

Efikasi Bakterisidal Klorheksidin terhadap *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* Penghasil ESBL

Rustiana Tasya Ariningpraja^{1*}, Retno Lestari², Akhiyan Hadi Susanto³, Mohammad Nurussalam⁴, Setya Asih⁵, Luis Figo Febriano⁶

¹⁾Departemen Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Brawijaya, rustiana.ta@ub.ac.id

²⁾Departemen Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Brawijaya, retno.lestari.fk@ub.ac.id

³⁾Departemen Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Brawijaya, susanto.akhiyan@ub.ac.id

⁴⁾Program Studi Sarjana Ilmu Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Brawijaya, mnurussalam2004@student.ub.ac.id

⁵⁾Program Studi Sarjana Ilmu Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Brawijaya, setyaasih@student.ub.ac.id

⁶⁾Program Studi Sarjana Ilmu Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Brawijaya, luisfebrian@student.ub.ac.id

ABSTRAK

Infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri multiresisten, seperti *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* penghasil Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL), menjadi tantangan utama dalam perawatan kesehatan. Kedua bakteri ini mengurangi efektivitas antibiotik, memperburuk kondisi pasien. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas klorheksidin dalam mendesinfeksi perangkat medis yang terkontaminasi bakteri penghasil ESBL. Metode penelitian ini melibatkan inokulasi bakteri pada permukaan plastik dan disinfeksi dengan klorheksidin pada konsentrasi 2,5%, 5%, dan 7,5% selama 10 menit, dengan kelompok kontrol menggunakan air steril dan alkohol 70%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa klorheksidin efektif dalam mengurangi koloni *E. coli* dan *K. pneumoniae*. Efikasi tertinggi pada *E. coli* ditemukan pada konsentrasi 7,5%, sedangkan pada *K. pneumoniae*, konsentrasi 2,5% memberikan hasil terbaik. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua bakteri tersebut merespon secara berbeda terhadap peningkatan konsentrasi klorheksidin. Mekanisme kerja klorheksidin melibatkan kerusakan membran bakteri dan menyebabkan lisis sel, klorheksidin menunjukkan potensi kuat sebagai desinfektan untuk alat medis guna mencegah infeksi yang terkait dengan layanan kesehatan.

Kata kunci: Infeksi nosokomial; Klorheksidin; Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL); Bakteri multiresisten

ABSTRACT

Nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria, such as *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL), present a major challenge in healthcare. These bacteria reduce the effectiveness of antibiotics, worsening patient conditions. This study aims to evaluate the effectiveness of chlorhexidine in disinfecting medical devices contaminated with ESBL-producing bacteria. The methodology involves inoculating bacterial strains on plastic medical device surfaces and disinfecting them with chlorhexidine concentrations of 2.5%, 5%, and 7.5% for 10 minutes, with control groups using sterile water and 70% alcohol. The results indicate that chlorhexidine inhibited the colonies of *E. coli* and *K. pneumoniae* effectively, with the highest inhibition occurring at 7.5% for *E. coli* and at 2.5% for *K. pneumoniae*. This indicates that these bacteria respond differently to higher levels of chlorhexidine. Through cell lysis and membrane disruption, chlorhexidine shows vast promise as a disinfectant for medical devices against healthcare-associated infections.

Keywords: Nosocomial infections; Chlorhexidine; Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL); Multiresistant bacteria

*Correspondence Author: Rustiana Tasya Ariningpraja, Departemen Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Brawijaya, rustiana.ta@ub.ac.id, 088211271209

I. PENDAHULUAN

Infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri multiresisten menjadi salah satu tantangan terbesar dalam perawatan kesehatan, dengan *Escherichia coli* dan *Klebsiella*

pneumoniae sebagai dua patogen utama yang sering terlibat.¹ Kedua bakteri ini menghasilkan Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) yang menurunkan efektivitas berbagai antibiotik, termasuk cephalosporins generasi ketiga dan

aztreonam, sehingga dapat memperburuk kondisi klinis pasien.²⁻⁴ Salah satu pendekatan yang mulai dikembangkan untuk mengatasi infeksi ini adalah penggunaan agen antimikroba non-antibiotik, seperti desinfektan.

