หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคไข้หวัดนก (avian influenza หรือ bird flu) เป็นโรคระบาดร้ายแรงที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อระบบทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร หรือระบบประสาทในสัตว์ปีกหลายชนิด โรคไข้หวัดนกพบครั้งแรกที่ประเทศอิตาลีในปี ค.ศ. 1878 โดยรู้จักกันในชื่อกาฬโรคสัตว์ปีก (fowl plague) ต่อมาในปี ค.ศ. 1951 พบว่าเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคคือ เชื้ออินฟลูเอนซา เอ ไวรัส (Influenza A virus) และในปี ค.ศ. 1959 พบการระบาดของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N1 ที่สกอตแลนด์และในปี ค.ศ. 1961 ได้ตรวจพบเชื้อไวรัสชนิดนี้ในนกทะเลที่ทวีปแอฟริกา จากนั้นพบการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซากระจายไปทั่วโลก ตัวอย่างเช่น ในปี ค.ศ. 1983 พบการระบาดของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N2 ที่รัฐ เพนซิลวาเนีย ประเทศสหรัฐอเมริกาหรือในปี ค.ศ. 1994 ที่ปากีสถานซึ่งเป็นสายพันธุ์ H7N3 และที่อิตาลีสายพันธุ์ H5N1 (Alexander, 2000) นอกจากนี้ในช่วงปี ค.ศ. 1997-1998 ได้มีการระบาดของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา ครั้งใหญ่ที่ฮ่องกง โดยการระบาดในครั้งนี้ได้มีการทำลายไก่เป็นจำนวนมากกว่า 950,000 ตัว (Sim et al., 2003) และในช่วงปลายปี ค.ศ. 2003 ได้เริ่มมีการระบาดของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N1 ในหลายประเทศแถบภาคพื้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมถึงประเทศไทยด้วย โดยในประเทศไทยได้มีรายงานการระบาดครั้งแรกเมื่อวันที่ 23 มกราคม 2004 ซึ่งในครั้งนั้นพบการระบาดทั้งหมด 61 ครั้ง ใน 76 อำเภอ (Capua and Alexander, 2004) มีการทำลายไก่มากกว่า 26 ล้านตัว สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจกว่า 250 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (Viseshakul et al., 2004)

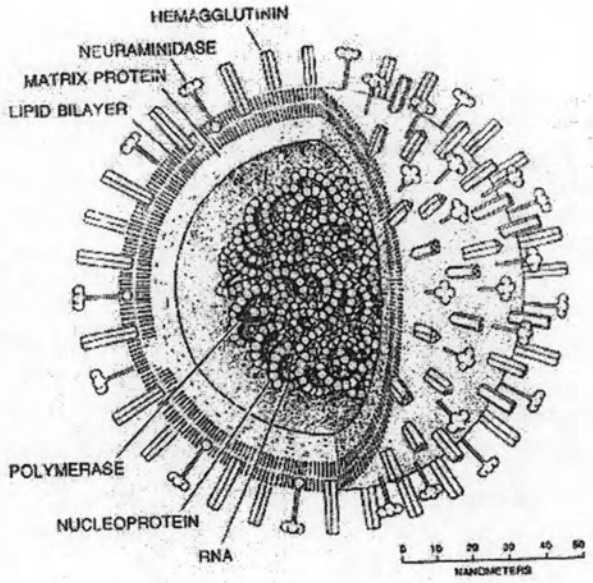
เชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N1 นอกจากจะก่อให้เกิดความเสียหายในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีกแล้ว ยังก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขด้วย โดยพบว่าเชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถติดต่อสู่คนได้เป็นครั้งแรกที่ฮ่องกง ในปี ค.ศ. 1997 โดยมีผู้ติดเชื้อจำนวน 18 คน เสียชีวิต 6 คน (Class et al., 1998) และปัจจุบันในประเทศไทยมีผู้ติดเชื้อทั้งหมด 22 คน เสียชีวิต 16 คน (WHO, 2006)

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เชื้อไวรัส

1. การจำแนกและคุณสมบัติของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา

โรคไข้หวัดนก (avian influenza) เกิดจากเชื้อไวรัสอินฟลูเอนซา เอ (influenza A virus) จัดอยู่ในตระกลูออโธมิกโซไวริดี (Orthomyzoviridae) ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสชนิดมีเปลือกหุ้ม (enveloped) ตัวไวรัสมีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปร่างกลม (spherical form) หรือเป็นสายยาว (filamentous form) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 80-120 นาโนเมตร (Murphy et al., 1999) เชื้อไวรัสประกอบไปด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ (%) อาร์เอนเอ (RNA) 70% โปรตีน 20% ไขมัน และ 5-8% คาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้เชื้อไวรัสยังมีโปรตีนที่สำคัญ 2 ชนิด อยู่บริเวณเปลือก (envelope) ได้แก่ โปรตีนฮีแมกกลูตินิน (hemagglutinin หรือ HA) และโปรตีนนิวรามินิเดส (neuraminidase) หรือ NA) โดย HA มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง ส่วน NA มีลักษณะรูปร่างคล้ายเห็ด (รูปที่ 2.1) เชื้อไวรัสมีสายพันธุกรรมเป็นแบบอาร์เอนเอลบสายเดี่ยว (negative single strand RNA) ขนาดประมาณ 13,600 นิวคลีโอไทด์ ลักษณะเป็นท่อนสั้นจำนวน 8 ท่อน (segmented RNA genome) ซึ่งแต่ละท่อนจะมี 1 ยีน (gene) ที่เป็นต้นแบบในการสร้างโปรตีน โดยมียีนทั้งหมด 8 ท่อน ที่เป็นต้นแบบในการสร้างโปรตีน 10 ชนิด ได้แก่ โปรตีน PB1 PB2 PA HA NP NA M1 M2 NS1 และโปรตีน NS2 โดย RNA ท่อนที่ 1 จะถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน PB2 RNA ท่อนที่ 2 จะถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน PB1 ท่อนที่ 3 จะถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน PA ท่อนที่ 4 จะถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน HA ท่อนที่ 5 จะถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน NP ท่อนที่ 6 จะถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน NA ท่อนที่ 7 จะถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน M1 และM2 และท่อนสุดท้ายจะถูกถอดรหัสเป็น NS1 และ NS2 (Cox and Kawaoka, 1998)



<u>รูปที่ 2.1</u> แสดงลักษณะโครงสร้างของเอเวียนอินฟลูเอนซา เอ ไวรัส (คัดลอกมาจาก Ackerman and Berthiaume, 1995)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

