



Bazı Antiseptik ve Dezenfektanların Vankomisin Dirençli Enterokoklar Üzerine Etkinliklerinin Araştırılması

The Investigation of the Efficacy of Some Antiseptics and Disinfectants to Vancomycin-Resistant Enterococci

Havva KAYA¹ [ID], Mehmet PARLAK² [ID], Mustafa Zahir BAKICI³ [ID], Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU⁴ [ID], Yasemin BAYRAM² [ID]

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye [Department of Medical Microbiology, Gulhane Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Ankara, Türkiye].

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye [Department of Medical Microbiology, Medical Faculty of Yuzuncu Yil University, Van, Türkiye].

³İstanbul Tema Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye [Medical Microbiology Laboratory, Istanbul Tema Hospital, Istanbul, Türkiye].

⁴Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye [Department of Medical Microbiology, Medical Faculty of Trakya University, Edirne, Türkiye].

Article Info: Received; 24.10.2022. Accepted; 15.12.2022. Published; 23.12.2022.

Correspondence: Havva Kaya; MD., Department of Medical Microbiology, Gulhane Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Ankara, Türkiye. E-mail: drhvky@gmail.com

Özet

Vankomisine Dirençli Enterokok (VRE) enfeksiyonunu-kolonizasyonunu önlemede kontamine materyal, yüzey ve vücut bölgelerinin uygun maddelerle dezenfeksiyonu en etkili uygulamalardan biridir. Bu çalışmada %5'lik sodyum hipokloritin (çamaşır suyu) 1/10 ve 1/100'lük dilüsyonlarının, klorheksidin glukonatın %4'lük ve Akacid plus'un %0.1 ve %0.5'lik konsantrasyonlarının; VRE suşlarına karşı 1, 5, 15 ve 30. dakikalardaki etkinlikleri test edilmiştir. Çalışmaya 2012-2014 yılları arasında farklı vücut örneklerinden izole edilen vankomisine dirençli 69 *Enterococcus faecium* suşu dahil edilmiştir. Suşların identifikasyonu ve vankomisin direncinin tespiti için BD Phoenix 100® tam otomatize sistemi kullanılmıştır. VRE suşlarının dezenfektanlara duyarlılıklarının araştırılmasında Avrupa Birliği ülkelerinde kimyasal dezenfektanlar ve antiseptiklerin bakterisidal aktivitelerinin değerlendirilmesi için kullanılan Kantitatif Süspansiyon Deneyi yöntemi EN 1276 (Mart 2010) kullanılmıştır. Başlangıç test süspansiyonundaki bakteri sayısı ile dezenfektanla muamele sonrası sayı arasında 5 log₁₀'luk azalma (10⁵) olması dezenfektanın etkili olduğunun göstergesidir. Çalışmamızda sodyum hipokloritin (%5'lik) 1/10'lük sulandırımının tüm dakika ve şartlarda VRE'ler üzerinde en etkili dezenfektan olduğu tespit edilmiş ve kirli şartlarda 1/100'lük sulandırımın etkinliğinde belirgin azalma olduğu görülmüştür. Akacid plus test ettiğimiz tüm temas sürelerinde de suşların tamamına etkili olamamıştır. Tüm dakikalar için Akacid plus'un ortam şartlarının değişmesinden en az etkilenen dezenfektan olduğu görülmüştür. Klorheksidin glukonat (%4'lük) sadece 1. dakikada temiz ve kirli şartlarda etkisiz kalmış, 5. dakikadan itibaren ise çamaşır suyunun 1/10 sulandırımı ile istatistiksel olarak aynı düzeyde etkinlik gösterdiği görülmüştür. Klorheksidin için ortam şartlarının değişmesinden kaynaklı aktivite azalması görülmemiştir. Sonuç olarak, VRE'ler üzerine en etkili dezenfektanın %5'lik sodyum hipokloritin 1/10'lük dilüsyonunun olduğu, ancak ortam şartları kirli olduğunda sodyum hipoklorit etkinliğinde belirgin azalma olduğu görülmüştür. Ayrıca, tüm dezenfektan ve antiseptiklerin temas süresi arttıkça VRE'ler üzerindeki etkinliğinde artma olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Antiseptik, Dezenfektan, Enterokok, Vankomisin, VRE.

Abstract

Disinfection of contaminated material, surface and body parts with appropriate substances is one of the most effective practices in preventing the infection-colonization of Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE). In this study, 1/10 and 1/100 dilutions of 5% sodium hypochlorite, 4% concentration of chlorhexidine gluconate and 0.1% and 0.5% concentrations of Akacid plus's efficacy against VRE strains at 1, 5, 15 and 30 minutes was tested. Sixty-nine vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strains isolated from different body samples between 2012 and 2014 were included in the study. The BD Phoenix 100® fully automated system was used for the identification of strains and detection of vancomycin resistance. Quantitative Suspension Test method EN 1276 (March 2010) was used to evaluate the bactericidal activities of chemical disinfectants and antiseptics used in European Union countries in the investigation of disinfectant susceptibility of VRE strains. Five log₁₀ decrease (10⁵) in the number of bacteria in the initial test suspension between the number of bacteria after using the disinfectant indicates that the disinfectant is effective. In this study, it has been determined that a 1/10 dilution of 5% sodium hypochlorite (bleach) is the most effective disinfectant on VREs in all minutes and conditions. Effectiveness of 1/100 dilution of bleach has a significant decrease in dirty conditions. Akacid plus was not effective on all strains in any contact times we tested. It has been observed that Akacid plus is the disinfectant least affected by the changes in environmental conditions in all minutes. Chlorhexidine gluconate (4%) was ineffective in clean and dirty conditions in just 1 minute, while from the 5th minute, its effectiveness was found to be statistically at the same level as the 1/10 dilution of bleach. There was no decrease in the activities of chlorhexidine due to the changing environmental conditions. In conclusion, it has been determined that a 1/10 dilution of 5% sodium hypochlorite (bleach) is the most effective disinfectant on VREs in all minutes and conditions, but dirty environmental conditions cause a significant decrease in the effectiveness of sodium hypochlorite. In addition, it was observed that the effectiveness of all disinfectants and antiseptics on VREs increased as the contact time with the substances increased.

