

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาทำลายเชื้อ 4 ชนิดในโรงพยาบาล
 ทนตรกรรมกับฤทธิ์ในการทำลายเชื้อของฟีนอลต่อเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส
 (The Comparative Study of Effectiveness of Disinfectants by Phenol Co-efficiency
 against *Staphylococcus aureus*)

ลลิตกร จิตตเสถียร ท.บ, วุฒิบัตรศัลยศาสตร์ช่องปาก และแม็กซิลโลเฟเชียล	Lalitkorn Jittasathien D.D.S., Diplomate of The Board of Oral and Maxillofacial Surgery
ประวิณ วัยกานนท์ วท.บ., วท.ม.	Praween Wayakanon B.Sc., M.Sc.in molecular genetics and genetic engenierring
นัฐริดา ชะวีรัมย์ ท.บ	Nattida Charadrum D.D.S.
พรเพ็ญ จิตติวารกุล ท.บ	Pornpen Jittiwarangkul D.D.S.
มนทิชา ร่วงเจริญ ท.บ	Monticha Rangjareong D.D.S.
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร	Faculty of Dentistry, Naresuan University

บทคัดย่อ

เครื่องมือทางการแพทย์นำมาใช้ในการป้องกัน การตรวจวินิจฉัย และการบำบัดรักษาโรค มีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษา เฝ้าระวัง ติดตามคุณภาพมาตรฐาน และความปลอดภัยจากการใช้อย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะการปนเปื้อนภายหลังการนำไปใช้กับผู้ป่วยโดยผ่านกระบวนการทำลายเชื้อที่ไม่เหมาะสม จะส่งผลให้ผู้ป่วยมีโอกาเสี่ยงในการติดเชื้อเพิ่มขึ้น ทำให้ผู้ป่วยมีอัตราการตายและทุพพลภาพหรือทนทุกข์ทรมานมากขึ้น ต้องอยู่ในโรงพยาบาลนานขึ้น เสียค่าใช้จ่ายมากขึ้น บุคลากรทางการแพทย์ที่ดูแลผู้ป่วยอาจได้รับเชื้อจากผู้ป่วย เชื้อคือยาในโรงพยาบาลและการแพร่เชื้อเข้าสู่ชุมชน งานวิจัยนี้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาทำลายเชื้อ 4 ชนิดที่ใช้ในโรงพยาบาลทนตรกรรม ได้แก่ Mediklen®, Bioclean II®, Omnicide® และ Corium95® ต่อเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส โดยการเปรียบเทียบกับฤทธิ์ของฟีนอล โดยนำความเจือจางของน้ำยาทำลายเชื้อที่ไม่ทำลายเชื้อ สแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ใน 5 นาทีแต่ทำลายเชื้อใน 10 นาที มาเปรียบเทียบกับ ค่าความเจือจางของฟีนอลที่ไม่ทำลายเชื้อ สแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ใน 5 นาทีแต่ทำลายเชื้อใน 10 นาที เช่นกัน คือ ค่า phenol co-efficiency (P.C.) โดยทำการเจือจางฟีนอลและน้ำยาทำลายเชื้อให้ได้ความเจือจาง 1:20, 1:40, 1:60, 1:80, 1:100, 1:120 และทำการเตรียมเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ให้มีความหนาแน่นเทียบเท่ากับ 0.5 McFarland standard การศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บเชื้อหลังจากผสมน้ำยาทำลายเชื้อที่เจือจางไว้ เข้ากับเชื้อ

สเตรปโตค็อกคัส ออเรียส เป็นเวลา 5 นาที และ 10 นาที จากนั้น Spread เชื้อที่ทำปฏิกิริยากับน้ำยาทำลายเชื้อแต่ละชนิดดังกล่าวลงใน Mannitol salt agar แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่า Bioclean II®, Mediklen®, Omnicide® และ Corium95® มีค่าการเปรียบเทียบฤทธิ์การทำลายเชื้อของฟีนอลเป็น 0.50, 0.33, 0.33 และ 0.17 เท่าของฟีนอลตามลำดับ โดยไม่มีน้ำยาชนิดใดมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขคือ 0.05

คำสำคัญ: ประสิทธิภาพของน้ำยาทำลายเชื้อ, สเตรปโตค็อกคัส ออเรียส

Abstract

Medical instruments are used for prevention, diagnosis and treatment. It is very important to keep them in disinfection. Using medical instruments in inappropriate sterilization leads to spread of infection in patient to patient, patient to medical staff and to the others. This increase death rate, admission period and costs of treatment. Moreover, the tolerant microorganisms may be spreaded and infected to medical team and community.

