นิพนธ์ต้นฉบับ • Original Article

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารผสมระหว่าง Ethanol และ Clorox® ในห้องปฏิบัติการ

พลวัฒน์ จันทร์ผิว
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย 20131

Comparison of Bactericidal Efficacy between Ethanol- and Clorox®-containing Disinfectants in Laboratories

Phonlawat Janpiw
Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University, Chonburi province, Thailand, 20131
E-mail: phonlawat@buu.ac.th

หลักการและวัตถุประสงค์: Ethanol และ Clorox® เป็นสารเคมีที่นิยมนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ แต่อย่างไรก็ตามสารเคมีทั้งสองนั้นมีข้อจำกัดบางประการ โดย Ethanol มีคุณสมบัติในการระเหยง่าย ในขณะที่ Clorox® นั้นมีฤทธิ์กัดกร่อน เมื่อใช้ที่ความเข้มข้นสูงจะทำให้ระคายเคืองต่อผู้ใช้ ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยมีจุดมุ่งหมายในการหาความเข้มข้นน้อยที่สุดของ Clorox® ที่ยังคงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้สูง และเพื่อศึกษาคุณสมบัติการทำงานร่วมกันของสารผสม Clorox® กับ Ethanol ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

วิธีการศึกษา: เป็นการศึกษาสารเคมี 5 สูตร คือ 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสมกับ 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol โดยใช้วิธี disc diffusion method รวมถึงศึกษาระยะเวลาและการฆ่าเชื้อเสมือนจริง โดยใช้แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*) และ *Bacillus cereus (B. cereus)*

ผลการศึกษา: สารเคมีทั้ง 5 สูตรมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ทั้ง 3 สายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำกลั่น โดยสูตรฆ่าเชื้อที่ดีที่สุด 2 สูตร คือ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol ซึ่งมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p \geq 0.05$) และสารเคมีทั้ง 5 สูตรฆ่าเชื้อได้ทั้งหมดที่นาทีที่ 0

Background and Objective: Ethanol and Clorox® are chemicals used worldwide for disinfectant purposes in laboratories. However, there are some limitations of these chemicals; Ethanol is highly volatile, thus decreasing bactericidal activity, while Clorox® is corrosive and exposure to high concentration might cause severe irritation. In this study, we aim to determine the minimum concentration of Clorox® that still have bactericidal properties and to study the synergistic bactericidal properties of the mixture of Clorox® and Ethanol.

Methods: Five different conditions were used in this study; 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® mixed with 70%Ethanol, 4%Clorox® mixed with 70%Ethanol, and 70%Ethanol. Bactericidal activities were evaluated against three bacteria species, *S. aureus*, *E. coli and B. cereus*, by Disc Diffusion Method. The onset and duration of sterilization were also observed in a time-based manner.

Results: The results revealed that bactericidal activities of all 5 conditions were significantly different when compared with negative control ($p < 0.05$). The combination of 2%Clorox® mixed with 70%Ethanol and 4%Clorox® mixed with 70%Ethanol showed the best bactericidal activity. This study also found that all conditions, except 70%Ethanol, showed 100% bactericidal activity at 0 minute.

Conclusion: To ensure the high bactericidal efficacy, it is necessary to treat laboratory equipment for 10 minutes before cleaning. The mixture of 2%Clorox® and 70%Ethanol

สรุป: สารเคมีทั้ง 5 สูตรมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ โดยเลือกใช้ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol เพราะใช้ Clorox® ความเข้มข้นต่ำ ลดการเกิดเชื้อดื้อยาและลดการระคายเคืองต่อผู้ใช้ แต่อย่างไรก็ตาม ควรแช่วัสดุอุปกรณ์ก่อนทำความสะอาด 10 นาที เพื่อให้สารเคมีฆ่าแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: Ethanol, Clorox®, ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ, การฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

might be the best choice, considering the safety of using low concentration of Clorox® and prevention of bacterial resistance by using chemical combination.

Keywords: Ethanol, Clorox®, time-based manner, bactericidal activity

ศรีนครินทร์เวชสาร 2561; 33(5): 444-50. • Srinagarind Med J 2018; 33(5): 444-50.