Desinfeksi yang efektif dapat membantu menurunkan risiko penyebaran infeksi dalam perawatan kesehatan.⁵ Sebaliknya, apabila prosedur disinfeksi tidak dilakukan secara efektif, maka potensi penularan infeksi di lingkungan fasilitas pelayanan kesehatan akan meningkat secara signifikan, terutama melalui permukaan dan alat medis yang terkontaminasi. Kondisi ini berkontribusi terhadap terjadinya infeksi nosokomial, termasuk yang disebabkan oleh mikroorganisme multiresisten, yang sulit ditangani dan berdampak serius terhadap keselamatan serta pemulihan pasien.^{6,7}

Klorheksidin merupakan antiseptik yang telah digunakan secara luas, dengan mekanisme kerja utama yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Hal ini menyebabkan peningkatan permeabilitas membran dan akhirnya lisis sel bakteri.^{8,9} Penggunaan klorheksidin semakin mendapat perhatian dalam konteks infeksi terkait perawatan kesehatan (*Healthcare-Associated Infection*), terutama sebagai antiseptik.¹⁰

Penelitian yang dilakukan oleh Gasparetto et al. (2024), menunjukkan bahwa tabung trakeostomi yang diimpregnasi klorheksidin mampu menghambat pertumbuhan bakteri multiresisten tanpa efek samping¹¹. Temuan ini memperkuat potensi klorheksidin sebagai antiseptik pada permukaan alat kesehatan. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini mengevaluasi efektivitas klorheksidin dalam mendesinfeksi alat medis yang terkontaminasi bakteri ESBL.

Klorheksidin terbukti efektif terhadap berbagai patogen, efektivitasnya terhadap bakteri penghasil ESBL masih perlu dieksplorasi lebih lanjut, mengingat adanya peningkatan resistansi terhadap agen antimikroba, termasuk *biocide*.¹²⁻¹⁴ Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi klorheksidin sebagai agen bakterisidal terhadap *E.coli* dan *K.pneumoniae* penghasil ESBL.

II. METODOLOGI

Penelitian ini menerapkan desain eksperimental laboratorium yang bertujuan mengevaluasi efektivitas klorheksidin dalam mendesinfeksi perangkat yang telah terkontaminasi *E.coli* dan *K.pneumoniae* yang menghasilkan *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL). Kelompok kontrol menggunakan air steril dan alkohol 70%, sedangkan kelompok perlakuan dibagi menjadi tiga subkelompok berdasarkan konsentrasi klorheksidin, yaitu 2,5%, 5%, dan 7,5%.

Persiapan bakteri dan inokulasi

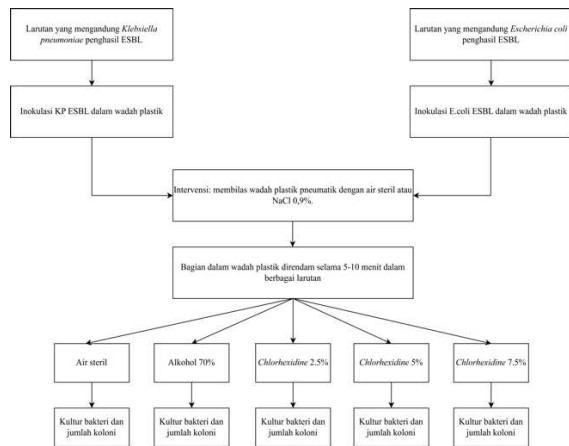
Setelah diperoleh, isolat bakteri *E.coli* dan *K.pneumoniae* dikultur dalam media nutrisi cair selama 24 jam pada suhu inkubasi 37°C hingga mencapai fase pertumbuhan eksponensial. Kedua bakteri tersebut memiliki konsentrasi pertama 10^6 , dengan *E.coli* sebesar $6,35 \times 10^6$ dan *K.Pneumoniae* sebesar $5,5 \times 10^6$. Jumlah bakteri dalam kultur dinilai menggunakan pengukuran spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm untuk menentukan konsentrasi sel.

