บทที่ 2

การสำรวจการวิจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องและทฤษฎี

1. ความหมายของ antiseptics, disinfectant และ sterilization

Antiseptics หมายถึง สารที่สามารถทำลายหรือป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตได้โดยไม่ทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อนั้น ๆ (12)

Disinfectants มีความหมายคล้ายคลึงกับ antiseptics แต่ความแตกต่างอยู่ที่การใช้ โดยที่ disinfectant เป็นสารที่ใช้ในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนเครื่องมือเครื่องใช้ หรือสถานที่ และไม่สามารถนำมาใช้บนเนื้อเยื่อของสิ่งที่มีชีวิตได้ เนื่องจากพิษของมันที่มีต่อเนื้อเยื่อนั้น (12)

Sterilization หมายถึง การทำลายสิ่งมีชีวิตทุกชนิด โดยเฉพาะจุลินทรีย์ อาจใช้วิธีการทางเคมีหรือฟิสิค

2. วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของ disinfectants

ในปัจจุบันนี้ มีผู้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ โดยใช้วิธีการทดลองแตกต่างกันไปแล้วแต่จุดประสงค์ของผู้ที่ทำการศึกษา ว่าต้องการศึกษาเกี่ยวกับอะไร การทดสอบวิธีใดวิธีหนึ่งไม่สามารถสรุปผลประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อได้อย่างถูกต้อง เพราะวิธีการทดสอบแต่ละวิธีไม่สามารถควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อได้ครบทุกประการ จำต้องอาศัยการทดสอบหลาย ๆ วิธี จึงจะสามารถนำยาฆ่าเชื้อนั้นมาใช้ประโยชน์ตามโรงพยาบาล หรือตามสถานที่ต่าง ๆ ได้ การทดสอบประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อในปัจจุบันนี้ มีวิธีการทดสอบที่เป็นหลักใหญ่ ๆ อยู่ 3 วิธี (13) คือ

2.1 เป็นการทดลองที่ทำในห้องปฏิบัติการ โดยทำในหลอดทดลอง หรือ "in vitro" test

2.2 เป็นการศึกษาเพื่อประเมินผลประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของยาฆ่าเชื้อ โดยนำเครื่องมือเครื่องใช้ในโรงพยาบาลมาทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ

2.3 เป็นการทดลองที่เรียกว่า "field test" หรือ "in use test" คือ ทำการทดลองตามสภาพจริง ๆ ที่เกิดขึ้นในโรงพยาบาล

ในที่นี้จะขอกล่าวถึง "in vitro" testซึ่งแบ่งออกได้เป็น 3 วิธี คือ

2.1.1 Suspension test

2.1.2 Carrier test

2.1.3 Capacity test

2.1.1 Suspension test มีหลักการดังนี้ คือ นำเชื้อจำนวนหนึ่งผสมกับยาฆ่าเชื้อที่ต้องการจะทดสอบ ภายหลังจากเชื้อและยาฆ่าเชื้อสัมผัสกันในระยะเวลาหนึ่งแล้ว จะตรวจดูว่ายาฆ่าเชื้อสามารถทำลายเชื้อได้หรือไม่ มากหรือน้อยเพียงใด โดยการนำตัวอย่างของส่วนผสมนี้มา culture ลงใน broth เพื่อตรวจดูว่าเชื้อยังมีชีวิตอยู่หรือไม่ (qualitative suspension test) หรือ culture ลงใน agar media ตรวจนับเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่โดยวิธี pour plate count (quantitative suspension test) วิธี suspension test นี้มีข้อดี คือ สามารถที่จะกำหนดให้เกิดมาตรฐานในการทดลองได้ง่าย การทดลองสามารถกระทำได้ภายใต้สภาวะที่กำหนดขึ้น แต่มีข้อเสีย คือ จะไม่สามารถแยกได้ว่า ยาฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพเป็น bacteriostasis หรือ bactericidal เพราะถ้าไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อใน culture media ก็มิได้หมายความว่าเชื้อถูกทำลายไปหมด โดยยาฆ่าเชื้อ เชื้อเหล่านั้นอาจเพียงแต่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตโดยยาฆ่าเชื้อเท่านั้น เพราะฉนั้นการทดลองใน suspension test นี้ จำเป็นจะต้องศึกษาให้ได้ว่า ยาฆ่าเชื้อสามารถทำลายเชื้อทั้งหมดจริง มิใช่เป็นเพียงแค่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ

การใช้สารเคมีบางอย่างซึ่งเรียกว่า "inactivator" หรือ "neutralizer" (14) ไปทำให้ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อหมดไปก่อนที่จะนำส่วนผสมระหว่างยาฆ่าเชื้อและเชื้อมา culture จะสามารถแยกคุณสมบัติระหว่าง bacteriostasis และ bactericidal ของยาฆ่าเชื้อได้ ฉนั้นถ้าผลการทดลองปรากฏว่าไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อใน culture media ก็แสดงว่า ยาฆ่าเชื้อได้ทำลายเชื้อไปหมดแล้วตั้งแต่ก่อนที่จะถูกทำให้หมดประสิทธิภาพไปโดย inactivator ทำให้สามารถสรุปได้ว่ายาฆ่าเชื้อนั้นมีฤทธิ์ทำลายเชื้อจริง แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีสารใดที่จะสามารถ inactivate ยาฆ่าเชื้อได้หมด และ inactivator นี้อาจไปมีผลบางอย่างกับเชื้อได้ ฉนั้นการใช้ inactivator เป็นเรื่องที่ต้องทำการศึกษากันอย่างละเอียดถี่ถ้วน

วิธีการอีกวิธีหนึ่งที่จะสามารถบอกได้ว่า ยาฆ่าเชื้อนั้นมีฤทธิ์เป็น bacteriostasis หรือไม่ โดยหลังจากที่อ่านผลแล้ว ถ้าพบว่าไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อใน brothนั้น จะนำตัวอย่างของส่วนผสมใน broth นั้นมา subculture อีกครั้ง ซึ่งถ้าเชื้อนั้นเพียงแต่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโต เมื่อ subculture ครั้งนี้ เชื้อก็จะสามารถเจริญเติบโตได้ใน sub culture media นั้น (14)

Phenol- coefficient determination เป็น suspension test วิธีหนึ่ง ผู้ริเริ่มคิดค้นวิธีนี้ คือ Rideal และ Walker ในปี 1903 วิธีการทดสอบได้รับการปรับปรุงมาตลอดเวลา จนในปี 1950 ก็ได้รับการปรับปรุงโดย The Association of Agricultural Chemists (AOAC)(17) disinfectants ที่จะทดสอบด้วยวิธีนี้จะต้องมีคุณสมบัติสามารถละลายน้ำได้ และไม่มีคุณสมบัติเป็น bacteriostasis เป็นตัวเลขที่ได้จากการเปรียบเทียบ dilution ของ 5 % (W/V) phenol และของสารเคมีอื่นที่สามารถทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ คือ S. aureus หรือ Salmonella typhi (S. typhi) หรือ P. aeruginosa ถูกทำลายโดยสมบูรณ์ในระยะเวลาที่เท่ากัน วิธีการทดสอบได้กำหนด standard media เชื้อที่ใช้ในการทดสอบ ตลอดจนเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบ ค่า phenol-coefficient เป็นตัวเลขที่ได้จากการ

นำ dilution ของ phenol (dilution ที่ไม่มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียใน 10 นาที แต่มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียใน 5 นาที) ตั้ง หารด้วย dilution ของสารเคมีอื่นที่ทดสอบ (dilution ที่ให้ผลการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเท่ากับ phenol) ข้อเสียของการทดสอบวิธีนี้ คือ ไม่สามารถควบคุมปัจจัยบางอย่าง ที่มีอิทธิพลต่อยาฆ่าเชื้อ ได้แก่ pH และภาวะที่มีสารอินทรีย์อยู่ด้วย และใช้ทดสอบได้เฉพาะยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพเป็น bactericidal เท่านั้น