บทนำ

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา มีศาสตร์การเรียนการสอนที่หลากหลาย เพื่อสร้างวิชาชีพสนับสนุนทางด้านการแพทย์ซึ่งศาสตร์ทางด้านจุลชีววิทยาเป็นศาสตร์หนึ่งที่มีความสำคัญจำเป็นต้องศึกษา ในการเรียนจุลชีววิทยานั้นจะมีวัสดุและอุปกรณ์ที่มีการปนเปื้อนแบคทีเรียและมีขยะติดเชื้อเกิดขึ้น[1] ถ้าไม่มีระบบจัดการที่ดี เชื้อแบคทีเรียก็จะสามารถแพร่กระจายไปสู่สิ่งแวดล้อมและอาจก่อให้เกิดโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียต่อนิสิต อาจารย์ และบุคลากรภายในคณะได้ ดังนั้น ต้องมีระบบในการจัดการกับเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพ

ในปัจจุบันทางคณะได้มีการจัดการกับวัสดุอุปกรณ์ที่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียและขยะติดเชื้อที่เกิดขึ้น โดยนำไปทำลายเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำ (autoclave) แต่สิ่งที่ต้องฆ่าเชื้อแบคทีเรียมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งมีเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำอยู่อย่างจำกัด ทำให้ไม่เพียงพอต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นการช่วยลดการใช้เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำ และป้องกันการแพร่กระจายของแบคทีเรียจำเป็นต้องหาวิธีการที่จะช่วยในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว

วิธีที่นิยมนำมาใช้ฆ่าเชื้อแบคทีเรียนั้น คือการใช้สารเคมีมาใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย[1] ซึ่งปัจจุบันทางคณะจะใช้ 70%Ethanol เช็ดโต๊ะปฏิบัติการฆ่าเชื้อแบคทีเรียหลังจากเรียนเสร็จ ซึ่งราคาถูกและหาซื้อง่าย ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ แต่อย่างไรก็ตาม เนื่องจาก Ethanol มีคุณสมบัติระเหยง่าย[2] จึงไม่เหมาะต่อการนำมาแช่วัสดุและอุปกรณ์ที่ปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย จึงต้องหาสารเคมีตัวอื่นมาช่วยในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

สารเคมีอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ คือ Clorox® เป็นสารที่นิยมนำมาใช้ เนื่องจากมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และไวรัส ได้หลากหลายชนิด มีประสิทธิภาพสูงเหมาะแก่การนำมาแช่วัสดุ อุปกรณ์ ที่มีปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียก่อนนำมาล้างแล้วนำไปใช้ใหม่เพื่อลดปริมาณการใช้เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำ และสามารถนำไปแช่ขยะติดเชื้อก่อนนำไปทำลายเพื่อลดการแพร่กระจายของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตาม Clorox® ก็มีข้อเสีย ถ้าหากใช้ในปริมาณมากและมีความเข้มข้นสูง สามารถทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผู้ใช้[3] ผู้วิจัยจึงต้องการหาสูตรที่ใช้ Clorox® มีความเข้มข้นน้อยแต่ยังให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้สูง จึงคิดนำ 70%Ethanol มาผสมเพื่อดูว่ามีการเสริมฤทธิ์กันหรือไม่ เพื่อให้ได้สูตรฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดแต่ยังเกิดความปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน

การศึกษาครั้งนี้จะศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารเคมีทั้ง 5 สูตร ได้แก่ 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol โดยทดสอบดูการฆ่าในเชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *S. aureus*, *E. coli* และ *B. cereus* เพื่อหาสูตรของสารและเวลาที่เหมาะสมต่อการใช้งานให้มีประสิทธิภาพมากที่สุดเกิดความปลอดภัยต่อผู้ใช้ห้องปฏิบัติการ ลดการแพร่กระจายของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุต่อการเกิดโรคต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

