field? a prospective cohort study with 239 patients. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2020;120. Doi: 10.1186/s13756-020-00780-z
17. TANAHILL VJ, COGAN T, ALLEN K, et al. Efficacy and dermal tolerance of a novel alcohol-based skin antiseptics in horses. *Veterinary Surgery*. 2018;47:572-577. DOI: 10.1111/vsu.12793
18. PHILLIPS MFV, GREGORY CR. Chlorhexidine diacetate versus povidone-iodine for preoperative preparation of the skin: a prospective randomized comparison in dogs and cats. *Journal of American Animal Hospital Association*. 1991;27:105-108.
19. BELO L, SERRANO I, CUNHA E, et al. Skin asepsis protocols as a preventive measure of surgical site infections in dogs: Chlorhexidine-alcohol versus povidone-iodine. *BMC Veterinary Research*. 2018;14. DOI: 10.1186/s12917-018-1368-5
20. DESROCHERS A, ST-JEAN G, ANDERSON DE, ROGERS DP, CHENGAPPA MM. Comparative evaluation of two surgical scrub preparations in cattle. *Veterinary Surgery*. 1996;25:336-341. DOI: 10.1111/j.1532-950x.1996.tb01422.x
21. DEL VALLE JM, FISK EA, NOLAND EL, et al. Comparison of aqueous and alcohol-based agents for presurgical skin preparation methods in mice. *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*. 2018;57:401-414. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-17-000128
22. HUSS MK, CASEY KM, HU J, MOORHEAD RC, CHUM HH. Evaluation of 3 alcohol-based agents for presurgical skin preparation in mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2020;59:67-73. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000053
23. WILSON DG, HARTMANN F, CARTER VR, KLOHNEN A, MACWILLIAMS PS. Comparison of three preoperative skin preparation techniques in ponies. *Equine Veterinary Education*. 2011;233:462-465. DOI:10.1111/j.2042-3292.2010.00203.x
24. ASIMUS E, PALIERNE S, BLONDEL PP, et al. Comparison of hydroalcoholic rubbing and conventional chlorhexidine scrubbing for aseptic skin preparation in dogs. *Veterinary Surgery*. 2019;48:1466-1472. DOI: 10.1111/vsu.13222
25. DOYLE AJ, SAAB ME, LEWIS K, et al. Equine skin antiseptics using an alcohol-based rub. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2019;80:61-63. DOI: 10.1016/j.jevs.2019.06.004

26. MENEGUETI MG, LAUS AM, CIOL MA, et al. Glycerol content within the WHO ethanol based handrub formulation: balancing tolerability with antimicrobial efficacy. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* ;8:1-9. DOI: 10.1186/s13756-019-0553-z
27. SUCHOMEL M, EGGERS M, MAIER S, KRAMER A, DANCER SJ, PILLET D. Evaluation of World Health Organization-recommended hand hygiene formulations. *Emerging Infectious Diseases* ;26:2064-2068. DOI: 10.3201/eid2609.201761
28. POPOVICH KJ, LYLES R, HAYES R, et al. Relationship between Chlorhexidine Gluconate Skin Concentration and Microbial Density on the Skin of Critically Ill Patients Bathed Daily with Chlorhexidine Gluconate. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2012;33:889-896. DOI: 10.1086/667371
29. MACIAS JH, ALVAREZ MF, ARREGUIN V, MUNOZ JM, MACIAS AE, ALVAREZ JA. Chlorhexidine avoids skin bacteria recolonization more than triclosan. *American journal of Infection Control*. 2016;44:1530-1534. DOI: 10.1016/j.ajic.2016.04.235
30. GIBSON KL, DONALD AW, HARIHARAN H, MCCARVILLE C. Comparison of two pre-surgical skin preparation techniques. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1997;61:154-156.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Photograph to illustrate the collection of superficial skin microbiota. This method involves using a sterile isolation template in the retro-umbilical region and a sterile swab on the skin, applying moderate pressure and rolling movements to ensure the cotton fibers adequately contact the skin surface.

Figure 2. Photograph to illustrate the parallel antisepsis technique. This method involves the use of sterile Foerster forceps and folded sterile gauze for pre-operative antisepsis using the parallel antisepsis technique.

Figure 3. CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) flow diagram of cat enrollment, treatment allocation, and analysis during the study period.

TABLES

Table 1. Mean total bacterial counts and percent reduction before (T0) and after (T1) the antiseptic protocols (groups I to IV)

Parameters	CFU/cm² T0	CFU/cm² T1	% Reduction
I (n=20)	17.3±19,13	0.87±1,78	91.07±13,47 ^a
II (n=20)	16.07±17.50	1.8±2.95	81.82±22.38 ^b
III (n=20)	25.67±50.83	0.62±0.85	95.59±7.70 ^a
IV (n=20)	36±46.30	1.25±3.38	95.83±6,03 ^a

The data in Table 1 present the percentage reduction in total bacterial counts for cats undergoing elective ovariohysterectomy (n=80) in Araguaína, Brazil, from July 2022 to April 2023.

Note: ^ap>0.05 ^bp<0.05

CAPÍTULO III – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos neste ensaio clínico randomizado, prospectivo e duplo-cego, foi possível avaliar a quantidade de UFC/cm² antes e após a antissepsia de pele em 80 gatas híginas submetidas à ovariário-histerectomia eletiva e concluiu-se que os protocolos de antissepsia utilizando clorexidina degermante 2% associada a clorexidina alcoólica 0,5% (I), a Iodopovidona 10% degermante associada à Iodopovidona 10% alcoólica (II), a Fórmula 01 da OMS (III) e a Fórmula 02 da OMS (IV) apresentaram eficácia clínica na redução da carga microbiana na epiderme do sítio cirúrgico e foi possível observar que todos os grupos obtiveram o T1 <5 UFC/cm².

Com os dados obtidos, foi possível avaliar que o II diferiu estatisticamente dos grupos I, III e IV ($p > 0,01$). Demonstrando, portanto, que o digluconato de clorexidina foi superior ao iodopovidona na redução da microbiota do sítio cirúrgico alvo. Além disso, não houveram diferenças estatísticas entre os grupos III e IV em relação ao I, demonstrando, portanto, que estas formulações hidroalcoólicas são relevantes clinicamente e são igualmente efetivas ao digluconato de clorexidina na antissepsia cirúrgica para esta espécie.