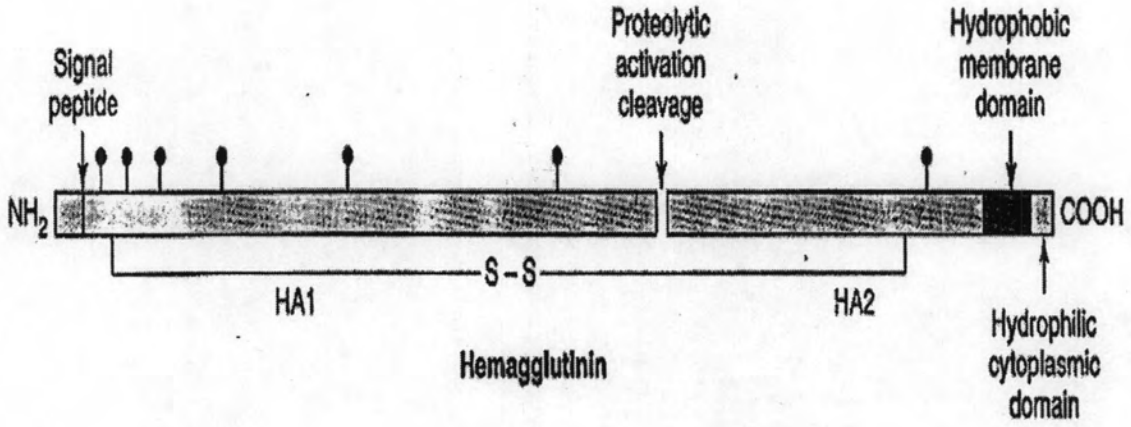
2. แอนติเจนของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา

ที่บริเวณเปลือกหุ้มของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซามีโปรตีนที่สำคัญอยู่ 2 ชนิด คือ HA และ NA โดยอัตราส่วนของโปรตีน HA ต่อ NA อยู่ที่ 4:1 หรือ 5:1 (Wright and Webster, 2001)

2.1 โปรตีนฮีแมกกลูตินิน

โปรตีน HA มีความสามารถทำให้เกิดการเกาะกลุ่มตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง นอกจากนี้โปรตีน HA ยังมีส่วนช่วยในการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสอีกด้วย โดยโปรตีน HA จะจับกับตัวรับ (receptor) ของเซลล์ผู้ถูกอาศัย (host cell) บริเวณโครงสร้างที่เรียกว่า กรดซัยอะลิค (sialic acid) ซึ่งทำให้เชื้อไวรัสเข้าสู่ host cell

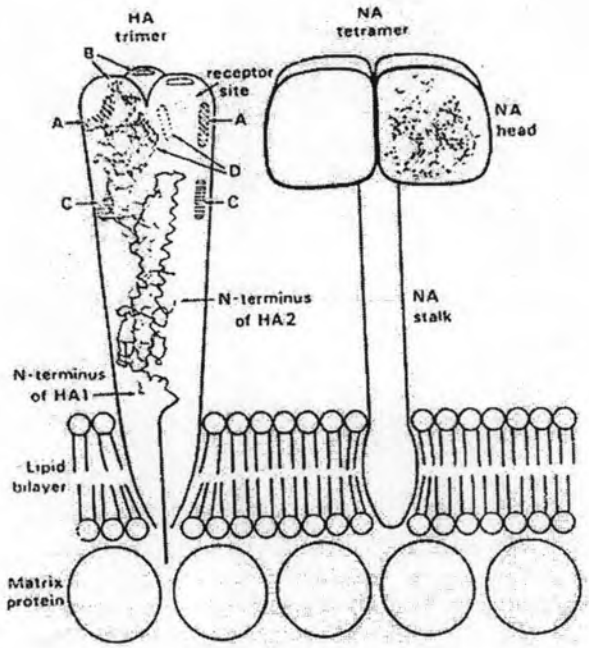
โปรตีน HA ถูกสร้างขึ้นจาก RNA ท่อนที่ 4 ซึ่งคิดเป็น 25% ของโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นมาทั้งหมดมีหน้าที่สำคัญในการเกาะยึดและทำให้เชื้อไวรัสเข้าสู่เซลล์ โปรตีน HA มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง (trimetric rod shaped spike) ขนาดประมาณ 4x4 นาโนเมตร อยู่บริเวณเปลือกของเชื้อไวรัส ทันทีที่เชื้อไวรัสสังเคราะห์โปรตีน HA ขึ้นมานั้นโปรตีน HA นี้จะเรียกว่า HA0 แต่ภายหลังเมื่อเชื้อไวรัสเข้าสู่ host cell แล้ว โปรตีน HA0 จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ซีรีน โปรติเอส (serine protease enzyme) ของ host cell ได้เป็นโปรตีน HA1 และ HA2 (รูปที่ 2.2) โดยที่โปรตีนทั้ง 2 ชนิดนี้เชื่อมต่อกันด้วยพันธะคู่ซัลไฟด์ (disulfide bond) โดยโปรตีน HA1 ทำหน้าที่ช่วยในการจับกับตัวรับของ host cell ขณะที่โปรตีน HA2 ทำหน้าที่ช่วยในการรวมตัวของเปลือกหุ้มของเชื้อไวรัสเข้ากับเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของโฮสต์ (Cox and Kawaoka, 1998)



รูปที่ 2.2 แสดงโครงสร้างของ haemagglutinin polypeptide (คัดลอกจาก Brooks et al., 2001)

2.2 โปรตีนนิวรามินิเดส

โปรตีน NA นั้นถูก สร้างขึ้นจาก RNA ท่อนที่ 6 ซึ่งมีลักษณะรูปร่างคล้ายดอกเห็ด (mushroom shape) โดยบริเวณส่วนหัวมีลักษณะรูปร่างคล้ายกล่องสี่เหลี่ยม (box shape) มีขนาดประมาณ 10x10x6 นาโนเมตร โดยจะเรียงเป็นกล่อง 4 กล่องติดต่อกัน ภายในส่วนหัวนี้บรรจุเอนไซม์ซัยอะลิเดส (sialidase enzyme) ซึ่งทำหน้าที่ย่อยกรดซัยอะลิค (sialic) ที่บริเวณผิวของ host cell ทำให้เชื้อไวรัสสามารถหลุดออกจาก host cell นอกจากนี้โปรตีน NA ยังมีส่วนช่วยย่อยสลายเมือกที่บริเวณทางเดินหายใจ และช่วยในการยึดเกาะเข้าสู่ host cell (Hayden and Palese, 1997) (รูปที่ 2.3)



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะรูปร่างของ โปรตีน HA และ NA (ดัดแปลงจาก Ackerman and Berthiaume, 1995)