2.1.2 Carrier test ที่นิยมใช้ คือ วิธี AOAC use -dilution method (15) carrier ที่ใช้เป็น steel cylinder ที่ถูกทำให้แปดเปื้อนโดยเชื้อที่เราต้องการทดสอบและทำให้แห้ง เอาไปแช่ในยาฆ่าเชื้อ (ที่สามารถละลายได้ดีในน้ำ) ภายในระยะเวลาหนึ่ง แล้วนำ steel cylinder นี้มา culture ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (broth) อ่านผลว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อ หรือไม่ หลังจาก incubate ไว้ที่อุณหภูมิ 37° ซ. นาน 48 ช.ม. ถ้าไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อ จะนำ cylinder นั้นมา sub culture อีกครั้ง เพื่อให้แน่ใจว่าเชื้อถูกทำลายไปจริง มิใช่เพียงแต่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตเท่านั้น

2.1.3 Capacity test เป็นอีกวิธีการหนึ่งของการทดสอบประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ วิธีที่นิยมใช้กันคือ Kelsey - Sykes test method(16) ในการทดสอบได้กำหนดเชื้อ วิธีการเตรียมเชื้อ จำนวนเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ การอ่านผล และการประเมินผลไว้เพื่อให้เกิดมาตรฐานในการทดลอง ในการทดลองจะเติมเชื้อลงในยาฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เตรียมไว้ 3 ครั้ง ครั้งแรกเมื่อเริ่มต้นการทดลอง ครั้งที่สอง 10 นาที หลังจากเติมเชื้อครั้งแรก และครั้งที่สาม 20 นาที หลังจากเติมเชื้อครั้งแรก 8 นาที หลังจากการเติมเชื้อแต่ละครั้งจะทำการเพาะเชื้อโดยดูดส่วนผสมระหว่างเชื้อ และยาฆ่าเชื้อ จำนวน 0.2 มล. ลงใน recovery broth (จะใช้ recovery broth 5 หลอดด้วยกัน) อ่านผลการทดลองโดยดูผลว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อใน recovery broth หรือไม่ ความเข้มข้นของยาฆ่าเชื้อที่

ผ่านการทดลองนี้จะต้องไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้ออย่างน้อย 2 ใน 5 หลอด ของ recovery broth และให้ผลการทดลองเช่นนี้อย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้ง (จำนวนครั้งหมายถึงการเติมเชื้อแต่ละครั้ง)

3. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ

ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อแต่ละชนิดไม่คงตัว มีปัจจัยหลายประการที่มามีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ คือ

3.1 ชนิดและรูปร่างของเครื่องมือที่จะทำการฆ่าเชื้อ เครื่องมือที่สามารถจะทำการฆ่าเชื้อได้ง่ายที่สุด คือ เครื่องมือที่มีรูปร่างแบนราบ ไม่มีส่วนโค้งงอ ส่วนเครื่องมือที่มีรูปร่างโค้งงอ และมีข้อต่อมาก ๆ จะทำให้เวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อเพิ่มมากขึ้น หรือไม่สามารถจะทำการฆ่าเชื้อได้ เนื่องจากยาฆ่าเชื้อไม่สามารถไปถึงบริเวณที่ต้องการจะฆ่าเชื้อได้ ยกเว้นแก๊ส ethylene oxide เท่านั้น ซึ่งมีคุณสมบัติในการทะลุทะลวงสูง สามารถทำลายเชื้อได้แม้แต่กล่องที่ปิดสนิทอยู่ เครื่องมือที่มีเลนส์เป็นส่วนประกอบ เช่น cystoscope จะเกิดปัญหาในการใช้ยาฆ่าเชื้อ เนื่องจากเลนส์อาจเกิดการเสื่อมคุณภาพ จากการแช่ในสารเคมีบางชนิด ภาวะความเป็นด่างแก่ของยาฆ่าเชื้อบางชนิดจะมีผลต่อเลนส์เมื่อแช่เป็นเวลานาน และหลายครั้ง (3)

3.2 ภาวะที่มีสารอินทรีย์ปะปนอยู่ สารอินทรีย์ต่าง ๆ ได้แก่ เลือด, พลาสม่า อุจจาระ หรือ tissue จะดูดซึมโมเลกุลของยาฆ่าเชื้อ และทำให้ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อลดลงไป (3)

3.2 ชนิด และจำนวนของจุลินทรีย์ เชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะสามารถต่อต้านยาฆ่าเชื้อได้มากน้อยแตกต่างกันไป แบคทีเรียที่อยู่ในรูปสปอร์ จะสามารถทนต่อยาฆ่าเชื้อได้ดีกว่าแบคทีเรียที่อยู่ในรูป vegetative มาก tubercle bacillus จะทนต่อยาฆ่าเชื้อได้ดีกว่าแบคทีเรียที่เป็น non - acid fast, ไวรัส และเชื้อรา แต่แบคทีเรียที่เป็น non-acid fast และไม่ใช่สปอร์บางชนิดสามารถทนต่อยาฆ่าเชื้อได้มากกว่า

แบคทีเรียอื่น ๆ เชื้อ Staphylococci และ Enterococci มีความสามารถที่จะทนต่อยาฆ่าเชื้อได้ดีที่สุดในบรรดาแบคทีเรียกรัมบวกทั้งหมด (19) Salmonella, Pseudomonas และ Serratia marcescens เป็นแบคทีเรียที่สามารถทนต่อยาฆ่าเชื้อได้ดีที่สุดในบรรดาแบคทีเรียกรัมลบทั้งหมด (3) จำนวนเชื้อที่มีอยู่ก็มีผลต่อระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อด้วย จำนวนเชื้อที่มากขึ้น จำต้องใช้เวลาในการทำลายเชื้อมากขึ้น เนื่องจากถึงแม้ว่าเชื้อเหล่านี้จะเป็นเชื้อชนิดเดียวกัน แต่แต่ละเซลล์ก็มีความแตกต่างกันไปทุกด้าน รวมทั้งความสามารถในการต่อต้านยาฆ่าเชื้อด้วย

3.4 ผลของความเป็นกรด-ด่าง ภาวะความเป็นกรด-ด่าง จะไปมีผลต่อการทำงานของยาฆ่าเชื้อ ยาฆ่าเชื้อแต่ละชนิดจะสามารถทำงานได้ดีในภาวะความเป็นกรด-ด่าง ที่แตกต่างกัน ความเข้มข้นของ hydrogen ion จะมีผลต่อทั้งตัวแบคทีเรียและยาฆ่าเชื้อ ถ้าแบคทีเรียอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH 7 แบคทีเรียจะมีประจุลบ ถ้าเพิ่ม pH ประจุก็จะเพิ่มขึ้น ทำให้ความเข้มข้นของยาฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวของแบคทีเรียเปลี่ยนไปด้วย ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อพวกด่างอ่อน เช่น acridines และยาฆ่าเชื้อพวก cationic surface-active agents จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของประจุลบ ฉนั้นเมื่อ pH เป็นด่างมากขึ้นประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อจึงเพิ่มขึ้นด้วย (3)

3.5 ผลของอุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิเพิ่มมากขึ้น ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อก็เพิ่มมากขึ้นด้วย มีผลทำให้ระยะเวลาในการทำลายเชื้อน้อยลง

4. ชนิดของยาฆ่าเชื้อ

4.1 Phenols และอนุพันธ์ของ phenols

4.1.1 Phenol ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ phenol พบครั้งแรก โดย Lister ในปี 1867 แต่ phenol มีพิษมาก ปัจจุบันจึงมีการใช้น้อยไปใช้ตัวอื่นที่มีพิษน้อยกว่าแต่มีประสิทธิภาพดีกว่า (14) phenol มีผลทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์แตก inactive เอนไซม์และโปรตีน เมื่อทา phenol ลงบน