No entanto, é importante ressaltar que este estudo representa um passo preliminar no aperfeiçoamento dos métodos de assepsia cirúrgica em felinos, fornecendo uma validação microbiológica para protocolos de antissepsia com soluções hidroalcoólicas através de fórmulas recomendadas pela OMS, além da comparação destas soluções com os agentes químicos tradicionais. A escassez de estudos específicos e direcionados para a espécie felina evidencia a necessidade de pesquisas futuras que possam aprofundar o conhecimento nessa área e aprimorar as práticas de antissepsia cirúrgica em pacientes submetidas a procedimentos cirúrgicos nesta espécie.

Este estudo, portanto, serve como base para futuras investigações que visem a aplicação e o refinamento desses métodos antissepsia cirúrgica, a fim de contribuir para a redução de infecções de sítio cirúrgico em felinos. Dessa forma, mais estudos são sugeridos para aplicar e aprimorar as diretrizes clínicas e estabelecer protocolos mais eficientes e seguros para a realização de procedimentos cirúrgicos eletivos em gatas.

ANEXO I – CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA DE PESQUISA EM ANIMAIS (CEUA)



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “*Comparação de quatro métodos de antissepsia cirúrgica em gatas submetidas à ovariohisterectomia eletiva*”, sob a responsabilidade de *Guilherme Machado Holzauer* que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de ensino didático, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi avaliada pela Comissão de ética da Faculdade de Ciências do Tocantins (CEUA-FACIT) em reunião realizada em 02/05/22. Mediante submissão do projeto em 23/05/22 com as devidas adequações e solicitação por parte do coordenador da proposta de parecer *ad referendum* com justificativa pertinente, a CEUA-FACIT emite a certificação de aprovação com registro nº 13.2022/01. O responsável fica ciente que nenhuma alteração poderá ser feita na condução do projeto, sem a prévia autorização por escrito desta Comissão. Após dez dias do término das atividades, ou quando esta Comissão julgar necessário, a responsável deverá apresentar relatório.

Finalidade: **Experimentação**

Vigência de autorização: **01/07/2022 a 31/03/23**

Espécie	Linhagem/raça	Idade	Peso	Quantidade	Origem
Gato	<i>Felis silvestres catus</i>	2 anos	2,5 kg	80	Atendimento na Clínica Veterinária Universitária da UFNT

Cristiane Lopes Mazzinghy
CRMV 1491
 Coordenação do CEUA- FACIT
 Portaria nº 98/2021

ANEXO II – DIRETRIZES PARA AUTORES REVISTA VETERINARY JOURNAL

Author Guidelines

Veterinary Surgery – Instructions for Authors

1. Conditions of Publication
2. Publication Ethics, Authorship, and Plagiarism
3. Studies involving animals and/or human participants
4. Manuscript Preparation
 - a. General instructions, format, and style considerations
 - b. Instructions specific to original research and retrospective studies
 - c. Instructions specific to review articles
 - d. Instructions specific to case reports and short case series
5. Manuscript Submission
6. Peer Review
7. Response to reviewers and revised submissions
8. Accepted Manuscripts
9. Journal Contact Information

1. Conditions of Publication

Veterinary Surgery, the official publication of the American College of Veterinary Surgeons, the European College of Veterinary Surgeons, and the Veterinary Endoscopy Society, invites submission of clinical and research topics that contribute new knowledge to, and impact the broad field of, veterinary

surgery. Reports of interest include, but are not limited to, pathogenesis, pathophysiology, diagnosis, surgical management, complications, and prognosis of surgical diseases in animals. Manuscripts dealing with analgesia and anesthesia of the surgical patient, minimally invasive management (including

interventional radiology) of surgical diseases, veterinary surgical education, and surgical history are also

within the scope of the journal.

To improve evidence-based surgery, manuscripts that report meta-analysis of diseases treated by surgery, prospective and randomized clinical trials of surgical disorders, and prospective case series that include a control population will be given priority for publication. The Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT: <http://www.consort-statement.org/home>) guidelines should be followed for clinical trials, and trials involving livestock species should follow the REFLECT guidelines (J Vet Intern Med

2010:24[1]). The follow-up for clinical studies focusing on outcomes should be long enough to support the conclusions of the study. This is especially relevant to studies on long-term outcomes where the duration of follow-up will vary between conditions, surgical techniques, and types of outcomes reported.

Veterinary Surgery welcomes submission of relevant review articles for inclusion in special issues, focusing on specific topics and published online. Authors interested in submitting a review article are invited to contact the editor-in-chief to verify the interest of the Journal in the topic proposed. Review articles should be aimed at updating clinicians with new perspectives on the field based on a critical appraisal of recent and relevant literature.

Veterinary Surgery welcomes the submission of articles relevant to minimally invasive surgery in all animal species. These articles may be submitted for inclusion in regular issues of the journal. Alternatively, authors are welcome to request inclusion in our annual special issue on Minimally Invasive Surgery, published online (only) with temporary free online access.

In general, case reports describing observations in a single or a few animals (short case series) will not be considered unless the report makes a substantial contribution to veterinary surgical knowledge and is not merely additive to the existing literature. Authors of case reports that do not meet these requirements are encouraged to submit to Wiley's open access journal Clinical Case Reports. Retrospective studies should be observational and include at least 10 cases.

Letters to the editor are limited to 500 words and 4 references, should reference the article being discussed and concisely explain the intent and relevance of the letter.

2. Publication Ethics, Authorship, and Plagiarism

Authorship – Veterinary Surgery follows the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors for authorship. These guidelines discourage courtesy authorship. Instead, authors should review the information provided under “Acknowledgments” (see below) to determine whether each contribution warrants acknowledgments or co-authorship. The corresponding author is responsible for ensuring that the submission meets all publication ethics, including authorship. The editorial staff is not responsible for resolving disputes between authors or potential authors of manuscripts submitted or accepted for publication.

Plagiarism and self-plagiarism – Manuscripts submitted to Veterinary Surgery are screened electronically for plagiarism. Veterinary Surgery is a member of CrossCheck, a service offered by CrossRef and powered by iThenticate software. iThenticate is a plagiarism screening service that verifies the originality of content submitted before publication. iThenticate checks submissions against millions of published research papers, and billions of

web content. Manuscripts are accepted for consideration on the understanding that they are for publication solely in *Veterinary Surgery* and that they have been neither published nor are under consideration for publication elsewhere. If the study has been previously published as an abstract (≤ 250 words in the proceedings of a scientific meeting are excepted) or in any other format, a copy must be submitted. Authors should not include entire paragraphs from their previous publications into a new submission. For example, sections related to the significance of a condition or background knowledge about the topic should be unique to each publication.