The aim of this research was to compare the effectiveness of 4 disinfectants (BiocleanII®, Mediklen®, Omnicide® and Corium95®) against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). The proportion of disinfectant and phenol that did not destroy *S. aureus* in 5 minutes but totally destroy them in 10 minutes is phenol co-efficiency test (P.C.) Phenol and 4 disinfectants were diluted to 1:20, 1:40, 1:60, 1:80, 1:100 and 1:120. The density of *Staphylococcus aureus* was prepared by comparison with turbidity of McFarland standard number 0.5. The *S. aureus* was pipetted into each dilution of phenol and disinfectants and incubated for 5 and 10 minutes. After that, the solutions were spreaded on mannitol salt agar (MSA) and incubated at 37°C. After 24 hours, the colonies of *S. aureus* were counted. The result of this experiment has been shown that P.C. of BiocleanII®, Mediklen®, Omnicide® and Corium95® were 0.50, 0.33, 0.33 and 0.17, respectively. None of them showed P.C. lower than 0.05 in standard.

Keywords: effectiveness of disinfectants, *Staphylococcus aureus*,

บทนำ

น้ำยาทำลายเชื้อ (Disinfectants) ที่นำมาใช้กับเครื่องมือแพทย์โดยตรง จัดเป็นเครื่องมือแพทย์ตามพระราชบัญญัติเครื่องมือแพทย์ พ.ศ. 2531 โดยผู้มีส่วนมากคาดหวังว่า น้ำยาทำลายเชื้อชนิดหนึ่งสามารถทำลายเชื้อโรคได้ทุกชนิดแต่ในความเป็นจริงแล้วประสิทธิภาพของน้ำยาทำลายเชื้อ ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นที่ใช้ ความคงตัว ปริมาณที่ใช้ ความเป็นกรด ค่า pH ระยะเวลาที่น้ำยาสัมผัสกับเครื่องมือสิ่งปนเปื้อน เช่น เลือดหรือน้ำลาย ฯลฯ ดังนั้น น้ำยาทำลายเชื้อต้องมีประสิทธิภาพในการใช้งานสูง สามารถทำลายเชื้อที่อันตรายได้มากที่สุด เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรค การทำลายเชื้อ (Disinfection) เป็นวิธีการกำจัดจุลชีพเกือบทุกชนิดจากอุปกรณ์เครื่องมือทางการแพทย์ยกเว้น สปอร์ของเชื้อแบคทีเรียเชื้อ ระยะเวลาของการทำลายเชื้อแบ่งออกเป็น 3 ระดับ 6, 7, 8 High level disinfection สามารถทำลายจุลชีพก่อโรคได้ทุกชนิด รวมทั้งสปอร์ของเชื้อแบคทีเรีย น้ำยาทำลายเชื้อในกลุ่มนี้ ได้แก่ Glutaraldehyde, Chlorine dioxide, Hydrogen peroxide และ Paracetic acid-based ซึ่งใช้สำหรับอุปกรณ์ประเภท Critical items คืออุปกรณ์ที่ใช้ผ่านเข้าไปในร่างกายมีการปนเปื้อนสารคัดหลั่ง ส่วนใหญ่สามารถทำให้ปราศจากเชื้อ โดยใช้ไอน้ำร้อนหรือความร้อนแห้งได้ แต่อุปกรณ์บางชนิดไม่สามารถทนความร้อนได้ ได้แก่ อุปกรณ์ที่ทำจากพลาสติก หรือเคลือบด้วยพลาสติก จึงต้องทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้ก๊าซ Ethylene dioxide หรือน้ำยาทำลายเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อสูงและทำลายเชื้อได้กว้างขวาง

