

Evaluating the Efficiency of Dry Heat Pasteurization to Kill *Mycobacterium Tuberculosis* (In Vitro)

Nonthakorn Sakulwittayasuk*, Nattakan Thakaew*, Saijai Smithikarn****, Susan Assanasen**, Manoon Leechawengwongs*, Phalin Kamolwat****, Sanan Visuthisakchai****, Angkana Chaiprasert**, Prapaporn Srilohasin**

*Drug-Resistant Tuberculosis Research Fund, Siriraj Foundation, under the Patronage of HRH Princess Galyani Vadhana Krom Laung Narathiwat Rajanakarindth, **Research Division, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, ***Department of Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, ****Office of the Director, Siriraj hospital, Mahidol University, Bangkok, ***** Tuberculosis Division, Department of Disease Control, Ministry of Public Health, Bangkok, Thailand.

Siriraj Medical Bulletin 2021;14(2): 5-11

Abstract

Objective: To evaluate the efficiency of pasteurization for eliminating *Mycobacterium tuberculosis* (in vitro). This study would provide informative data for taking care of tuberculosis patients continuously and effectively during SARS-CoV-2 pandemic which N95 respirators are shortage and required reusing.

Methods: The efficiency of pasteurization was assessed against *M. tuberculosis* H37Rv. Pasteurization was performed at 72°C for 30 minutes with bacterial suspension at different concentrations including $1-3 \times 10^7$, $1-3 \times 10^6$ and $1-3 \times 10^5$ cells/ml. The growth of H37Rv in pasteurized suspensions were monitored by using solid media Löwenstein–Jensen and Ogawa media, and liquid medium (Mycobacterium Growth Indicator Tube; MGIT) for 8 weeks. The assessment was duplicated for each concentration.

Result: Pasteurization at 72°C for 30 minutes significantly eradicated *M. tuberculosis* H37Rv compared to control group (p-value < 0.01).

Conclusion: The study revealed that pasteurization completely destroy *M. tuberculosis* H37Rv (100%). In the circumstance of N95 constraint which reusing is required, pasteurization is able to apply for eliminating *M. tuberculosis*. Our study provides informative data of the decontamination of *M. tuberculosis* from N95 mask.

Keywords: pasteurization, *M. tuberculosis*, tuberculosis, N95 mask

Correspondence to: Prapaporn Srilohasin E-mail: prapaporn.srl@mahidol.ac.th
Received: 23 November 2020 Revised: 17 February 2021 Accepted: 5 March 2021

<http://dx.doi.org/10.33192/Simedbull.2021.11>

การศึกษาประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ *Mycobacterium Tuberculosis* ในหลอดทดลอง (In vitro) โดยวิธีการใช้ความร้อนแบบพาสเจอร์ไรเซชัน

แนทกร สกุลวิทยาสุข*, ญัฐกานต์ กาแก้ว*, สายใจ สมิทธิการ**, สุสันต์ อาศนะเสน***, มนูญ ลิเชวงวงศ์*, ผลิติน กมลวัฒน์**, สนั่น วิสุทธศักดิ์ชัย****, อังคณา ฉายประเสริฐ*,*****, ประภากรณ์ ศรีโลหะสิน*,*****

*ทุนวิจัยโรคติดต่อฯ ศิริราชมูลนิธิในพระอุปถัมภ์สมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอ เจ้าฟ้ากัลยาณิวัฒนา กรมหลวงนราธิวาสราชนครินทร์ ฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร, **กองวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพมหานคร, ***ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร, ****สำนักงานผู้อำนวยการ โรงพยาบาลศิริราช มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร, *****ฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อประเมินประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ในหลอดทดลอง (In vitro) โดยวิธีการใช้ความร้อนแบบพาสเจอร์ไรเซชัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ใช้ในสถานะที่ขาดแคลนหน้ากาก N95 จากสถานการณ์การแพร่ระบาดของไวรัสซาร์โควิตู ที่ก่อโรคโควิด-19 (COVID-19) ให้การดูแลผู้ป่วยวัณโรคเป็นไปอย่างต่อเนื่องและมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะกรณีจำเป็นต้องนำหน้ากาก N95 กลับมาใช้ซ้ำหลังการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรเซชัน

วิธีการศึกษา: ทดสอบประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ *M. tuberculosis* H37Rv ที่ความเข้มข้น $1-3 \times 10^7$, $1-3 \times 10^6$ และ $1-3 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ด้วยอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Löwenstein-Jensen, Ogawa media และชนิดเหลว Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) โดยทำการทดสอบ 2 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้นของเชื้อ และตรวจติดตามทุกสัปดาห์จนครบ 8 สัปดาห์

ผลการศึกษา: การใช้วิธีพาสเจอร์ไรเซชันโดยการต้มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 30 นาที มีผลทำให้เชื้อ *M. tuberculosis* H37Rv ตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