Keywords: Antiseptic, Disinfectant, Enterococcus, Vancomycin, VRE.

Giriş

Enterokok türleri toprak, su ve yiyeceklerde bulunabilen ve zor koşullar altında canlılıklarını sürdürüp çoğalabilen bakterilerdir [1]. İnsan ve hayvanlarda normal bağırsak florasının önemli bir kısmı da bu bakteri türlerinden oluşmaktadır [2]. Enterokokların normal bağırsak florası elemanı olmaları nedeniyle bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar sıklıkla kişinin kendi florasından kaynaklanmaktadır, ancak hastanede yatan veya periton diyalizi olan hastalarda ekzojen kaynaklı enfeksiyonlar gelişebilmektedir [3]. Nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan enterokok suşlarının, hastane ve bakımevlerinde sağlık personelinin ellerinde, çevresel yüzeylerde ve ortak kullanılan malzemelerde bulunabildiği ve kişiden kişiye iletilebildiği gösterilmiştir [4-7].

Enterokok türleri, özellikle nozokomiyal yoğun bakım enfeksiyonları olmak üzere hastane enfeksiyonlarının en sık etkenleri arasında yer almaktadır [6-8]. Enterokok enfeksiyonları için en önemli risk faktörleri arasında ise uzun süre hastanede yatış (özellikle yoğun bakım ünitesinde), cerrahi operasyon geçirmiş olmak,

hastanede kalış süresince antibiyotik tedavisi almak (özellikle vankomisinle antibiyoterapi) ve çevrenin vankomisin dirençli enterokoklarla (VRE) kontaminasyonu yer almaktadır [9].

Enterokok türleri, kuru yüzeylerde 16 haftadan daha uzun bir süre yaşayabilmektedir [10]. VRE kolonize/enfekte bir hastanın yattığı oda, hastanın temas ettiği yüzeyler, materyaller, malzemeler, tıbbi cihazlar ile gastrointestinal sistem taşıyıcısı olan hastane personelinin elleri VRE'lerin bir hastadan diğerine transferinde önemli rol oynamaktadır [4,11-13]. Bu nedenle VRE enfeksiyonunu/kolonizasyonunu önlemede kontamine olmuş materyalleri yüzeyler ve vücut bölgelerinin uygun maddelerle dezenfeksiyonu en önemli uygulamalardan biridir [12,14].

VRE'lerin ve diğer hastane kaynaklı dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların önlenmesinde farklı antiseptikler ve dezenfektan maddeler kullanılmaktadır [14,15]. Çalışmamızda kullanılan sodyum hipoklorit (çamaşır suyu), klorheksidin glukonat ve Akacid plus® bileşiği bunlar arasındadır [16,17]. Çamaşır suyu gerek hastanelerde gerek diğer yaşam alanlarında en sık

kullanılan dezenfektanlardan biridir [16]. Ucuz olması, kolay temin edilebilir olması, etkinliğinin yüksek olması gibi nedenlerden dolayı günümüzde halen en çok tercih edilen dezenfektanlardandır. İrritasyon yapması ve toksik etkilerinin olması ise kullanımını sınırlayan önemli nedenler arasındadır [18]. Geniş antibakteriyel etkinliğe sahip olan klorheksidin glukonat özellikle cilt ve mukozaya antiseptisinde kullanılan biguanidin türevi bir bileşiktir [18]. Gram pozitif bakterilere gram negatif bakterilerden daha etkilidir. Ciltte uzun süre kalabilme özelliği etkinliğini artıran bir durum iken, toksik ve iritan etkilerinin düşük olması önemli bir avantajıdır [18]. Akacid plus yeni nesil polimerik guanidin ailesi dezenfektanların bir üyesi olup bu sınıftaki diğer antimikrobiallere göre belirgin olarak daha az toksisitesinin olması ile ön plana çıkmaktadır [17,19]. Diğer dezenfektanlardan farklı olarak buhar (*fog*) halinde kullanılabilir olması, bir uygulayıcı personele ihtiyaç olmaksızın foglama yöntemi ile oda dezenfeksiyonunda kullanılabilir olması önemli avantajlarıdır [20]. Kokusuz olması, insanlara ve çevreye toksik etkilerinin olmaması ise diğer üstün özellikleridir [20].

Çalışmamızda bu antiseptik (Akacid plus ve klorheksidin) ve dezenfektan (sodyum hipoklorit) maddelerin farklı konsantrasyonlarının farklı uygulama sürelerinde VRE'ler üzerindeki in-vitro etkinliği araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 2012-2014 yılları arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na farklı poliklinik ve servislerden gönderilen rektal sürüntü, gaita, idrar, kan, plevral mayi ve yara yeri gibi vücut örneklerinden izole edilen vankomisine dirençli *E. faecium* suşları dahil edilmiştir. Mükerrer hasta örnekleri çıkarıldıktan sonra bu sürede elde edilen 218 VRE suşu için örneklem hesaplama değerleri $\alpha=0.05$, $p=0.04$, $d=0.038$, $t=1.96$ olarak kabul edildiğinde örnekleme 69 örnek alınmasına karar verilmiştir ($n = nt2 pq / (n-1) d2+ t2 pq$). Alınacak örnekler belirlenirken sistematik örnekleme yöntemi kullanılmıştır. Başlangıç sayısı rassal sayılar tablosu kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışmaya Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar

Etik Kurulu onayı (26.06.2014 tarih, karar no:2014-06/08) ile başlanmış ve proje Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından verilen destek (2015-TF-U014) ile yürütülmüştür.

Çalışma izolatları

Hasta örneklerinden izole edilen 69 suşun yanı sıra *Enterococcus hirae* (ATCC 10541) standart suşunun da eklenmesiyle çalışmaya toplam 70 bakteri suşu dahil edilmiştir. Klinik izolatların tür düzeyinde identifikasyonu ve vankomisin dirençli *E. faecium* suşlarının tanımlanması Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Phoenix 100® (Becton Dickinson, USA) tam otomatize tanımlama sistemi ile yapılmıştır.