นำเชื้อแบคทีเรียในตู้ -80 องศาเซลเซียสจากห้องปฏิบัติการคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus*, *E. coli* และ *B. cereus* มาเพาะเลี้ยงใน Mueller-Hinton Agar (MHA) และนำไป incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อทั้ง 2 ชนิดไปเจือจาง โดยเขี่ยโคโลนีของแต่ละเชื้อลงใน 0.85% sodium chloride (normal saline solution; NSS) ปรับความขุ่นให้เทียบเท่า McFarland No. 0.5 (~1.5 x 10^8 CFU/ml)

2. การเตรียมสารเคมีและน้ำกลั่น

การเตรียมสารทดสอบ 5 สูตร ให้ใช้ Clorox® หรือ Ethanol หรือทั้ง 2 อย่าง ผสมกันโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย โดยน้ำกลั่นไม่ต้อง sterile โดยผสมให้ได้ความเข้มข้น ดังนี้ 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol, และ 70%Ethanol และเตรียมน้ำกลั่นสำหรับเป็น negative Control จากนั้นนำไปทำการทดสอบทันที ถ้าหากยังไม่ทำการทดสอบควรบรรจุในขวดสีชาแล้วปิดให้สนิทก่อนเพื่อป้องกันการระเหยและสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้อย่างน้อย 60 วัน

3. การหา inhibition zone ของสารเคมีในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้วิธี disc diffusion method[4, 5]

ทำการ swab เชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้แต่ละสายพันธุ์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่มีความหนา 4 มม. ใน sterile petri dish ทิ้งไว้ให้แห้งแล้ววาง sterile disc ในแต่ละ plate จำนวน 6 จุด ในแต่ละจุดหยดสารเคมีที่เตรียมไว้แตกต่างกัน 30 µl ดังนี้ น้ำกลั่น, 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol จากนั้นนำ plate ทั้งหมดไป incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงแล้วอ่านค่า inhibition zone โดยทำเช่นเดิมจำนวน 3 ครั้ง แล้วบันทึกผล

จากนั้นนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า inhibition zone ของการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย แล้วทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารทั้ง 5 สูตร เพื่อให้การศึกษาน่าเชื่อถือ นำค่า inhibition zone ที่ได้ไปวิเคราะห์ในโปรแกรม SPSS หาความแปรปรวนของค่า inhibition zone ด้วย ANOVA จากนั้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละตัวในตาราง post hoc tests และแบ่งกลุ่มความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียดูจากตาราง homogeneous subsets ที่อาศัยค่าเฉลี่ยที่ความแตกต่างของในการแบ่งกลุ่ม

4. การหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้สารเคมีแช่วัสดุและอุปกรณ์เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

การทดลองนี้ทำขึ้นเพื่อทดสอบสารเคมีทั้ง 5 สูตรก่อนนำไปใช้แช่วัสดุและอุปกรณ์ที่ปนเปื้อนแบคทีเรียก่อนล้างทำความสะอาดได้จริง โดยติดตามปริมาณเชื้อที่ลดจำนวนลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยประยุกต์มาจากวิธี MIC มีวิธีดังนี้

นำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ในแต่ละสายพันธุ์แบ่งใส่หลอด 6 หลอด หลอดละ 5 มล. จากนั้นในแต่ละหลอดเติมสารเคมีแต่ละสูตรที่เตรียมไว้ โดยหลอดที่ 1 เติมน้ำกลั่น หลอดที่ 2 เติม 2%Clorox® หลอดที่ 3 เติม 4%Clorox® หลอดที่ 4 เติม 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol หลอดที่ 5 เติม 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และหลอดที่ 6 เติม 70%Ethanol จำนวน 5 มล. ทำการผสมให้เข้ากันแล้วเริ่มจับเวลา ดูดสารในแต่ละหลอด 1 มล. ในนาทีที่ 0, 10, 15, 30, 45 และ 60 ใส่ลงใน plate MHA หนา 4 มม. จากนั้นทำการ spread สารให้ทั่ว plate แล้วนำ plate ทั้งหมดไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วดูเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้น

การรายงานผล ถ้าเชื้อแบคทีเรียไม่ขึ้นบน plate หรือขึ้นน้อยกว่า 30 โคโลนี ถือว่า สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

ถ้าเชื้อแบคทีเรียขึ้นบน plate มากกว่า 30 โคโลนี ถือว่าไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียบนโต๊ะปฏิบัติการเสมือนจริง