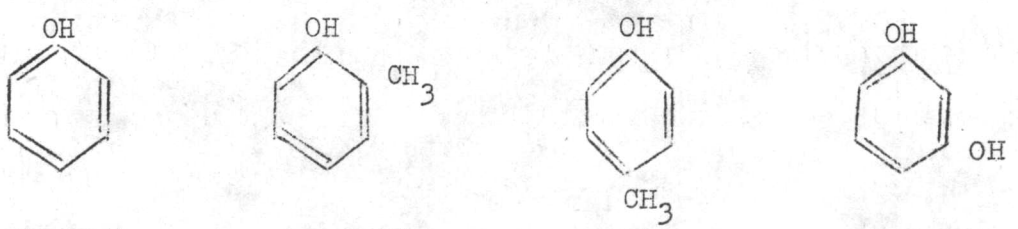
ผิวหนังจะเกิดเป็นฝ้าขาวของโปรตีนในไม่ช้าจะเปลี่ยนเป็นสีแดง และในที่สุดกลายเป็นเนื้อตายไป เหลือแต่ cutaneous tissue ซึ่งเป็นสีน้ำตาล นอกจากนี้ phenol ยังมีพิษต่อระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้กล้ามเนื้อสั่น เกิดอาการชัก ความดันโลหิตต่ำเนื่องจาก central vasomotor ถูกกด (12)

Phenol มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายแบคทีเรียหลายชนิด รวมทั้ง Mycobacterium tuberculosis นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อราด้วย (14) ประสิทธิภาพในการเป็น bactericidal ของ phenol จะลดลงที่อุณหภูมิต่ำและในที่ที่เป็นด่าง เมื่อละลายในน้ำจะมีประสิทธิภาพดีกว่าเมื่อละลายในไขมัน หรือ glycerine และจะหมดประสิทธิภาพไปเมื่อใช้รวมกับสบู่ (14)

4.1.2 Cresol เป็น alkyl derivative ที่สำคัญที่สุดของ phenol มี 3 isomers คือ ortho cresol, meta cresol และ para cresol มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อแตกต่างกันเล็กน้อย ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อสูงกว่า phenol 3 เท่า มีผลในการทำลายเชื้อ ที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ รวมทั้ง acid fast bacilli

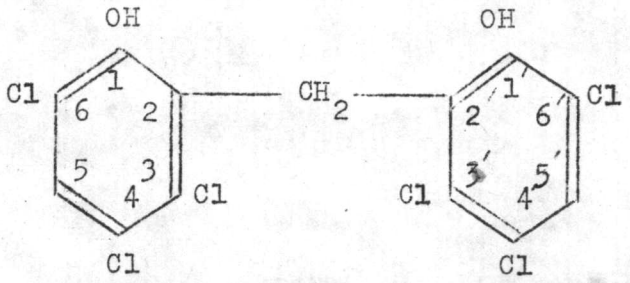
4.1.3 Resorcinols เป็น derivative ของ phenol อีกชนิดหนึ่ง มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อน้อยกว่า phenol

Phenol, cresol และ resorcinol มีสูตรโครงสร้างดังนี้ คือ



Phenol O-cresol p-cresol Resorcinol

4.1.4 Hexachlorophene เป็น chlorinatad derivative ของ bis-phenol (หมายถึง phenol กรุ๊ป 2 กรุ๊ป ที่มาเชื่อมกัน) มีสูตรโครงสร้างดังนี้ คือ



Hexachlorophene หรือ 2, 2′ - methylene bis (3, 4, 6 trichlorophenol)

Hexachlorophene มีลักษณะเป็น crystalline powder สีขาวไม่ละลายน้ำ แต่ละลายใน organic solvents หลายชนิด และในด่างที่เจือจางมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อสูง แต่การใช้มีข้อจำกัดมากเนื่องจากมีความสามารถในการละลายต่ำ

ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ hexachlorophene, hexachlorophene มีคุณสมบัติเป็น bacteriostasis ที่ดีมาก (17) การศึกษาถึงประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ hexachlorophene ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาถึงคุณสมบัติในด้าน bacteriostasis ในปี 1948 Price และ Bonette (18) รายงานว่าที่ความเข้มข้น 0.2 ppm. หรือ 0.15 ppm. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ S. aureus ได้อย่างสมบูรณ์ และ Seastoneในปี 1947 (19) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพในด้าน bacteriostasis ของ hexachlorophene โดยใช้จำนวนเชื้อมากกว่าที่ Price และ Bonette ใช้ทดลอง ปรากฏว่าเชื้อ Staphylococci 3 strain ที่พบบนผิวหนังของคนปกติ จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 1 ppm. และถูกยับยั้งการเจริญเติบโตเพียงบางส่วนที่ความเข้มข้น 0.1 ppm.

แต่สำหรับเชื้อแบคทีเรียกรัมลบพวกโคลิฟอร์ม ต้องใช้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 10–20 เท่า จึงจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ ซึ่งแสดงว่าประสิทธิภาพของ hexachlorophene ต่อเชื้อแบคทีเรียกรัมบวกดีกว่าเชื้อแบคทีเรียกรัมลบ ซึ่งตรงกับรายงานของ Vitez (20) และ Kneiflova และ Privora (21) นอกจากนี้ยังมีผู้พบว่าเชื้อ P. aeruginosa สามารถจะเจริญเติบโตได้ใน 3 % hexachlorophene(2) hexachlorophene . ยังมีประสิทธิภาพเป็น fungicidal และ fungistasis ที่ดี จากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า hexachlorophene สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ Trichophyton mentagrophytes โดยใช้ความเข้มข้นเพียง 0.02 mcg/ml. (22)

Hexachlorophene เมื่ออยู่รวมกับสบู่หรือสาร detergents อื่น ๆ ก็ยังคงมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อเท่าเดิม ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของ hexachlorophene ที่ต่างจาก phenol ที่จะหมดประสิทธิภาพไปเมื่ออยู่รวมกับสบู่(12) เมื่อ pH ของ hexachlorophene เป็นด่างมาก ๆ ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจะสูงกว่าเมื่อ pH เป็นกรดหรือเป็นกลาง จากการศึกษาของ Lowberry และ Lilly (23) พบว่า 2.5 % hexachlorophene soap gel ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า Steridermis มีภาวะเป็นด่างแก่ pH= 9.6 จะมีผลในการลดจำนวนแบคทีเรียบนผิวหนังได้ดีกว่า Ster-Zac ซึ่งประกอบด้วย 3 % hexachlorophene และ chlorocresol 0.3 %

ประสิทธิภาพของ hexachlorophene จะลดลงอย่างมาก เมื่อมีสารอินทรีย์ปะปนอยู่ด้วย ไม่ว่าจะเป็น body fluid, pus, serum, albumin หรือน้ำนม (17, 24) จากตารางที่ 1 (17) แสดงให้เห็นว่าสารอินทรีย์ เช่น ซีรั่ม จะลดประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ hexachlorophene และเมื่อปริมาณซีรั่มเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อก็จะลดน้อยลง (17,25) จากผลการทดลองดังตารางที่ 2 (17) ยังแสดงให้เห็นว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ประสิทธิภาพของ hexachlorophene ก็จะดีขึ้นด้วย

ตารางที่ 1 แสดงผลของสารอินทรีย์ที่มีต่อประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ hexachlorophene (17)

Amounted tested		Results after contact with Micrococcus pyogenes var aureus 37 c° for			
conc. of hexachlorophene	serum	5 min	3 hrs	24 hrs	48 hrs
1 : 1000	in 80 % serum	7,000*	4,000	2,500	2,000
"	" 50 % serum	6,500	550	0	0
"	" 10 % serum	2,500	0	0	0
"	" 0 % serum	0	0	0	0
1 : 2500	" 80 % serum	10,000	5,000	5,000	4,500
"	" 50 % serum	10,000	8,000	12,000	0
"	" 10 % serum	3,500	2,000	0	0
"	" 0 % serum	0	0	0	0

* จำนวน Colony

006450

ตารางที่ 2 แสดงประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ hexachlorophene ต่อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่ 20° ซ. และ 37° ซ. (17)