Permukaan plastik alat medis, berupa tabung pendek, kemudian diinokulasi dengan suspensi bakteri yang telah dipersiapkan dan dibiarkan selama 24 jam (1 hari) pada suhu inkubasi 37°C (Dalam inkubator) untuk memastikan terjadinya kolonisasi bakteri pada permukaan plastik. Hasil pengukuran kolonisasi pada alat plastik post inokulasi sebesar $5,7 \times 10^8$ pada *E.coli* dan $5,1 \times 10^8$ untuk *K.pneumoniae*.

Proses disinfeksi

Setelah proses inokulasi selesai, perangkat yang terkontaminasi bakteri tersebut kemudian dibagi ke dalam lima kelompok. Dua kelompok kontrol (menggunakan air steril dan alkohol 70%) dan tiga kelompok perlakuan yang menggunakan klorheksidin dengan konsentrasi yang berbeda (2,5%, 5%, dan 7,5%) selama 10 menit. Pemilihan waktu perendaman selama 10 menit dalam penelitian ini merujuk pada studi yang dilakukan oleh Hutaeruk et al. (2021)¹⁵ dengan prosedur pencucian dilakukan dengan perendaman kanula menggunakan larutan NaCl 0,9% selama 10 menit, kemudian dilanjutkan dengan perendaman larutan klorheksidin 2,5% selama 10 menit. Prosedur tersebut terbukti

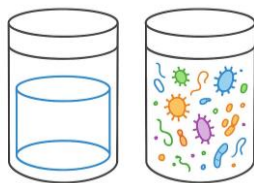
mampu menurunkan jumlah koloni bakteri yang menempel pada permukaan alat, setelah dilakukan inokulasi dan inkubasi pada media kultur.



Gambar 1. Alur proses desinfeksi

Inkubasi

Setelah sampel ditanam, media diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memungkinkan bakteri tumbuh dan membentuk koloni.



Gambar 2. Wadah representatif untuk uji efektivitas klorheksidin

Pembilasan dan pengambilan sampel

Setelah perlakuan disinfeksi selesai, perangkat dibilas dengan akuades steril untuk menghilangkan sisa larutan klorheksidin atau bahan kontrol. Selanjutnya, sampel diambil dengan menggunakan metode *swab-rinse*. Sampel yang diperoleh kemudian ditanam pada media selektif.

Penghitungan koloni

Setelah periode inkubasi selesai, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dalam satuan *colony-forming unit* (CFU).

Analisis data

Hasil perhitungan koloni yang tumbuh pada *nurtrient agar* kelompok perlakuan dan kontrol dianalisis menggunakan SPSS versi 25. Media agar menggunakan jenis nutrient agar dengan perumusan CFU sebagai berikut:

$$CFU/ml = \frac{\text{Jumlah Koloni}}{\text{Volume yang di onkulasikan} \times \text{Faktor Pengenceran}}$$

Uji statistic t-independent digunakan untuk membandingkan efektivitas disinfeksi antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Uji *one-way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui konsentrasi klorheksidin yang paling efektif.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Efektivitas disinfektan dalam menurunkan jumlah koloni bakteri penghasil ESBL terlihat jelas dari perbandingan jumlah CFU setelah perlakuan. Variasi respons bakteri terhadap masing-masing larutan memberikan gambaran yang nyata mengenai tingkat kemampuan agen disinfeksi yang diuji.

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan rata-rata jumlah koloni (CFU) yang cukup mencolok antar jenis larutan disinfektan terhadap *K. pneumoniae* dan *E. coli* ESBL. Klorheksidin, terutama pada konsentrasi 2,5%, menghasilkan penurunan CFU yang paling drastis, yaitu rata-rata 2 CFU/μg/mL untuk *K. pneumoniae* dan 28 CFU/μg/mL untuk *E. coli*. Sebaliknya, air steril dan alkohol 70% menunjukkan rata-rata CFU yang jauh lebih tinggi, yaitu di atas 2800 CFU/μg/mL (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah Koloni Bakteri (CFU) Setelah Disinfeksi pada *K. pneumoniae* dan *E. coli* ESBL.