Fragmentary publication and companion articles – *Veterinary Surgery* is a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) and follows the algorithms proposed by COPE when evaluating overlaps between manuscripts derived from the same study. Fragmented reporting (or “salami publication”) of clinical or experimental studies is usually characterized by similarity of hypothesis, overlap in methodology, results and/or sample population, with or without similarity in text. In comparison, a “companion article” reports a related study by the same authors but tests a distinct hypothesis with limited overlap in terms of population, analyses, and results. Fragmentary publications affect the impact of each article and may preclude further consideration for publication.

Authors must clearly state as part of the submission process, and in their cover letter, when reporting of the study has been fragmented, or when several manuscripts have been derived from the same study. When this is the case, they should strongly justify the fragmentation and disclose the full extent of the study in the Methods section. A copy of unpublished companion articles should be provided as supplemental files at the time of submission. In addition, if a companion report or related study by the authors is referenced in the manuscript and has been accepted for publication but is not yet published, a copy must be submitted for use during manuscript review.

3. Studies involving animals and/or human participants:

Animal Use (including cadavers): A statement of institutional animal use and care (IACUC) approval is required for experimental studies involving the use of live animals. Authors should specify the name of the institution providing IACUC approval. For prospective clinical studies, informed consent from owners for study inclusion is required. For studies on cadaveric specimens, authors should disclose the origin of cadavers, even when euthanasia was unrelated to the study. If cadavers were obtained from Other experimental studies, IACUC approval of these studies should be disclosed. If cadavers of client-owned animals were obtained, the method of owner consent for inclusion in the study, or for donation for research,

must be disclosed. Retrospective studies of clinical cases should be observational and generally do not require IACUC approval. Authors should not submit retrospective studies on new techniques or treatments that have no prior validation and are instead encouraged to consider prior experimental or prospective clinical studies. Studies designed as “retrospective” but aiming to assess feasibility of a procedure will not be accepted. For clinical studies, inclusion and exclusion criteria must be included. Authors are encouraged to justify sample size, preferably through power analysis in the data analysis section (see Statistical Guidelines for Authors).

Authors are required to certify that the study submitted was conducted in a manner consistent with the U.S. National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, the Animal Welfare Acts (US PL 89-544;91-579;94-279), and the Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching, including appropriate methods of euthanasia (following American Veterinary Medical Association Guidelines for the Euthanasia of Animals).

Regulations governing experimental animal use in some countries are more stringent than those in the US; when this is the case, authors from those countries are cautioned to ensure that their studies meet the requirements of the country in which the study was conducted. For all other countries, the minimum standard for publication in *Veterinary Surgery* is compliance with US regulations. Inappropriate experimental use of animals or inadequate anesthesia and analgesia, including postoperative analgesia, will preclude further consideration.

Research involving human participants: A statement of Institutional Review Board (IRB) approval is required for all studies involving human participants, including those involving surveys or scores of students. Studies involving human participants will be published only when conducted in full compliance with the World Medical Association Declaration of Helsinki. Per guidelines of the American Medical Association, manuscripts should not refer to humans as “subjects” but rather as “participants” or “patients.”

Declaration of interest should be disclosed (see disclosure in section 4, Declaration of interests). The corresponding author is responsible for ensuring accurate declaration of interests from each co-author.

4. Manuscript Preparation

a. General Instructions, format and style considerations

Two copies of the manuscript in Microsoft Word format are required: one complete version with a title page and one blinded manuscript (redacted) without a title page or any

identifying information (e.g., authors' names, initials, or institutions) within the body of the manuscript, and electronic copies of any illustrations.

Manuscript Format – Manuscripts must be prepared in Microsoft Word (Times New Roman 12 point), line numbered, double spaced, and in English (American spelling); on letter (8.5- × 11-in) not A4 paper, with default margins (1-in top and bottom, 1.25-in left and right), and with sections organized sequentially; and the entire manuscript must meet the word count limit for the corresponding type of submission. Each manuscript component should begin on a new page. Components of a manuscript are described under specific instructions for each type of submission.

Title Page – must include:

1. The article title; should be brief and identify the scope of work. Do not include a sentence. The name of a society or organization may be included in the title of a research manuscript if:

- a. The name refers to a professional, internationally recognized non-for-profit non-commercial entity;

- b. The organization has a mechanism (i.e. research committee) for standardized and rigorous review of research proposals prior to endorsement;

- c. The study was reviewed and endorsed by that organization;

- d. Participation was open to all members of that organization and recruitment relied on the organization's communication methods (such as social media pages, email database, listserv);

- e. The society adheres to and promotes the authorship criteria of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).

2. Author names [full first name, middle initial, last name] and credentials. If you are an ACVS Diplomate, include either DACVS, DACVS (Large Animal), or DACVS (Small Animal), depending on your specific certification.

3. Institutional affiliation (city, spelled out state name if US [e.g., Knoxville, Tennessee] or city, country if not US [e.g., Copenhagen, Denmark] but not mailing address). Author affiliations should also be denoted with a superscript Arabic numeral placed after each author's last name before degrees that corresponds to the institutional affiliations listed. (Veterinary Surgery does not publish current addresses or affiliations of authors if different from those at the time the work was performed, except for the corresponding author.)

Separate paragraphs should specify:

1. Any grant or other financial support;

2. Any financial or other conflict of interest of any author related to a company or product used in the report must be declared in the disclosure statement;
3. The meeting, if any, at which the results of the report were presented including location and dates;
4. The name, mailing address, and e-mail address of the corresponding author.

Any financial or other conflict of interest of any author related to a company or product used in the report must be declared in the Disclosure Statement.

Acknowledgments – List the last name, initials and credentials (e.g., Smith R., DVM, PhD) along with a brief description of the contribution.

The role of each co-author (including the nature of the intellectual contribution) should be described in this section, with enough details to justify co-authorship. Multi-center studies should disclose the number of cases for which each author collected and provided data.

Authors are encouraged to review the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors to verify that the level of contribution justifies co-authorship.

The ICMJE definition of authorship indicates that authorship be based on the following four criteria:

Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND

Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND Final approval of the version to be published; AND

Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

In addition to being accountable for the parts of the work he or she has done, an author should be able to identify which co-authors are responsible for specific other parts of the work. In addition, authors should have confidence in the integrity of the contributions of their co-authors.

All those designated as authors should meet all four criteria for authorship, and all who meet the four criteria should be identified as authors. Those who do not meet all four criteria should be acknowledged but not listed as co-authors. These authorship criteria are intended to preserve the status of authorship for those who deserve credit and can take responsibility for the work. The criteria are not intended for use as a means to disqualify colleagues from authorship who otherwise meet authorship criteria by denying them the opportunity to meet criterion #s 2 or 3. Therefore, all individuals who meet the first criterion should have the

opportunity to participate in the review, drafting, and final approval of the manuscript. Since authors should be aware of the contributions made by other co- authors, changes in authorship after initial submission will require strong justification.