โปรตีน HA และโปรตีน NA นอกจากจะมีหน้าที่ดังที่กล่าวไปแล้ว ยังสามารถนำมาใช้ในการแบ่งสายพันธุ์ย่อย (subtype) ของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาสามารถทำได้โดยพิจารณาโปรตีนที่เปลือกหุ้มไวรัส โดยโปรตีน HA สามารถแบ่งได้เป็น 16 ชนิด HA1-16 หรือ H1-16 (Fouchier et al., 2005) และโปรตีน NA สามารถแบ่งได้เป็น 9 ชนิด NA1-9 หรือ N1-9 โดยพบว่าโปรตีน HA ทั้ง 16 ชนิด ชนิดที่ก่อความรุนแรงในสัตว์ปีกคือ H5 และ H7 (Caupa and Alexander, 2004)

การแบ่งกลุ่มของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาสามารถแบ่งกลุ่มโดยพิจารณาจากความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อไวรัสโดยแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ก่อให้เกิดความรุนแรงมาก (highly pathogenic avian influenza หรือ HPAI) และกลุ่มที่ก่อให้เกิดความรุนแรงน้อย (low pathogenic avian influenza หรือ LPAI) การแบ่งกลุ่มดังกล่าวพิจารณาจากการฉีดเชื้อไวรัสเข้าทางเส้นเลือดดำแก่ไก่อายุ 4-6 สัปดาห์ ถ้าหากพบว่าไก่ที่ถูกฉีดเชื้อไวรัสตายภายในระยะเวลา 10 วัน เป็นจำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 75 % ของไก่ที่ถูกฉีดเชื้อทั้งหมด จะถือว่าเป็นเชื้อไวรัสดังกล่าวเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดความรุนแรงมาก นอกจากนี้สามารถพิจารณาความรุนแรงได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) และลำดับกรดอะมิโน (amino acid) ตรงตำแหน่ง cleavage site ของ HA ยีนพบว่าในสายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรงสามารถพบกรดอะมิโนได้หลายตัว (multiple amino acids) ทำให้สามารถถูกตัดโดยเอนไซม์โปรติเอสที่พบได้ทุกแห่งในร่างกาย (ubiquitous protease) ทำให้เชื้อไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนได้ทั่วร่างกายของ host (Capua and Alexander, 2004) ซึ่งสายพันธุ์ส่วนใหญ่ที่ก่อโรครุนแรงมักพบว่าเป็นชนิด H5 และ H7 (Office International des Epizooties, 2000) อย่างไรก็ตามเชื้อไวรัสที่อยู่ในสายพันธุ์ H5 และ H7 ทุกสายพันธุ์ไม่จำเป็นที่จะเป็นสายพันธุ์ที่รุนแรง

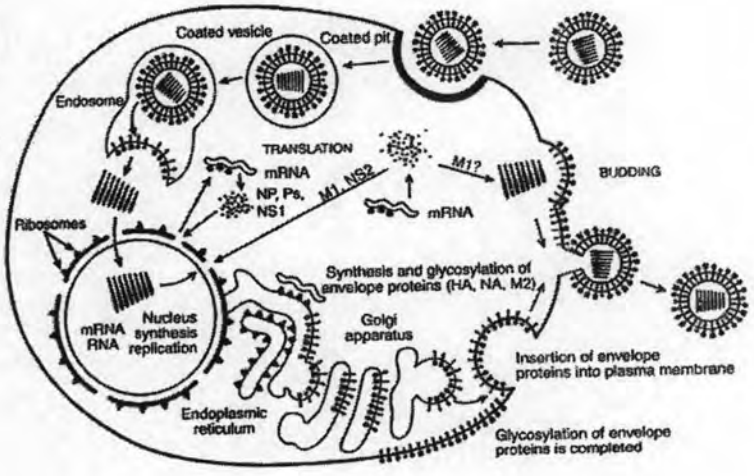
3. การเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัส

ขบวนการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสนั้นเริ่มจากโปรตีน HA ของเชื้อไวรัส เข้าจับกับ receptor ที่ตำแหน่ง sialic acid หรือเรียกว่าตัวรับชัยอะลัยโลลิโกแซคคาไรด์ (sialyloligosaccharide receptor) หลังจากนั้นเชื้อไวรัสจะเข้าสู่ host cell โดยขบวนการเอนโดไซโตซิส (endocytosis) โดยภายในเอนโดโซม (endosome) นั้นมีสภาวะเป็นกรด (pH 5.2) ซึ่งเหนี่ยวนำทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน HA เป็นผลให้เกิดการรวมตัวกันระหว่างเปลือกหุ้มของเชื้อไวรัสกับเยื่อหุ้มเอนโดโซม (endosome membrane) ทำให้ส่วนประกอบของเชื้อไวรัส (ribonucleoprotein หรือ RNP) ออกสู่ชัยโตพลาสสึม (cytoplasm) ของ host cell หลังจากนั้นRNP จะเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียส (nucleus) ของเซลล์ทางช่องนิวเคลียส (nucleus pore)

และที่บริเวณนิวเคลียสนี้เอง เชื้อไวรัสจะเริ่มขบวนการคัดลอก (transcription) และแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (replication) (Cox and Kawaka, 1998)

ส่วนช่วงแรกของขบวนการคัดลอกของเชื้อไวรัสนั้น เชื้อไวรัสต้องการ 5' cap และ 3'-poly A จาก RNA ของ host cell เพื่อใช้เป็นต้นแบบ (template) ในการสังเคราะห์ RNA ของเชื้อไวรัสซึ่ง RNA ของ host cell จะถูกคัดลอกเพื่อไปเป็น RNA ของเชื้อไวรัสท่อนต่าง ๆ จำนวน 8 ท่อน โดยที่ 6 ท่อน คือ โมโนซิสโตรนิค เอ็มอาร์เอนเอ (monocistronic mRNA) ซึ่งจะถูกถอดรหัส (translated) ไปเป็นโปรตีน HA NA NP PA PB1 และ PB2 ส่วน RNA ที่เหลือ 2 ท่อน จะถูกคัดลอกและผ่านขบวนการถอดรหัส และ การสไปร์ซิง (splicing) เป็น mRNA 2 ชนิด โดย mRNA 2 ชนิดนี้จะถูกถอดรหัสไปเป็นโปรตีน M1 M2 NS1 และ NS2 ตามลำดับ (Wright and Webster, 2001)