Strain	Larutan	CFU (μg/mL)) CS-Cl (1)	CFU (μg/mL)) CS-Cl (2)	CFU (μg/mL)) CS-Cl (3)	Rata-rata CFU
<i>K.pneumoniae</i> ESBL	Air Steril	3400	3350	3500	3350
	Alkohol 70%	2870	2855	2840	2855
	Klorheksidin 2,5%	3	2	1	2
	Klorheksidin 5%	13	10	11.5	11.5
	Klorheksidin 7,5%	32	28	30	30
<i>E. coli</i> ESBL	Air Steril	3200	3500	3350	3350
	Alkohol 70%	2900	2825	2750	2825
	Klorheksidin 2,5%	30	25	28	28
	Klorheksidin 5%	12	10	8	10
	Klorheksidin 7,5%	2	1	3	2

Tabel 2 menggambarkan bahwa semua konsentrasi klorheksidin (2,5%, 5%, dan 7,5%) berbeda yang signifikan statistik dari air steril dan alkohol 70% dalam menahan pertumbuhan *K. pneumoniae* ESBL dan *E. coli* ESBL ($p < 0,05$). Seluruh nilai p yang tercatat menampilkan signifikansi bahkan pada konsentrasi klorheksidin yang terendah.

Tabel 2. Perbandingan klorheksidine berbagai konsentrasi dalam melawan *K. pneumoniae* dan

<i>E. coli</i>					
ANOVA					
Hasil <i>K. pneumoniae</i> ESBL					
Sumber Variasi	JK (<i>Sum Of Squares</i>)	df	Mean	F	Sig. (p)
Antar Kelompok	2433.000	2	1216.500	152.699	0.00
Dalam Kelompok	119.500	15	7.967		
Total	2552.500	17			

Post Hoc Games-Howell <i>K. pneumoniae</i> ESBL						
Kelompok (I)	Kelompok (J)	Perbedaan Rata-rata (I-J)	Std. Error	Sig. (p)	95% CI Bawah	95% CI Atas
CHX 2,5%	CHX 5%	-9,500 *	1,204	0,000	-12,87	-6,13
CHX 2,5%	CHX 7,5%	-28,000 *	1,732	0,000	-33,14	-22,86
CHX 5%	CHX 2,5%	9,500 *	1,204	0,000	6,13	12,87
CHX 5%	CHX 7,5%	-18,500 *	1,875	0,000	-23,81	-13,19
CHX 7,5%	CHX 2,5%	28,000 *	1,732	0,000	22,86	33,14
CHX 7,5%	CHX 5%	18,500 *	1,875	0,000	13,19	23,81

* Perbedaan rata-rata signifikan pada taraf signifikansi 0,05.

ANOVA					
Hasil <i>E. coli</i> ESBL					
Sumber Variasi	JK (<i>Sum Of Squares</i>)	df	Mean	F	Sig. (p)
Antar Kelompok	2076.333	2	1038.167	176.626	0.00
Dalam Kelompok	88.167	15	5.878		
Total	2164.500	17			

Post Hoc Games-Howell <i>E. coli</i> ESBL						
Kelompok (I)	Kelompok (J)	Selisih Rata-rata (I-J)	Std. Error	Sig. (p)	95% CI Bawah	95% CI Atas
CHX 2,5%	CHX 5%	17,833 *	1,572	0,000	13,51	22,16
CHX 2,5%	CHX 7,5%	25,667 *	1,229	0,000	22,21	29,12
CHX 5%	CHX 2,5%	-17,833 *	1,572	0,000	-22,16	-13,51
CHX 5%	CHX 7,5%	7,833 *	1,376	0,001	3,90	11,77
CHX 7,5%	CHX 2,5%	-25,667 *	1,229	0,000	-29,12	-22,21
CHX 7,5%	CHX 5%	-7,833 *	1,376	0,001	-11,77	-3,90

* Perbedaan rata-rata signifikan pada taraf signifikansi 0,05.