The contribution of co-authors should be included in the blinded and complete versions of the manuscript. However, authors should eliminate identifying information in the blinded manuscript (Replace names by author 1, 2... and XXX for other contributors).

Example:

Author 1 identified suitable medical records, recorded demographic information, compiled all data, interpreted data, drafted and revised the manuscript.

Author 2 contributed to the design of the study, performed radiographic measurements, and interpreted data

Author 3 contributed to the design of the study, analyzed data for statistical significance

Author 4 contributed to the design of the study, was responsible for the surgical management of the case, oversaw data collection, provided intraoperative photographs, interpreted data and provided scientific, in-line editing of the manuscript.

All authors provided a critical review of the manuscript and endorse the final version. All authors are aware of their respective contributions and have confidence in the integrity of all contributions.

Declaration of interests – The goal of this declaration is to inform readers of any relationship, activity or interest from any co-author that might appear to affect the ability to present findings objectively. The International Committee of Medical Journal Editors has recently published the ICMJE Disclosure Form to guide authors in this disclosure.

Veterinary Surgery follows the guidelines of the ICMJE and requires that all authors' relationships, activities and/or interests listed in the form over the past 36 months be disclosed at the time of submission. The corresponding author is responsible for retrieving the information from each co-author and providing an accurate declaration of interest in the submission.

Publication of a report using or evaluating a commercial or candidate product or device does not convey or imply endorsement by Veterinary Surgery, the American College of Veterinary Surgeons, or the European College of Veterinary Surgeons.

References – Number references sequentially as they are cited in the text (or tables and legends; sequence must be continuous at the place of the first mention of a table or figure [see AMA Manual of Style 3.6]), using superscripted Arabic numerals. Superscripts must be placed after commas or periods and before semicolons or colons (e.g., “in pigs,¹¹ ruminants,¹⁵ and horses¹⁶⁻¹⁸; however, not in dogs³⁻⁵, 10 or cats.¹⁹”).

References must be verified by the author(s) against the original documents. The correct format for journal citations is: year; volume number: first page-last page. See below for examples. After manuscript acceptance for publication, any field formatting or automatic numbering inserted by reference managing software programs must be removed before typesetting. Reference listings should follow American Medical Association (AMA) Manual of Style, 10th edition.

Journal article – in print – one author

Physician SJ. Heal thyself – but not on your own please. *Med Educ.* 2005;89:548-549.

Journal article – in print – 2-6 authors

Salwachter AR, Freischlag JA, Sawyer RG, Sanfey HA. The training needs and priorities of male and female surgeons and their trainees. *J Am Coll Surg.* 2005;201:199-205.

Journal article – in print – 7 or more authors

Berrios-Torres SI, Umschmeid CA, Bratzler DW, et al. Centers for Disease Control and Prevention guideline for the prevention of surgical site infection, 2017. *JAMA Surg.* 2017;152:784-791.

Journal article – online *if there is no DOI, provide the URL for the specific article

Coppinger T, Jeanes YM, Hardwick J, Reeves S. Body mass, frequency of eating and breakfast consumption in 9–13-year-olds. *J Hum Nutr Diet.* 2012;25(1):43-49. doi: 10.1111/j.1365-277X.2011.01184.x

Tables and their titles should be included at the end of the manuscript. Figures should also be listed (but not included) at the end of the manuscript but uploaded as separate files.

Figures – Each figure should have a title. Legends should be typed double spaced, with Arabic numerals that correspond to the sequential use of the figures in the text. Explain clearly any symbols, arrows, numbers, or letters used. Abbreviations used in figures must be defined in each and every figure legend individually even when they have been expanded in the article text. For photomicrographs, identify method of staining, include a scale bar, and indicate magnification. Figures (photographs, radiographs, graphs, microscopic images) must be submitted in JPEG, TIFF, or EPS format. Graphics software (e.g.,

Adobe Photoshop, Illustrator), not presentation software (e.g., Microsoft PowerPoint, CorelDraw, Harvard Graphics), should be used to create the art. Images should be of sufficient resolution for production at the time of submission. Manuscripts submitted with images of insufficient resolution will not be reviewed until adequate images have been submitted.

Minimum image resolution: line art, 600dpi; images, such as photographs, 300dpi.
Minimum image size:

1. small figures (less than ¼ of a page): 80 mm canvas size; or pixel dimensions (width) 1800px minimum
2. large figures (images that will as ½ page or larger): 180 mm canvas size; or pixel dimensions (width) 1800px minimum

Do not embed the figure number within the image, and do not embed images in the Word document. Illustrations will be reproduced free of charge. Line and wash drawings should be professionally executed and photographed, with lettering large enough to be easily read after necessary reduction.

Tables – Each table must be prepared using the Table tool in Microsoft Word (do not embed images of tables) on a separate page at the end of the Word document and be numbered consecutively in order of citation in the text. Each table should have a title. Table captions should be as brief as possible and be placed above, not within, the table and must be complete so that the table can be understood without reference to the text. Large tables are discouraged; data should be summarized and included in the results section when possible. Give each column a short or abbreviated heading. Put explanatory matter in footnotes (with superscripted lowercase letter callouts) below the table, not in the heading. Footnotes are listed at the bottom of table, each on its own line, with the superscripted lowercase letter callout placed before each footnote. Abbreviations are expanded in alphabetical order (abbreviations: CI, confidence interval; OR, odds ratio.). All abbreviations used in tables must be defined in each and every table footnote individually, even when they have been expanded in the article text.

Supplementary Materials – Video clips (endoscopy, ultrasonography, gait studies, etc.) can be published online and should be identified sequentially in the text. Large tables or data sets can also be provided online as supplementary materials but will not be proofed or typeset. Wiley Publishing is not responsible for the content or functionality of any supplementary materials supplied by the author. Any queries (other than missing material) will be directed to the corresponding author for the article. The format for referencing supplementary material in a manuscript is: The following supplemental material is available for this article online:

Video Clip S1. CT contrast arthrography of the PIP joint

This material is available as part of the online article from: (an electronic link will be added after preparation of galley proofs)

Style Considerations

1. Use nonproprietary names of drugs, devices, and other products, unless the specific trade name of a drug is essential to the discussion. In such cases, use the trade name

once and the generic or descriptive name thereafter. Do not include trademark symbols. Trade names, along with the manufacturer's name and location, should be included in parentheses if the drug is not commonly used in veterinary medicine.