Dezenfektan etkinliğinin araştırılması

Muhafazası -80°C'de sağlanan çalışma suşları dezenfektan etkinliğinin araştırılması için Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na transfer edilmiş ve dezenfektan ve antiseptiklerin etkinliklerinin test edildiği kantitatif süspansiyon testi aşamaları burada yapılmıştır.

VRE suşlarının dezenfektanlara duyarlılıkları Avrupa birliği ülkelerinde kullanılan kimyasal dezenfektanlar ve antiseptiklerin bakterisidal aktivitelerinin değerlendirilmesi için Kantitatif (Nicel) Süspansiyon Deneyi yöntemi EN 1276 (Mart 2010) kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada enterokoklara karşı dezenfektan etkinliğini test etmek için %5'lik sodyum hipokloritin 1/10 ve 1/100'lük dilüsyonları, klorheksidin glukonatın %4'lük konsantrasyonu ve son olarak Akacid plus'ın %0.1 ve %0.5'lik konsantrasyonları kullanılmıştır.

Suşların hazırlanması ve temas süreleri

Saklanan (-80°C) suşlardan Triptik Soya Agar (TSA) (Salubris, Türkiye) besiyerlerine yapılan pasajlar ile stok kültürler elde edildi. Stok kültürlerin 36±1°C'de 24 saat inkübasyonu ve yapılan ikinci pasajlar ile izolatların subkültürleri yapıldı. Subkültürlerin de aynı şartlarda inkübe edilmesi sonrası çalışma izolatları kullanıma hazır hale getirildi (EN:1276).

Çalışmada TSA besiyeri, dilüent (tripton sodyum klorit), nötralizör (polisorbata 80, saponin, lesitin, histidin, sistein, sodyum tiyosülfat) ve

kirletici madde (temiz şartlar için 0.3 gr/L siğir albümini, kirli şartlar için 3 gr/L siğir albümini) kullanıldı. Çalışmanın bu aşaması $20\pm 1^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirildi. Üç dezenfektan ve antiseptiğin beş ayrı konsantrasyonunun 1, 5, 15, ve 30. dakikalarda bakteriler üzerindeki etkinlikleri temiz ve kirli şartlar için ayrı ayrı incelendi.

Kantitatif süspansiyon test yöntemi

Kantitatif süspansiyon test yönteminde test edilecek bakterinin 0.5 McFarland yoğunlukta (1.5×10^8 - 5.0×10^8 CFU/ml) süspansiyonları hazırlanır ve içerisinde kirletici madde (siğir albümini) bulunan bir tüp içerisine konulup bir ön karışım süresinden sonra tüp üzerine dezenfektan madde ilave edilir. Belirli temas süresi geçtikten sonra karışımdan bir miktar alınarak içerisine dezenfektanın etkisini durdurmak için nötralizan madde konulmuş olan diğer bir tüp içine aktarılır. Beş dakikalık bir nötralizasyon süresi sonunda nötralize edilmiş süspansiyondan 1 ml'lik iki ayrı numune alınarak iki ayrı TSA (Salubris, Türkiye) besiyerine ekim yapılır ve $36\pm 1^\circ\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılır. Yirmi dört saatlik bir inkübasyon süresi sonunda canlı kalan bakteri kolonileri sayılır ve logaritmik azalma hesaplanır.

Çalışmada her bir bakteri için iki farklı bakteri süspansiyonu hazırlandı: (1) Test süspansiyonu (N); dezenfektan duyarlılık testlerini yürütmede kullanılan bakteri süspansiyonu ve (2) kontrol deneylerinde kullanılan bakteri süspansiyonu olan validasyon süspansiyonu (Nv). Çalışmada TSA besiyerlerinde üretilen bakteri kolonilerinden spektrofotometrik yöntemle (Spec Nephelometer, BD, USA) bakteri sayısının 1.5×10^8 - 5.0×10^8 CFU/ml arasında olduğu bakteri süspansiyonları hazırlandı. Sonraki aşamada bakteri sayısının hesaplanması için seri dilüsyonlar yapıldı. Bunun için 7 adet tüp hazırlanarak her birinin içerisine 2700 µl dilüent konulur. Tüplere 1'den 7'ye kadar numaralar verilir. Test süspansiyonunun olduğu tüpten 300 µl alınarak içinde dilüent bulunan 1. tüpe aktarılır (1/10 dilüsyon). 1. tüpten aynı şekilde 300 µl alınarak 2. tüpe aktarılır (1/10 dilüsyon). Bu şekilde 7. tüpe kadar dilüsyonu yapılarak son tüpten 300 µl dışarı atılır. Böylece 10-1'lik dilüsyondan 10-7'ye kadar dilüsyonlar yapılır. 10-7'lik dilüsyonun olduğu 7. tüpteki dilüsyondan ikişer adet 1 ml alınıp iki adet TSA

besiyerine ekim yapılır. Aynı şekilde 6. tüpten de ikişer adet 1 ml alınıp iki adet TSA besiyerine ekim yapılır. Petrilerin $36\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyonu yapıldıktan sonra yedinci ve altıncı tüpteki koloniler sayılır. N10-7 ve N10-6 olmak üzere koloni sayıları hesaplanarak ortalaması alınarak N hesaplanır. N0 değeri başlangıçtaki koloni sayısının (N) 1/10'udur. Temas süresinin hemen öncesindeki bakteri sayısıdır. Çünkü çalışma prosedüründe 100 µl kirletici (siğir albümini) içeren tüpe 100 µl test süspansiyonundan ilave edilir. İki dakikalık ön karışım zamanından sonra üzerine 800 µl çalışılacak dezenfektan eklenir. Bu şekilde başlangıçtaki koloni sayısı olan N değeri 1/10 oranında azalarak N0 değeri elde edilmiş olur. Dezenfeksiyon işlemi, dezenfektanın etkili olması için canlı bakteri sayısında en az 5 log₁₀'luk (10^5 'lik) bir azalma olması gereklidir.

Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının dezenfektanlara duyarlılıklarını ölçerken kullanılan yöntemin geçerliliğini test etmek için üç ayrı kontrol deneyi yapılmıştır. Bunlardan birincisi deney şartlarının kontrolü (A) olup bu testle seçilen deney şartlarının validasyonu ve/veya test şartlarının bakteriler üzerine letal etkisinin olmadığı doğrulanması test edilmiştir. İkincisi nötralizörün kontrolü (B) olup bu deneyle nötralizörün toksisitesinin olmadığı gösterilmiştir. Üçüncü deney metot validasyonu (C) olup nötralizörün dezenfektan maddeyi nötralize edip etmediği test edilmiştir.

Üremelerin değerlendirilmesi

İkişer adet TSA petrisine ekilen dezenfektanla muamele edilmiş bakteri süspansiyonları $36\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakıldı ve süre sonunda petrilerdeki koloniler sayıldı. Hiç üreme olmamışsa üreme yok şeklinde not edildi. Koloni sayısı 0-330 arasında olan petrilerdeki koloniler sayılarak not edildi (örneğin; 200). Koloni sayısı 330'dan fazla olduğunda koloni sayısı 330'un üzerinde şeklinde kaydedildi ve test edilen dezenfektanın belirtilen süre ve şartlarda (temiz/kirli) o izolat üzerine etkisiz olduğu kabul edildi. Başlangıç test süspansiyonunda (N) bulunan bakteri sayısı ile dezenfektanla muamele sonrası bakteri bulunan sayısı arasında 5 log₁₀'luk azalma (10^5) olması dezenfektanın etkili olduğunun göstergesi olarak kabul edildi.

İstatistiksel analizler

Çalışmada incelenen sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler olarak ifade edilirken, kategorik değişkenler için sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler bakımından dezenfektan maddesi dozlarının dakikalara göre değişimini karşılaştırmada Tekrarlanan Ölçümlü Varyans analizi yapılmıştır. Varyans analizini takiben farklı grupları belirlemede Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemek için Ki-kare testi yapılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi 0.05

olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı (SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.) kullanılmıştır.

Bulgular

Çalışmada 69 *E. faecium* izolatu kullanıldı. Vankomisin dirençli enterokokların en sık izole edildiği klinik örnek türü 45 (%65.2) örnekle rektal sürüntü örnekleriydi. İkinci sıklıkla bakteri izole edilen örnek 15 (%21.7) örnekle idrar numuneleri idi. Çalışma izolatlarının elde edildikleri örnek türlerine göre dağılımı (sayı ve yüzde oranları) [Tablo 1](#)'de sunulmuştur.

Tablo 1. Çalışma izolatlarının elde edildikleri örnek türlerine göre dağılımı.		
Materyal	İzolot sayısı	%
Rektal sürüntü	45	65.2
İdrar	15	21.7
Kan	6	8.7
Plevra sıvısı	1	1.45
Asit sıvısı	1	1.45
Gaita	1	1.45
Toplam	69	100.0

Enterokok izolatlarının dezenfektan duyarlılıkları

Kullanılan tüm dezenfektanlar için kontrol deneylerinin tümünde sonuçların uygun olduğu bulundu. Çalışmadaki tüm suşların test edilen üç dezenfektanın beş ayrı konsantrasyonuna karşı duyarlılıkları birbirinden farklı olarak bulundu. Çalışmada kullanılan dezenfektanların, belirtilen sürelerde ve konsantrasyonlarda test edilmesi sonrası bakteri sayılarındaki ortalama logaritmik azalma oranlarına ait sonuçlar [Tablo 2](#)'deki gibidir. Dezenfeksiyon işleminde, dezenfektanın etkili olarak kabul edilebilmesi için canlı bakteri sayısında en az 5 log₁₀'luk (10⁵'lik) bir azalma olması gerekmektedir. Çalışmada test edilen dezenfektanlardan %5 sodyum hipokloritin 1/10'luk dilüsyonunun 1. dakikada temiz ve kirli şartlarda 6-7 log₁₀'luk, 1/100'lük dilüsyonunun ise temiz şartlarda 6-7 log₁₀'luk azalma sağladığı belirlendi. Klorheksidin (%4'lük) ise 5. dakikada her iki ortam koşullarında (temiz, kirli) 6-7 log₁₀'luk azalma sağlamıştır. Akacid plus'ın %0.1

ve %0.5'lik konsantrasyonlarının her iki ortam şartlarında dezenfektan etkinliğinin 15. dakikada başladığı ve 5-6.4 log₁₀ gibi daha az logaritmik azalma sağladığı tespit edildi.

Çalışmada kullanılan dezenfektan maddelerin etkinlikleri istatistiksel olarak analiz edildiğinde; test edilen VRE suşları üzerinde 1. dakika sonunda en etkili dezenfektanın %5 sodyum hipokloritin 1/10'luk dilüsyonu olduğu; 5, 15 ve 30. dakikalarda ise en etkili dezenfektanların çamaşır suyunun 1/10'luk dilüsyonu ile klorheksidin (%4'lük) olduğu belirlendi. Ortam şartlarının temiz veya kirli olmasından en çok etkilenen dezenfektanlar 1. Dakikada çamaşır suyunun 1/10 ve 1/100'lük dilüsyonları, 5. dakikada çamaşır suyunun her iki dilüsyonu ile Akacid plus'un %0.5'lik konsantrasyonu, 15. dakikada çamaşır suyunun 1/100'lük sulandırımı ve Akacid plus'un %0.5'lik konsantrasyonları ve 30. dakikada ise çamaşır suyunun 1/100'lük dilüsyonu olarak bulundu.

Tablo 2. Tüm dezenfektanların enterokok suşlarına karşı logaritmik azalma analizleri.