Intermediate level disinfection การทำลายเชื้อวิธีนี้สามารถทำให้เชื้อ Mycobacterium tuberculosis, เชื้อไวรัสและเชื้อรา อ่อนกำลังลงจนไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์ แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียได้ Intermediate level disinfectant ได้แก่ แอลกอฮอล์ (70-90% ethanol หรือ isopropanol) Chlorine compounds และ Phenolic หรือ Iodophor บางชนิด Low level disinfection สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส และเชื้อราบางชนิด แต่ไม่สามารถทำลายเชื้อที่มีความคงทน เช่น Tubercle bacilli หรือสปอร์ของแบคทีเรียได้ เหมาะสมสำหรับใช้กับเครื่องมือที่ไม่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วย (Noncritical items) น้ำยาทำลายเชื้อในกลุ่มนี้ ได้แก่ Quaternary ammonium compounds, Iodophors หรือ Phenol โดย Iodophors และ Phenol จัดอยู่ใน Intermediate หรือ Low level ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารเคมีที่ออกฤทธิ์ที่อยู่ในน้ำยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้รายงานผลงานวิจัย 1 เรื่องแนวทางในการปรับปรุงเกณฑ์การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ทำลายเชื้อโรคซึ่งจัดเป็นวัตถุอันตรายของกองควบคุมวัตถุมีพิษ ได้ระบุว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีความทนทานต่อน้ำยาทำลายเชื้อสูง ดังนั้นจึงเหมาะสำหรับการทดสอบหาค่า Phenol co-efficiency (P.C.) โดยเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขกำหนดว่า น้ำยาทำลายเชื้อต้องมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้ออย่างน้อยเป็น 0.05 เท่าของ Phenol 1

วัตถุประสงค์

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาทำลายเชื้อ 4 ชนิดที่ใช้ในโรงพยาบาลทันตกรรม มหาวิทยาลัยนเรศวร ในการทำลายเชื้อ *S. aureus* ในรูปของค่า Phenol co-efficiency(P.C.) ในระยะเวลาและสภาวะที่เดียวกัน เพื่อประเมินประสิทธิภาพของน้ำยาทำลายเชื้อกับเกณฑ์มาตรฐานของ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งกำหนดว่า น้ำยาทำลายเชื้อจะต้องมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อไม่น้อยกว่า 0.05 เท่าของ Phenol

ขอบเขตการวิจัย

ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *S. aureus* ของน้ำยาทำลายเชื้อที่มีใช้ใน โรงพยาบาลทันตกรรม มหาวิทยาลัยนเรศวร 4 ชนิด ได้แก่ Mediklen[®], Bioclean II[®], Omicide[®] และ Corium95[®] โดยวิธี Phenol co-efficiency test

วัสดุและวิธีการดำเนินการ

วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

1. จานเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย
2. ตะเกียงแอลกอฮอล์
3. หลอดทดลอง
4. Beaker
5. Flask
6. Loop
7. Spreader
8. Pipette

น้ำยาและสารเคมี

1. เชื้อมาตรฐานที่ใช้ทดสอบ คือ *S. aureus* สายพันธุ์มาตรฐาน 1, 4, 5, 10, 12, 13, 14 เป็นเชื้อแบคทีเรียกรัมบวก รูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1.5 ไมโครเมตร เรียงตัวอาจอยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่เป็นคู่ มักอยู่เป็นกลุ่มๆ ข้อมติคสีม่วงเข้ม เชื้อนี้ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ การเตรียมเชื้อ เพื่อทดสอบ ทำโดยการเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth บ่มเชื้อที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงปรับความหนาแน่นของเชื้อให้เท่ากับความขุ่นของ McFarland turbidity standard solution no.0.5 ซึ่งเทียบเท่ากับจำนวนเชื้อ 1.5×10^8 CFU/ml

2. Pure Phenol ที่หลอมจนเป็นของเหลว
3. น้ำกลั่น Sterile
4. Disinfectant solution

1. Mediklen[®] ซึ่งประกอบด้วย Nonionic surfactant, Sequestering builders, Sodium dichlorocisocyanurate ซึ่งเป็นการทำลายเชื้อระดับต่ำ (low level disinfection)
2. Bioclean II[®] ซึ่งประกอบด้วย n-Alkyl-dimethyl benzyl ammonium chlorides ซึ่งเป็นการทำลายเชื้อระดับต่ำ (low level disinfection)
3. Omnicide[®] ซึ่งประกอบด้วย 15 % Glutaraldehyde, 10% Coccobenzyl dimethyl Amonium Chloride
4. Corium95[®] ซึ่งประกอบด้วย 2-Cetyl amino fluorene, Bis-chloromethyl ether, 3, 3- Dichloro benzidine