	Cone. showing growth in 5 minutes but not in 10	
	20°c	37°c
Micrococcus aureus	1 : 3,000	1 : 5,000
Salmonella typhosa	1 : 1,000	1 : 3,000
Escherichia coli	1 : 1,000	1 : 3,500
Corynebacterium diptheriae (avirulent)	1 : 40,000	1 : 70,000
Pseudomonas aeruginosa	1 : 1,000	1 : 1,100
Salmonella paratyphi A	1 : 1,000	1 : 30,000
Shigella dysenteriae (Flexner)	1 : 1,000	1 : 3,000
Streptococcus hemolyticus (Lancefield GPA)	1 : 45,000	1 : 90,000
Neisseria gonorrhoea	1 : 50,000	-

4.2 Alcohol มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อได้ดี โดยมีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนไฮโดรคาร์บอนและน้ำหนักโมเลกุล Alcohol 2 ชนิดที่นิยมใช้กันมาก คือ ethyl alcohol และ isopropyl alcohol ทั้ง 2 ชนิดเป็น disinfectant อย่างอ่อน และไม่มีพิษต่อผิวหนังคน

4.2.1 Ethyl alcohol มีคุณสมบัติในการลดแรงตึงผิว ละลายไขมัน และทำให้โปรตีนเปลี่ยนสภาพเป็นก้อนแข็ง ความเข้มข้นที่ดี คือ 50 – 70 % สามารถทำลายแบคทีเรียกรัมบวก, กรัมลบ และ acid fast ได้เท่านั้น แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียและไวรัสได้ (12)

4.2.2 Isopropyl alcohol ความเข้มข้นตั้งแต่ 70 % ขึ้นไป ออกฤทธิ์ดีกว่า ethyl alcohol เล็กน้อย แต่ละลายในไขมันได้ดีกว่า (12)

คุณสมบัติในการละลายไขมันของ alcohol ทำให้นิยมใช้ alcohol ในการทำความสะอาดผิวหนังก่อนจะฉีดยา alcohol จะละลายไขมันบนผิวหนังออกไป และจะฆ่าแบคทีเรียที่อยู่บนผิวหนังได้ถึง 90 % ภายในเวลา 2 นาที

4.3 Aldehyde มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียทั้งกรัมบวกและกรัมลบ เชื้อรา ไวรัส และสปอร์ของแบคทีเรีย (12) ทำปฏิกิริยา alkylating กับโปรตีน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์หรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

4.3.1 Formaldehyde เป็นแก๊ส และมักใช้กันในรูปของสารละลาย formalin ซึ่งมี formaldehyde อยู่ 37 % formalin สามารถทำลายเชื้อได้ทุกชนิด รวมทั้งเชื้อวัณโรค และสปอร์ของแบคทีเรีย ที่ความเข้มข้น 1 : 200 สามารถทำลายแบคทีเรียใน 6 – 12 ชั่วโมง แต่จะต้องใช้เวลานาน 2 – 4 วัน จึงจะสามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ (12) formalin ไม่สามารถนำมาใช้กับผิวหนังของคนได้ เนื่องจากเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ และอาจทำให้เกิดอาการแพ้ได้ ใช้แช่เครื่องมือผ่าตัดและถุงมือ โดยใช้ความเข้มข้น 1 – 4 % (12)

4.3.2 Glutaraldehyde เป็นของเหลว ละลายได้ดีในน้ำและ alcohol เมื่อละลายน้ำมีฤทธิ์เป็นกรดเล็กน้อย และจะสามารถคงสภาพอยู่ได้นานเมื่อเก็บในตู้เย็น และถ้าทำให้มีสภาวะเป็นด่างจะสลายตัวอย่างรวดเร็ว เมื่อปรับ pH ให้ได้ 7.5 – 8 glutaraldehyde จะคงสภาพนี้อยู่ได้ประมาณ 2 อาทิตย์ หลังจาก 2 อาทิตย์ไปแล้ว ความเข้มข้นจะลดลงจาก 2.02 % เป็น 1.71 % แต่ pH จะลดลงเพียงเล็กน้อยจาก pH 8.3 เมื่อเตรียมใหม่ ๆ เป็น 7.7 หลังจากเตรียมได้ 8 อาทิตย์แล้ว (4) glutaraldehyde ระคายเคืองต่อผิวหนังและ mucous membrane น้อยกว่า formaldehyde แต่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อดีกว่า (26) Cidex® เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าของ 2 % alkaline glutaraldehyde

ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ glutaraldehyde glutaraldehyde จะมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นด่าง pH 7.8 – 8 (26) glutaraldehyde ไม่ว่าจะละลายใน 70 % (V/V) ของ isopropyl alcohol หรือละลายในน้ำจะมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน แต่ถ้าละลายใน 70 % (V/V) ของ ethyl alcohol ประสิทธิภาพจะลดลงไปเล็กน้อย (5) การศึกษาถึงประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ glutaraldehyde ส่วนใหญ่ศึกษาในสภาวะที่เป็นด่าง สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด รวมทั้ง P. aeruginosa และ S. aureus ได้ทั้งหมด ภายในเวลา 5 นาที (27,28) จากการศึกษาของ Rubbo และคณะ (5) พบว่า alkaline glutaraldehyde solution pH 8 ที่มีความเข้มข้นระหว่าง 2 % – 0.05 % สามารถทำลายเชื้อ S. aureus, P. aeruginosa และ Escherichia coli ได้อย่างรวดเร็วมาก จนไม่สามารถเขียนเป็น time-survivor curve ได้ และจากการศึกษาของคณะนี้ พบว่า ความเข้มข้นของ alkaline glutaraldehyde 0.02 % เป็นความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถจะทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ โดยสามารถทำลายเชื้อลงได้ 10^4 เซลล์ ภายในเวลา 20 นาที (5) จากการศึกษาของ Borick และคณะ (4) พบว่า 2 % alkaline glutaraldehyde สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียกรัมบวกและกรัมลบ 8 ชนิด รวมทั้ง Staphylococcus และ Pseudomonas ภายใน

เวลาน้อยกว่า 1 นาที โดยทดสอบตามวิธี modified use - dilution method ของ Ortenzio และ Stuart จากการศึกษาของ Axon และ Catton (10) ซึ่งได้ทดสอบประสิทธิภาพของ 2 % alkaline glutaraldehyde พบว่าเมื่อแช่เครื่องมือที่แปดเปื้อนด้วยเชื้อ Pseudomonas ลงใน 2.5 % alkaline glutaraldehyde เป็นเวลานาน 10 นาที จะไม่พบเชื้อ P. aeruginosa นี้เลย และจากการศึกษาของ Ross (29) พบว่าเมื่อแช่เครื่องมือคมยาที่แปดเปื้อนด้วยเชื้อ Staphylococcus aureus , Staphylococcus epidermidis และ Proteus เป็นเวลานาน 5 นาที จะไม่พบเชื้อ Staphylococcus ทั้งสองชนิดเลยนอกจาก Proteus และถ้าแช่นาน 10 นาที ก็จะไม่พบเชื้อ Proteus