Dezenfektan maddeler	Şartlar	1. dakika			5. dakika			15. dakika			30. dakika		
		ort. log	n	%	ort. log	n	%	ort. log	n	%	ort. log	n	%
Sodyum hipoklorit %5 (1/10)	Temiz	7	66	95.7	7.1	68	98.6	7.1	69	100	7.1	69	100
	Kirli	6.2	51	73.9	6.8	63	91.3	7.1	69	100	7.1	69	100
Sodyum hipoklorit %5 (1/100)	Temiz	6.5	55	79.7	6.8	62	89.9	6.9	64	92.8	7.1	68	98.6
	Kirli	3.7	2	2.9	3.9	6	8.7	4	7	10.1	4.3	13	18.8
Klorheksidin %4	Temiz	4.6	18	26.1	7	66	95.7	7.1	68	98.6	7.1	69	100
	Kirli	4.3	14	20.3	6.9	64	92.8	7	67	97.1	7.1	69	100
Akacid plus %0.1	Temiz	3.7	1	1.4	4.5	17	24.6	5.5	36	52.2	5.9	45	65.2
	Kirli	3.6	0	0.0	4.1	9	13.0	5	29	42.0	5.6	39	56.5
Akacid plus %0.5	Temiz	3.8	2	2.9	4.8	21	30.4	6.4	54	78.3	6.9	63	91.3
	Kirli	3.6	0	0.0	4.2	11	15.9	5.7	40	58.0	6.7	61	88.4

n: >5 log₁₀'luk üreme inhibisyonu etkisi gözlenen suş sayısı. Ort.; ortalama.

Dezenfektan maddelerin aynı şartlarda temas sürelerinin değişimi sonrası VRE üremeleri üzerine etkilerine baktığımızda;

Sodyum hipoklorit (%5'lik) 1/10'luk dilüsyonu; Temiz şartlarda etkinliği tüm sürelerde benzer olup istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bununla beraber, kirli şartlarda 1. dakikadaki etkinliği 5, 15, 30. dakikalara göre daha düşük olup istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık olduğu bulundu. Temiz ve kirli koşullar için 5, 15, 30. dakikalardaki etkinliklerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi.

Sodyum hipoklorit (%5'lik) 1/100'lük dilüsyonu; Temiz şartlarda 1. dakikadaki etkinliği 5, 15, 30. dakikalara göre daha az olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Kirli şartlarda 1. dakikadaki etkinliği ile 5 ve 15. dakikalardaki etkinlikleri arasında anlamlı fark yok iken , 1. dakika ile 30. dakika arasındaki etkinliğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

Klorheksidin %4'lük konsantrasyonu; Temiz ve kirli şartlarda 1. dakikadaki etkinliği ile 5, 15, 30. dakikalardaki etkinlikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken (1. dakikadan sonra etkinliği artmış), 5, 15, 30. dakikalardaki etkinlikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi.

Akacid plus %0.1'lik konsantrasyonu; Temiz ve kirli şartlardaki etkinliği 1, 5 ve 15. dakikalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken,

15. dakika ile 30. dakika arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı, 15. dakikadan itibaren temas süresinin artıyor olması etkinliği değiştirmemiştir.

Akacid plus'ın %0.5'lik konsantrasyonu; Temiz ve kirli şartlardaki etkinliğinde test edilen tüm sürelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Temas süresi arttıkça dezenfektanın etkinliğinin arttığı görüldü.

Çalışmada kullanılan dezenfektanların logaritmik azalma analizlerini istatistiksel olarak değerlendirdiğimizde;

Temiz ve kirli koşullar arasındaki fark %5 sodyum hipokloritin 1/100'lük dilüsyonu dışında diğer dezenfektanlarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Temas süresine göre karşılaştırma yapıldığında 1. dakika ile 15 ve 30. dakikalardaki azalma arasında önemli bir fark bulunurken (p<0.05), 5. dakika ile diğer tüm dakikalar arasındaki fark önemli bulunmadı.

Dezenfektan madde türüne göre kıyaslama yapıldığında ise dezenfektanların etkileri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Akacid plus'ın %0.1 ve %0.5'lik konsantrasyonları logaritmik azalmanın en az görüldüğü dezenfektan türü olarak bulunurken, çamaşır suyunun 1/10'luk dilüsyonu ve %4'lük klorheksidin yapmış olduğu logaritmik azalma arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Tartışma

Sodyum hipoklorit yüksek derecede oksitleyici özelliği sayesinde mikroorganizmalarda parçalanmalara neden olan; yoğunluk ve temas sürelerine göre yüksek, orta ve düşük düzeylerde dezenfeksiyon sağlayan bir dezenfektandır. Sodyum hipokloritin %5'inde 50.000 ppm serbest klor bulunur [21]. Çalışmamızdaki 1/10'luk ve 1/100'lük dilüsyonlarında sırasıyla 5.000 ppm ve 500 ppm serbest klor bulunmaktadır.