2. Any drugs, products, or equipment not commonly known need to have the brand or trade name, source, city, state abbreviation, if USA, or country, if not the USA, included in parenthesis after the item is first mentioned in the report. If the company is cited again, only the company name needs to be provided. Do not use trademark (® TM) or the registered trademark symbol (® R).

3. For routes of drug administration, IV and IM do not need to be expanded/spelled out.

Subcutaneously and orally are never abbreviated (except in tables with expanded spelling in footnote). Frequency of administration should be reported as once daily, twice daily (or every 12 hours), every 8 hours, etc., never as SID, BID, etc. (except in tables with expanded spelling in footnote).

4. Laboratory values should be reported in conventional US units with reference intervals provided in parentheses. With the exception of laboratory values, all other measurements should be in the International System of Units (SI units). If confusion could result, include other measurement systems in parentheses. Spell out second, minute, hour, except in text in parentheses (/min, /h, /s) or in tables (no footnote expansion required).

5. All terms (see AMA Manual of Style chapter 14 and below for exceptions) must be expanded/spelled out at first use in the article, with the abbreviation immediately following in parentheses if and only if the term is used again in the text of the article (i.e., a term used only once is not abbreviated): blood urea nitrogen (BUN), cranial cruciate ligament (CCL), tibial plateau leveling osteotomy (TPLO). This must be repeated separately for the abstract, the article proper, and each figure legend and table (in footnote). Common exceptions are: 95% CI, AIDS, DNA, MRI, IM, IV (but IVIG must first be expanded to intravenous immunoglobulin), RNA (but mRNA and RNAi must first be expanded), SD, SEM.

6. Veterinary Surgery adheres to the principles specified in *Nomina Anatomica*, *Nomina Histologica*, *Nomina Embryologica*, *Nomina Anatomica Veterinaria*, and *Nomina Anatomica Avium* for nomenclature.

7. Numerals should be used to express numbers in most circumstances with the exceptions: numbers that begin a sentence, title, subtitle, or heading; common fractions; accepted usage such as idiomatic expressions; numbers used as pronouns, and other uses of the

number “one” in running text; ordinals first through ninth; numbers spelled out in quotations or published titles; and some uses of numbers 0 through 9.

8. Figures and tables must be cited in sequential order in parentheses in the text. For figures the following style is used:

- i. Spell Figure and Table out in full (even in parentheses)
 - ii. Uppercase labels, closed-up with number (e.g., Figure 1A, Figure 1A,B, Figure 1A-C, Figures 2B and 3D)
 - iii. Use hyphen for ranges
 - iv. Citations to figures from other sources should be lowercase and contracted (e.g., fig. 3)
9. All footnotes must be incorporated in parentheses in the text.
- b. Instructions specific to original research and retrospective studies

Manuscripts reporting original clinical, research or retrospective studies are evaluated by experts using a specific rubric, available in the section on Peer Review. Authors should review our guidelines on Animal Use before submitting their publication. Authors are encouraged to review this rubric before submitting their publication. Retrospective studies must be observational and therefore should not aim at testing feasibility or outcomes of procedures or implant that warrant validation prior to clinical implementation. Such goals should be pursued through experimental or clinical prospective trials, conducted with prior review and permission. Studies that do not meet the journal’s standards for ethical use of animals will be rejected without review. In addition, the word count of the complete manuscript (including tables, legends and references) should not exceed 6,000 words. Manuscripts exceeding 6,000 words, poorly prepared or poorly written will be returned without peer review. Authors with limited experience in scientific writing in English are encouraged to seek assistance from professional editing services. Examples of English editing services are listed at Wiley Editing Services or BioScience Writers. If such assistance has been obtained, a copy of the Editor’s certificate should be attached as a supplemental file.

Each manuscript component should begin on a new page and include, in the following order, title page, abstract, introduction, materials and methods, results, discussion, acknowledgment, disclosure statement (conflicts of interest), references, figure legends, and tables. Do not embed illustrations or photos in the Word document or insert figures or tables within the methods, results, or discussion. Incorrectly formatted manuscripts will be returned to the authors for correction. Images and illustrations will be uploaded separately during the submission process.

Abstract – The abstract should allow readers to understand the scope of research, assess the validity of conclusions, and appreciate the impact of the study without reference to the manuscript. A structured abstract is required and should be organized under the headings:

Objective: Brief statement disclosing the goal of the study (why was the study performed) rather than its means (how was the study performed). Do not include background information or hypothesis.

Study Design: List here the study design such as experimental study, clinical prospective study or retrospective study for example. Indicate case control, randomization here. Retrospective studies should be observational, i.e., without intent of reporting at the time of treatment.

Animals or Sample Population: Include the number of animals or samples per group.

Methods: This section should disclose the main methods used to address the objectives. The reader should be able to appreciate the general adequacy of the scientific method used to address the objectives.

Results: Provide results that are essential to address the objectives, support the conclusions, and allow readers to evaluate the clinical relevance/impact of findings. Such information would include number of samples analyzed per group (if different from those listed under sample population), duration of follow-up (include measure of spread), most relevant outcomes, and magnitude of change/difference observed (beyond P-value). Interpretation of results should not be included in this section. Ratios should be reported instead of percentages for observations with low sample size.

Conclusion: This section should (1) address the objective, (2) be strictly derived from the results provided in the abstract, and (3) be written in past tense. Authors may consider restricting their conclusion to the setting of their study.

Clinical Significance (or Impact): This statement, generally in present tense, should explain the difference that the results/new knowledge in the study will have on the field. Future directions of research are generally not included here, unless the study sought to develop an experimental model.

The abstract is limited to 250 words. Key words are not included.

Introduction – The introduction should generally fit within approximately 1.5 pages of double-spaced manuscript. This section should first briefly describe the importance of the issue or condition targeted in the manuscript. Authors are welcome to include objective data as evidence of severity or morbidity of a condition or document its economic burden, for example. Background information should succinctly inform readers of current practices and knowledge

in the field. Avoid use of material that is common knowledge and not germane to the primary objective of the report. This section should end with a description of the gap in knowledge or limitations of current practices, along with their importance.

The study should be clearly justified, and a rationale proposed if the manuscript focuses on a novel approach (e.g., technique or implants). The introduction ends with objectives and, preferably, hypotheses.