สรุป: การศึกษาพบว่าวิธีพาสเจอร์ไรเซชันสามารถทำลายเชื้อ *M. tuberculosis* H37Rv ได้ร้อยละ 100 แสดงให้เห็นว่า ในสถานะที่ขาดแคลนหน้ากาก N95 และต้องการนำหน้ากากที่ใช้แล้วกลับมาใช้ซ้ำโดยผ่านการทำลายเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรเซชันสามารถทำลายเชื้อวัณโรคได้ ซึ่งผลการทดลองนี้จะใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการฆ่าเชื้อ *M. tuberculosis* ในหน้ากาก N95 ต่อไป

คำสำคัญ: พาสเจอร์ไรเซชัน; เชื้อมัยโคแบคทีเรีย; วัณโรค; หน้ากาก N95

บทนำ

การสวมใส่หน้ากากอนามัยสามารถลดการแพร่กระจายเชื้อโรคที่ติดต่อทางระบบทางเดินหายใจ โดยเฉพาะการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) เนื่องด้วยสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรค COVID-19 ทั่วโลก ทำให้หน้ากากชนิด N95 ประสบภาวะขาดแคลน องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ได้ยกระดับการเตือนภัยความเสี่ยงการแพร่ระบาดไปทั่วโลกของโรค COVID-19 อยู่ในระดับสูงมาก¹ ทำให้ผู้คนเกิดความตระหนักและตื่นตัวที่จะป้องกันตนเอง โดยการสวมหน้ากากอนามัย (Surgical mask) รวมถึงหน้ากากกรองอนุภาคชนิด N95 ส่งผลให้หน้ากากอนามัยและหน้ากาก N95 เป็นที่ต้องการของผู้คนในหลายประเทศทั่วโลก จนทำให้เกิดปัญหาการขาดแคลนและราคาพุ่งสูงขึ้น โดยหน้ากากอนามัยราคาสูงกว่าปกติ 6 เท่า ส่วนหน้ากาก N95 ราคาเพิ่มขึ้น 3 เท่า² และขาดแคลนจนหาซื้อไม่ได้

วัณโรค (Tuberculosis) เป็นโรคติดต่อที่เป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุขทั่วโลก องค์การอนามัยโลกจัดให้ประเทศไทยเป็น 1 ใน 14 ประเทศที่มีปัญหาผู้ป่วยวัณโรคสูง³ วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่เกิดขึ้นได้ทั้งในระบบทางเดินหายใจและนอกกระบบทางเดินหายใจ ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) จัดอยู่ในกลุ่ม *M. tuberculosis complex* (MTBC) ส่วนใหญ่จะก่อให้เกิดการติดเชื้อที่ปอดเป็นหลัก เมื่อผู้ป่วยวัณโรคไอหรือจาม สามารถแพร่กระจายเชื้อจากคนสู่คนผ่านทางละอองฝอยที่ปนเปื้อนในอากาศได้ นอกจากนี้เชื้อ *M. tuberculosis* สามารถมีชีวิตอยู่รอดในอากาศเมื่อถูกแสงแดดได้นานถึง 30 นาทีและนานเป็นชั่วโมงหรือหลายวันในที่แสงแดดส่องไม่ถึง⁴ ส่วนวัณโรคนอกปอด เป็นผลมาจากการแพร่กระจายของการติดเชื้อจากระบบทางเดินหายใจไปยังอวัยวะอื่นๆ⁵ ความร้อนสามารถทำลายเชื้อวัณโรคได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที⁴ การใช้อุปกรณ์ป้องกันร่างกายเป็นการลดความเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อวัณโรค อุปกรณ์ป้องกันร่างกายในระบบทางเดินหายใจ (respiratory protection) ได้แก่ หน้ากากอนามัย มีประโยชน์ในการช่วยลดการแพร่กระจายเชื้อจากผู้สวมใส่เหมาะสำหรับบุคคลทั่วไป และหน้ากาก N95 สามารถป้องกันการได้รับเชื้อผ่านทางละอองฝอยในอากาศ เหมาะสำหรับบุคลากรทางการแพทย์เนื่องจากมีความเสี่ยงสูงที่จะได้รับเชื้อขณะให้บริการรักษาผู้ป่วย³

ในสภาวะปกติเมื่อผู้ป่วยที่เป็นโรคติดต่อที่ระบบทางเดินหายใจมาเข้ารับบริการที่โรงพยาบาล จะได้รับหน้ากากอนามัยสำหรับใส่เพื่อป้องกันการแพร่กระจายเชื้อในโรงพยาบาล แต่เนื่องจากเกิดการแพร่ระบาดของโรค COVID-19 ส่งผลให้เกิดการขาดแคลนหน้ากากอนามัยและอาจนำไปสู่การแพร่กระจายของโรคติดต่อระบบทางเดินหายใจอื่นๆ เช่น โรคไข้หวัดใหญ่หรือโรคโควิด⁶ การนำหน้ากากอนามัยและหน้ากาก N95 มาใช้ซ้ำ ถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาปรับใช้ให้เข้ากับสถานการณ์ปัจจุบัน มีงานวิจัยที่ศึกษาการทำลายเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด เชื้อรา 1 ชนิด

และเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H1N1 บนหน้ากากอนามัยและหน้ากาก N95 ด้วยวิธีการทำลายเชื้อด้วยความร้อน (dry heat pasteurization) ที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าสามารถทำลายเชื้อได้ โดยยังคงประสิทธิภาพของแผ่นกรองและรูปทรงของหน้ากาก⁷ ดังนั้นทางคณะผู้ทำการศึกษา จึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของการทำลายเชื้อ *M. tuberculosis* ในหลอดทดลอง (In vitro) โดยใช้วิธีการทำลายเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการบริหารจัดการหน้ากากอนามัย โดยเฉพาะ N95 ซึ่งมีราคาแพงและหาซื้อไม่ได้ ณ ขณะนี้ ที่ใช้แล้วนำกลับมาใช้ซ้ำโดยผ่านการทำลายเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรเซชัน (dry-heat pasteurization) ในงานวัณโรค

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ *M. tuberculosis* ในหลอดทดลองด้วยวิธีพาสเจอร์ไรเซชัน

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมเชื้อสำหรับการทดสอบ

ทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการชีวอนามัยระดับที่ 2 เสริมสมรรถนะ (Biosafety Level 2 enhanced, BSL-2+) ภายใต้ตู้ชีวอนามัย (Biological Safety Cabinet Class II, BSC Class II)

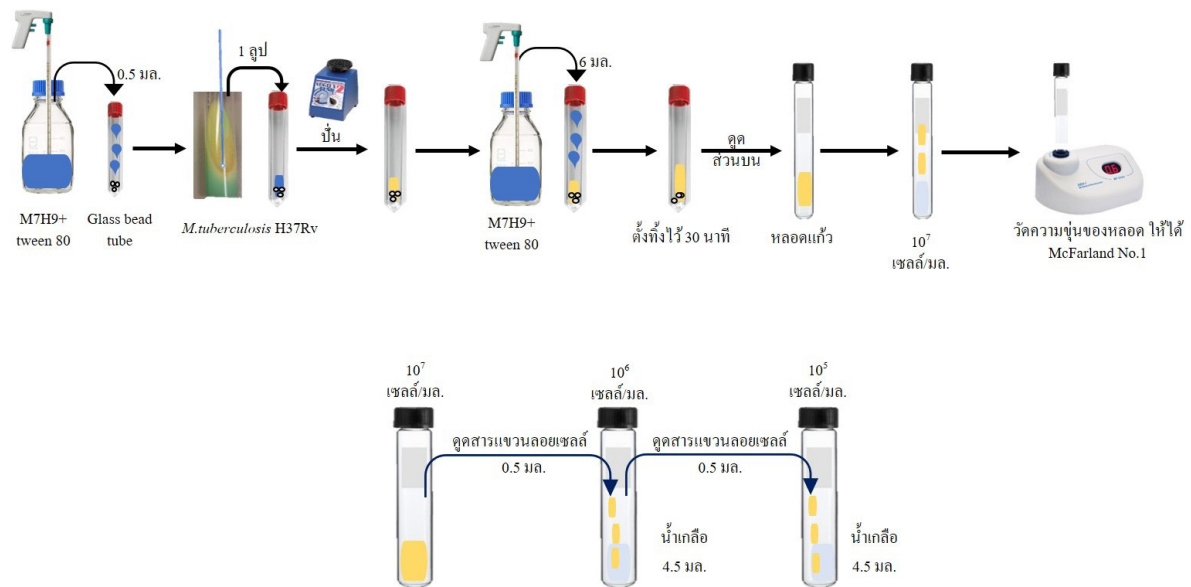
1.1. เลี้ยงเชื้อวัณโรคสายพันธุ์มาตรฐาน *M. tuberculosis* H37Rv ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จากกองวัณโรค กรมควบคุมโรคบน Löwenstein-Jensen (LJ) media ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจนเติบโตและบริสุทธิ์ อายุ 3-4 สัปดาห์ เพื่อใช้เตรียมหัวเชื้อในการทดสอบ

1.2. ขูดเชื้อวัณโรคที่เจริญเติบโตดีจากข้อ 1 เพื่อเตรียมสารแขวนลอยของเซลล์ โดยใช้ loop เชี่ยเชื้อให้เต็มประมาณ 1-2 loop มาใส่ในหลอดแก้วฝาเกลียวปลอดเชื้อ (ขนาด 20 มิลลิเมตร x 150 มิลลิเมตร) ซึ่งบรรจุถูกแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 มิลลิเมตร และอาหารเลี้ยงเชื้อ M7H9 media 2-3 หยด ปิดหลอดแก้วให้สนิท

