# การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ glutaraldehyde, alcohol, chlorine, benzalkonium chloride, phenol, peracetic acid, sodium hydroxide, iodine และ hydrogen peroxide ในห้องปฏิบัติการ

**สุดารัตน์ เจือจันทร์[1,*] จรูญลักษณ์ มาเอียด[2] กิติลักษณ์ ไม้เลี้ยง[2] ศรัญญา โกตะคาร[2] กลอยใจ พลเสนา[2]**

[1]สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ 10400
[2]สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ปทุมธานี 12000
[*]ผู้รับผิดชอบบทความ, Email: sudaratchuachan@gmail.com

---

**บทคัดย่อ**

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ในการปศุสัตว์ จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ glutaraldehyde, alcohol, chlorine, benzalkonium chloride, phenol, peracetic acid, sodium hydroxide, iodine และ hydrogen peroxide ทางห้องปฏิบัติการ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี suspension test ตามมาตรฐาน EN 1276 : 2019 และวิเคราะห์ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ลดลง (log reduction)

การทดลองดำเนินการโดยเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบให้มีความเข้มข้นระหว่าง $1.5 \times 10^8$ - $5 \times 10^8$ cfu/mL ให้มีระยะเวลาสัมผัสระหว่างเชื้อแบคทีเรียและผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่เวลา 1,5 ,10 และ 20 นาที ผลการทดลองพบว่า glutaraldehyde 1% และ peracetic acid 0.2% มีประสิทธิภาพสูงสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยให้ค่า log reduction มากกว่า 5 log ภายในเวลา 10 นาที รองลงมาได้แก่ alcohol 60%, chlorine 0.1%, iodine 0.5%, phenol 1% และ hydrogen peroxide 0.5% ตามลำดับ โดยให้ค่า log reduction มากกว่า 5 log ภายในเวลา 20 นาที ขณะที่ benzalkonium chloride 0.05% และ sodium hydroxide 1% มีประสิทธิภาพฆ่าเชื้อได้น้อยกว่าผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อทั้ง 3 ระดับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า glutaraldehyde และ peracetic acid เป็นผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด อย่างไรก็ตามการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อในการปศุสัตว์ให้มีประสิทธิภาพควรพิจารณาถึงปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น ความปลอดภัย ราคา และลักษณะพื้นผิววัสดุที่ต้องการฆ่าเชื้อ เป็นต้น

**คำสำคัญ :** ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ระยะเวลาสัมผัส เชื้อแบคทีเรียที่ลดลง

## บทนำ (Introduction)

ในปัจจุบัน การควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคมีความสำคัญอย่างยิ่งในด้านการปศุสัตว์ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทำให้สัตว์มีสุขภาพอ่อนแอ เจริญเติบโตช้า จนถึงทำให้สัตว์ป่วยหรือตายได้ เชื้อบางชนิดก่อให้เกิดการติดโรคจากสัตว์สู่คน (zoonosis) นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคเนื้อสัตว์ที่ปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียเข้าไปทำให้เกิดการเจ็บป่วย ส่งผลกระทบทางเศรษฐกิจของเกษตรกรและผู้ประกอบการด้านการปศุสัตว์

การใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ (disinfectants) ที่มีประสิทธิภาพเป็นวิธีการหนึ่งที่สำคัญในการควบคุมและป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อเหล่านี้ จากข้อมูลการขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อแต่ละชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อในแต่ละกลุ่ม โดยกองควบคุมอาหารและยาสัตว์ (2567) พบว่าผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายด้านการปศุสัตว์ในแต่ละกลุ่ม ได้แก่ glutaraldehyde(96%), alcohol(100%), chlorine(84%), benzalkonium chloride(74%), phenol(100%), peracetic acid(33%), sodium hydroxide(80%), iodine(61%) และ hydrogen peroxide(97%) ซึ่งผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อแต่ละชนิดมีกลไกการออกฤทธิ์และประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน รวมทั้งมีข้อดีและข้อจำกัดที่แตกต่างกันดังนี้ คือ

กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) จัดอยู่ในกลุ่มอัลดีไฮด์ มีกลไกการฆ่าเชื้อโดยทำให้ปรตีนตกตะกอนด้วยวิธี alkylation Glutaraldehyde จะทำปฏิกิริยากับหมู่ amino, carbonyl และ hydroxyl และอาจทำลายกรด nucleic fomaldehyde สามารถเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนทำให้ alkylation หรือ cross link กับโปรตีนด้วยกัน หรือ cross link กับ DNA (McDonnell & Russell, 1999)

แอลกอฮอล์ (alcohol) มีกลไกการฆ่าเชื้อโดยการขับน้ำออกจากเซลล์ ตกตะกอนโปรตีน รบกวนเยื่อหุ้มเซลล์โดยการละลายไขมันที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แตกและเข้าไปรบกวนระบบเมตาบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์ได้ด้วย (McDonnell & Russell ,(1999)