5. Mannitol salt agar powder (MSA) ประกอบด้วย
5, 15, 20

NaCl	75.0	g/l	Peptic
digest of animal tissue	5.0	g/l	
Agar	15.0	g/l	Beef
extract	1.0	g/l	
D-mannitol	10.0	g/l	
Phenol red	0.025	g/l	
Pancreatic digest of casein	5.0	g/l	

pH 7.4 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25°C

MSA นี้ใช้สำหรับแยกเชื้อ *Staphylococci aureus*
ได้โดย *S. aureus* สามารถหมักน้ำตาลแมนนิทอล

ซึ่งทำให้เกิดสีเหลืองของ media รอบๆ เชื้อ โดยโคโลนี
มีลักษณะกลมมน ผิวเป็นมันเงาขนาดเส้นผ่าน
ศูนย์กลาง 1-4 มม. สีเหลืองทองหรือสีเหลืองอ่อน
ส่วน *S. epidermidis* มี colony สีขาว เชื้อในกลุ่ม
Staphylococci สามารถหมักน้ำตาลได้หลายชนิด
เช่น น้ำตาลกลูโคส มอลโตส แลคโตส ซูโครส และ
แมนนิทอล เป็นต้น เกิดกรดแต่ไม่เกิดแก๊ส *S. aureus*
สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสและแมนนิทอลได้ส่วน
S. epidermidis และ *S. saprophyticus* ไม่สามารถ
หมักน้ำตาลแมนนิทอลได้ จึงใช้ปฏิกิริยาการหมักน้ำ
ตาลแมนนิทอล ร่วมกับคุณสมบัติอื่นๆ แยกชนิด
ของเชื้อ *Staphylococci* ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงการแยกชนิดของเชื้อ *Staphylococci*

Test	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Coagulase	+	-	-	-
Heat-stable nuclease	+	-	-	-
Pyrrolidyl arylamidase				
D-Trehalose	+	-	+	+
D-Mannitol	+	-	d	d

+ , > 90% Strains positive

- , > 90% Strain negative

d , 11 to 89% Strains positive



รูปที่ 1 แสดงโคโลนีของ *S. aureus* บน Mannitol salt agar

วิธีการทดลอง

การหาค่า Phenol co-efficiency (P.C.) โดยการหาค่าความเจือจางสูงสุด (Maximum Dilution) ของน้ำยาทำลายเชื้อที่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้ใน 10 นาที แต่ไม่ทำลายเชื้อใน 5 นาที

P.C. = $\frac{\text{ความเจือจางสูงสุด ของน้ำยาที่ไม่ทำลายเชื้อภายใน 5 นาที แต่ทำลายเชื้อภายใน 10 นาที}}{\text{ความเจือจางสูงสุด ของ Phenol ที่ไม่ทำลายเชื้อภายใน 5 นาที แต่ทำลายเชื้อภายใน 10 นาที}}$

ค่า P.C. > 1 แสดงว่าน้ำยาทำลายเชื้อมีความสามารถในการทำลายเชื้อมากกว่า Phenol ค่า P.C. < 1 แสดงว่าน้ำยาทำลายเชื้อมีความสามารถในการทำลายเชื้อต่ำกว่า Phenol

วิธีการหาค่า Phenol co-efficiency(P.C.)

1. เตรียมเชื้อ *S. aureus* เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับความขุ่นของ McFarland standard solution no. 0.5 ซึ่งเทียบเท่ากับ 1.5×10^8 CFU/ml
2. เตรียม Phenol ให้มีความเจือจาง 6 ระดับ คือ 1:20, 1:40, 1:60, 1:80, 1:100 และ 1:120 ใส่ในหลอดทดลองขนาด 20x150 มิลลิเมตร หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร

3. เตรียมน้ำยาทำลายเชื้อที่จะทดสอบ ให้มีความเจือจาง 6 ระดับเหมือนกับ Phenol ใส่ในหลอดทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2

3.1 ปิ๊ปตเชื้อ *S. aureus* จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Phenol แต่ละความเจือจาง เขย่าให้เข้ากัน จับเวลาตั้งแต่เริ่มใส่เชื้อจนครบ 5 นาที ทำการดูเชื้อที่อยู่ใน Phenol มา 0.02 ml จากแต่ละความเจือจางของ Phenol ใส่ลงใน MSA agar ใน Plate และใช้ Spreader ทำการแผ่เชื้อ ให้ทั่ว Plate และทำเช่นเดิมเมื่อครบเวลา 10 นาที