The objectives should indicate why the study was performed (intent) rather than how it was conducted (means). The objectives should address the gap in knowledge or limitations of current practices stated earlier. The objectives should be consistent throughout the article, and authors are encouraged to copy the objectives stated in the abstract. The study should be designed to meet the objectives and propose valid conclusions that directly relate to the objectives. Authors are encouraged to follow their objectives by one or several hypotheses. The hypotheses should match the objectives, be testable based on the study design, and accepted or refuted in the discussion. Authors are encouraged to disclose the basis for their hypothesis (“based on clinical impression, preliminary data, previous published evidence, comparative studies in man...”, “we hypothesize that...”), along with their expected findings (rather than a null hypothesis). If an absence of difference (null hypothesis) is effectively expected, sample size should be well justified under materials and methods (preferably via power analysis) to address the risk of Type II error. Veterinary Surgery encourages the submission of hypothesis-driven projects but recognizes that this format may not be applicable to all studies.

Materials and Methods – The materials and methods section should report, without ambiguity, the study design, the methods used, and methods used for data reduction and statistical analysis. In experimental studies, the method of randomization of subjects must be reported. Criteria for inclusion and exclusion should be clarified. Authors are encouraged to use subheadings to separate study subjects, procedures, measures of outcome, and data analysis. For retrospective studies, methods should disclose criteria for inclusion and exclusion, data collected from records and other means of follow-up. Authors are encouraged to consider and disclose the minimum duration of follow-up required to address their objectives.

The section on data analysis should clearly list the variables that were analyzed, along with the tests used. In addition, sample size (preferably power analysis) should be justified here, especially when the authors seek to establish the absence of difference or effect (null hypothesis). Authors are strongly encouraged to review the Statistical Guidelines for Authors and enroll the assistance of a statistician to design their study and analyze results for statistical

significance. Such assistance should be disclosed in the authorship, acknowledgments, cover letter, and/or response to reviewers.

Do not include identifying information e.g., clinic or hospital. Any drugs, products, or equipment not commonly known need to have the brand or trade name, source, city, state abbreviation (if USA), or country (if not the USA), included in parentheses after the item is first mentioned in the report. If the company is cited again, only the company name needs to be provided, e.g., “curved dissecting forceps (Karl Storz Veterinary Endoscopy, Goleta, CA), grasping forceps (Karl Storz Veterinary Endoscopy).”

Results – Results should succinctly outline the pertinent outcomes of the study, in the same order as the methods section. For clinical and retrospective studies, the duration of follow-up (median, minimum and maximum) must be disclosed before measures of outcome, along with the nature of the follow-up (physical examination, survey, phone call or tests, for example). Avoid unnecessary repetition of information in tables. Do not include sentences such as “Findings A are listed in Table x” because these do not add to the scientific content of the manuscript. Instead, provide a general statement regarding the main findings that readers should retain from the table and cite the table in parenthesis. Because differences should be based on statistical significance and clinical relevance, rather than indicating the presence of a difference with a generic reference to “significant” or “statistical,” state the nature of the difference (e.g., “reduced” or “increased”), provide an indication of magnitude of the difference, and include the P-value in parentheses. Results should be reported as ratios rather than percentages for observations with low sample size.

Discussion – The discussion should generally fit within approximately four pages of double-spaced manuscript. The opening paragraph should state clearly and concisely the main findings of the study. Each key point is developed in an individual paragraph, contrasting results of the study with previous literature and discussing how limitations may impact the validity of each conclusion. The discussion should generally not follow the same structure as the methodology and results sections, which are centered on the type of data collected. Instead, the discussion should follow a logical flow, organized around each main finding of the study. Results should not be restated but should be judiciously inserted to support the authors’ claims. Avoid repetition of material reported in the introduction, and do not include general knowledge. The clinical relevance or impact of the study should be discussed within each paragraph or at the end of the discussion. This is especially important when animals have been euthanized for the purpose of the study. A concluding paragraph is required, briefly summarizing the key points of the study, their relevance, and future directions.

c. Instructions specific to reviews

Authors interested in submitting a review article are invited to send a summary of their proposed review to the editor-in-chief to verify the interest of the journal in the topic proposed. Review articles should update clinicians with new perspectives on the field and include a critical appraisal of recent and relevant literature.

Review articles are evaluated with a specific rubric, available in the section on Peer Review. Authors are encouraged to review this rubric before submitting their publication. Considering the importance of cited literature in review articles, the word count of these manuscripts (including tables and legends) should not exceed 6,000 words, excluding references. Manuscripts exceeding the word count, poorly prepared or poorly written will be returned without peer review. Manuscripts should be written in a style that enhances readability (clear, direct, concise, with appropriate grammar and spelling). Authors with limited experience in scientific writing in English are encouraged to seek assistance from professional editing services. Examples of English editing services are listed at Wiley Editing Services or BioScience Writers. If such assistance has been obtained, a copy of the Editor's certificate should be attached as a supplemental file.

Meta-analyses should be formatted like original research articles. For all other review articles, the abstract should consist of a summary including background, aim(s) of the review, conclusions and implications of key findings. Review concepts derived from a critical appraisal of relevant literature should be presented clearly, concisely and without bias. The value and importance of the information to the practice or study of veterinary surgery should be clear. Reviews should conclude with a summary of the key concepts covered.

Acknowledgment(s), disclosure statement (conflicts of interest), references, figure legends, and tables follow. References should be selected to represent a contemporary perspective with some historical context. The use of illustrations and tables is encouraged. Do not embed illustrations or photos in the Word document. Images and illustrations will be uploaded separately during the submission process.

d. Instructions specific to case reports and short case series

In general, case reports describing observations in a single or a few animals (short case series, including fewer than 10 animals) will not be considered unless the report makes a substantial contribution to veterinary surgical knowledge and is not merely additive to the existing literature.

Reporting a procedure previously established but performed for the first time in a new species generally does not add enough new knowledge to justify publication, unless unique aspects of the procedure or management have been adjusted. Case reports and short case series require definitive diagnosis, long-term follow-up and strong supporting documentation (images and videos are encouraged) of the unique aspects of the report. Authors of case reports that don't meet these requirements may consider submitting to Wiley's open access journal *Clinical Case Reports*.

Case reports and short case series are evaluated with a specific rubric, available in the section on Peer Review. Authors are encouraged to review this rubric before submitting their publication. In addition, the word count of the complete manuscript (including tables, legends and references) should not exceed 4,000 words. Manuscripts exceeding 4,000 words, poorly prepared or poorly written will be returned without peer review. Manuscripts should be written in a style that enhances readability (clear, direct, concise, with appropriate grammar and spelling). Authors with limited experience in scientific writing in English are encouraged to seek assistance from professional editing services. Examples of English editing services are listed at [Wiley Editing Services](#) or [BioScience Writers](#). If such assistance has been obtained, a copy of the Editor's certificate should be attached as supplemental file.