1.3. นำหลอดไปปั่นบน vortex mixer จนก้อนเชื้อกระจายติดที่ผนังหลอดเป็นคราบบางๆ

1.4. ใช้ sterile pipette ดูด M7H9 media ประมาณ 5-10 มิลลิตร ใส่ในหลอดและปั่นบน vortex mixer จนได้สารแขวนลอยของเซลล์ ตั้งทิ้งไว้ใน biosafety cabinet ประมาณ 30 นาที เพื่อใ้กลุ่มก้อนเชื้อขนาดใหญ่ตกลงก้นหลอด

1.5. ดูดส่วนบนของสารแขวนลอยเซลล์ใส่ในหลอดแก้วฝาเกลียวหรือหลอดพลาสติกฝาเกลียวเพื่อปรับความเข้มข้นของเซลล์เชื้อวัณโรคให้ได้ความขุ่น 1 McFarland ซึ่งจะมีเชื้ออยู่ $1-3 \times 10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร นำมาเจือจางด้วยน้ำเกลือที่ละ 10 เท่า จนได้ความ



ภาพที่ 1. แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเชื้อ *M. tuberculosis* H37Rv เพื่อใช้ในการทดสอบ

ที่มา: นนทกร สกฤตวิยาสุข, ณัฐกานต์ ถาแก้ว, สายใจ สมธิการ, สุสันธ์ อาศนะเสน, มนุญ ลิขางวงศ์, ผลิน กมลวัฒน์, สนั่น วิสุทธิศักดิ์ชัย, อังคณา ฉายประเสริ, ประภาภรณ์ ศรีโหละสิน

เข้มข้นเป็น $1-3 \times 10^7$, $1-3 \times 10^6$ และ $1-3 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบ (ภาพที่ 1)

2. วิธีการทดสอบประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ

2.1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบไปด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง LJ media และ Ogawa media และอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) สำหรับใช้ทดสอบ *M. tuberculosis* H37Rv ที่ความเข้มข้น 10^7 , 10^6 , 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร และกลุ่มควบคุมแบบลบ ทั้งกลุ่มที่ไม่ผ่าน (กลุ่มควบคุมแบบบวก) และผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที (กลุ่มทดสอบ) โดยทำการทดสอบละ 2 ซ้ำ

2.2. ดูดน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบน LJ media และ Ogawa media และปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด MGIT ชนิดละ 2 ซ้ำ สำหรับกลุ่มควบคุมแบบลบ (ภาพที่ 2)

2.3. นำเชื้อที่ความเข้มข้น $1-3 \times 10^7$, $1-3 \times 10^6$ และ $1-3 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบน LJ media และ Ogawa media ความเข้มข้นละ 2 หลอด และปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด MGIT ความเข้มข้นละ 2 หลอด สำหรับกลุ่มควบคุมแบบบวก (ภาพที่ 2)

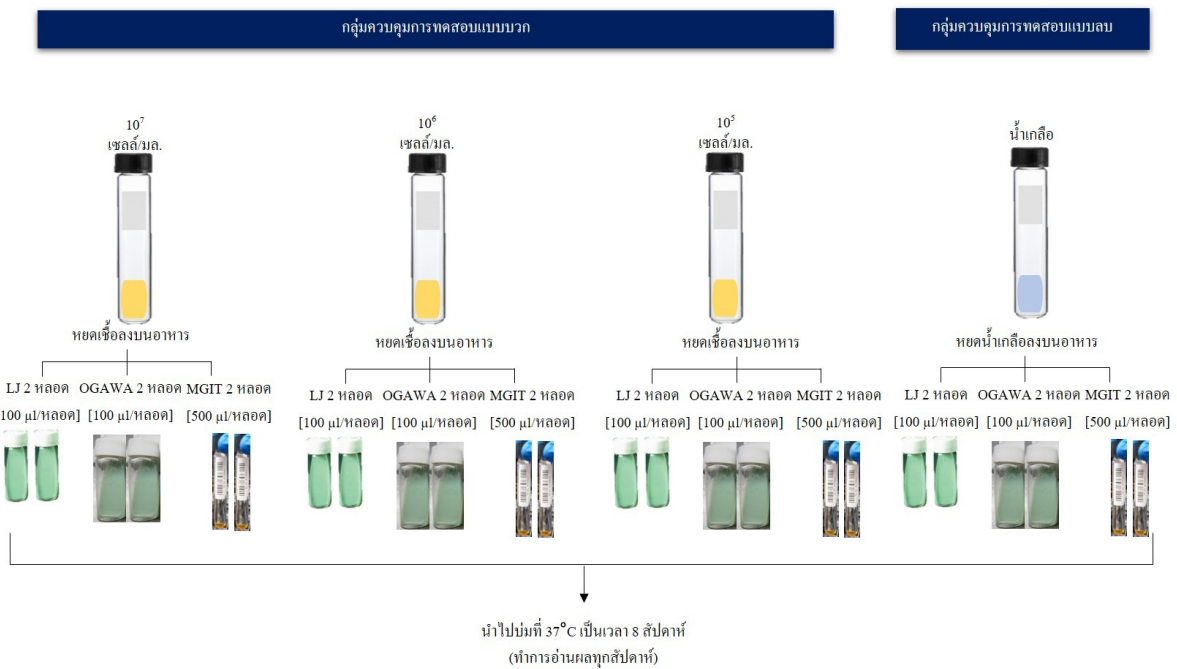
2.4. นำเชื้อที่ความเข้มข้น $1-3 \times 10^7$, $1-3 \times 10^6$ และ $1-3 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ส่วนที่เหลือไปให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนหลอดทดลองแบบแห้ง (dry heat block) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที จากนั้นดูดเชื้อที่ความเข้มข้น $1-3 \times 10^7$, $1-3 \times 10^6$ และ $1-3 \times 10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบน LJ media และ