คลอรีน (chlorine) เป็นสารประกอบคลอรีนอนินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ กลไกการออกฤทธิ์ คือ oxidise หมู่ thiol (-SH group) ให้กลายเป็น S-S group ทำให้โปรตีนถูกทำลายและตกตะกอน (McDonnell & Russell, 1999)

เบนซาลโคเนี่ยมคลอไรด์ (benzalkonium chloride) จัดอยู่ในกลุ่มควาเทอร์นารีแอมโมเนียม คอมพาวน์ (quaternary ammonium compound (QUAT)) เป็น membrane active agent โดยออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบ และ cytoplasmic (inner) membrane ของแบคทีเรีย รวมถึง plasma membrane ของยีสต์ (Machado et al., 2021)

ฟีนอล (phenol) อยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีโนลิก (phenolic compound) กลไกการออกฤทธิ์คือ รบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้โปรตีนตกตะกอน หยุดการทำงานของเอนไซม์ (Singh et al., 2012)

กรดเปอร์อะซีติก (peracetic acid) อยู่ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อกลุ่มกรด เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาของ acetic acid และ $H_2O$ ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยปฏิกิริยา oxidation ทำให้โปรตีนและไขมันเสียสภาพ (รบกวนโครงสร้างของโปรตีนและไขมัน) ปฏิกิริยาในเซลล์เกิดการเสียสมดุล (รบกวนสมดุลของ $H^+$) ทำลายโปรตีนขัดขวางการซึมผ่านของผนังเซลล์ (Kitis, 2004)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) อยู่ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อกลุ่มด่าง กลไกการทำลายเชื้อ คือ ทำให้โปรตีนและลิปิดเสียสภาพ (รบกวนโครงสร้างของโปรตีนและไขมัน) ปฏิกิริยาในเซลล์เสียสมดุล (รบกวนสมดุลของ $H^+$) (Best et al., 1998)

ไอโอดีน (iodine) อยู่ในกลุ่มไอโอโดฟอร์ (iodophor) ออกฤทธิ์โดยปลดปล่อย free iodine ออกสู่สารละลายช้า ๆ ทำลายทั้ง prokaryote และ eukaryote โดยการเกิดปฏิกิริยา iodination กับ lipid และทำปฏิกิริยา oxidation กับสารประกอบใน cytoplasm และบนเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในระบบการหายใจระดับเซลล์ (McDonnell & Russell, 1999)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) เป็นสารออกซิแดนซ์ (oxidant) ออกฤทธิ์โดยการ oxidize เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย เซลล์จึงแตกและทำให้เชื้อจุลินทรีย์ตาย นอกจากนั้นยังทำให้เกิดการสลายตัวของโปรตีนได้ด้วย (Lineback et al., 2018)

การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อมีความจำเป็นเนื่องจากทำให้ผู้ใช้สามารถเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อให้เหมาะสมกับสถานการณ์และเชื้อเป้าหมาย โดยมีการคิดค้นวิธีการทดสอบทางจุลชีววิทยาเพื่อใช้พิจารณาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อหลายวิธีการด้วยกัน เช่น suspension test, surface test, capacity test, tube dilution test และ agar diffusion test สำหรับการทดสอบการแขวนลอย (suspension test) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุด การทดสอบเป็นไปตามมาตรฐาน EN 1276 : 2019 (European Committee for Standardization 1276: 2019) ซึ่งกำหนดว่าผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพต้องลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (log reduction) ได้ไม่น้อยกว่า log 5

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ 9 ชนิด ได้แก่ glutaraldehyde 1%, alcohol 60%, chlorine 0.1%, benzalkonium chloride 0.05%, phenol 1%, peracetic acid 0.2%, sodium hydroxide 1%, iodine 0.5% และ hydrogen peroxide 0.5% ในการทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธี suspension test ตามมาตรฐาน EN 1276 : 2019 (Bloomfield & Partel, 1991) ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Enterococcus hirae* (ATCC 10541) และ *Escherichia coli* (ATCC 10536) โดยเชื้อเหล่านี้ก่อให้เกิดการติดเชื้อได้ในคนและสัตว์ นอกจากนี้ยังสามารถสร้างความต้านทานต่อผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อได้ จึงใช้เป็นตัวแทนของเชื้อแบคทีเรียในการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ อย่างต่อเนื่อง ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต้องลดจำนวนจุลินทรีย์ อย่างน้อย 5 หน่วยลอการิทึมจึงจะถือว่ามีประสิทธิภาพ โดยให้มีเวลาสัมผัสที่ 1, 5, 10 และ 20 นาที เพื่อให้ทราบถึงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อแต่ละชนิดในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย อันจะนำไปสู่การเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น และเป็นความรู้ในการพัฒนาแนวทางการใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อแบบผสมผสาน (combination approach) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรค ซึ่งจะส่งผลต่อการยกระดับมาตรฐานด้านสุขอนามัยการผลิตเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์