3.2 ทำซ้ำข้อ 3.1 โดยใช้ น้ำยาทำลายเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 3 ทั้ง 4 ชนิด แทน Phenol

3.3 นำ MSA ที่เพาะเชื้อ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนของโคโลนีของเชื้อ

3.4 คำนวณ หาค่า Phenol co-efficiency ของน้ำยาทำลายเชื้อ

การคำนวณค่าทางสถิติ

การวิเคราะห์ค่าสถิติเบื้องต้นแบบไม่จำแนกกลุ่ม 2 (Descriptive statistic) ของข้อมูลเพื่อหาค่าเฉลี่ย (Mean), ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (Standard Error of the mean, S.E.) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, S.D.) เพื่อคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่จะนำมาคำนวณค่า P.C.



รูปที่ 2 แสดงการ streak plate เพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. aureus* ลงใน Mannitol salt agar จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง



รูปที่ 3 แสดงการนำโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* ที่ Streak ไว้ 18 ชั่วโมงที่แล้ว ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (Nutrient broth) แล้วนำไปสั่นใน Incubator shaker อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง



รูปที่ 4 แสดงการเตรียมความเข้มข้นของเชื้อในอาหารเหลวให้ได้ 0.5 McFarland โดยเครื่อง Spectrophotometer



รูปที่ 5 แสดงการดูดสารละลายเชื้อ *S. aureus* ที่มี ความเข้มข้น 0.5 McFarland เพื่อนำมาใส่น้ำยา ทำลายเชื้อที่ความเจือจางต่างๆ เป็นเวลา 5 และ 10 นาที



รูปที่ 6 แสดงการดูดสารละลายเชื้อที่สัมผัสกับน้ำยา ทำลายเชื้อที่เวลา 5 นาที และ 10 นาทีใส่ใน Mannitol salt agar ตามลำดับ เพื่อทำการ Spread



รูปที่ 7 แสดงการนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการ Spread สารละลายเชื้อ ที่สัมผัสกับน้ำยาทำลายเชื้อใส่ในตู้บ่ม เชื้ออุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 8 แสดงการทดสอบ Catalase test ได้ผลเป็นบวกเพื่อยืนยันว่าโคโลนีที่พบคือ โคโลนีของ *Staphylococcus* spp.

ผลการศึกษา

ความเจือจางสูงสุดของ Phenol 1:120 ทำให้เชื้อ *Streptococcus aureus* เเพาะเชื้อที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA แล้ว

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนโคโลนี ของ *S. aureus* ที่พบหลังจากใส่เชื้อลงใน Phenol ที่ความเจือจางต่างๆ ที่เวลา 5 และ 10 นาที

ครั้งที่	เวลา	จำนวนเชื้อ(colonies)ในแต่ละความเจือจาง					
		1:20	1:40	1:60	1:80	1:100	1:120*
1	Control	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	0	0	0	157
	10 นาที	0	0	0	0	0	0
2	Control	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	0	0	0	10
	10 นาที	0	0	0	0	0	0
3	Control	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	0	0	0	159
	10 นาที	0	0	0	0	0	0
4	Control	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	0	0	0	156
	10 นาที	0	0	0	0	0	0

หมายเหตุ * หมายถึงค่าความเจือจางที่เป็นค่าที่จะนำมาคำนวณค่า P.C.

ความเจือจางสูงสุดของ Corium95® 1:20 ทำให้เชื้อ *Streptococcus aureus* เเพาะเชื้อที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA แล้วทำลายนเชื้อที่ 5 นาที แต่ไม่ทำลายนเชื้อที่ 10 นาที ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนโคโลนี ของ *S. aureus* ที่พบ หลังจากใส่เชื้อลงใน Corium95® ที่ความเจือจางต่างๆ ที่เวลา 5 และ 10 นาที

ครั้งที่	เวลา	จำนวนเชื้อ(colonies)ในแต่ละความเจือจาง						
		100%	1:20*	1:40	1:60	1:80	1:100	1:120
1	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	29	52	53	125	>300	>300
	10 นาที	0	0	20	120	102	50	>300
2	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	15	32	35	53	>300	>300
	10 นาที	0	0	2	1	22	>300	>300
3	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	28	54	53	126	>300	>300
	10 นาที	0	0	21	32	98	149	>300
4	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	31	50	52	126	>300	>300
	10 นาที	0	0	18	35	99	151	>300