Ogawa media ความเข้มข้นละ 2 หลอด และปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด MGIT ความเข้มข้นละ 2 หลอด สำหรับกลุ่มทดสอบ (ภาพที่ 3)

2.5. นำหลอด LJ media และ Ogawa media ไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มเพาะเชื้อ 37 องศาเซลเซียส และ MGIT tube นำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ Bactec MGIT 960 system แล้วทำการอ่านผลทุกสัปดาห์จนครบ 8 สัปดาห์

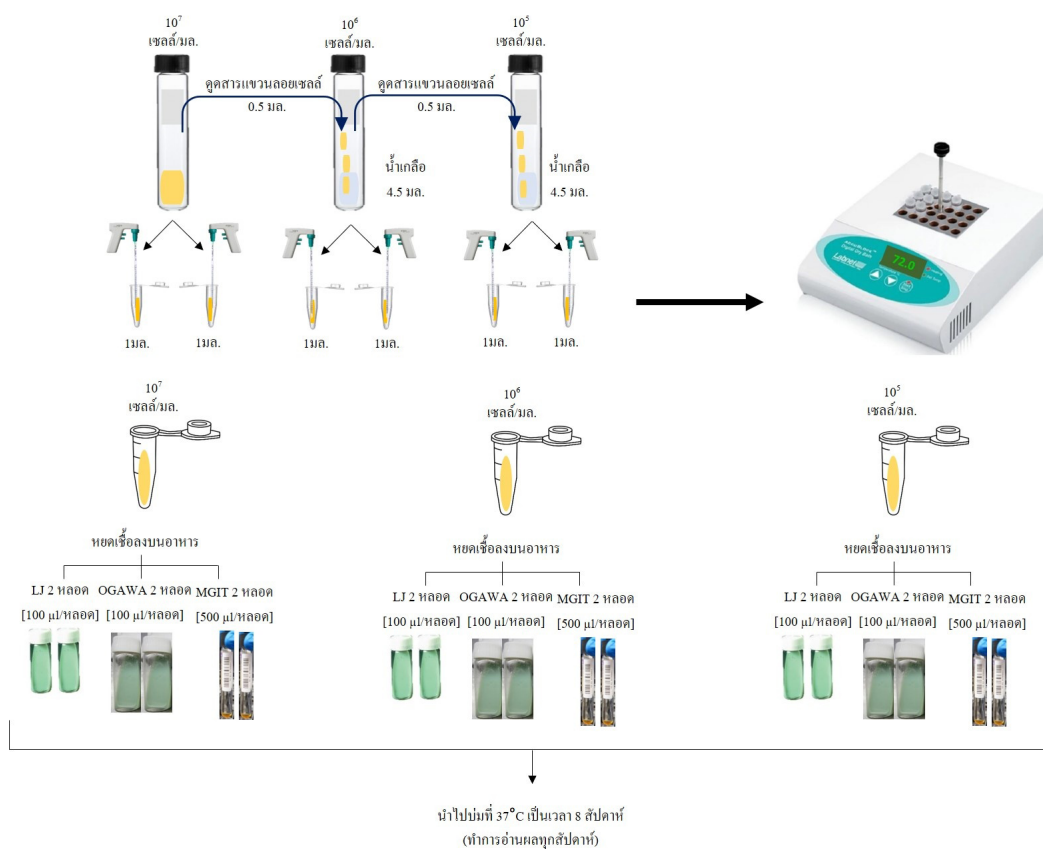
ผลการศึกษา

การทดสอบการทำลายเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน *M. tuberculosis* H37Rv ในหลอดทดลองด้วยวิธีพาสเจอไรเซชัน โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที พบว่าเมื่อทำการทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยใช้สถิติ Chi-Square พบว่าการใช้วิธีพาสเจอไรเซชันมีผลทำให้เชื้อตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มแบคทีเรียที่ผ่านการทำพาสเจอไรเซชันทั้งสองซ้ำ ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งอย่าง LJ media และ Ogawa media รวมถึงอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวอย่าง MGIT ในขณะที่กลุ่มแบคทีเรียควบคุมแบบบวก ซึ่งไม่ผ่านการทำพาสเจอไรเซชันทั้งสองซ้ำ พบว่า เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งและชนิดเหลวตามปกติ ส่วนกลุ่มควบคุมการทดสอบแบบลบทั้งสองซ้ำ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งชนิดแข็งและชนิดเหลว (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 4)