Uji ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan pada nilai ESBL *K. pneumoniae* dan *E. coli* antar kelompok perlakuan CHX 2,5%, 5%, dan 7,5% dengan nilai F masing-masing sebesar 152,699 dan 176,626 serta nilai p kurang dari 0,001. Uji post hoc Games-Howell mengonfirmasi bahwa seluruh kelompok berbeda secara signifikan dengan nilai p kurang dari 0,001. Pada *K. pneumoniae*, nilai ESBL tertinggi ditemukan pada kelompok CHX 7,5% dan terendah pada CHX 2,5%. Sebaliknya, pada *E. coli*, nilai tertinggi terdapat pada CHX 2,5% dan terendah pada CHX 7,5%. Hal ini dikarenakan *E. coli* umumnya tidak memiliki kapsul polisakarida yang tebal, atau hanya memiliki kapsul tipis, sehingga tidak memiliki pelindung fisik sekuat *K. pneumoniae*. Sistem *efflux pump* pada *K. pneumoniae* juga memperkuat resistensi terhadap bahan kimia antimikroba sehingga membutuhkan konsentrasi klorheksidin yang lebih tinggi untuk menurunkan jumlah koloninya secara signifikan.

Temuan ini menunjukkan bahwa efektivitas klorheksidin meningkat seiring peningkatan konsentrasi, meskipun respons antara kedua bakteri menunjukkan arah yang berlawanan.

Klorheksidin memiliki efektivitas disinfeksi yang sangat tinggi terhadap *K.pneumoniae* dan *E.coli* penghasil ESBL, bahkan pada konsentrasi serendah 2,5%. Hal ini menunjukkan bahwa klorheksidin mampu bekerja efektif meskipun digunakan dalam konsentrasi yang lebih rendah dari yang lazim diterapkan dalam praktik klinis¹⁶. Klorheksidin bekerja melalui mekanisme disrupsi membran sel bakteri, yang menyebabkan kebocoran isi sel, pengendapan sitoplasma, serta gangguan fungsi enzim dan protein penting dalam metabolisme bakteri.^{17,18} Efek ini bersifat cepat dan luas terhadap berbagai jenis mikroorganisme, termasuk bakteri gram negatif yang dikenal memiliki lapisan membran luar yang relatif tahan terhadap banyak agen disinfektan.¹⁹ Jika dibandingkan dengan alkohol 70%, efektivitas klorheksidin tampak jauh lebih superior.

Alkohol bersifat membunuh mikroorganisme melalui denaturasi protein dan disrupsi membran sel, namun efektivitasnya

sangat bergantung pada waktu kontak, konsentrasi, dan keberadaan bahan organik pada permukaan.^{20,21} Dalam penelitian ini, alkohol 70% masih meninggalkan jumlah koloni yang relatif tinggi, menunjukkan bahwa dalam konteks kontaminasi berat atau kolonisasi biofilm, alkohol mungkin tidak cukup efektif sebagai satu-satunya agen disinfektan. Air steril, sebagaimana diharapkan, tidak memiliki aktivitas antimikroba, sehingga digunakan sebagai kontrol negatif untuk melihat kemampuan alami bakteri bertahan tanpa intervensi.

Durasi 10 menit dipilih karena terbukti efektif menurunkan jumlah koloni bakteri pada permukaan alat kesehatan, sebagaimana ditunjukkan oleh studi Hutaeruk et al., yang menggunakan perendaman kanula dengan klorheksidin selama 10 menit untuk mencapai efektivitas maksimal dalam merusak membran sel dan menyebabkan lisis bakteri.

Hasil ini sejalan dengan temuan dari beberapa studi sebelumnya yang menunjukkan efektivitas klorheksidin dalam mengurangi kolonisasi bakteri multiresisten, baik di kulit pasien maupun pada permukaan benda medis.^{16,19,22,23} Dalam konteks fasilitas pelayanan kesehatan, di mana infeksi nosokomial akibat bakteri ESBL menjadi masalah serius, pemilihan agen disinfektan yang terbukti efektif sangat penting. Klorheksidin tidak hanya menunjukkan efektivitas tinggi, tetapi juga memiliki stabilitas kimia yang baik, spektrum aktivitas luas, dan toleransi yang relatif aman pada manusia, sehingga dapat dipertimbangkan untuk diaplikasikan secara lebih luas dalam prosedur disinfeksi alat kesehatan non-kritis maupun semi-kritis.