Alkaline solution ของ glutaraldehyde นอกจากจะสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียแล้ว ยังสามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรีย, ไวรัสและเชื้อราได้ด้วย จากการศึกษาของ Borick (4) 2 % alkaline glutaraldehyde สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ Bacillus glubigii, Bacillus subtilis, Clostidium tetani และ Clostidium perfringens ได้ภายในเวลาน้อยกว่า 3 ชม. ตามวิธีทดสอบของ AOAC. ซึ่งเวลาที่ใช้ในการทำลายสปอร์เหล่านี้นานกว่าที่มีรายงานไว้ในการศึกษาของคณะอื่น ๆ จากการศึกษาของ Rubbo และคณะ (5) พบว่า การทำลายสปอร์ของ Bacillus subtilis โดย 2 % alkaline glutaraldehyde ใช้เวลาเพียง 15 นาที และจากรายงานเดียวกันนี้กล่าวว่าประสิทธิภาพของ alkaline glutaraldehyde ต่อสปอร์ของเชื้อต่าง ๆ จะไม่เท่ากัน แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของสปอร์ เช่น สปอร์ของ Clostidium tetani ต้องใช้เวลานานกว่าสปอร์ของ Bacillus anthracis คือต้องใช้เวลา 30 นาที ในการที่จะทำลายสปอร์ให้ได้ 10^4 สปอร์ และจากรายงานของ Pepper และ Chandler (30) พบว่า 1 % alkaline glutaraldehyde โดยใช้ 70 % isopropanol เป็นตัวทำละลายสามารถทำลายสปอร์ของ Clostidium tetani, Clostidium sporogenes, Bacillus subtilis และ Bacillus pumilus ได้ ภายในเวลาครึ่งชั่วโมง และจากรายงานเดียวกันนี้พบว่า 1 % alkaline

glutaraldehyde ที่ละลายใน 70 % isopropanol มีประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ของแบคทีเรียดีกว่า 8 % formalin 2 % alkaline glutaraldehyde สามารถทำลายเชื้อไวรัสได้หลายชนิด เช่น Poliomyelitis, Influenza, Mous hepatitis virus, Herpes simplex และ Vaccinia ได้ภายในเวลา 10 นาที (4, 27) 2 % alkaline glutaraldehyde สามารถทำลายเชื้อราบางชนิดได้ดี จากการศึกษาของ Borick (4) พบว่า glutaraldehyde ความเข้มข้น 1.4 % pH 7.4 สามารถทำลายเชื้อ Trichophyton digitale ได้ภายในเวลาที่น้อยกว่า 0.5 นาที

Glutaraldehyde มีประสิทธิภาพต่อเชื้อ Mycobacterium tuberculosis ด้อยกว่าประสิทธิภาพของ disinfectant บางชนิด สามารถทำลายเชื้อลงได้ 10^4 เซลล์ ในเวลา 30 นาที (5) และจากการศึกษาของ Bergant และ Lystad (31) พบว่า Cidex® ไม่มีประสิทธิภาพต่อ Mycobacterium tuberculosis โดยทำการทดลองตามวิธี Kelsey - Sykes แต่จากการศึกษาของ Borick (4) และบริษัท Ethicon (27) ปรากฏว่า alkaline glutaraldehyde กลับมีประสิทธิภาพทำลายเชื้อนี้ได้ดี สามารถทำลายเชื้อนี้ได้ในเวลา 10 นาที

อิทธิพลของสารอินทรีย์ที่มีต่อประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ glutaraldehyde ยังไม่เป็นที่แน่ชัด เพราะจากการศึกษาของหลายคณะยังไม่สามารถสรุปผลได้ ซึ่งต่างจาก disinfectant ทั่ว ๆไป ที่สารอินทรีย์มีผลไปลดประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อลง จากการศึกษาของ Borick (4) พบว่าความเข้มข้นของ bovine serum 5 % ถึง 20 % ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของ glutaraldehyde เลย และจากการศึกษาของ Rubbo และคณะ (5) พบว่า 10 % ซีรั่มไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของ glutaraldehyde ในการทำลายสปอร์ของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษาพบว่า สารอินทรีย์กลับทำให้ glutaraldehyde มีประสิทธิภาพดีขึ้น Saitanu และ Lund (6) พบว่า 10 % ซีรั่ม ช่วยทำให้อัตราการ inactivate Coxackie virus B 3 ของ glutaraldehyde เร็วขึ้น แต่จากการศึกษาของ Ross (29) พบว่า ประสิทธิภาพของ glutaraldehyde ต่อเชื้อ

S. aureus, P.aeruginosa และ Escherichia coli จะลดลงไปเมื่อมี 20 % ซีรั่มอยู่ด้วย

ในภาวะที่ glutaraldehyde เป็นด่าง ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจะดีกว่าในภาวะที่เป็นกรด และในสภาวะที่เป็นกรดจะไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ของแบคทีเรียบางชนิดเลย (30) จากการศึกษาของ Rubbo (4) พบว่าประสิทธิภาพของ glutaraldehyde ต่อสปอร์ของ Bacillus anthracis ที่ pH 8 ดีกว่าที่ pH4 ถึง 4 เท่า และจากการศึกษาของ Saitanu และ Lund (6) พบว่าอัตราในการ inactivate Coxachie Virus B 3 ของ glutaraldehyde ที่ pH 7.4 เร็วกว่าที่ pH5 ถึง 10 เท่า

กลไกในการทำงานของ glutaraldehyde ซึ่งทำให้เกิดผลในการทำลายเชื้อ glutaraldehyde มีผลต่อโปรตีนของ cell membrane และ cytoplasm ในแบคทีเรียโดยไปทำปฏิกริยา alkylating กับ amino group และ sulfhydryl group ของโปรตีน และทำปฏิกริยากับ ring nitrogen atom ของ purine bases (32) ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ glutaraldehyde ขึ้นกับ aldehyde group ของ glutaraldehyde ถ้าแทนที่ aldehyde group ใน glutaraldehyde เพียง 1 group หรือทั้งคู่ จะพบว่าอนุพันธ์ของ glutaraldehyde นั้นจะไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ของ B. anthracis เลย แต่ถ้าแทนที่โมเลกุลบางโมเลกุลของ glutaraldehyde ที่ไม่ใช่ aldehyde group ประสิทธิภาพต่อสปอร์ของเชื้อนี้จะลดลงไป แต่ไม่ถึงกับสูญเสียประสิทธิภาพไป (5) และมีผู้ศึกษาพบว่าในสภาวะที่ glutaraldehyde เป็นด่าง ผลของด่างจะไปมีต่อผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้ประสิทธิภาพของ glutaraldehyde ดีขึ้น (33)

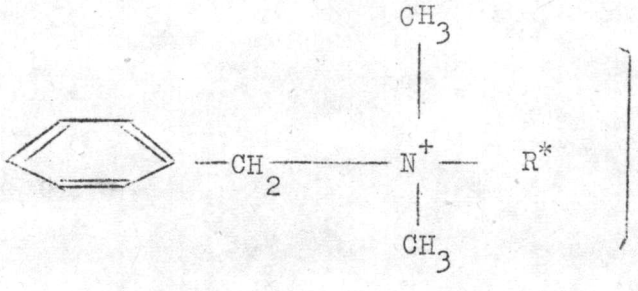
4.4 Surface - active agents เป็นสารลดแรงตึงผิว ซึ่งใช้กันทั่วไปตามโรงงานและตามบ้านเรือน โดยใช้ในรูปของสบู่หรือผงซักฟอก surface - active agents

เป็นสารเคมีประกอบด้วยหมู่ hydrophillic ซึ่งสมดุลย์กับหมู่ hydrophobic surface-active agents แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

4.4.1 Non - ionic surface-active agentsซึ่งไม่มีคุณสมบัติในการเป็นยาฆ่าเชื้อเลย เช่น tween 80

4.4.2 Anionic surface-active agents มีคุณสมบัติเป็นยาฆ่าเชื้ออย่างอ่อน เช่น สบู่, sodium lauryl sulfate

4.4.3 Cationic surfact active agents มีคุณสมบัติในการเป็นยาฆ่าเชื้อดีกว่า 2 กลุ่มที่กล่าวมาแล้ว เช่น quaternary ammonium compounds (quats) ตัวอย่าง คือ benzalkonium chloride ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้ คือ



R^* คือ alkyl group จาก C_8 C_{17} ถึง C_{18} H_{37}

Benzalkonium chloride หรือ n - alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride

Benzalkonium chloride มีลักษณะเป็น gelatinous pieces สีขาว หรือสีขาวอมเหลือง มีกลิ่นหอมและมีรสขม ละลายได้ดีในน้ำ alcoholและ acetone แต่ไม่ละลายใน ether เมื่อละลายในน้ำจะมีฤทธิ์เป็นด่างเล็กน้อย ถ้าเขย่าอย่างแรงจะทำให้เกิดฟองขึ้น

ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ quats เช่น benzalkonium chloride มีประสิทธิภาพในการทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อต่าง ๆ โดยขึ้นกับความเข้มข้นที่ใช้ สามารถใช้ได้ผลดีกับ vegetative form ของแบคทีเรีย

สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายแบคทีเรียได้ทั้งแบคทีเรียที่เป็นกรัมบวกและกรัมลบ แบคทีเรียกรัมลบมักจะดื้อต่อยานี้มากกว่าแบคทีเรียกรัมบวก โดยเฉพาะ Pseudomonas species (34) และ Serratia marcescens(S. marcescens)(35) นอกจากนี้ยังมีงานงานพบว่า P. aeruginosa และ water borne Pseudomonas species สามารถที่จะเจริญได้ใน benzalkonium chloride ซึ่งเติม ammonium acetate buffered หรือ ammonium sulfate ลงไปด้วย (20) quats ยังมีประสิทธิภาพดีต่อเชื้อรา และ algae แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียและเชื้อวัณโรคได้ 1 : 1,000 ของ quats ไม่สามารถทำลาย human strain ของ tubercle bacilli ได้ (36) ไวรัสบางชนิด โดยเฉพาะพวก hydrophillic virus ก็ไม่สามารถถูกทำลายได้โดย quats 1 : 800 ของ quats ไม่สามารถ neutralize poliomyelitis virus ได้ (36) แต่สำหรับ lipophillic virus บางชนิด quats ยังใช้ได้ผลดีอยู่ (34)

เนื่องจาก benzalkonium chloride มี alkyl group ซึ่งประกอบไปด้วย $C_8 H_{17}$ ถึง $C_{18} H_{37}$ ได้มีผู้ศึกษาพบว่า ถ้า benzalkonium chloride นั้นประกอบด้วย C_{14} ในเปอร์เซนต์ที่สูง จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อสูงกว่า benzalkonium chloride ที่มี C_{14} ในเปอร์เซนต์ที่ต่ำกว่า (34,37)

ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของ quats จะลดลงไปเมื่ออยู่รวมกับสบู่, anionic surface-active agents, ฝ้าย, cellulose fiber , โปรตีนหรือสารอินทรีย์ต่าง ๆ (38) แต่อย่างไรก็ตามมีผู้รายงานพบว่า quats เป็นยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีกว่ายาฆ่าเชื้อชนิดอื่นเมื่อมีซีรั่มโปรตีนอยู่ด้วย 0.01 % ของสารละลาย quats เมื่อไม่มีซีรั่มอยู่ด้วยจะสามารถทำลาย Micrococcus pyogenes var aurus ได้ใน 15 นาที แต่ถ้ามีซีรั่มอยู่ด้วยจะต้องใช้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 0.03 % ก็จะสามารถทำลายเชื้อนี้ได้ในเวลาเท่ากัน และ 10 % ซีรั่มจะลดประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อลงไปเพียง 10 % (36) cation บางตัว ได้แก่ magnesium, calcium

จะลดประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อลงอย่างมาก ในขณะที่ sodium, potassium จะมีผลต่อยาฆ่าเชื้อน้อยมาก (35) นอกจากนี้ถ้าใช้น้ำกระด้างมาทำ dilution ของ quats แล้ว ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อจะลดลงไป เนื่องจากสารบางอย่างในน้ำกระด้างไป neutralize ยาฆ่าเชื้อ (35) และเมื่อ pH ของ benzalkonium chloride สูงขึ้น จะทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อสูงขึ้น (25,34,35) ที่ pH เป็นกลางถึง pH 9 ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจะเพิ่มขึ้นไม่มาก แต่ที่ pH 9 ขึ้นไปประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นอย่างมาก (35) Petrocci (34) ได้กล่าวถึงรายงานของ Lawlence ซึ่งทดลองถึงประสิทธิภาพของ benzalkonium chloride ใน pH ต่าง ๆกัน โดยทดสอบกับเชื้อ S. aureus ปรากฏว่ายิ่ง pH สูงขึ้น ประสิทธิภาพของ benzalkonium chloride จะยิ่งดีขึ้น (ตารางที่ 3) (34)

ตารางที่ 3 แสดงผลของ pH ที่มีต่อประสิทธิภาพของ benzalkonium chloride ต่อเชื้อ S. aureus (34)

Concentration	pH	Bacterial growth after minutes of exposure		
		5	10	15
1 : 15,000	4.3	-	-	-
1 : 15,000	3.8	-	-	-
1 : 15,000	3.5	+	+	+
1 : 15,000	3.2	+	+	+
Control (no quaternary)	3.2	+	+	+
1 : 25,000	6.7	+	+	+
1 : 25,000	9.4	+	+	+
1 : 25,000	10.0	+	+	-
1 : 25,000	10.2	+	+	-
1 : 25,000	10.5	+	-	-
1 : 25,000	10.6	+	-	-
Control (no quaternary)	10.6	+	+	+

กลไกในการทำงานของ quats ซึ่งทำให้เกิดผลในการทำลายเชื้อquats มีผลต่อแบคทีเรียโดยไปยับยั้งขบวนการ respiration และขบวนการglycolysis โดยเฉพาะไปมีผลยับยั้งการ oxidation ของคาร์โบไฮเดรต ทำให้ cell membrane ของแบคทีเรียสูญเสียคุณสมบัติในด้าน permeability โดยประจุบวกของสารเคมีจะรวมกับหมู่ฟอสเฟตของ membrane phospholipid ขณะที่ส่วน hydrophobic จะแทรกเข้าไปยังชั้นในของ membrane เซลล์จึงสูญเสียคุณสมบัติในด้าน permeability ไป สารประกอบพวกไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส และสารที่จำเป็นอื่น ๆ ไหลออกมานอกเซลล์ จะเข้าไปเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีน และมีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (36)

4.5 <u>กรดและด่าง</u> กรดแก่และด่างแก่ จะทำลายอินทรีย์ทุกชนิด และทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย กรดอนินทรีย์มีคุณสมบัติในการทำลายแบคทีเรียได้ดีกว่ากรดอินทรีย์ คุณสมบัติในการฆ่าแบคทีเรียของกรดจะขึ้นกับ pH ไม่ได้ขึ้นกับความเข้มข้น ด่างมีคุณสมบัติฆ่าแบคทีเรียได้เนื่องจากความเข้มข้นของ OH^- ด่างจะฆ่าจุลินทรีย์ได้ที่ pH 12 หรือสูงกว่า และใช้สำหรับ disinfectant เล้าไก่หรือยุ้งฉาง ความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ของกรดและด่าง ยังขึ้นกับอุณหภูมิด้วย แบคทีเรียที่อยู่ในสารละลายของกรดหรือด่างเมื่อนำไปให้ความร้อนจะถูกทำลายได้เร็วขึ้น จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้านทานต่อกรดและด่างแตกต่างกันไป ด่างแก่จะทำลายแบคทีเรียกรัมลบและไวรัสได้ดีกว่าแบคทีเรียกรัมบวกและโปรโตซัว ส่วนแบคทีเรียพวก acid - fast จะทนต่อด่างได้ดี สำหรับยีสต์และราจะทนกรดได้ดีกว่าแบคทีเรีย

4.6 <u>สารประกอบของโลหะหนัก</u> สารพวกนี้ออกฤทธิ์โดยทำให้โปรตีนตกตะกอนและเข้าไปรวมกับหมู่ sulfhydryl ของโปรตีน มีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เมตาโบลิซึมของเซลล์ลดลง (12) เป็นสารที่มีราคาถูก มีใช้กันมานานแต่ประสิทธิภาพอ่อน พบว่าเชื้อที่ถูกกับสารนี้นาน ๆ อาจไม่ตาย และจะกลับแบ่งตัวได้ใหม่ในสภาวะที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังมีพิษร้ายแรงต่อเนื้อเยื่อ และทำให้โลหะผุกร่อน ปัจจุบันจึงไม่ค่อยนิยมใช้แล้ว (12)