ภาพที่ 2. แสดงขั้นตอนการทดสอบกลุ่มควบคุมแบบบวก และลบ

ที่มา: นนทกร สกฤตวิทย์, ญัฐกานต์ ถาแก้ว, สายใจ สมบัติการ, สุสันท์ อาศนะเสน, มนุญ ลิ้มวงวงศ์, ผลิน กมลวัฒน์, สนั่น วิสุทธิศักดิ์ชัย, อังคณา ฉายประเสริ, ประภาภรณ์ ศรีโหละสิน



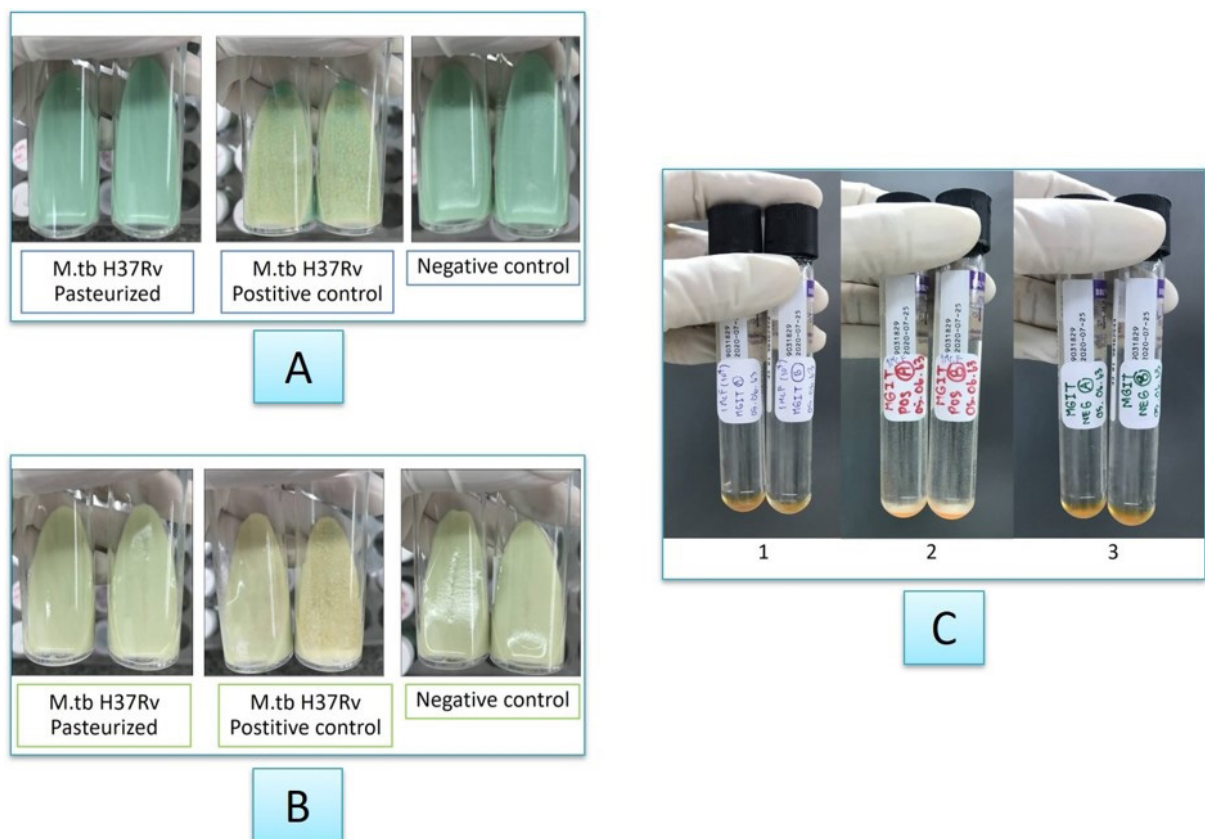
ภาพที่ 3. แสดงขั้นตอนการทดสอบกลุ่มทดสอบด้วยวิธีการพาสเจอไรเซชัน

ที่มา: นนทกร สกฤตวิทย์, ญัฐกานต์ ถาแก้ว, สายใจ สมบัติการ, สุสันท์ อาศนะเสน, มนุญ ลิ้มวงวงศ์, ผลิน กมลวัฒน์, สนั่น วิสุทธิศักดิ์ชัย, อังคณา ฉายประเสริ, ประภาภรณ์ ศรีโหละสิน