สำหรับขบวนการถอดรหัสไปเป็นโปรตีนของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซานี้เกิดขึ้นที่บริเวณซัยโตพลาสสึมของ host cell โดยที่ RNP ของเชื้อไวรัสจะเคลื่อนออกจากนิวเคลียสแล้วไปประกอบรวมตัวกันและผ่านขบวนการไกลโคซิเลชั่น (glycosylation) ที่เอนโดพลาสมิค เรคติคูลัม (endoplasmic reticulum) และเคลื่อนเข้าสู่กอลจัย แอพพาราตัส (golgi apparatus) เพื่อประกอบตัวเชื้อไวรัสให้สมบูรณ์ หลังจากนั้นจะเคลื่อนไปที่ผิวเซลล์และแทรกตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ของ host cell เกิดการแตกหน่อ (budding) ออกจาก host cell สู่ภายนอก (รูปที่ 2.4) (Hayden and Palese, 1997)



รูปที่ 2.4 แสดงแบบจำลองการเพิ่มจำนวนของเชื้อ influenza A virus (คัดลอกมาจาก Cox and Kawaoka, 1998)

4. การเปลี่ยนแปลงของแอนติเจน (antigenic variation)

การเปลี่ยนแปลงแอนติเจนของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ แอนติเจนิคชิฟท์ (antigenic shift) และ แอนติเจนิคดริฟท์ (antigenic drift) ซึ่งทำให้เชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถรอดจากภูมิคุ้มกันของ host cell ได้ (Cox and Kawaoka, 1998)

4.1 แอนติเจนิคชิฟท์

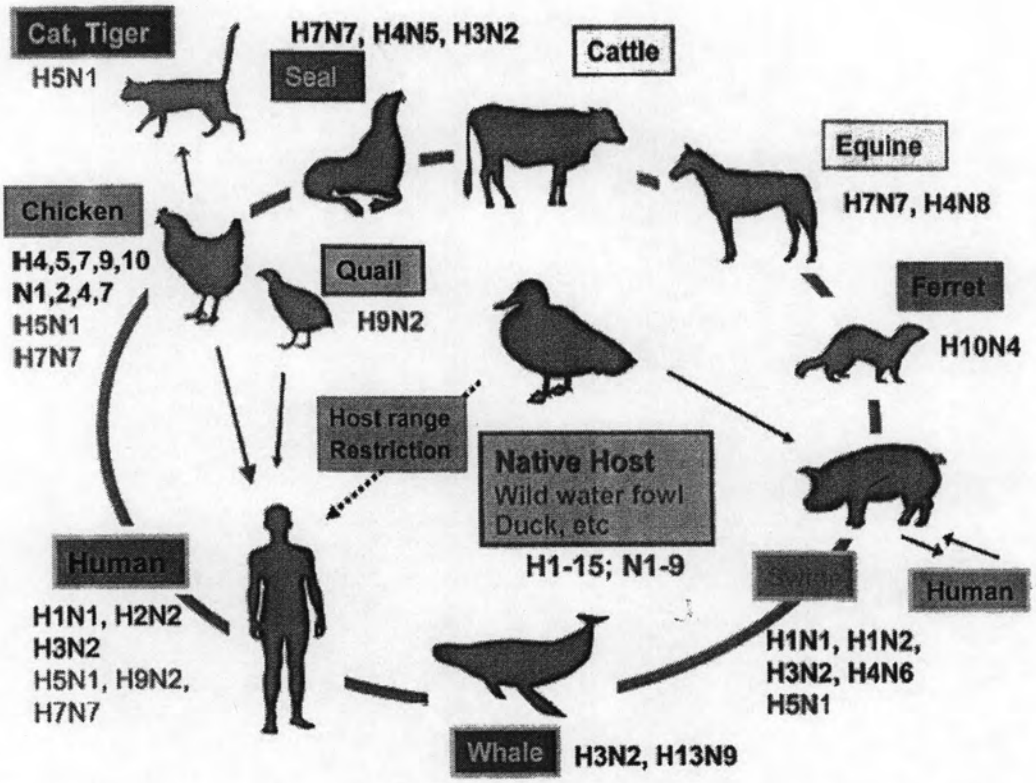
คือ ขบวนการสอดแทรกหรือแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนพันธุกรรม (genetic reassortment) ระหว่างยีโนม (genome) ของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาด้วยกัน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ถอดรหัสเป็น hemagglutinin และ ยีนที่ถอดรหัสเป็น neuraminidase ได้เป็นไวรัสสายพันธุ์ใหม่ เช่น เกิด HA ชนิดใหม่ NA ชนิดเดิม หรือทั้ง HA ใหม่ NA ใหม่ เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงนี้ก่อให้เกิดการแพร่ระบาดที่รุนแรงและกว้างขวาง (Cox and Kawaoka, 1998)

4.2 แอนติเจนิคดริฟท์

คือ ขบวนการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดพอยท์มิวเตชัน (point mutation) อย่างช้า ๆ ของไนโตรจีนัสเบส (nitrogenous base) ที่ยีน HA และ NA ของเชื้อไวรัส การเปลี่ยนแปลงนี้จะไม่ทำให้เกิดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใหม่หรือเปลี่ยนเลขหมายของ H และ N เพียงแต่จะช่วยให้เชื้อไวรัสสามารถรอดจากภูมิคุ้มกันของ host ได้ การเปลี่ยนแปลงนี้ก่อให้เกิดการแพร่ระบาดที่ไม่รุนแรง (Hayden and Palese, 1997)

5. แหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติของเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา

สามารถพบเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา HA ทั้ง 16 ชนิด และ NA 9 ชนิดได้ในนกน้ำทุกชนิด (aquatic birds) รวมไปถึง เป็ด นกทะเล (shore birds) นกนางนวล โดยเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาจะไม่ก่อโรคในนกเหล่านี้เนื่องจากเป็นสัตว์เจ้าบ้านตามธรรมชาติ (natural reservoir) ของเชื้อไวรัส โดยในนกเป็ดน้ำเชื้อไวรัสจะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนที่เซลล์ในระบบทางเดินอาหาร (intestinal tract) และจะปล่อยเชื้อไวรัสออกมาพร้อมกับอุจจาระ (Horimoto and Kawaoka, 2001) (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.5 แสดงถึงสิ่งมีชีวิตที่สามารถติดเชื้อ influenza A virus (คัดลอกมาจาก Suzuki, 2005)

6. **พยาธิกำเนิด** (Pathogenesis)