Dari sudut pandang praktis, penggunaan klorheksidin pada konsentrasi rendah dapat memberikan keuntungan ekonomi dan mengurangi risiko efek samping seperti iritasi kulit atau mukosa. Namun demikian, pemilihan konsentrasi optimal tetap perlu disesuaikan dengan jenis alat, lama kontak, dan potensi interaksi dengan bahan penyusun alat medis. Selain itu, penting untuk mempertimbangkan kemungkinan munculnya resistensi akibat penggunaan klorheksidin secara luas, walaupun

hingga saat ini laporan mengenai resistensi terhadap klorheksidin masih relatif jarang.²⁴

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, studi dilakukan secara *in-vitro*, sehingga hasilnya mungkin tidak sepenuhnya mencerminkan kondisi di lingkungan klinis nyata. Kedua, penelitian hanya menggunakan satu strain isolat untuk masing-masing bakteri uji, yang dapat membatasi generalisasi temuan terhadap variasi genetik antar strain. Ketiga, jenis permukaan plastik yang digunakan dalam uji tidak mewakili seluruh variasi bahan dan permukaan alat medis yang digunakan di praktik klinis.

IV. SIMPULAN DAN SARAN

Klorheksidin terbukti sangat efektif dalam menurunkan jumlah koloni bakteri penghasil ESBL, bahkan pada konsentrasi rendah. Dalam perbandingan dengan alkohol 70%, klorheksidin menunjukkan kemampuan disinfeksi yang lebih superior, terutama dalam mengatasi bakteri multiresisten. Klorheksidin memiliki stabilitas kimia yang baik dan aman digunakan dalam prosedur disinfeksi alat kesehatan.

Penggunaan klorheksidin sebaiknya disesuaikan dengan jenis alat dan kondisi permukaan yang akan didesinfeksi. Disarankan untuk memantau kemungkinan munculnya resistensi terhadap klorheksidin meskipun laporan resistensinya masih jarang. Penerapan konsentrasi rendah klorheksidin dapat mengurangi potensi iritasi dan memberikan efisiensi ekonomi.

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapkan terima kasih tim peneliti sampaikan kepada Tim Laboratorium Mikrobiologi, Tim Peneliti, serta pihak pendana, khususnya Hibah FIKES UB, atas dukungan teknis dan finansial yang memungkinkan terlaksananya penelitian ini.

REFERENSI

1. Ramatla T, Mafokwane T, Lekota K, et al. "One Health" perspective on prevalence of co-existing extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella*