ตารางที่ 1. ผลการทำลายเชื้อวัณโรคที่ปริมาณต่างๆ ด้วยวิธีพาสเจอไรเซชันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตัวอย่างทดสอบ (n=36)	กลุ่มทดสอบ (จำนวนตัวอย่างที่เพาะเชื้อขึ้น)					
	ไม่ผ่านการพาสเจอไรเซชัน (n=18)*			ผ่านการพาสเจอไรเซชัน 72°C, 30 นาที (n=18)		
	LJ (n=6)	Ogawa (n=6)	MGIT (n=6)	LJ (n=6)	Ogawa (n=6)	MGIT (n=6)
1-3x10 ⁷ (n=12)	2	2	2	0	0	0
1-3 x 10 ⁶ (n=12)	2	2	2	0	0	0
1-3 x 10 ⁵ (n=12)	2	2	2	0	0	0

*p-value < 0.01 (สถิติ Chi-Square) การใช้วิธีพาสเจอไรเซชันมีผลทำให้เชื้อตายต่างกับกลุ่มควบคุม



ภาพที่ 4. แสดงผลการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Ogawa media (A) และ LJ media (B) หลังจากทดสอบ 3 สัปดาห์ และผลการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MGIT (C) เมื่อครบ 6 สัปดาห์ โดยเรียงลำดับจาก (1) กลุ่มแบคทีเรียทดสอบ (2) กลุ่มควบคุมแบบบวก และ (3) กลุ่มควบคุมแบบลบ ตามลำดับ

ที่มา: นนทกร สกฤตยาสุข, ณัฐกานต์ ถาแก้ว, สายใจ สมบัติการ, สุสันท์ อาคเนแสน, มนุญ ลิขเวงวงศ์, ผลิน กมลวัฒน์, สนั่น วิสุทธศักดิ์ชัย, อังคณา ฉายประเสริ, ประภาภรณ์ ศรีโหละสิน

อภิปรายผล

การทดสอบการทำลายเชื้อวัณโรคด้วยการทำพาสเจอไรเซชันในหลอดทดลอง เพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับการนำหน้ากาก N95 กลับมาใช้ซ้ำสำหรับการดูแลผู้ป่วยวัณโรค เนื่องจากสภาวะการขาดแคลนหน้ากาก N95 ซึ่งเชื้อวัณโรคเป็นสาเหตุหนึ่งที่ก่อโรคทางระบบทางเดินหายใจและพบอุบัติการณ์การดื้อยาของเชื้อเพิ่มมากขึ้น⁴ หน้ากาก N95 เป็นหนึ่งในอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับป้องกันการติดเชื้อที่สำคัญสำหรับผู้ป่วยและบุคลากรทางการแพทย์

ผู้ป่วยวัณโรคสามารถผลิตละอองฝอยที่มีเชื้อได้มากถึง 1 ถึง 701 เซลล์ (ค่ามัธยฐานที่ 16CFU) ต่อละอองฝอยขนาด 0.65 to 4.7 μm หรือคิดเป็น 21 ถึง 1.5×10^6 cell/ml⁸ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อวัณโรคด้วยพาสเจอไรเซชันสามารถทำลายเชื้อได้หมด ผู้ทดลองจึงได้ทำการทดสอบกับเชื้อวัณโรคสายพันธุ์มาตรฐานที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ 1 ถึง 3×10^7 cell/ml ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า วิธีการพาสเจอไรเซชันที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาทีสามารถทำลายเชื้อวัณโรคได้ ร้อยละ 100 แม้จะเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นที่ยอมรับว่าส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดีที่สุดในปัจจุบัน ทั้งชนิดแข็ง Ogawa และ LJ media รวมทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว MGIT media จากการศึกษาวิจัยโดย Lei Liao และคณะ⁹ พบว่า การให้ความร้อนกับหน้ากาก N95 แบบแห้งที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส จำนวน 50 รอบ โดยแต่ละรอบใช้เวลานาน 30 นาที ไม่มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการกรองอนุภาคและรูปทรงของหน้ากาก N95 เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้การศึกษายังได้ทำการทดสอบการทำลายเชื้อในหน้ากาก N95 ด้วยวิธีพาสเจอไรเซชันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ซึ่งเชื้อที่นำมาทดสอบได้แก่ เชื้อที่ก่อโรคทางระบบทางเดินหายใจที่พบบ่อย เช่น *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* และเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H1N1 ผลที่ได้พบว่า รูปทรงและประสิทธิภาพในการกรองอนุภาคของหน้ากาก N95 ไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rube Harrington และคณะ¹⁰ ที่ทำการทดสอบการทำลายเชื้อมัคโคแบคทีเรียในนมด้วยวิธีพาสเจอไรเซชันพบว่าสามารถทำลายเชื้อมัคโคแบคทีเรียในนมได้ สอดคล้องกับผลการศึกษาประสิทธิภาพการทำลายเชื้อวัณโรคด้วยวิธีการทำพาสเจอไรเซชันในการทดลองนี้