สัตว์ปีกที่ได้รับเชื้อไวรัสจากการสัมผัสอุจจาระหรือสารคัดหลั่ง (secretion) ที่มีเชื้อไวรัสปนเปื้อนอยู่ โดยเมื่อเชื้อไวรัสเข้าสู่ร่างกายเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีน (protease enzyme) ที่อยู่บริเวณเซลล์เยื่อบุ (epithelium cell) ของระบบทางเดินหายใจและระบบทางเดินอาหาร จะทำการตัด (cleavage) โปรตีน HA ของเชื้อไวรัส จากนั้นเชื้อไวรัสจะเข้าสู่ host cell โดยขบวนการ receptor mediated endocytosis และเพิ่มจำนวนภายใน host cell สำหรับการติดเชื้อไวรัสสายพันธุ์รุนแรง (HPAI) เชื้อไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนได้ที่เยื่อบุผนังหลอดเลือด (vascular epithelium) และที่เซลล์รอบผนังหลอดเลือด (perivascular parenchymatous cell) ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสในกระแสเลือด (viremia) และทำให้เกิดการติดเชื้อทั่วร่างกาย (systemic infection) (Horimoto and Kawaoka, 2001)

7. **ลักษณะอาการทางคลินิก** (Clinical features)

ลักษณะอาการทางคลินิกของสัตว์ปีกที่ติดเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา ได้แก่ ผลผลิตไข่ลดลง แสดงอาการของระบบทางเดินหายใจ เช่น หายใจลำบาก หงอนและเหนียงมีสีดำคล้ำ บริเวณหัวและหน้าเกิดการบวมน้ำ ขนหยอง ท้องเสีย ซึม ไม่กินอาหาร แสดงอาการของระบบประสาทเช่น คอบิด เป็นต้น อย่างไรก็ตามสัตว์ปีกที่ติดเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาสายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรงอาจจะทำให้สัตว์ปีกที่ติดเชื้อตายอย่างเฉียบพลันโดยไม่แสดงอาการ (Swayne and Halvorson, 2003)

8. **คุณสมบัติทางกายภาพของเชื้อไวรัส** (Physical characteristic)

เชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาไม่คงทนต่อสภาพอากาศแห้ง ในสภาพอากาศแห้งที่อุณหภูมิห้องนั้นเชื้อไวรัสสามารถมีชีวิตรอดได้นาน 2 สัปดาห์ (Sutherland, 2002) แต่ในสภาพอากาศเย็นและชื้น เชื้อไวรัสสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานถึง 105 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าในมูลไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เชื้อไวรัสสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานถึง 30-35 วัน และที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เชื้อไวรัสมีชีวิตอยู่ได้ 7 วัน (Swayne and Halvorson, 2003)

การทำให้ปลอดเชื้อ (Sterilization)

คือขบวนการทำลายเชื้อจุลชีพทุกชนิดที่ทำให้เกิดโรคและไม่ทำให้เกิดโรค รวมทั้งสปอร์ของแบคทีเรียให้หมดไป วิธีการทำให้ปลอดเชื้อหรือทำลายเชื้อจุลชีพแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี คือ วิธีทางกายภาพ (physical methods) และวิธีทางเคมี (chemical methods) (Nester, 2004)

วิธีทางกายภาพ (Physical methods)

การลดปริมาณหรือการทำลายเชื้อโดยวิธีทางกายภาพสามารถทำได้หลายวิธีคือ

1. **การทำลายเชื้อโดยใช้ความร้อน** (Heat related methods)

การใช้ความร้อนเพื่อการควบคุมปริมาณเชื้อจุลชีพเป็นวิธีเก่าแก่วิธีหนึ่ง ทำได้โดยการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของโปรตีน (protein denature) และรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มซัยโตพลาสึม (cytoplasmic membrane) และ ผนังเซลล์ (cell wall) นอกจากนี้ยังขัดขวางการทำงานของกรดนิวคลิอิก (nucleic acids) ซึ่งเชื้อจุลชีพแต่ละชนิดสามารถทนต่อความร้อนได้แตกต่างกัน จากการศึกษาของ Cleeland และคณะ (1972) ได้ศึกษาความคงทนของเชื้ออินฟลูเอนซาไวรัส สายพันธุ์ที่ก่อโรคในมนุษย์ 7 สายพันธุ์ พบว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1-5 ชั่วโมง สามารถทำลายเชื้ออินฟลูเอนซาไวรัส สายพันธุ์ที่ก่อโรคในมนุษย์ได้ 6 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 7 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่ทนความร้อนคือ A_0/PR8/34 ซึ่งสามารถทำลายได้เมื่อเพิ่มระยะเวลาเป็น 24 ชั่วโมง หรือจากการศึกษาของ King (1991) พบว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที สามารถทำลายเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H5N2 H5N9 และ H9N2 ได้ โดยทั่วไปความร้อนที่นิยมใช้ในการทำลายเชื้อมีอยู่ 2 แบบ คือ ความร้อนชื้น (moist heat) และความร้อนแห้ง (dry heat) (Robert, 2004)

1.1 **ความร้อนชื้น**

เป็นวิธีการทำลายเชื้อจุลชีพโดยทำให้เอนไซม์ และโปรตีนในเซลล์เกิดการแข็งตัว (coaglulation) ความร้อนชื้นสามารถทำลายเชื้อจุลชีพโดยใช้อุณหภูมิและระยะเวลาที่สั้นกว่าความร้อนแห้ง เนื่องจากความร้อนจากไอน้ำสามารถแทรกซึมเข้าสู่ซัยโตพลาสซึมของเซลล์สิ่งมีชีวิตได้มากกว่า ช่วยให้โปรตีนภายในเซลล์ตกตะกอนได้ดีขึ้น การทำลายเชื้อโดยความร้อนชื้นมี 3 วิธี คือ การต้มเดือด โดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 5-10 นาที การนึ่งฆ่าเชื้อ

โดยใช้หม้อความดัน (autoclave) วิธีการนี้จะใช้ไอน้ำเดือดความดันสูง โดยปกติจะใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15-30 นาที โดยจากการศึกษาของ Elhafi และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาโดยใช้เครื่อง autoclave ต่อการทำลายเชื้ออินฟลูเอนซาไวรัสในมนุษย์ พบว่าระยะเวลาต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้ออินฟลูเอนซาได้เมื่อใช้เครื่อง autoclave คือ 5 วินาที

และการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization) คือ การทำลายเชื้อจุลชีพในอาหารที่เป็นของเหลว โดยใช้ความร้อนไม่สูงมากแล้วทำให้เย็นตัวลงอย่างรวดเร็ว เช่น การฆ่าเชื้อโรคในน้ำนมจะใช้ความร้อนประมาณ 62.9 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที หรือที่อุณหภูมิ 71.6 องศาเซลเซียส 15 นาที (Jacquelyn, 2005)

1.2 ความร้อนแห้ง

เป็นวิธีการทำลายเชื้อจุลชีพโดยทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดทีฟ เดสตรัคชั่น (oxidative destruction) ต่อซัยโตพลาสซึมของเซลล์โดยใช้ความร้อน 160-180 องศาเซลเซียส นาน 1-3 ชั่วโมงซึ่งวิธีนี้ใช้ความร้อนสูงและนานกว่าวิธีความร้อนชื้น (Robert, 2004)