Grabsch ve ark.'nın [16], çamaşır suyu bazlı temizlik ve dezenfeksiyon programının VRE kolonizasyonu ve bakteriyemisi üzerine etkinliğini araştırdığı çalışmada 1000 ppm sodyum hipoklorit ve deterjan karışımı kullanılmış ve çamaşır suyu-temizlik programının hastane içindeki VRE bakteriyemilerini ve yüksek riskli hasta grubundaki yeni VRE kolonizasyonlarını belirgin bir şekilde düşürdüğü gösterilmiştir [16]. Ülkemizde yürütülen bir çalışmada İrikli ve ark. [22] hastane enfeksiyon etkeni olarak sık izole edilen mikroorganizmalar ve standart suşlar üzerinde bazı dezenfektanların etkinliğini araştırmıştır. Bahsedilen çalışmada %5 sodyum hipokloritin 1/10, 1/100, 1/1000'lük sulandırımıları test edilmiş ve 1/10'lük sulandırımının tüm kökenlere 2 dakikada etkili olduğu görülürken, 1/100'lük sulandırımının etkili olabilmesi için 10 dakikalık bir temas süresinin gerekli olduğu görülmüştür. Yavaş ve ark.'nın [23], hastanelerde kullanılan dezenfektanların nozokomiyal enfeksiyon etkeni bakterilere karşı etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında hastanelerin zemin temizliğinde kullanılan %5'lik sodyum hipokloritin 1/8'lik dilüsyonunun temiz şartlarda 15. dakikadan itibaren tüm VRE suşları üzerine etkili olduğu; kirli şartlarda ise suşların tamamına etkinlik gösterebilmesi için 30 dakikalık bir temas süresinin gerekli olduğu tespit edilmiştir [23]. Hastane kaynaklı bir MERS (*Middle East Respiratory Syndrome*) salgını sırasında MERS'li hastaların kaldığı odaların taburculuk sonrası %5'lik sodyum hipoklorit ile 6 kez temizlenmesi ve bu dezenfeksiyon sürecine ilave olarak odaların vaporize hidrojen peroksitle muamele edilmesi işlemleri sonrasında 2 ay boyunca hastanede VRE izolasyonunda anlamlı azalma olduğu görülmüştür [24]. Çalışmamızda temiz ve kirli olarak iki ayrı ortam hazırlanmıştır. Temiz ve kirli şartların her

ikisinde de en etkili dezenfektanın sodyum hipokloritin 1/10'lük dilüsyonu olduğunu tespit ettiğimiz bu çalışmada 1/100'lük dilüsyonun temiz şartlarda 30 dakikada tüm VRE suşlarına etkili olduğu bulunurken, kirli şartlarda 30 dakikalık bir muamele süresi sonunda bile tüm VRE suşlarının dezenfeksiyonu için yeterli olmamıştır.

Klorheksidin bakteri hücre membranında bulunan negatif yüklü gruplar ile reaksiyona girerek hücre zarının geçirgenliğini bozar ve bakterisidal etki gösterir [18]. Eryılmaz ve ark.'nın nozokomiyal enfeksiyon etkeni *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus* spp. izolatları üzerine bazı dezenfektanların etkinliklerini araştırdıkları çalışmada [25], temas süreleri olan 3, 5 ve 10 dakikada %4'lük klorheksidin izolatların tamamına karşı etkili olduğu görülmüştür. Bu çalışmada temiz ve kirli şartlar diye ayrı ayrı test edilmemiştir. Bizim çalışmamızda klorheksidin %4'lük konsantrasyonu temiz ve kirli şartların her ikisinde de 15. dakikadan itibaren suşların tamamına etkili olmuştur. Chen ve ark.'nın [26] çalışmasında cilt antisepsisinde kullanılan klorheksidin banyosunun %2'lik konsantrasyonda dahi VRE enfeksiyonlarının insidansını belirgin bir şekilde düşürdüğü tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada aktif VRE sürveyansı ve temas izolasyonu altındaki bir grup yoğun bakım hastalarına günlük %2'lik klorheksidin banyosu uygulanmış, diğer grup yoğun bakım hastalarına ise klorheksidin banyosu olmaksızın standart bakım prosedürleri uygulanmış ve klorheksidin banyosunun bağımsız olarak hastane kaynaklı VRE enfeksiyon riskini %70 azalttığı görülmüştür [27]. Çoklu ilaca dirençli mikroorganizmalara bağlı bulaş ve enfeksiyonu azaltmak için hastalarda kullanılan %2-%4'lük klorheksidin glukonat banyosunun etkinliğinin değerlendirildiği çalışmaların bir özetinin sunulduğu bir derleme makalede; klorheksidin yatan hastalarda VRE taşıyıcılığını azaltabildiği ve bir çok merkezli çalışmada ve iki yarı deneysel çalışmada klorheksidin banyosunun VRE kazanımını azalttığına gösterildiği bildirilmiştir [28]. Suh ve ark.'nın [29] medikal yoğun bakım ünitesindeki hastalarda %2'lik klorheksidin glukonat banyosunun VRE kazanımını %58 oranında düşürdüğü görülmüş ve yüksek VRE endemisitesi olan medikal yoğun bakım ünitelerindeki

hastalarda VRE çapraz bulaşını azaltmada klorheksidin glukonatin etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Hastanelerde kullanılan geleneksel manuel temizlik ve dezenfeksiyon uygulamaları sıklıkla suboptimal olduğundan, sağlık hizmetlerinde yüzeylerin dezenfeksiyonunu iyileştirmek için daha yeni dezenfektanların ve temassız dekontaminasyon teknolojilerinin kullanımının düşünülmesi önerilmektedir [30]. Bu bağlamda Akacid plus, polimerik katyonik dezenfektanlar grubundan olup foglama (buhar) yöntemiyle dezenfeksiyonda kullanılan dezenfektanlardandır. Akacid plus pozitif yüklü olmasından dolayı, bakterilerin negatif yüklü hücre duvarlarına ve membranlarına yüksek afiniteyle bağlanıp hücre duvarı ve hücre membranında bozulmalara sebep olur. Akacid plus gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı geniş in vitro aktiviteye sahip suda yüksek çözünürlüğü olan bir kimyasaldır [31]. Aydın ve ark.'nın [32] ülkemizde yapmış olduğu bir çalışmada yüksek riskli yerlerde Akacid plus foglamanın etkinliği araştırılmıştır. İlgili çalışmada, oda içerisindeki değişik yerlere *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Aspergillus* spp. yayılmış; Akacid plus'un %0.5'lik konsantrasyonu aerosol aplikatörle foglama yöntemi kullanılarak 45 dakika boyunca bir odanın dezenfeksiyonu için uygulanmış ve uygulamadan iki saat sonra alınan ortam kültürlerinde *E. faecalis* ve test edilen diğer mikroorganizmaların hiçbirisinin 45 dakikalık dezenfeksiyon sonrasında üremediği görülmüştür. Çalışmamızda ise Akacid plus'un %0.5'lik konsantrasyonu zorunlu temas süreleri olan 1, 5, 15, 30. dakikalar için temiz ve kirli şartlarda test edildi ve Akacid plus 30. dakikada temiz şartlarda 69 suşun 68'ine etkiliyken, kirli şartlarda 62 suşa karşı etkili olmuştur. Test edilen zorunlu temas süreleri içinde en uzun süre 30 dakikadır. Aydın ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada [32], Akacid plus'un suşların tamamına etkili bulunmasında sürenin 45 dakika olmasının ve kirli şartlar için dezenfektan etkinliğinin test edilmemiş olmasının etkili olduğu düşünülmüştür.