ความเจือจางสูงสุดของ Mediklen® 1:40 ทำให้เชื้อ *S. aureus* เเพาะเชื้อที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA แล้วทำลายเชื้อที่ 5 นาที แต่ไม่ทำลายเชื้อที่ 10 นาที ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนโคโลนีของ *S. aureus* ที่พบ หลังจากใส่เชื้อลงใน Mediklen® ที่ความเจือจางต่างๆ

ครั้งที่	เวลา	จำนวนเชื้อ(colonies)ในแต่ละความเจือจาง						
		100%	1:20	1:40*	1:60	1:80	1:100	1:120
1	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	60	120	>300	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	100	>300	>300	>300
2	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	23	59	295	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	34	122	>300	>300
3	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	61	119	>300	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	99	>300	>300	>300
4	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	59	121	>300	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	98	>300	>300	>300

ความเจือจางสูงสุดของ Bioclean II® 1:60 ทำให้เชื้อ *S. aureus* เเพาะเชื้อที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA แล้วทำลายเชื้อขึ้นที่ 5 นาทีแต่ไม่ทำลายเชื้อที่ 10 นาที ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนโคโลนี ของ *S. aureus* ที่พบ หลังจากใส่เชื้อลงใน Bioclean II® ที่ความเจือจางต่างๆ

ครั้งที่	เวลา	จำนวนเชื้อ(colonies)ในแต่ละความเจือจาง						
		100%	1:20	1:40	1:60*	1:80	1:100	1:120
1	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	0	43	86	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	26	97	>300	>300
2	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	0	24	56	187	233
	10 นาที	0	0	0	0	26	56	125
3	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	0	44	102	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	0	98	>300	>300
4	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	0	42	105	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	0	100	>300	>300

ความเจือจางสูงสุดของ Omnicide® 1:40 ทำให้เชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ MSA แล้วทำหลายเชื้อที่ 5 นาทีแต่ไม่
S. aureus เพาะเชื้อที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน ทำหลายเชื้อที่ 10 นาที ดังตารางที่ 5
 ตารางที่ 5 แสดงจำนวนโคโลนี ของ *S. aureus* ที่พบ หลังจากใส่เชื้อลงใน Omnicide® ที่ความเจือจางต่างๆ

ครั้งที่	เวลา	จำนวนเชื้อ(colonies)ในแต่ละความเจือจาง						
		100%	1:20	1:40*	1:60	1:80	1:100	1:120
1	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	47	210	132	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	17	53	>300	>300
2	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	15	43	56	167	213
	10 นาที	0	0	0	12	14	56	87
3	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	48	212	274	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	18	54	>300	>300
4	Control	0	0	0	0	0	0	0
	5 นาที	0	0	46	211	272	>300	>300
	10 นาที	0	0	0	18	51	>300	>300

ในการทดลองทุกครั้งได้ทำการเพาะเชื้อในกลุ่มควบคุม เพื่อทดสอบว่าในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อจริง
 ตารางที่ 6 แสดงจำนวนโคโลนี ของ *S. aureus* ที่พบในกลุ่มควบคุม

ครั้งที่	กลุ่ม control	จำนวนเชื้อ (colonies)
1	น้ำกลั่น+NB	0
	น้ำกลั่น+ <i>S. aureus</i>	>300
2	น้ำกลั่น+NB	0
	น้ำกลั่น+ <i>S. aureus</i>	>300
3	น้ำกลั่น+NB	0
	น้ำกลั่น+ <i>S. aureus</i>	>300
4	น้ำกลั่น+NB	0
	น้ำกลั่น+ <i>S. aureus</i>	>300

และเชื้อที่ทดลองมีเพียงเชื้อ *S. aureus* เท่านั้น ไม่มีเชื้ออื่นปนเปื้อน ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนโคโลนี ของ *S. aureus* ที่พบจากการ dilute เชื้อ

ครั้งที่	จำนวนเชื้อ (colonies)			
	dilute	1:1,000	1:10,000	1:100,000
1	>300	>300	29	1.45X10 ⁸
2	>300	>300	26	1.3X10 ⁸
3	>300	>300	32	1.6X10 ⁸
4	>300	>300	28	1.4X10 ⁸