2. การกรอง

การกรองต่างจากวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อวิธีอื่น ๆ เนื่องจากการกรองไม่สามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพ แต่เป็นวิธีการแยกเชื้อจุลชีพออกจากของเหลวที่ไม่สามารถทำให้ปราศจากเชื้อโดยการใช้ความร้อนหรือสารเคมีได้ (Nester, 2004)

3. การใช้รังสี

รังสีที่นิยมใช้ได้แก่ รังสียูวี (UV) รังสีแกมมา (gamma) เป็นต้น โดยรังสียูวีมีความยาวคลื่นประมาณ 260 นาโนเมตร โดยเมื่อเชื้อจุลชีพดูดกลืนแสงเข้าไป แสงอุลตร้าไวโอเลตจะไปรบกวนพันธะโควาเลน (covalent bond) ทำให้โครงสร้างของสารพันธุกรรมเสียไป นอกจากนี้ยังขัดขวางการจับคู่กันระหว่างเบสของโครงสร้างสายพันธุกรรม (Jacquelyn, 2005)

วิธีทางเคมี (Chemical methods)

เป็นการใช้สารเคมีในการทำลายเชื้อจุลชีพ ซึ่งสารเคมีสามารถทำลายเชื้อจุลชีพได้โดยออกฤทธิ์ทำลายส่วนประกอบของเซลล์ถึงแม้ว่าสารเคมีแต่ละชนิดจะมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามสามารถแบ่งกลไกการออกฤทธิ์ของสารเคมีได้เป็น 3 ประเภท คือ ออกฤทธิ์ต่อโปรตีนภายในเซลล์ ออกฤทธิ์ต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และ ออกฤทธิ์ต่อส่วนประกอบอื่น ๆ ของเซลล์ (รูปที่ 2.6) (Jacquelyn, 2005)

การออกฤทธิ์ต่อโปรตีนภายในเซลล์

โปรตีนเป็นโมเลกุลอินทรีย์ที่มีมากที่สุดในเซลล์ของเชื้อจุลชีพ และเป็นส่วนสำคัญต่อลักษณะโครงร่างและหน้าที่ของเซลล์ ในสภาพปกติโปรตีนแต่ละชนิดจะมีรูปร่างเฉพาะซึ่งจำเป็นสำหรับการทำหน้าที่นั้น ๆ ดังนั้นสารเคมีที่ออกฤทธิ์ต่อโปรตีนจะเข้าไปรบกวนทำให้โครงร่างของโปรตีนภายในเซลล์เกิดการเสื่อมสภาพหรือเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโปรตีนทำให้โปรตีนเสียสภาพไม่สามารถทำหน้าที่ได้ (Burton and Engelkirk, 2000)

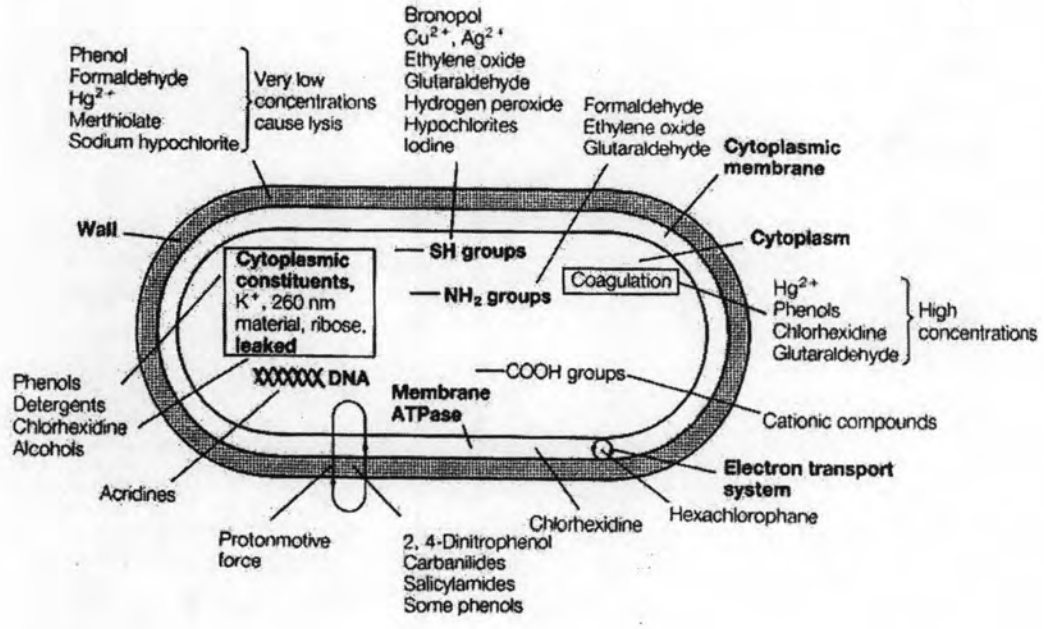
การออกฤทธิ์ต่อเยื่อหุ้มเซลล์

การออกฤทธิ์ต่อเยื่อหุ้มเซลล์โดยสารเคมีจะเข้าไปรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพไป โดยเยื่อหุ้มเซลล์ทำหน้าที่เกี่ยวกับการควบคุมการเข้าออกของสารต่าง ๆ เป็นผลทำให้มีการปลดปล่อยไอออนอินทรีย์ที่สำคัญ โคเอนไซม์ (coenzyme) และกรดอะมิโนออกจากเซลล์ นอกจากนี้ยังรบกวนต่อการขนส่งแบบใช้พลังงาน (active transport) และขบวนการเมทาบอลิสึม (metabolism) เป็นผลให้เชื้อจุลชีพตายหรือไม่สามารถเจริญเติบโต (Widmer and Frei 2004)

การออกฤทธิ์ต่อส่วนประกอบอื่น ๆ ของเซลล์

โดยส่วนใหญ่สารเคมีต่าง ๆ จะไปออกฤทธิ์ที่กรดนิวคลีอิคหรือขบวนการสร้างพลังงานของเซลล์ (Jacquelyn, 2005)

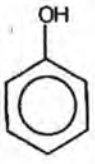
นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของสารเคมีได้แก่ ความเข้มข้นของสารเคมี ระยะเวลา อุณหภูมิ และสภาพแวดล้อม เป็นต้น โดยทั่วไปสารเคมีที่นิยมใช้ในการควบคุมเชื้อจุลชีพได้แก่ น้ำยาฆ่าเชื้อ (disinfectants) น้ำยาระงับเชื้อ (antiseptic) และ สารละลายกรด-ด่าง (pH) ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ได้ตามคุณสมบัติทางเคมี และการออกฤทธิ์ทำลายเชื้อได้ดังนี้ (Burton and Engelkirk, 2000)