Format: Each manuscript component should begin on a new page and include in the following order: title page, abstract, introduction, materials and methods, results, discussion, acknowledgment, disclosure statement (conflicts of interest), references, figure legends, and tables. Do not embed illustrations or photos in the Word document or insert figures or tables within the methods, results or discussion.

Incorrectly formatted manuscripts will be returned to the authors for correction. Images and illustrations will be uploaded separately during the submission process. The abstract should be structured with the following headings: Objectives, Animals, Study design (case report or short case series), Methods (history, diagnosis, treatment), Results (outcomes), Conclusion (new knowledge, unique aspects of the report). A statement of impact is not required for these reports, given the nature of the evidence provided.

The introduction should provide the reader with relevant background and provide a convincing justification for the report. The methods should describe a diagnostic approach that meets standard-of care and establishes the diagnosis. The treatment should be described in detail, and justified, as the best alternative for the case reported. The results section should focus on outcomes, documented through appropriate follow-up diagnostic evaluations (including objective measures), of adequate

duration to support the conclusion. The discussion should focus on the unique aspects of the report and new knowledge and should not aim for an exhaustive review of the literature. In the “conclusion”, the authors should clearly explain the value of the new knowledge derived from this case / series without overreaching statements. The inclusion of illustrations (images and/or videos) is expected.

5. Manuscript Submission

Veterinary Surgery only accepts manuscripts by online submission through ScholarOne Manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/vsu>.

Authors will submit 2 manuscript files:

1. “Blinded Manuscript” – A copy of the manuscript without title page or any identifying information (e.g., authors’ names, initials, or institutions). Respective roles of co-authors should be listed under acknowledgements replacing authors’ names by author 1, 2 etc... Any references within the manuscript to author’s names or clinic/university name should be removed or replaced with XXX in the blinded manuscript. A proof for reviewers will be prepared from the blinded manuscript. Authors should not identify specific references as coming from their laboratory, e.g., “We previously reported¹³”, instead “Previous reports¹³”.
2. “Complete Manuscript” – A copy of the manuscript for the editors, with the title page as the first page, abstract and identifying information included. Complete versions of revised manuscripts should be identified with the manuscript number and clearly labeled as “complete manuscript.” Authors should verify that the file includes the title page, abstract, all disclosures and identifications inserted in the text. Incomplete files will be returned to authors and delay the processing of accepted manuscripts.

Important notes:

Each figure should be uploaded separately, under the file type “Figure”, in one of the acceptable figure formats listed above.

Tables should be added to the end of the manuscript file.

Any other files, such as certificates from professional editing services, can be uploaded as a “Supplementary File.”

All co-authors must be entered into ScholarOne, with their name, e-mail address, and institution. Authors are required to suggest at least 2 recommended reviewers. These suggestions are for guidance only, and the editors are not required to use them. The recommended reviewers should be knowledgeable in the topic area of the submitted manuscript and should not have

any positive or negative bias that would prevent them from providing an objective review of the manuscript. Examples would include current colleagues, past or current collaborators, or mentors.

Authors should disclose the assistance received in statistics through authorship, acknowledgments, cover letter, and/or response to reviewers.

When submitting a revision, you will be asked to enter your response to the decision letter into a text box. Please do not submit your response to reviewers as an attached file. Also, be sure that your response to the reviewers does not contain any information that would identify you to the reviewers.

You will be asked to review a proof of the uploaded files before you finalize the submission.

Please contact Erica Byrd, ebyrd@wiley.com, or the VSU Editorial Office, vsueditorial@wiley.com, with any questions about submission.

6. Peer Review: guidelines for reviewers

A double-blind peer review process is used, involving at least 2 reviewers who are members of the editorial review board or other veterinarians or scientists with disciplinary expertise. The reviewers' comments are reviewed by an associate editor who makes a recommendation on the suitability of the report for publication to the Editor-in-Chief, who makes the final decision. The editors reserve the right to seek consultation on appropriateness of study design, survey instruments, and methods used for statistical analysis of data.

Manuscripts that report studies that are otherwise scientifically sound may be rejected before or after peer review because they do not meet the journal's ethical standards for animal or human subjects use, lack breadth of appeal, impact, or are outside the interest area of the journal. Likewise, studies that are simply additive to literature and do not provide substantial discovery, mechanistic insight, challenge dogma, or highlight novel understanding are not likely to be considered suitable for publication.

Manuscripts that are poorly prepared or poorly written will be returned without peer review. Manuscripts should be written in a style that enhances readability (clear, direct, concise, with appropriate grammar and spelling). Authors with limited experience in scientific writing in English are encouraged to seek assistance from professional editing services. Examples of English editing services are listed at Wiley

Editing Services or BioScience Writers. If such assistance has been obtained, a copy of the Editor's certificate should be attached as supplemental file.

Guidelines for reviewers:

Invited reviewers who feel they have a conflict of interest (defined under “disclosure” in section 4) with, or bias toward, the submission should decline the invitation. The scientific reviews of initial submissions follow rubrics specific to each type of submission. These rubrics are designed to standardize the feedback provided in scientific reviews of initial submissions, and guide reviewers through the process, while allowing detailed comments. Authors are strongly encouraged to review the rubric corresponding to their type of study before submitting their manuscript. Rubrics are available for:

Clinical, research, and retrospective studies Case reports and short case series
Review articles

Reviewers are expected to provide unbiased and constructive criticism, aiming to improve manuscripts in terms of scientific content and clarity. Reviewers typically recommend against publication (rejection) if they feel that the study has flaws that cannot be addressed through mere revision, such as insufficient data, inadequate study design, issues related to animal use, or insufficient justification and impact of the study. These reviewers will generally not review a revised version of the manuscript, should it move forward based on other reviews. Major changes typically relate to aspects of the manuscript that could alter the conclusion or impact of the study, as well as those essential to allow reproducibility of the research. Reviewers recommending major changes should be prepared to review the revised version of the manuscript. Minor changes relate to nuances or slight modifications that do not alter the conclusion, impact or reproducibility of the study. In these cases, the Associate Editor generally evaluates how the authors addressed the comments.

Revised manuscripts will be re-reviewed before a decision on suitability for publication is made. Reviewers should evaluate how authors addressed their concerns and avoid requesting changes on content present in the initial submission. Manuscripts are expected to have satisfied scientific concerns by the second cycle of reviews (R2 versions). If not, the Editors will serve as referees to move the review process toward a final decision on the third revision (R3), opting for "Minor decision" or "Reject". Revised manuscripts that fail to address the original concerns, or that uncover further weaknesses in study design or content at this stage, will be considered unsuitable for publication in *Veterinary Surgery*. Acceptance is not determined by whether the outcomes support or refute the study's a priori hypotheses.