Unal ve ark.'nın [20] yapmış olduğu bir çalışmada hastane enfeksiyonlarına neden olan

mikroorganizmaların eradikasyonunda Akacid plus foglamanın etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada vankomisin dirençli *E. faecium* kullanılmıştır. Test temiz şartlarda ve %2 albüminin olduğu kirli şartlarda ayrı ayrı yapılmıştır. Oda içerisine 45 dk boyunca aerosol aplikatör yardımıyla %0.5'lik Akacid plus uygulanmış, uygulamadan iki saat sonra ortam örnekleri alınmış ve başlangıçtaki koloni sayısı ile işlem sonrası koloni sayıları karşılaştırılmıştır. Albüminin hiç kullanılmadığı yüzeylerde VRE sayısı 10^7 'den 5×10^2 'ye düşerken, %2'lik albüminle kirli şartların oluşturulduğu yüzeylerde bakteri sayısının 10^7 'den 2.5×10^3 'e düştüğü görülmüştür. Bir dezenfektanın etkin olduğunun söylenebilmesi için gerekli 10^5 'lik azalma vankomisin dirençli *E. faecium* için temiz şartlarda sağlanmışken, kirli şartlarda etkili olmadığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda temiz şart olarak %0.3'lük albumin, kirli şart olarak %3'lük albumin kullanılmıştır. Her iki şartlardaki organik kir yükü Unal ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmadan daha fazladır. Bu nedenle VRE sayısındaki azalma miktarı daha az bulunmuş, ancak bu çalışmanın sonucu çalışmamızla uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmanın tek merkezli bir çalışma olması gibi bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Bir tıpta uzmanlık tez çalışması olması nedeniyle çalışmaya alınan mikroorganizmaların ve dezenfektan ve antiseptik maddelerin sayısı ve konsantrasyonu bilimsel araştırma proje destek miktarını aşmayacak şekilde planlanmıştır.

Sonuç

Her dezenfektanın mikroorganizmalar üzerine etkinliği için gerekli temas süresi ve etkin olduğu konsantrasyon farklı olduğundan optimal süre ve konsantrasyonun in-vitro test edilmesi sonrasında elde edilen sonuçlar dikkate alınarak hastanelerde dezenfeksiyon ve antisepsi prosedürlerinin planlanması ve uygulanmasının hastane kaynaklı enfeksiyonların azalmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Ayrıca aynı dezenfektanın sürekli kullanılmasının dezenfektan dirençli suşların seçilmesine neden olabileceği akılda tutularak [33], dirençli bakterilere etkili olduğu bilinen dezenfektan ve antiseptiklerin rotasyonlar halinde kullanılmasının faydalı olacağı düşünülmüştür.

Çıkar beyanı: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemiştir. Makalenin içeriğinden ve yazılmasından tek başına yazarlar sorumludur. **Finansal destek:** Çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı (BAPB) Araştırma Fonu tarafından 2015-TF-U014 numaralı proje olarak desteklenmiş olup katkılarından dolayı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Dubin K, Pamer EG. Enterococci and Their Interactions with the Intestinal Microbiome. *Microbiol Spectr* 2014; 5(6): 10.1128/microbiolspec.BAD-0014-2016. [[Crossref](#)]
2. Krawczyk B, Wityk P, Gałęcka M, Michalik M. The Many Faces of Enterococcus spp.-Commensal, Probiotic and Opportunistic Pathogen. *Microorganisms* 2021; 9(9): 1900. [[Crossref](#)]
3. Devriese L, Baele M, Butaye P. The Genus Enterococcus. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E (eds), *The Prokaryotes*. 2006, Springer, New York, NY. pp:163-74. [[Crossref](#)]
4. Montoya A, Schildhouse R, Goyal A, Mann JD, Snyder A, Chopra V, et al. How often are health care personnel hands colonized with multidrug-resistant organisms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Infect Control* 2019; 47(6): 693-703. [[Crossref](#)]
5. Khan HA, Ahmad A, Mehboob R. Nosocomial infections and their control strategies. *Asian Pac J Trop Biomed* 2015; 509-14. [[Crossref](#)]
6. Ayobami O, Willrich N, Reuss A, Eckmanns T, Markwart R. The ongoing challenge of vancomycin-resistant Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis in Europe: an epidemiological analysis of bloodstream infections. *Emerg Microbes Infect* 2020; 9(1): 1180-93. [[Crossref](#)]
7. Saengsuwan P, Singkhamanan K, Madla S, Ingviya N, Romyasamit C. Molecular epidemiology of vancomycin-resistant Enterococcus faecium clinical isolates in a tertiary care hospital in southern Thailand: a retrospective study. *PeerJ* 2021; 9: e11478. [[Crossref](#)]
8. Puchter L, Chaberny IF, Schwab F, Vonberg RP, Bange FC, Ebadi E. Economic burden of nosocomial infections caused by vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Resist Infect Control* 2018; 7: 1. [[Crossref](#)]
9. Pan SC, Wang JT, Chen YC, Chang YY, Chen ML, Chang SC. Incidence of and risk factors for infection or colonization of vancomycin-resistant enterococci in patients in the intensive care unit. *PLoS One* 2012; 7(10): e47297. [[Crossref](#)]
10. Bonten MJ, Hayden MK, Nathan C, van Voorhis J, Matushek M, Slaughter S, et al. Epidemiology of colonisation of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1996; 348(9042): 1615-9. [[Crossref](#)]
11. Erdem D, Kanyılmaz D, Akan B, Andıç KD, Yetkin MA, Bodur H. Importance of the Risk Factors for Vancomycin Resistant Enterococcus Infection/Colonization - Development in Tertiary Intensive Care Units. *Kafkas J Med Sci* 2016; 6(2): 76-80. [[Crossref](#)]
12. Correa-Martinez CL, Tönnies H, Froböse NJ, Mellmann A, Kampmeier S. Transmission of Vancomycin-Resistant Enterococci in the Hospital Setting: Uncovering the Patient-Environment Interplay. *Microorganisms* 2020; 8(2): 203. [[Crossref](#)]
13. Suleyman G, Alangaden G, Bardossy AC. The Role of Environmental Contamination in the Transmission of Nosocomial Pathogens and Healthcare-Associated Infections. *Curr Infect Dis Rep* 2018; 20(6): 12. [[Crossref](#)]
14. Gast KB, van Oudheusden AJG, Murk JL, Stohr JJJM, Buiting AG, Verweij JJ. Successful containment of two vancomycin-resistant Enterococcus faecium (VRE) outbreaks in a Dutch teaching hospital using environmental sampling and whole-genome sequencing. *J Hosp Infect* 2021; 111: 132-9. [[Crossref](#)]
15. Eryılmaz M, Akın A. Comparison of efficacy of some hand antiseptics against meticilline-resistant *Staphylococcus aureus*. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2007; 37(3): 161-3.
16. Grabsch EA, Mahony AA, Cameron DR, Martin RD, Heland M, Davey P, et al. Significant reduction in vancomycin-resistant enterococcus colonization and bacteraemia after introduction of a bleach-based cleaning-disinfection programme. *J Hosp Infect* 2012; 82(4): 234-42. [[Crossref](#)]
17. Kratzer C, Tobudic S, Graninger W, Buxbaum A, Georgopoulos A. In vitro antimicrobial activity of the novel polymeric guanidine Akacid plus. *J Hosp Infect* 2006; 63(3): 316-22. [[Crossref](#)]
18. Eryılmaz M, Akın A. Dezenfeksiyon ve antisepsi. *Ankara Ecz Fak Derg* 2008; 37(4): 311-31. [[Crossref](#)]
19. Buxbaum A, Kratzer C, Graninger W, Georgopoulos A. Antimicrobial and toxicological profile of the new biocide Akacid plus. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58(1): 193-7. [[Crossref](#)]
20. Unal N, Yanik K, Karadag A, Odabaşı H, Esen S, Günaydin M. Evaluation of the efficacy of akacid plus® fogging in eradicating causative microorganism in nosocomial infections. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7(12): 5867-71. [[PubMed](#)]
21. Snyder GM, Thom KA, Furuno JP, Perencevich EN, Roghmann MC, Strauss SM, et al. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci on the gowns and gloves of healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29(7): 583-9. [[Crossref](#)]