การทดลองนี้ทำขึ้นเพื่อทดสอบสารเคมีทั้ง 5 สูตรก่อนนำไปใช้ฉีดฆ่าเชื้อแบคทีเรียบนโต๊ะปฏิบัติการหลังการเรียนการสอนได้จริง โดยการจำลองมีวิธีการดังนี้

ดูดเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ 500 µl มาลงบนแผ่นกระจกที่ sterile ขนาด 20 x 20 ซม. แล้ว swab เชื้อแบคทีเรียในแนวนอนและ swab ซ้ำในแนวตั้งให้ทั่วกระจกทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นฉีดสารเคมีจากกระบอกฉีด 5 ครั้ง ให้ทั่วกระจกที่ทำการลงเชื้อแบคทีเรียไว้ แล้วใช้ cotton swab ขีดเส้น 2 เส้นในกระจกจากมุมหนึ่งไปอีกมุมหนึ่งในแนวทแยงให้ตั้งฉากกันเป็นรูปตัว X ทันที แล้วนำไป swab ใน plate MHA โดยทำครั้งละ 1 สาร จนครบ 6 สาร ดังนี้ น้ำกลั่น, 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox®ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol จากนั้นนำ plate ทั้งหมดไป incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วดูเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้น

การรายงานผล ถ้าเชื้อแบคทีเรียไม่ขึ้นบน plate หรือขึ้นน้อยกว่า 30 โคโลนี ถือว่า สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

ถ้าเชื้อแบคทีเรียขึ้นบน plate มากกว่า 30 โคโลนี ถือว่าไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

ผลการศึกษา

1. ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า inhibition zone ของการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 5 สูตรและน้ำกลั่นในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ในการทำการทดลอง 3 ครั้ง จะได้ค่าเฉลี่ย inhibition zone และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า inhibition zone ของสารเคมีแต่ละสูตรในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

สารเคมี	inhibition zone (mm) (Means ± SD)		
	S. aureus	*E. coli*	*B. cereus*
น้ำกลั่น	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
2%Clorox®	12.33 ± 0.58	13.00 ± 0.00	11.33 ± 0.00
4%Clorox®	14.33 ± 0.58	15.67 ± 0.58	15.00 ± 0.00
2%Clorox® **ผสม** 70%Ethanol	15.33 ± 0.58	22.00 ± 0.00	18.00 ± 0.00
4%Clorox® **ผสม** 70%Ethanol	16.00 ± 0.00	23.00 ± 0.00	19.67 ± 0.58
70%Ethanol	11.67 ± 0.58	20.33 ± 0.58	15.00 ± 0.00

2. **ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 5 สูตรและน้ำกลั่นในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแยกตามสายพันธุ์** เมื่อนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 5 สูตรและน้ำกลั่นในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแยกตามสายพันธุ์ โดยวิเคราะห์ค่าสถิติด้วย ANOVA พบว่าการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 5 สูตร ในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* ที่นัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ได้ผลการเปรียบเทียบดังนี้ 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้เมื่อเทียบกับน้ำกลั่น ($p < 0.05$) ประสิทธิภาพของ 2%Clorox® สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ต่ำกว่า 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol ($p < 0.05$) แต่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ไม่แตกต่างกันกับ 70%Ethanol ($p \geq 0.05$) ประสิทธิภาพของ 4%Clorox® สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ต่ำกว่า 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol ($p < 0.05$) สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้สูงกว่า 70%Ethanol ($p < 0.05$) และสามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ไม่แตกต่างกันกับ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol ($p \geq 0.05$) ประสิทธิภาพของ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้สูงกว่า 70%Ethanol ($p < 0.05$) แต่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ไม่แตกต่างกันกับ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol ($p \geq 0.05$) และ ประสิทธิภาพของ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้สูงกว่า 70%Ethanol ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2)