รูปที่ 2.6 แสดงตำแหน่งการออกฤทธิ์ของน้ำยาฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ (คัดลอกจาก Russell et al., 1992)

1. **กลุ่มฟีนอล** (Phenol) **และอนุพันธ์ของฟีนอล** (Phenol derivatives)

ฟีนอลหรือ carbolic acid **มีสูตรทางเคมีคือ** C_6H_5OH **(รูปที่** 2.7) **ไม่ค่อยนิยมใช้ในสภาพบริสุทธิ์เพราะราคาแพงและเป็นพิษ แต่นิยมใช้ในรูปอนุพันธ์ของฟีนอล กลไกการออกฤทธิ์ทำลายเชื้อของฟีนอลคือจะทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้โปรตีนภายในเซลล์ตกตะกอนยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ ทำให้กรดอะมิโนรั่วไหลออกจากเซลล์** (Widmer and Frei 2004) **ในปี** 2003 Suarez **และ คณะ** (2003) **ได้ทำการศึกษาโดยใช้น้ำยาฆ่าเชื้อฟีนอล** 2 **ชนิด สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม โซเดียมไฮโปรคลอไรด์ และสารประกอบเปอร์ออกซิเจน** (peroxygen compound) **ต่อการทำลายเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์** H5N9 **และ** H7N3 **โดยใช้การรอดชีวิตของไข่ไก่ฟักเป็นตัวแปรผล จากผลการศึกษาพบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อทั้ง** 5 **ชนิดที่นำมาทดสอบ สามารถทำลายเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาได้เมื่อผสมตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต นอกจากเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาแล้ว** Butcher and Ulaeto (2005) **ยังพบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อฟีนอลสามารถทำลายเชื้อออร์โธพ็อกไวรัสได้** (orthopox virus)



รูปที่ 2.7 **แสดงลักษณะโครงสร้างของฟีนอล (คัดลอกจาก** Russell et al., 1992)

2. **กลุ่มฮาโลเจน** (Halogen)

ตัวอย่างของน้ำยาฆ่าเชื้อที่อยู่ในกลุ่มนี้เช่น ไอโอดีน และคลอรีน

ไอโอดีน (Iodine)

ไอโอดีนโดยทั่วไปจะอยู่ในรูปของทิงเจอร์ไอโอดีนซึ่งประกอบไปด้วยไอโอดีน 2% **และโซเดียมไอโอไดน์** (sodium iodine) 2% **ละลายในแอลกอฮอลล์ที่เจือจาง ไอโอดีนจะออกฤทธิ์ได้ดีที่สภาวะเป็นกรด โดยจะอยู่ในรูปของ ไดอะโตมิคไอโอดีน** (diatomic iodine **หรือ** I_2) **แต่ประสิทธิภาพจะลดลงเมื่ออยู่ที่สภาวะเป็นด่าง โดยจะอยู่ในรูปไอโอไดด์** (iodide **หรือ** I^-) **และไตรไอโอไดด์** (tri-iodide **หรือ** I^-_3) **(ตารางที่** 2.1) **ผลของไอโอดีนในการทำลายเชื้อจุลชีพคือจะทำหน้าที่เป็นสารออกซิไดซ์ และไปจับกับกรดอะมิโนที่มีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล** (sulfhydryl) **ทำให้โครงสร้างของ**

โปรตีนเสียสภาพเป็นผลให้การทำงานของเซลล์ผิดปกติ และเซลล์ถูกทำลายต่อมา (Linton et al., 1987)

<u>ตารางที่ 2.1</u> แสดงผลของสภาวะความเป็นกรด-ด่างต่อประสิทธิภาพของไอโอดีน (คัดลอกมาจาก Russell et al., 1992)

pH	Active form	Comment
Acid and neutral	I_2 (diatomic iodine)	Highly bactericidal
	Hypo-iodous acid	Less bactericidal
Alkaline	Hypo-iodite ion	Even less bactericidal
	Iodate (IO_3^-), iodide (I^-) and tri-iodide (I_3^-) ions	All inactive

3. **สารประกอบโลหะหนัก** (Heavy metals and their compounds)

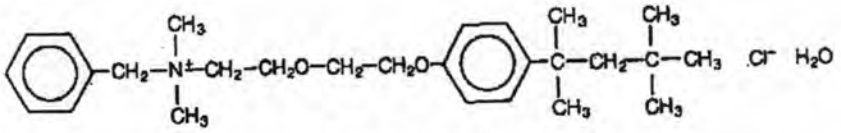
โลหะหนักที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อจุลชีพ เช่น สารหนู สังกะสี ปรอท เงิน และทองแดง เป็นต้น กลไกการออกฤทธิ์เกิดจากสารประกอบโลหะหนักจะเข้าไปรวมตัวกับโปรตีนและเอนไซม์ภายในเซลล์ ทำให้การทำงานของโปรตีนและเอนไซม์ภายในเซลล์ผิดปกติไป นอกจากนี้สารประกอบโลหะหนักที่มีความเข้มข้นสูง สามารถทำให้โปรตีนภายในเซลล์ตกตะกอนได้ (Robert, 2004)

4. **กลุ่มสารลดแรงตึงผิว** (Surfactant group)

กลุ่มสารลดแรงตึงผิวเป็นสารประกอบที่มีหมู่เคมีที่ดึงดูดน้ำ (hydrophilic) และหมู่เคมีที่ผลักน้ำ (hydrophobic) โดยส่วนที่เป็น hydrophobic จะเป็นคาร์บอนโมเลกุลสายยาว (long chain hydrocarbon) ซึ่งละลายในไขมัน ขณะที่ส่วน hydrophilic อาจจะแตกตัวหรือไม่แตกตัว ซึ่งมีทั้งประจุบวก ประจุลบ และเป็นกลาง (Russell et al., 1992) โดยสารลดแรงตึงผิวที่สำคัญที่สุดคือชนิดที่มีประจุบวก ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (quaternary ammonium compounds หรือ QAC) กลไกการออกฤทธิ์ของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมจะไปออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ โดยประจุบวกจะเข้าไปรวมตัวกับหมู่ฟอสเฟตของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane phospholipids) ขณะที่ส่วน hydrophobic จะ