ในการทดลองทุกครั้งมีการควบคุมปริมาณเชื้อ *S. aureus* ให้เท่ากัน ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 8 แสดงค่า Phenol Co-efficiency

ชื่อน้ำยา	P.C. = ความเจือจางสูงสุดของสารซึ่งทำลายเชื้อใน 10 นาที แต่ไม่ทำลายใน 5 นาที ความเจือจางสูงสุดของ Phenol ซึ่งทำลายเชื้อใน 10 นาที แต่ไม่ทำลายใน 5 นาที
Corium95 [®]	P.C. = $20/120 = 0.17$
Mediklen [®]	P.C. = $40/120 = 0.33$
Bioclean II [®]	P.C. = $60/120 = 0.50$
Omnicide [®]	P.C. = $40/120 = 0.33$

ตารางที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ย + ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย จากผลการทดลองครั้งที่ 1-4

น้ำยาทำลายเชื้อ	5 นาที	10 นาที
	จำนวนเชื้อ (colony)	จำนวนเชื้อ
Phenol [®]		
1:120	120.50 ± 36.84	---
Corium95 [®]		
1:20	25.75 ± 3.64	---
1:40	47.00 ± 5.07	15.25 ± 4.46
1:60	48.25 ± 4.42	47.00 ± 25.52
1:80	108.00 ± 18.34	80.25 ± 19.44
Mediklen [®]		
1:40	50.75 ± 9.26	---
1:60	104.75 ± 15.26	82.75 ± 16.26
Bioclean II [®]		
1:60	38.25 ± 4.77	6.50 ± 6.50
1:80	87.25 ± 11.22	80.25 ± 18.09
Omnicide [®]		
1:40	39.00 ± 8.01	-
1:60	169.00 ± 42.00	16.25 ± 1.44
1:80	183.50 ± 53.95	43.00 ± 19.37

การคำนวณค่าสถิติของข้อมูล เลือกใช้สถิติแบบ One-way Analysis of Variation By Non-Parametric method เนื่องจากใช้กับข้อมูลตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป และเป็นข้อมูลระดับ ordinal ขึ้นไป

โดยตั้งสมมติฐานคือ

H0: ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่น้ำยาทำลายเชื้อแต่ละชนิดที่สามารถทำลายได้ไม่แตกต่างกัน

สรุป

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพการทำลายเชื้อของ Phenol และน้ำยาทำลายเชื้อทั้ง 4 ชนิด คือ

ค่า P.C.ของ Corium95® เท่ากับ 0.17

ค่า P.C.ของ Mediklen® เท่ากับ 0.33

ค่า P.C.ของ Bioclean II® เท่ากับ 0.50

ค่า P.C.ของ Omnicide® เท่ากับ 0.33

นั่นคือ ประสิทธิภาพ ในการทำลายเชื้อของน้ำยาทำลายเชื้อทั้ง 4 ชนิดเป็นดังนี้ BiocleanII® > Mediklen®, Omnicide® > Corium 95® ซึ่งพบว่า ไม่มีน้ำยาทำลายเชื้อตัวใดที่มีค่า P.C. ต่ำกว่า 0.05 ที่เป็นมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข ดังนั้นในการพิจารณาเลือกน้ำยาเพื่อนำมาใช้ในการทำลายเชื้อ ควรนำราคาของน้ำยาทำลายเชื้อ มาร่วมพิจารณาในการเลือกซื้อ หากน้ำยาทำลายเชื้อมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อได้ไม่แตกต่างกัน ควรเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ที่มีราคาค่ากว่า เพื่อประโยชน์และความคุ้มค่าสูงสุด

H1: มีอย่างน้อย 2 ประชากรที่มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกัน จากผลการคำนวณที่ได้พบว่า ค่าความน่าจะเป็น Aymp.syg ของน้ำยาทำลายเชื้อทุกชนิด มีค่ามากกว่าค่าระดับนัยสำคัญที่กำหนดไว้เท่ากับ 0.05 จึงยอมรับสมมติฐาน H0 คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่น้ำยาทำลายเชื้อแต่ละชนิดทำลายได้ไม่แตกต่างกัน