- pneumoniae: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2023; 22: 88.
2. Husna A, Rahman MdM, Badruzzaman ATM, et al. Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. *Biomedicines* 2023; 11: 2937.
 3. Tofarides AG, Dimitriou P, Nikolopoulos GK, et al. Factors Associated with Extended-Spectrum β -Lactamases and Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections: A Five-Year Retrospective Study. *Pathogens* 2023; 12: 1277.
 4. Mohd Asri NA, Ahmad S, Mohamud R, et al. Global Prevalence of Nosocomial Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics* 2021; 10: 1508.
 5. Haque M, McKimm J, Sartelli M, et al. Strategies to Prevent Healthcare-Associated Infections: A Narrative Overview. *Risk Manag Healthc Policy* 2020; Volume 13: 1765–1780.
 6. Rock C, Small BA, Thom KA. Innovative Methods of Hospital Disinfection in Prevention of Healthcare-Associated Infections. *Curr Treat Options Infect Dis* 2018; 10: 65–77.
 7. Rutala WA, Weber DJ. Disinfection and Sterilization in Health Care Facilities. *Infect Dis Clin North Am* 2021; 35: 575–607.
 8. Thangavelu A, Kaspar S, Kathirvelu R, et al. Chlorhexidine: An elixir for periodontics. *J Pharm Bioallied Sci* 2020; 12: 57.
 9. Biswas D, Tiwari M, Tiwari V. Molecular mechanism of antimicrobial activity of chlorhexidine against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *PLoS One* 2019; 14: e0224107.
 10. Tomazini BM, Veiga TS, Santos RHN, et al. Daily Chlorhexidine Bath for Health Care Associated Infection Prevention (CLEAN-IT): protocol for a multicenter cluster randomized crossover open-label trial. *Critical Care Science*; 36. Epub ahead of print 2024. DOI: 10.62675/2965-2774.20240053-en.
 11. Gasparetto J, Bressianini Jurkonis L, Ramos Dantas L, et al. Low-cost antiseptic-impregnated tracheostomy tube for the prevention of ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant bacteria: In vitro and pilot study in humans. *Rev Argent Microbiol* 2024; 56: 359–363.
 12. EKİZOĞLU M, SAĞIROĞLU M, KILIÇ E, et al. An investigation of the bactericidal activity of chlorhexidine digluconate against multidrug-resistant hospital isolates. *Turk J Med Sci* 2016; 46: 903–909.
 13. Amini Tapouk F, Nabizadeh R, Mirzaei N, et al. Comparative efficacy of hospital disinfectants against nosocomial infection pathogens. *Antimicrob Resist Infect Control* 2020; 9: 115.
 14. Golfiroozi S, Fashayi F, Rajabi A, et al. Disinfectants efficacy in reducing pathogens related to health-care infection associated in universities hospitals of Gorgan, North of Iran. *BMC Infect Dis* 2024; 24: 1113.
 15. Hutaaruk SM, Hermani B, Monasari P. Role of chlorhexidine on tracheostomy cannula decontamination in relation to the growth of Biofilm-Forming Bacteria Colony- a randomized controlled trial study. *Annals of Medicine & Surgery*; 67. Epub ahead of print July 2021. DOI: 10.1016/j.amsu.2021.102491.
 16. Dramowski A, Pillay S, Bekker A, et al. Impact of 1% chlorhexidine gluconate bathing and emollient application on bacterial pathogen colonization dynamics in hospitalized preterm neonates – A pilot clinical trial. *EClinicalMedicine* 2021; 37: 100946.
 17. Ben-Knaz Wakshlak R, Pedahzur R, Avnir D. Antibacterial Activity of Chlorhexidine-Killed Bacteria: The Zombie Cell Effect. *ACS Omega* 2019; 4: 20868–20872.
 18. Deng A, Xiong F, Ren Q. Chlorhexidine solutions are more effective than povidone-iodine solutions as skin disinfectants for the prevention of intravascular catheter-related infections: A meta-analysis. *Sci Rep* 2025; 15: 10657.
 19. Roode GJ, Bütow K-W. A Descriptive Study of Chlorhexidine as a Disinfectant in Cleft Palate Surgery. *Clin Med Res* 2018; 16: 9–15.
 20. Lim K, Li WY, Dinata A, et al. Comparing the antibacterial efficacy and functionality of different commercial alcohol-based sanitizers. *PLoS One* 2023; 18: e0282005.
 21. Ribeiro MM, Neumann VA, Padoveze MC, et al. Efficacy and effectiveness of alcohol in the disinfection of semi-critical materials: a systematic review. *Rev Lat Am Enfermagem* 2015; 23: 741–752.
 22. Alqarni H, Jamleh A, Chamber MS. Chlorhexidine as a Disinfectant in the Prosthodontic Practice: A Comprehensive Review. *Cureus*. Epub ahead of print 21 October 2022. DOI: 10.7759/cureus.30566.
 23. Gall E, Long A, Hall KK. Chlorhexidine Bathing Strategies for Multidrug-Resistant Organisms: A Summary of Recent Evidence. *J Patient Saf* 2020; 16: S16–S22.
 24. Wesgate R, Fanning S, Hu Y, et al. Effect of Exposure to Chlorhexidine Residues at “During Use” Concentrations on Antimicrobial Susceptibility Profile, Efflux, Conjugative Plasmid Transfer, and Metabolism of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*; 64. Epub ahead of print 17 November 2020. DOI: 10.1128/AAC.01131-20.