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 5 สูตรในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ที่นัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ได้ผลการเปรียบเทียบดังนี้ 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* ได้เมื่อเทียบกับน้ำกลั่น ($p < 0.05$) ประสิทธิภาพของ 2%Clorox® สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* ได้ต่ำกว่า 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol ($p < 0.05$) ประสิทธิภาพของ 4%Clorox® สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* ได้ต่ำกว่า 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol ($p < 0.05$) ประสิทธิภาพของ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* ไม่แตกต่างกันกับ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol ($p \geq 0.05$) แต่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้สูงกว่า 70%Ethanol ($p < 0.05$) และประสิทธิภาพของ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* ได้สูงกว่า 70%Ethanol ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2)

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 5 สูตรในการฆ่าเชื้อ *B. cereus* ที่นัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ได้ผลการเปรียบเทียบดังนี้ 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อ *B. cereus* ได้เมื่อเทียบกับน้ำกลั่น ($p < 0.05$) ประสิทธิภาพของ 2%Clorox® สามารถฆ่าเชื้อ *B. cereus* ได้ต่ำกว่า 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol ($p < 0.05$) ประสิทธิภาพของ 4%Clorox® สามารถฆ่าเชื้อ *B. cereus* ได้ต่ำกว่า 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol ($p < 0.05$) แต่สามารถฆ่าเชื้อ *B. cereus* ได้ไม่แตกต่างกันกับ 70%Ethanol ($p \geq 0.05$) ประสิทธิภาพของ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อ *B. cereus* ไม่แตกต่างกันกับ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol ($p \geq 0.05$) แต่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้สูงกว่า 70%Ethanol ($p < 0.05$) และประสิทธิภาพของ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อ *B. cereus* ได้สูงกว่า 70%Ethanol ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างสารเคมีแต่ละสูตรในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์

การเปรียบเทียบ	*S. aureus*		*E. coli*		*B. cereus*	
	p-value	ผลการเปรียบเทียบ	p-value	ผลการเปรียบเทียบ	p-value	ผลการเปรียบเทียบ
น้ำกลั่นกับ 2%Clorox®	0.000	S	0.000	S	0.000	S
น้ำกลั่น กับ 4%Clorox®	0.000	S	0.000	S	0.000	S
น้ำกลั่นกับ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol	0.000	S	0.000	S	0.000	S
น้ำกลั่นกับ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol	0.000	S	0.000	S	0.000	S
น้ำกลั่น กับ 70%Ethanol	0.000	S	0.000	S	0.000	S
2%Clorox® กับ 4%Clorox®	0.002	S	0.001	S	0.000	S
2%Clorox® กับ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol	0.000	S	0.000	S	0.000	S
2%Clorox® กับ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol	0.000	S	0.000	S	0.000	S
2%Clorox® กับ 70%Ethanol	0.538	NS	0.000	S	0.000	S
4%Clorox® กับ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol	0.171	NS	0.000	S	0.001	S
4%Clorox® กับ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol	0.010	S	0.000	S	0.000	S
4%Clorox® กับ 70%Ethanol	0.000	S	0.000	S	1.000	NS
2%Clorox® ผสม 70%Ethanol กับ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol	0.538	NS	0.257	NS	0.082	NS
2%Clorox® ผสม 70%Ethanol กับ 70%Ethanol	0.000	S	0.021	S	0.001	S
4%Clorox® ผสม 70%Ethanol กับ 70%Ethanol	0.000	S	0.001	S	0.000	S

S = Significant difference ($p < 0.05$); NS = non- Significant difference ($p \geq 0.05$)

จากการเปรียบเทียบของสารเคมีในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ นำมาแยกเป็นกลุ่มโดยอาศัยค่าสถิติสามารถแบ่งกลุ่มได้ (ตารางที่ 3-5) พบว่า กลุ่มที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดมี 2 ตัว คือ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol มีความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% p = 0.538, 0.257 และ 0.082

ตารางที่ 3 แสดงการจัดกลุ่มประสิทธิภาพของสารเคมีในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* โดยอาศัยค่าสถิติ

สารเคมี	จำนวน	Subset for alpha = .05			
		กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
น้ำกลั่น	3	0.000			
2%Clorox®	3		12.333		
4%Clorox®	3			14.333	
2%Clorox® **ผสม** 70%Ethanol	3			15.333	15.333
4%Clorox® **ผสม** 70%Ethanol	3				16.000
70%Ethanol	3		11.667		
Sig.		1.000	0.538	0.171	0.538