7. Response to reviewers and revised submissions

Manuscripts revised in response to reviewer and editorial staff comments must be submitted within 30 days of receipt of the decision letter and be accompanied by responses to reviewer and editorial comments. No extension is provided for case reports or short case series.

If you are unable to revise other types of articles within the timeframe, please contact the Managing Editor, justifying your request for an extension.

Reviews aim to improve manuscripts in terms of scientific content and clarity for readers. Authors are expected to provide constructive responses to each comment, focusing on science and facts. Reviewers should be able to appreciate how comments were addressed by reading the response alone. The following format is recommended:

1. Copy each comment of the review and respond immediately below each comment, clearly separating the response from the comment. Font changes may not be visible once your response is uploaded in Scholar One. Instead, start your response on a new line, indent and indicate before your comment “Response”:.... Skip a line between comments.

2. Include a copy of the revised text in your response if the revision is substantial to ensure that the reviewer can match the comment and response. In addition, identify the line numbers in the revised blinded, word version of the manuscript.

3. If you opt against a recommended change, do not ignore it. Instead, provide a justification for your decision. If possible, provide facts, data or references to support your perspective.

4. Conflicting reviews: Comments made by the Editor-in-chief take precedent, followed by those of the

Associate Editor. The Associate Editors should provide guidance when there are conflicting requests between reviewers. Without such guidance, you may select the reviewer’s recommendation that makes most sense to you, justify your decision and mention in your response which reviewer’s comment you agree with.

5. Do not sign the response letter with your name or otherwise identifiable statement

6. Address all comments. For minor changes, such as request to replace or add a word, state “amended as requested”, followed by line number in the blinded version of your Word document.

Revised manuscript:

1. Highlight changes in the revised manuscript unless they are so substantial that the entire text would be highlighted. If so, copy specific changed portions in your response under each corresponding comment.

2. Use software (spell check, Grammarly for example) before sending your revised manuscript to co- authors. All co-authors must have reviewed your final document before resubmission.

3. Verify the absence of comments and other identifiable changes (initials attached to tracked changes) before uploading your manuscript, especially the blind version.

4. Verify that you upload a complete version of the manuscript, especially if you have received a recommendation for “minor revisions”. A complete manuscript is required before your submission can be accepted for publication (see below).

5. If the manuscript requires revision due to questioned analyses, the authors should include the data used for the reported analyses as a SAS, Excel, or txt file, in English.

8. Accepted Manuscripts

Acceptance Criteria – Selection of manuscripts for publication will be based on originality, impact, methodology, timeliness, appropriateness of conclusions, and quality of presentation. Authors are expected to acknowledge sources of extra-institutional funding or support, as well as any financial interests in companies that manufacture products that are the subject of their research (see Disclosure Statement). Incomplete files will be returned to authors, thereby delaying the processing of accepted manuscripts.

Style Editing for Publication – Complete versions of revised manuscripts should be identified with the manuscript number and clearly labeled as complete version. Authors should verify that the file includes the title page, abstract, all disclosures and identifications inserted in the text. The final draft of the complete manuscript will be edited by the editor-in-chief or an associate editor and all changes must be incorporated in the final version before submission for typesetting. No additional material, except where requested by the editor-in-chief, may be added to the report during final revision or to the galley proof. Depending on the magnitude of editing and outstanding questions, edited manuscripts are either returned to authors with queries, or sent directly to production. Manuscripts requiring minor editing will be sent immediately to production, and will be included on the galley proof, for author’s review. Those requiring extensive editing will be returned for review by the authors before going into production. Galley Proof Correction – After typesetting, the corresponding author will receive the galley proof by e- mail for final review. Corrections must be returned to the publisher within 48 hours. Any errors not detected or corrected on the galley proof will require publication of an erratum. Minor comments/questions from the editor-in-chief may be addressed by authors at that time. Proof corrections are costly, and changes should be limited to correction of typographical errors.

Early View (Online publication before Print) – After the galley proof has been corrected, the manuscript will published online in advance of print publication. “Early View” articles are the version of record, they are complete and final, and have a digital object identifier (doi) that

allows tracking and citation of the article before inclusion in a print issue of Veterinary Surgery. The Early View proof is final and any errors can only be corrected by publication of an erratum.

Timing of publication after manuscript acceptance is at the discretion of the editors.

Reprints – Reprints (offprints) may be ordered on the offprint order form sent to the authors with page proofs. The corresponding author will receive a PDF file of the published manuscript.

Abstract and Index Services - Articles in this journal are indexed in PubMed (MEDLINE, National Library of Medicine), AGRICOLA, (database service of the National Agricultural Library), Biol Abs., BIOSIS, CAB, and Science Citation Index (Current Contents).

Permissions – Permissions of author and publisher must be obtained for the use of previously published material (text, photographs, and drawings) and must accompany the manuscript when it is submitted for publication. Authors are responsible for applying for permission for both print and electronic rights for all borrowed materials and are responsible for paying any fees related to the application of these permissions.

For Wiley publications, please visit the Wiley rights & permissions portal for instructions to request permissions.

Copyright – If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services where, via the Wiley Author

Licensing Service (WALS), they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement – If Wiley's Open Access option is not selected, the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs.

For more information about this Journal's APC's, please visit the Open Access Page.

If the hybrid open access option is selected, authors will have a choice of Creative Commons licenses. Most authors are free to choose between:

--Creative Commons Attribution (CC BY) License

--Creative Commons Attribution Non-Commercial (CC BY-NC) License

--Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs (CC BY-NC-ND) License

For more information about open access licensing, please visit Wiley's Copyright and Open Access

Licenses page. The fee for the open access option does not cover the page charge fee billed by ACVS; a separate invoice for page charge fees will be sent to the corresponding author. Select funders have unique agreements with Wiley which are outlined on our Funder Agreements page. Authors of funders with licensing mandates will be automatically directed to a Creative Commons Attribution license (CC BY).

Associated Costs for Authors: Page Charge Fees: \$45 per page (required fee) – ACVS assesses a page charge fee for all manuscripts that are published in the journal. After an article is published online in Early View, the corresponding author listed on the title page is responsible for payment of the page charge fee and will be sent an invoice. The fee is currently \$45 (USD) per page and may be subject to increase at the time of publication. (Note: The fee for Wiley's Open Access does not cover page charge fees. Therefore, authors choosing Open Access are still responsible for page charge fees.)