4.6.1 สารประกอบของปรอท ในสมัยก่อนใช้เป็นยาในรูปของ mercuric chloride แต่มีพิษร้ายแรงมากต่อเนื้อเยื่อ ความเป็นพิษของสารนี้จะน้อยลงเมื่อรวมสารนี้เข้ากับโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่ซับซ้อน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ออกมาหลายอย่าง ได้แก่ mercurochrome และ merthiolate สารประกอบของปรอทเหล่านี้เป็นสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สามารถซึมผ่านผิวหนังเข้าไปได้

4.6.2 Silver nitrate สารละลาย 1 % ของ silver nitrate ที่เตรียมด้วยน้ำ ใช้หยอดตาเด็กแรกเกิดเพื่อป้องกันการติดเชื้อโกโนเรีย

4.7 Oxidizing agents เช่น halogen, hydrogen peroxide และ potassium permanganate สารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายแบคทีเรีย มีฤทธิ์ไป oxidize หมู่เคมีพวก $-SH_2$, $-NH_2$ หรือ indole ซึ่งหมู่เคมีเหล่านี้จำเป็นสำหรับการทำงานของเอนไซม์และโค-เอนไซม์ เมื่อถูก oxidize เอนไซม์ก็ทำงานไม่ได้

4.7.1 Halogen ได้แก่ ไอโอดีนและคลอรีน เป็น oxidizing agents อย่างแรงทั้งสองตัวและนิยมใช้กันมากที่สุด ไอโอดีนใช้ฆ่าจุลินทรีย์ตามผิวหนัง ส่วนคลอรีนใช้ฆ่าจุลินทรีย์ในน้ำ ไอโอดีนมีประสิทธิภาพดีกว่าคลอรีน

ไอโอดีนอยู่ในรูปของ I_2 ที่ pH ต่ำกว่า 6 จะมีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียได้ดีที่สุด อัตราการตายของแบคทีเรียจะลดลงเมื่อ pH ขึ้นสูงเกิน 7.5 ทิงเจอร์ไอโอดีน 2 % ใช้ใส่แผลเพื่อฆ่าเชื้อได้ดี Iodophores เป็นสารประกอบที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่ทำให้เกิดอาการระคายเคือง เป็นสารละลายของไอโอดีนกับ anionic surface-active agents นิยมใช้ในการทำความสะอาดแผลสด แผลถลอก เพราะไม่แสบเท่ากับการใช้ไอโอดีน

สารประกอบคลอรีนที่นำมาใช้เป็นยาฆ่าเชื้อมี 3 อย่าง คือ hypochlorites, inorganic chloramines และ organic chloramines เมื่อ

ละลายในน้ำสารประกอบคลอรีนเหล่านี้จะปล่อยคลอรีนออกมาซึ่งจะรวมกับน้ำได้เป็น hypochlorous acid กรดนี้จะเป็น oxidizing agent อย่างแรง คุณสมบัติในการทำลายเชื้อจะลดลงเมื่อสารอินทรีย์อยู่ในสภาวะเป็นด่าง ไม่นิยมในการนำมาใช้ในการแช่เครื่องมือทางการแพทย์ เพราะกัดกร่อนเครื่องมือเหล่านั้น

4.7.2 Hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 % ใช้ล้างแผล จะกัดเป็นฟองฟู ใช้ชะล้างสิ่งเน่าเปื่อยและเนื้อตาย แต่ไม่เหมาะสำหรับแผลที่เป็นโพรง มีฤทธิ์อ่อนไม่ค่อยซึมซาบเข้าสู่เนื้อเยื่อ

4.7.3 Potassium permanganate ปัจจุบันไม่ค่อยนิยมใช้เพราะใช้ hydrogen peroxide ดีกว่า แต่ก็ใช้บ้างในการทำความสะอาดแผลบนผิวหนัง และในการทำลายเชื้อในอุจจาระของผู้ป่วย

4.8 Dyes มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย มีทั้ง basic dye และ acid dye ภายในช่วง pH ปกติ basic dye จะมีประสิทธิภาพดีกว่า acid dye เนื่องจากสามารถจับกับหมู่ acidic phsophoric acid ของ nucleoprotein มีคุณสมบัติพิเศษในการกระตุ้นให้แผลหายเร็ว โดยเร่งการเจริญของเนื้อเยื่อ จึงเหมาะที่จะใช้กับแผลเรื้อรังหรือไฟไหม้

4.8.1 Aniline dye เป็นอนุพันธ์ของ triphenyl methane เช่น malachite green, brilliant green และ crystal violetแบคทีเรียกรัมบวกโดยเฉพาะ Staphylococci จะถูกทำลายอย่างรวดเร็วด้วย crystal violet

4.8.2 Gentian violet สีนี้จะรบกวนการสังเคราะห์ peptidoglycan ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ แบคทีเรียกรัมลบจะมี lipopolysaccharide เป็นตัวขัดขวางการดูดซึมของ gentian violet ดังนั้นสีนี้จึงมีผลต่อแบคทีเรียกรัมบวกเท่านั้น

4.8.3 Acridine dye จะมีฤทธิ์ทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ สารประกอบที่ใช้กันบ่อยคือ proflavine และ acriflavine ใช้สำหรับฆ่าเชื้อโรคในบาดแผล ฤทธิ์ของสารนี้จะไม่ถูกทำลายถึงแม้ว่าจะมีซีรั่มหรือหนอง

4.9 สารอื่น ๆ ได้แก่ กำมะถัน, balsm, β-propiolactone , สบู่และ propylene oxide

Greene (39) ได้สรุปถึงการใช้ยาฆ่าเชื้อต่าง ๆ ในโรงพยาบาลที่นิยมใช้กันในปัจจุบันนี้ ดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงการใช้ยาฆ่าเชื้อต่าง ๆ ในโรงพยาบาล (39)

Treatment	Concentration or intensity	Common application	Limitation
1. Alcohols	70-90 %	Skin degerming, topical disinfection of small items	- Not sporicidal
2. Chlorines	100-200 ppm.	Water disinfection; food surface sanitization	- Inactivated by organic matter; stability highly pH dependent ; not sporicidal
3. Iodines			
3.1 Tincture	2 %	Skin degerming	- Sometimes irritating to mucous membrane ; not sporicidal
3.2 Iodophores	75-450 ppm.	General disinfectant	- Not sporicidal
4. Phenolics	1-4 %	General disinfectant	- Limited spectrum of microbial effectiveness; sometimes irritation and/or corrosive
5. Quaternary ammonium compounds			
5.1 Tincture	0.1 %	Skin degerming	- Neutralize by soap residuals; not sporicidal
5.2 Aqueous	1 : 750	General disinfectant	- Water compatibility problems; limited spectrum of microbial effectiveness
6. Mercurials	0.1 %	Skin degerming	- Slow acting
7. Silver nitrate	0.5 %	Treatment of burns	- Might be irritating
8. Formaldehyde			
8.1 Formalin	5 %	Drastic disinfection	- Irritating, corrosive
8.2 Bard-Parker solution	20 %	Instrument sterilization	- Irritating, corrosive
9. Glutaraldehyde	2 %	Instrument sterilization	- Irritating (mucous membrane) limited stability
10. Germicidal soaps (Hexa chlorophene)	2-3 %	Skin degerming	- Bacteriostatic rather than bactericidal

5. เชื้อที่ใช้ในการวิจัย

5.1 Staphylococcus aureus (S. aureus) เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่ง จัดอยู่ใน family micrococcaceae เชื้อติดสีกรัมบวก ลักษณะกลมมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 μm. เรียงตัวเป็นกลุ่มอย่างไม่เป็นระเบียบ แต่ใน liquid culture จะพบเซลล์อยู่เดี่ยว ๆ หรืออยู่เป็นคู่ หรืออยู่เป็นสาย ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้และไม่สามารถสร้างสปอร์ได้