ข้อเสนอแนะ

1. หลังจากได้ค่า P.C. ของน้ำยาทำลายเชื้อแล้วควรทำการศึกษาค้นคว้าโดยวิธี Use dilution ต่อไปก็นำน้ำยาที่เจือจางไปทดสอบฤทธิ์การทำลายเชื้อ เพื่อสามารถนำผลการทดลองที่ได้ไปใช้ได้จริง
2. ควรมีการศึกษาส่วนประกอบวิธีใช้และ คุณสมบัติของน้ำยาทำลายเชื้อให้ละเอียด ก่อนนำไปใช้กับอุปกรณ์ เนื่องจากน้ำยาทำลายเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อสูง อาจก่อให้เกิดการสึกกร่อนของเครื่องมือ หรือ เกิดสารพิษตกค้างบนเครื่องมือ ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายหากนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. กรมควบคุมเครื่องมือแพทย์ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาร่วมกับคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, การใช้และประสิทธิภาพน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้กับเครื่องมือแพทย์ในสถานพยาบาล, 2545; พิมพ์ครั้งที่ 1: 1-8

2. บุญชม ศรีสะอาด, วิธีการทางสถิติสำหรับการวิจัย, การวิเคราะห์ความแปรปรวน; พิมพ์ครั้งที่ 2, 2548: 287-316.
3. ศิริชัย พงษ์วิชัย, การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์; พิมพ์ครั้งที่ 15: 191-250.
4. สุภาพรณ พัวเพิ่มพูนศิริ. แบบทดสอบวิชาคลินิก. บ.เยียร์บุ๊กพับลิชเชอร์, 2540: 1-11.
5. อรษา สุตเธียรกุล และ คณะดำรงของคณะกรรมการดำเนินงานเพื่อการพัฒนาและประสานงาน ด้านการสอนและการวิจัยในสาขาจุลชีววิทยา ปรสดีวิทยาและอิมมูโนวิทยา ม.มหิดล แบบทดสอบพื้นฐาน. อักษรบัณฑิต, 2536: 60-71.
6. อะเคื่อ อุณหเลขกะ, การทำลายเชื้อและการทำให้ปราศจากเชื้อ, การป้องกันการติดเชื้อใน โรงพยาบาล 2541; พิมพ์ครั้งที่ 1: 127-67.
7. อะเคื่อ อุณหเลขกะ, การทำลายเชื้อ, ความรู้ในการทำลายเชื้อและการทำให้ปราศจากเชื้อ, 2542; พิมพ์ครั้งที่ 1: 13-20.
8. อะเคื่อ อุณหเลขกะ, น้ำยาทำลายเชื้อที่ใช้ในโรงพยาบาล, ความรู้ในการทำลายเชื้อและการทำให้ปราศจากเชื้อ, 2542; พิมพ์ครั้งที่ 1: 21-8.
9. Best M., SATTAR S.A., Sprindthorte VS. and Kennedy M.E., Journal of clinical Microbiology. Efficiency of selected Disinfectants against Mycobacterium tuberculosis. 1990: 2234-9.
10. Brock TD. and Modigan MT. Biology of micro organism, 1991: 321-32.
11. Handbook of Microbiological media: 541.
12. Jawetz, Melnick and Adelberg's, Staphylococcus, Medical microbiology, 1995; twenty second edition: 225-6.
13. Kingbury DT. and Wagner GE. Microbiology, 1990: 10-3.
14. Lason E. Clinical Microbiology and Infection Control, Gram-positive Cocci-Pathogenic to Human, 1984: 137.
15. Levinson W. and Ernest Jawetw E. Medical Microbiology and Immunology, 2000: 14-5.
16. Manuselis G. et al. Textbook of diagnosis microbiology. Wm C. Brown Publishers, 2000: 330-41.
17. Mims, Playfair, Roitt, Wakelin and Williams, Staphylococcus, Medical microbiology, 1993; elevened edition: 225-32.
18. Parker MM, Prokaryotic Diversity: Bacteria, Biology of Microorganisms: 716- 7.
19. Parker MM, Epidemiology and Public Health Microbiology, Biology of Microorganisms: 916-35.
20. Ronald M. Atlas Microbiological Media, 1996: 180-4.
21. Talano KP. Foundation in Microbiology Basic Principle, 1999: 395-6.
22. Tortora GJ. et al. Microbiology introduction 6th edition. Wm C. Brown Publishers, 1992.