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวิธีพาสเจอไรเซชันมีประสิทธิภาพดีสามารถทำให้ตัวอย่างทดสอบปราศจากเชื้อวัณโรค รวมทั้งขั้นตอนการทำงานทำได้ง่าย สะดวกและสามารถใช้เครื่องมือที่มีอยู่แล้วตามห้องปฏิบัติการหรือโรงพยาบาล อันจะเป็นประโยชน์ต่อการบริหารจัดการดูแลรักษาผู้ป่วยวัณโรคได้อย่างต่อเนื่องและมีประสิทธิภาพ ดังเช่นกรณีจำเป็นต้องนำหน้ากาก N95 กลับมาใช้ซ้ำจากสถานการณ์การแพร่ระบาดของไวรัสซาร์โควิทุ อย่างไรก็ตามการทดสอบของคณะผู้วิจัยเป็นการศึกษาเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการที่จะนำไปประยุกต์ใช้กับการทดสอบในหน้ากากอนามัยชนิด N95 ต่อไป

สรุป

จากการศึกษาการทำลายเชื้อวัณโรคด้วยวิธีการทำพาสเจอไรเซชัน พบว่า เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อวัณโรค สะดวกและขั้นตอนการทำให้ปราศจากเชื้อไม่ซับซ้อน สามารถทำได้โดยใช้อุปกรณ์ที่มีอยู่ของห้องปฏิบัติการหรือโรงพยาบาลทั่วไป ซึ่งวิธีนี้จะประโยชน์มากสำหรับบุคลากรทางการแพทย์ในการตัดสินใจนำวิธีพาสเจอไรเซชันมาใช้ในการทำให้ปราศจากเชื้อ ช่วยลดปัญหาในเรื่องของการขาดแคลนหน้ากากอนามัยชนิด N95 สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการหรือการดูแลผู้ป่วยวัณโรคได้ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องวิจัยต่อยอดกับหน้ากาก N95 ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ทางคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ กองวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข และโครงการจัดตั้งหน่วยบริหารจัดการผู้ป่วยวัณโรคครบวงจร (SITBC) คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้การสนับสนุนและคำแนะนำอันเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization [Internet]. Switzerland: World Health Organization; c2020 [cited 2020 Jul 31] Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200228-sitrep-39-covid-19.pdf?sfvrsn=5bbf3e7d_4
2. World Health Organization [Internet]. Switzerland: World Health Organization; c2020 [cited 2020 Jul 31] Available from: <https://www.who.int/news-room/detail/03-03-2020-shortage-of-personal-protective-equipment-endangering-health-workers-worldwide>
3. สำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการป้องกันและควบคุมการแพร่กระจายเชื้อวัณโรค Guidelines for Prevention and Control of tuberculosis transmission. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์, 2559.
4. สำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ. 2561 National Tuberculosis control Programme Guidelines, Thailand, 2018. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์, 2561.
5. โรงพยาบาลเซนต์หลุยส์. วัณโรค (Tuberculosis) รู้เร็ว...รักษาหาย...ไม่แพร่กระจาย [อินเทอร์เน็ต]. 2560. [เข้าถึงเมื่อ 1 สิงหาคม 2563]. เข้าถึงได้จาก http://www.saintlouis.or.th/article/show/TuberculosisTB_23-2-2017-8:32
6. Hfocus เจาะลึกระบบสุขภาพ. หวั่น รูปขาดแคลนหน้ากากอนามัยกระทบงาน IC-โรคติดต่อทางเดินหายใจอื่น ๆ เพิ่มมากขึ้น [อินเทอร์เน็ต]. 2563. [เข้าถึงเมื่อ 1 สิงหาคม 2563]. เข้าถึงได้จาก <https://www.hfocus.org/content/2020/03/18619>
7. Yi Xiang MB, Qifa Song MSc b, Wenzhen Gu MSc. Decontamination of surgical face masks and N95 respirators by dry heat pasteurization for one hour at 70°C. Am J Infect Control 2020; 48: 880-2.
8. Fennelly KP, Jones-Lopez EC, Ayakaka I, Kim S, Menyha H, Kirenga B, et al. Variability of infectious aerosols produced during coughing by patients with pulmonary tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 2012; 186(5): 450-7.
9. Lei Liao, Wang Xiao, Mervin Zhao, Xuanze Yu, Haotian Wang, Qiqi Wang, Steven Chu, and Yi Cui. Can N95 respirators be reused after disinfection? How many times?. ACS Nano 2020; 14(5): 6348-56.
10. Harrington R Jr., Karlson AG. Destruction of various kinds of Mycobacteria in milk by pasteurization. Appl Microbiol 1965; 13(3): 494-5.