ตารางที่ 4 แสดงการจัดกลุ่มประสิทธิภาพของสารเคมีในการฆ่าเชื้อ *E. coli* โดยอาศัยค่าสถิติ

สารเคมี	จำนวน	Subset for alpha = .05				
		กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4	กลุ่มที่ 5
น้ำกลั่น	3	0.000				
2%Clorox®	3		13.000			
4%Clorox®	3			15.667		
2%Clorox® **ผสม** 70%Ethanol	3					22.000
4%Clorox® **ผสม** 70%Ethanol	3					23.000
70%Ethanol	3				20.333	
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	0.257

ตารางที่ 5 แสดงการจัดกลุ่มประสิทธิภาพของสารเคมีในการฆ่าเชื้อ *B. cereus* โดยอาศัยค่าสถิติ

สารเคมี	จำนวน	Subset for alpha = .05			
		กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
น้ำกลั่น	3	.0000			
2%Clorox®	3		11.3333		
4%Clorox®	3			15.0000	
2%Clorox® ผสม 70%Ethanol	3				18.0000
4%Clorox® ผสม 70%Ethanol	3				19.6667
70%Ethanol	3			15.0000	
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.082

3. **การหาระยะเวลาในการใช้สารเคมีแช่วัสดุและอุปกรณ์เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรีย**

จากผลการทดลอง พบว่า ประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 5 สูตรสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ตั้งแต่นาทีที่ 0 เป็นต้นไป

4. **การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียบนโต๊ะปฏิบัติการเสมือนจริง**

จากผลการทดลอง พบว่า ประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 5 สูตรสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 3 สายพันธุ์

วิจารณ์

สารเคมีที่นิยมนำมาใช้ฆ่าเชื้อแบคทีเรียในปัจจุบันมีความหลากหลาย การเลือกนำมาใช้จะต้องเลือกตามความเหมาะสมของงานในห้องปฏิบัติการนั้นๆ ทางผู้วิจัยจึงนำ Ethanol และ Clorox® มาใช้ในการฆ่าเชื้อ เนื่องจากมีราคาถูกและปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน ซึ่งความเข้มข้นของ Ethanol ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอยู่ที่ร้อยละ 63–90[2, 6] และความเข้มข้นของ Clorox® ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอยู่ที่ร้อยละ 1 เป็นต้นไป แต่อย่างไรก็ตามถ้าใช้ความเข้มข้นของ Clorox® สูงก็อาจเกิดการระคายเคืองและเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ได้[3]

การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทดสอบหาสูตร ส่วนผสมของสารเคมี เพื่อให้ได้สูตรที่เหมาะต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียให้เกิดประสิทธิภาพมากที่สุดและไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ โดยศึกษาเปรียบเทียบสารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อที่มีส่วนผสมของ Ethanol และ Clorox® ทั้งหมด 5 สูตร ดังนี้ 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol การเลือกใช้ 2% และ 4%Clorox® เนื่องจากมีความเข้มข้นไม่น้อยเกินไปที่จะการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และไม่มากเกินไปที่จะเป็นอันตรายต่อผู้ใช้งาน และใช้ 70%Ethanol เนื่องใช้อยู่เป็นประจำในการฉีดฆ่าเชื้อแบคทีเรียบนโต๊ะปฏิบัติการหลังเสร็จจากการเรียนการสอน อีกทั้งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด[2, 6-8] เพราะถ้าความเข้มข้นมากจะระเหยเร็วเกินไปทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียน้อยลงหรือถ้าความเข้มข้นน้อยกว่านี้ก็จะไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ อย่างไรก็ดีจึงนำสารเคมี 2 ชนิดมารวมกันเพื่อดูว่า สารเคมี 2 ชนิดนี้มีการเสริมฤทธิ์กันหรือไม่ เพื่อให้ได้สูตรส่วนสารเคมีที่จะมาใช้ฆ่าเชื้อให้มีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยใช้แบคทีเรียในการศึกษา 3 สายพันธุ์ได้แก่ *S. aureus*, *E. coli* และ *B. cereus* เนื่องจากมีรายงานการก่อโรคในโรงพยาบาลเป็นอันดับต้นๆ[9] โดย *S. aureus* ก่อโรคฝี (boil, furuncle, impetigo) ฝีฝักบัว (carbuncle) ตากุ้งยิง (sty: styr) การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด (wound infection) เป็นต้น *E. coli* ก่อโรคอุจจาระร่วง โรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) ติดเชื้อที่ระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection; UTI) และการก่อโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารกแรกคลอด (neonatal meningitis) เป็นต้น และ *B. cereus* โรคโลหิตเป็นพิษ โรคกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ การติดเชื้อบริเวณบาดแผล โรคปอดบวม เป็นต้น[10, 12] อีกทั้ง 3 เชื้อนี้มีการใช้บ่อยในห้องปฏิบัติการเนื่องจากใช้เป็น Control ในการย้อมแกรม

ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ นำสารทั้งสารเคมีทั้ง 5 สูตรมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพความสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ค่าสถิติด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า ประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 5 สูตร ได้แก่ 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง *S. aureus*, *E. coli* และ *B. cereus* ได้อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำกลั่น จะเห็นได้ว่า Ethanol และ Clorox® มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อ

เมื่อนำมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีแต่ละสูตรในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยอาศัยค่าทางสถิติ พบว่าสูตรของสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์มากที่สุด คือ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol โดยมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันอย่าง

มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p \geq 0.05$) ดังนั้นเราควรเลือกใช้ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol เนื่องจากมีความเข้มข้นของ Clorox® ต่ำกว่าจะช่วยลดปัจจัยให้เชื้อเกิดการดื้อยาและลดการระคายเคืองต่อผู้ใช้งาน[11] อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษายังพบความแตกต่างของ 70%Ethanol ในการฆ่าเชื้อ 2 สายพันธุ์ โดยสามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้น้อยที่สุด ส่วนความความสามารถในการฆ่า *E. coli* นั้นมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสูงรองจาก 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol ซึ่งเป็นไปได้ว่า เนื่องจาก *S. aureus* ที่แทบจะไม่พบชั้นไขมันและไลโพโปรตีนพบได้เพียง 0-3% ในผนังเซลล์ เมื่อเปรียบเทียบกับ *E. coli* ที่มีผนังเซลล์ประกอบด้วยเซลล์ไขมันและไลโพโปรตีน 58% ซึ่งไขมันนั้นมีคุณสมบัติในการละลายใน Ethanol จึงทำให้ *E. coli* ตายได้ง่าย[12]

เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการนำสูตรสารเคมีที่ทดสอบไปใช้ให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมากยิ่งขึ้น จึงทำการหาระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อของสารเคมีทั้ง 5 สูตร โดยประยุกต์ใช้วิธี MIC พบว่าทั้ง 5 สูตรสามารถฆ่าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ทันที ในนาทีที่ 0 จะเห็นได้ว่า ทั้ง 5 สูตรสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ แต่เพื่อให้เกิดความปลอดภัยควรแช่อย่างน้อย 10 นาที

นอกจากนี้ยังนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการใช้ฉีดพ่นฆ่าเชื้อแบคทีเรียบนโต๊ะปฏิบัติการ โดยใช้วิธีการจำลองเสมือนจริง พบว่า สารเคมีทั้ง 5 สูตรมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ แต่อย่างไรก็ตาม Clorox® สามารถทำให้เกิดการระคายเคืองได้ถ้าสูดดมเข้าไปจำนวนมาก ควรใช้วิธีการชุบสารเคมีแล้วเช็ดฆ่าเชื้อแบคทีเรีย จะทำให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้ใช้มากยิ่งขึ้น