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แทรกเข้าไปยังชั้นในของเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นผลให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียคุณสมบัติการเป็นเยื่อเลือกผ่าน (permeability) ทำให้หน้าที่การควบคุมการเข้า-ออกสูญเสียไป (รูปที่ 2.8) (Linton et al., 1987) จากการศึกษาของ Armstrong and Froelich ในปี 1964 พบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อในกลุ่มสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่ระดับความเข้มข้นของ 0.025 มิลลิกรัม/มิลลิตร ระยะเวลา 10 นาที สามารถทำลายเชื้อไวรัสอินฟลูเอนซาได้ หรือจากการศึกษาของ Davison และคณะ (1999) พบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อในกลุ่มสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่ระดับความเข้มข้น 0.39% สามารถทำลายเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซาสายพันธุ์ H7N2 ได้



Benzethonium chloride
(benzyldimethyl-2-{2-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenoxy]ethoxy}-ethylammonium chloride)

รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะตัวอย่างโครงสร้างของน้ำยาฆ่าเชื้อในกลุ่มสารประกอบควอเตอร์นารีแอมโมเนียมคลอไรด์ (คัดลอกมาจาก Russell et al., 1992)

5. **อัลดีไฮด์** (Aldehyde)

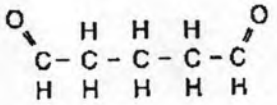
สารในกลุ่มนี้มีสูตรทางเคมีคือ C_nH_{2n+1} ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ ฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde) กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde)

ฟอร์มาลดีไฮด์ มีสถานะเป็นก๊าซ ส่วนที่อยู่ในรูปของเหลวจะเรียกว่าฟอร์มาลีน (formalin) ซึ่งมีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นส่วนประกอบอยู่ 37% มีสูตรทางเคมีคือ HCHO การออกฤทธิ์โดยจะทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl) ไฮดรอกซิล (hydroxyl) และซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl) ของโปรตีนทำให้โปรตีนเสียสภาพไป ดังสมการ (Russell et al., 1992)

$$R\text{-}SH + HCHO \longrightarrow R\text{-}S\text{-}CH_2OH$$

ในปี 2005 Sauerbrei และคณะ ได้ทำการศึกษาโดยใช้ฟอร์มาลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 0.7% พบว่ามีประสิทธิภาพสามารถทำลายเชื้อในกลุ่มแอดีโนไวรัส (adenovirus) หรือจากการศึกษาของ Habib และคณะ (2006) พบว่าที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลีน 0.1 และ 0.2% ระยะเวลา 24 ชั่วโมง สามารถทำลายเชื้อไวรัสเบอร์ซาอักเสบได้

กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารประกอบประเภทไดอัลดีไฮด์ (dialdehyde) มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลชีพสูง แต่ระคายเคืองและเป็นพิษน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟอร์มาลดีไฮด์ กลูตารัลดีไฮด์มีสูตรทางเคมีคือ $C_5H_8O_2$ (รูปที่ 2.9) ออกฤทธิ์ได้ดีในสภาพที่เป็นด่างมากกว่ากรด มีความคงตัวอยู่ประมาณ 7-14 วัน กลไกการออกฤทธิ์โดยจะทำให้เกิดการเปลี่ยนสภาพของโปรตีน (Robert, 2004) กลูตารัลดีไฮด์เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถทำรายเชื้อไวรัสตับอักเสบเอและบีได้ (McDonnell and Russell, 1999) และที่ความเข้มข้นเท่ากัน กลูตารัลดีไฮด์จะให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลชีพสูงกว่าฟอร์มาลดีไฮด์ (Bovallius and Anas, 1977)



รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะโครงสร้างของกลูตารัลดีไฮด์ (คัดลอกมาจาก Russell et al., 1992)

6. **แอลกอฮอล์** (Alcohol)

กลไกการออกฤทธิ์ของแอลกอฮอล์คือ ทำให้เอนไซม์และโปรตีนเสียสภาพ นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังมีคุณสมบัติในการละลายไขมัน ดังนั้นจึงสามารถละลายไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ออก ทำให้โครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้มีอยู่ 2 ชนิดคือ เอธิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) และไอโซโพรพิวแอลกอฮอล์ (isopropyl alcohol) (Linton et al., 1987)

7. **กลุ่มสารออกซิไดซ์ซิง** (Oxidizing agent)

สารในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ที่พันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ของเอนไซม์และโปรตีน ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide หรือ H_2O_2) และโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนส หรือด่างทับทิม ($KMnO_4$) เป็นต้น (Linton et al., 1987)

8. ก๊าซ (Gases)

การทำลายเชื้อจุลชีพโดยใช้ก๊าซนั้นนิยมใช้กับภาชนะหรือเครื่องมือที่ไม่ทนความร้อน รวมไปถึงอุปกรณ์ไฟฟ้า ก๊าซที่นิยมใช้ในการทำลายเชื้อได้แก่ เอทธิลรีนออกไซด์ (ethylene oxide) โพรไพลีนออกไซด์ (propylene oxide) และเบต้าโพรไพโอแลคโตน (beta-propiolactone) กลไกการออกฤทธิ์โดยก๊าซจะไปรวมตัวกับโปรตีน กรดนิวคลีอิค หรือเอนไซม์ ทำให้การทำงานของเซลล์เสียสภาพไป (Robert, 2004)

9. กรดและด่าง (Acids and alkaline)

กรดและด่างแก่จะทำลายสารอินทรีย์ทุกชนิด นอกจากนี้สามารถทำลายผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลชีพ โดยเชื้อจุลชีพแต่ละชนิดจะทนต่อสภาพกรดและด่างได้แตกต่างกัน กรดอนินทรีย์มีความสามารถทำลายเชื้อจุลชีพได้ดีกว่ากรดอินทรีย์ เนื่องจากแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน (H^+) ได้มากกว่า คุณสมบัติของการฆ่าเชื้อจุลชีพของกรดจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้น แต่ไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาตร ส่วนด่างมีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อจุลชีพได้เนื่องจากความเข้มข้นของไฮดรอกไซด์ไอออน (OH^-) (Russell et al., 1992) จากการศึกษาของ Carson and Frisch (1953) ได้ทำการศึกษาโดยใช้กรดแทนนิค (tannic acid) ต่อการทำลายเชื้ออินฟลูเอนซาไวรัส พบว่ากรดแทนนิคปริมาณ 1 มิลลิกรัม ระยะเวลา 6 ชั่วโมง สามารถทำลายเชื้ออินฟลูเอนซาไวรัส สายพันุ์ที่ก่อโรคในมนุษย์ได้ หรือจากการศึกษาของ Scholtissek (1985) พบว่าที่ pH 5.2 สามารถทำลายเชื้อไวรัสเอเวียนอินฟลูเอนซา สายพันธุ์ H7N2 ได้