S. aureus เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อเกือบทุกชนิด เจริญได้ทั้งในที่ที่มีออกซิเจนและในที่ที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เจริญได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 37° ซ. ลักษณะ colony ของเชื้อเมื่อเลี้ยงบน solid media กลม เรียบ นูน และเป็นมัน ให้ pigment สีเหลืองทองเข้ม (golden yellow) ส่วน Staphylococcus epidermidis (Staphylococcus albus) ให้ pigment สีขาว colony ส่วนใหญ่จะสร้าง pigment ได้ดี เมื่อ incubate ไว้ที่อุณหภูมิ 20° ซ ในสภาวะที่ขาดออกซิเจนหรือเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อเป็นอาหารเหลว Staphylococci จะไม่สามารถสร้าง pigment ได้

S. aureus สามารถ ferment คาร์โบไฮเดรตหลายชนิดได้อย่างช้า ๆ ให้ lactic acid แต่ไม่ให้แก๊ส เกือบทุกพันธุ์สามารถ ferment mannitol ได้ ทนต่อความร้อนและความแห้งได้ดี สามารถอยู่ได้ที่อุณหภูมิ 50° ซ. เป็นเวลา 30 นาที ทนต่อ 9 % NaCl ได้ dye บางชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อนี้ได้ เช่น gentian violet ที่ความเข้มข้น 1 : 100,000 ถึง 1 : 2,000,000

Mannitol salt agar ใช้แยก Staphylococci จากเชื้ออื่น ๆได้โดย colony ของ salt-tolorant Staphylococci จะมี yellow-halo ปรากฏอยู่รอบ ๆ หลัง 24 – 48 ชั่วโมง

การทดสอบที่สามารถแยก pathogenic Staphylococci ออกจาก

non-pathogenic Staphylococci ได้คือ coagulase test ซึ่ง pathogenic strain ของ S. aureus จะให้ผล positive ส่วน Staphylococcus albus ให้ผล negative (40)

S. aureus ส่วนใหญ่สามารถ hemolize เลือดได้ และทำให้พลาสม่าแข็งตัว การที่เชื้อนี้ทำให้เกิดโรคขึ้นได้ โดยการที่เชื้อเจริญเติบโตและแพร่กระจายไปใน tissue และโดยการที่เชื้อนี้สร้าง extracellular substances ต่าง ๆ ซึ่ง extracellular substances เหล่านี้ไปมีผลทำให้เกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ ขึ้น

ลักษณะทางคลินิคที่พบได้ในผู้ป่วยที่เกิดการติดเชื้อ S. aureus มีหลายแบบ บริเวณที่เกิดการติดเชื้อจะเป็นหนอง เชื้ออาจแพร่กระจายไปทางระบบน้ำเหลืองและกระแสเลือดไปยังส่วนอื่น ๆ ของร่างกาย ซึ่งอาจทำให้เกิด osteomyelitis, pneumonia, meningitis, empyema, sepsis และอื่น ๆ ได้อีกหลายโรค

ปัจจุบันเชื้อ S. aureus ส่วนใหญ่ดื้อต่อยา penicillin เนื่องจากเชื้อสามารถสร้าง penicillinase(β - lactamase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถทำลาย penicillin ได้ โดยแยก β - lactam ring ออก นอกจากนี้เชื้อ S. aureus ยังเป็นเชื้อที่มีความทนทานต่อยาฆ่าเชื้อมากกว่าเชื้อตัวใดในบรรดาเชื้อแบคทีเรียกรัมบวกทั้งหมด (3)

5.2 Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa) เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งอยู่ในจีนัส Pseudomonas เชื้อติดสีกรัมลบ ลักษณะเป็นแท่งขนาด 0.05–1.5 x 1.5 – 3 μm. อยู่เป็นคู่หรือเป็นสายสั้น ๆ สามารถเคลื่อนที่ได้โดยมี flagella 1 – 3 อันอยู่ที่ขั้ว ไม่สร้าง capsule หรือสปอร์

ลักษณะของ colony ของเชื้อเมื่อเลี้ยงบน solid media ใหญ่ กลม เรียบ แต่ขอบไม่สม่ำเสมอ ลักษณะคล้ายเมย ติดสี aniline dye ธรรมดา เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา และจะเจริญได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 30 – 37° ซ. ไม่

ทนต่อความร้อน จะถูกทำลายได้เมื่อใส่ใน water bath อุณหภูมิ 54° ซ. นาน 1 ชม. strain ที่แยกได้จากน้ำในโรงพยาบาลดื้อต่อยาฆ่าเชื้อหลายชนิด เช่น acetic acid, glutaraldehyde, chloride dioxide และ quaternary ammonium compound แต่หลังจากที่ sub culture แล้ว 1 ครั้ง บน nutrient agar ในห้องปฏิบัติการ เชื้อนี้จะไวต่อยาฆ่าเชื้อมากขึ้น (32) การเจริญเติบโตต้องการออกซิเจน แต่ก็สามารถเจริญได้ในภาวะที่ขาดออกซิเจน liquified gelatin ได้อย่างรวดเร็ว ไม่สร้าง hydrogen sulfide ไม่สร้าง indole (false- positive; อาจเกิดขึ้นได้ถ้าใช้ Ehrlich's reagent แต่ไม่เกิดขึ้นถ้าใช้ Kovac's reagent) สร้างกรดจาก glucose โดยวิธี oxidative บาง strain haemolize เลือดได้ เชื้อให้ pigment สีเขียวน้ำเงิน pigment ที่สร้างมี 2 ชนิด (8) คือ

- Pyocyanin เป็น pigment สีน้ำเงิน ละลายได้ทั้งใน chloroform และในน้ำ มีฤทธิ์ในการต่อต้านจุลชีพ
- Fluorescein เป็น pigment สีเขียวเรืองแสง ละลายได้ในน้ำแต่ไม่ละลายใน chloroform

เชื้อนี้พบได้ในธรรมชาติทั่ว ๆไป ดิน น้ำ ขยะ อากาศ พืชผักต่าง ๆ ตามภาชนะเครื่องใช้ น้ำดื่ม อาหาร และอาจพบเชื้อนี้ได้ในคนหรือสัตว์โดยไม่ทำให้เกิดโรค แต่ในบางกรณีก็อาจพบว่าเชื้อนี้ทำให้เกิดพยาธิสภาพขึ้นได้ โดยเฉพาะในคนที่มีความต้านทานของร่างกายต่ำ ในเด็กเล็ก ในผู้ป่วยที่เป็น luekemia, lymphoma ที่ได้รับ anti-neoplastic drugs หรือฉายแสง และในผู้ป่วยที่มีบาดแผลไฟไหม้รุนแรง (2,8,9)

ลักษณะทางคลินิคที่พบได้ในการติดเชื้อ P. aeruginosa มีหลายแบบ เช่น เป็นแผลติดเชื้อซึ่งจะให้หนองสีเขียวน้ำเงิน เยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ ระบบทางเดินหายใจ และทุก ๆ ระบบในร่างกาย ตลอดจนการติดเชื้อในกระแสโลหิต เมื่อเชื้อนี้เข้ากระแสโลหิตจะมีลักษณะทางผิวหนังที่เรียกว่า ecthyma gangrenosum ซึ่งเริ่มแรกจะบวมแดง (erythrema) ต่อไปจะเรียบเป็น

erythematous macule และกลายเป็นเนื้อตายไปในที่สุด ตั้งแต่เริ่มแรกจนเกิดเป็นเนื้อตาย จะใช้เวลาประมาณ 12 ชั่วโมง ถ้าตัดบริเวณนั้นไปตรวจดูโดยกล้องจุลทรรศน์จะพบเชื้อนี้อยู่ในเส้นเลือดดำเล็กๆ (2) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบ verdoglobin (ซึ่งเป็นสิ่งที่ได้จากการทำลาย haemoglobin หรือ pigment ที่เรืองแสงของสารนี้) ได้ในบริเวณที่มีการติดเชื้อนี้

P. aeruginosa ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด สามารถสร้าง β-lactamase ได้ ยาที่มักจะใช้ต่อต้านเชื้อนี้อย่างได้ผลดี คือ polymyxine, carbenicillin gentamicin และ tobramycin