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพเปรียบเทียบสารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่มีส่วนผสมของ Ethanol และ Clorox® มีทั้งหมด 5 สูตร ดังนี้ 2%Clorox®, 4%Clorox®, 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol, 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 70%Ethanol ในการฆ่าเชื้อ *S. aureus, E. coli* และ *B. cereus* พบว่า สูตรที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ มากที่สุด คือ 2%Clorox® ผสม 70%Ethanol และ 4%Clorox® ผสม 70%Ethanol โดยระยะเวลาที่เหมาะสมในการนำไปแช่วัสดุและอุปกรณ์ก่อนทำความสะอาดเพื่อฆ่าแบคทีเรีย คือ 10 นาที

หากมีการศึกษาในครั้งต่อไปควรเพิ่มการศึกษายีสต์ รา รวมไปถึงไวรัสเพื่อให้เกิดความมั่นใจในการนำสูตรสารเคมีนี้ไปใช้ในการฆ่าเชื้อได้ทุกชนิดต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อนุเคราะห์วัสดุและอุปกรณ์ สถานที่ในการทำวิจัย และแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. กำธร มาลาธรรม. หลักการควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล. ใน : พรรณทิพย์ฉายากุล, ชิษณุพันธุ์เจริญ, ชุษณา สวนกระต่าย และคณะ. ตำราโรคติดเชื้อ. เล่มที่ 2. กรุงเทพฯ : สมาคมโรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย, 2548
2. เจษฎา นพวิญญูวงศ์, ชญานิศ ศรชัยธวัชวงศ์, จรรยา ศรีแสงจันทร์, สริน ทัดทอง และ อมรรัตน์ วิริยะโรจน์. ความคงตัวทางเคมีของแอลกอฮอล์ 70% หลังเปิดใช้. ศรีนครินทร์เวชสาร 2557; 29: 282-6.
3. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. แนวทางการกำจัดขยะติดเชื้อไวรัสอีโบลา. [สืบค้นเมื่อ 1 มีนาคม 2560] จาก http://nih.dmsc.moph.go.th/ebola/file/EbolaDMSc_04_1_Oct_2014.pdf
4. เมธินี ลักษมีการค้า, รุจิดา วิไลรัตน์, ธฤษิดา ปัญโญศักดิ์. ประสิทธิภาพของแอลกอฮอล์เจลและสารละลายแอลกอฮอล์ในการฆ่าเชื้อจุลชีพ. เวชสารแพทย์ทหารบก 2557; 67: 21-8.
5. Nweze EI, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Agar-based disk diffusion assay for susceptibility testing of dermatophytes. Journol of Clinical Microbiology 2010; 48:3750-2.
6. Morton HE. Alcohols. In: Block SS, editor. Disinfection Sterilization and Preservation. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1983: 225-39.
7. Moore SL, Payne DN. Types of antimicrobial agents. In: Fraise AP, Lambert PA, Maillard JY, editors. Principles and Practice of Disinfection Preservation and Sterilization. 4thed. Oxford: Blackwell Publishing, 2004: 8-97.
8. Rotter ML. Alcohols for Antisepsis of Hand and Skin. In: Ascenzi JM, editor, Handbook of Disinfectants and Antiseptics. New York: Marcel Dekker, 1996: 177-234.
9. ศันสนีย์ กระแจะจันทร์. การสำรวจความชุกโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลมะการักษ์ พ.ศ. 2544. จุลสารชมรมควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลแห่งประเทศไทย 2544; 13: 2-11.
10. ศิริลักษณ์ ธีระภูธร, ฆนรส จ่างคำ, ปนัดดา เจิมศรี, วันวิสาข์ ตรีบุพชาติสกุล. ประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราและการขจัดคราบเลือดบนเครื่องแก้ว. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2555; 40: 4029-41.
11. ณัฐมน นิยมเดชา, ทิทยุต วงษาเนาว์, นริศรา มังกรแก้ว. เปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของคลอเฮกซิดีนกลูโคเนตความเข้มข้น ร้อยละ 2 และร้อยละ 4 ในแอลกอฮอล์ต่อการทำลายเชื้อ *สแตปฟิโลคอคคัส ออเรียส* ที่ไวและดื้อต่อยาเมทิซิลินในห้องปฏิบัติการ. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2559; 28: 220-6.
12. นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, ปรีชา สุวรรณพินิจ. ลักษณะและโครงสร้างละเอียดของแบคทีเรีย. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2541: 42-73.