- 22.** İrikli S, Tatman-Otkun M. Bazı antiseptik ve dezenfektanların in vitro antimikrobik aktivitelerinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2007; 21(1): 7-13.
- 23.** Yavaş Ç, Kaynak-Onurdağ F, Okten S. Are the Disinfectants Used in Hospitals Also Effective on Bacteria That Cause Nosocomial Infections?: A University Hospital Investigation. *J Fac Pharm Ankara* 2022; 46(1): 129-43. [[Crossref](#)]
- 24.** Ko JH, Kim SH, Lee NY, Kim YJ, Cho SY, Kang CI, et al. Effects of environmental disinfection on the isolation of vancomycin-resistant *Enterococcus* after a hospital-associated outbreak of Middle East respiratory syndrome. *Am J Infect Control* 2019; 47(12): 1516-8. [[Crossref](#)]
- 25.** Eryılmaz M, Akın A, Arıkan Akan O. Investigation of the efficacy of some disinfectants against nosocomial *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* spp. isolates. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(3): 454-60. [[PubMed](#)]
- 26.** Chen W, Li S, Li L, Wu X, Zhang W. Effects of daily bathing with chlorhexidine and acquired infection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus*: a meta-analysis. *J Thorac Dis* 2013; 5(4): 518-24. [[Crossref](#)]
- 27.** Tien KL, Wang JT, Sheng WH, Lin HJ, Chung PY, Tsan CY, et al. Chlorhexidine bathing to prevent healthcare-associated vancomycin-resistant *Enterococcus* infections: A cluster quasi-experimental controlled study at intensive care units. *J Formos Med Assoc* 2021; 120(3): 1014-21. [[Crossref](#)]
- 28.** Gall E, Long A, Hall KK. Chlorhexidine Bathing Strategies for Multidrug-Resistant Organisms: A Summary of Recent Evidence. *J Patient Saf* 2020; 16(3S Suppl 1): S16-S22. [[Crossref](#)]
- 29.** Suh JW, Kim NH, Lee MJ, Lee SE, Chun BC, Lee CK, et al. Real-world experience of how chlorhexidine bathing affects the acquisition and incidence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in a medical intensive care unit with VRE endemicity: a prospective interrupted time-series study. *Antimicrob Resist Infect Control* 2021; 10(1): 160. [[Crossref](#)]
- 30.** Boyce JM. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016; 5: 10. [[Crossref](#)]
- 31.** Kratzer C, Tobudic S, Assadian O, Buxbaum A, Graninger W, Georgopoulos A. Validation of AKACID plus as a room disinfectant in the hospital setting. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72(6): 3826-31. [[Crossref](#)]
- 32.** Aydın F, Atik TK, Bektöre B, Selek MB, Baylan O, Özyurt M. Investigation of Akacid Plus Fogging Effectiveness in High Risk Settings. 14.th World Sterilization Congress & 8th National Sterilization Disinfection Congress of Turkey. November 2013, Antalya, Turkey. PS-129.
- 33.** Kayan S, Altanlar N. Hastanelerde Sıklıkla Kullanılan Bazı Dezenfektan ve Antiseptiklerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması. *Ankara Ecz Fak Derg* 2021; 45(2): 297-308. [[Crossref](#)]