## อุปกรณ์และวิธีการทดสอบ

**1.การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย**

1.1 เชื้อจุลินทรีย์สำหรับทดสอบ “N”

นำเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Enterococcus hirae* (ATCC 10541) และ *Escherichia coli (ATCC* 10536) จากห้องปฏิบัติการของสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ มาเพาะเลี้ยงใน tryptic soy agar (TSA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ loop เขี่ยโคโลนีบริสุทธิ์ 3-5 โคโลนีมาละลายในสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) ปริมาณ 5-10 มิลลิลิตร ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ประมาณ 1.5 - 5 x $10^8$ cfu/ml

1.2 เชื้อจุลินทรีย์สำหรับการควบคุมการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation control) (Nv)

นำสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ “N”มาทำ ten fold dilution ด้วย phosphate buffered saline (PBS) สำหรับการนับเชื้อที่การเจือจางในระดับ $10^{-6}$ และ$10^{-7}$ โดยเชื้อจุลินทรีย์มีความเข้มข้น 3.0 x $10^2$ ถึง 1.6 x $10^3$ cfu /ml

**2.เตรียมสารละลายผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ**

เตรียมผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ ทั้ง 9 ชนิด โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ให้ได้ความเข้มข้น ดังนี้ glutaraldehyde 1%, alcohol 60%, chlorine 0.1%, benzalkonium chloride 0.05%, phenol 1%, peracetic acid 0.2%, sodium hydroxide 1%, iodine 0.5% และ hydrogen peroxide 0.5% ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อแต่ละชนิดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (CDC,2008 ) เมื่อเตรียมสารละลายผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วให้นำไปทดสอบทันที การทดสอบครั้งถัดไปต้องเตรียมสารละลายผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อใหม่ทุกครั้ง

**3.วิธีการเตรียมน้ำกระด้าง**

การเตรียมน้ำกระด้าง 1,000 มล. มีขั้นตอนดังนี้

3.1 เตรียมสารละลาย A โดยละลายแมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) 19.84 กรัม และแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) 46.24 กรัม ในน้ำให้ได้ปริมาตร 1,000 มล. ฆ่าเชื้อโดยการกรองเมมเบรน เก็บสารละลายไว้ในตู้เย็นไม่เกิน 1 เดือน

3.2 เตรียมสารละลาย B โดยละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) 35.02 กรัม ในน้ำให้ได้ปริมาตร 1,000 มล. ฆ่าเชื้อโดยการกรองเมมเบรน เก็บสารละลายไว้ในตู้เย็นไม่เกิน 1 สัปดาห์

3.3 สำหรับการเตรียมน้ำกระด้าง ให้ใส่น้ำ 600-700 มล. ในขวดปริมาตร 1,000 มล. และเติมสารละลาย A ปริมาตร 6.0 มล. และสารละลาย B ปริมาตร 8.0 มล. เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 1,000 มล. วัดค่า pH ของน้ำกระด้างให้ได้ 7.0 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 20 ± 1 °C

3.4 น้ำกระด้างจะต้องเตรียมใหม่ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อและใช้ภายใน 12 ชั่วโมง

**4.การทดสอบปริมาณสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ “N” และ “Nv”**

นำสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ “N”มาเจือจางในระดับ $10^{-6}$ และ $10^{-7}$ นำ“Nv” มาเจือจางในระดับ $10^{-1}$ แล้วนำไปเพาะโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของเชื้อและบันทึกผลการทดสอบ

**5.การควบคุมการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation control)**

5.1 การควบคุมการทดลอง (experiment control) “A”

การควบคุมการทดลองมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นการยืนยันว่าพารามิเตอร์อื่นๆไม่ส่งผลต่อการฆ่าเชื้อ ทำได้โดยการผสมสารละลายฆ่าเชื้อที่ใช้เพื่อทวนสอบ“Nv”จำนวน 1 มล. กับ interfering substant (bovine albumin) ความเข้มข้น 0.3 % w/v) ปริมาตร 1 มล. เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเติมน้ำกระด้างปริมาตร 8 มล. แล้วนำไปเพาะโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 36 ± 1 ℃ เป็นเวลา 20 - 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เหลือรอดและบันทึกผลการทดสอบ

5.2 การตรวจสอบสารทำให้เป็นกลาง (neutralizer control) “B”

เพื่อตรวจสอบว่าสารทำให้เป็นกลาง (neutralizer) เป็นพิษและฆ่าเชื้อหรือไม่ ทำได้โดยผสมสารละลายฆ่าเชื้อที่ใช้เพื่อทวนสอบ“Nv”จำนวน 1 มล. กับน้ำกระด้างปริมาตร 1 มล. และสารเคมีที่ทำให้เป็นกลาง (neutralizer) ปริมาตร 8 มล. ผสมให้เข้ากัน แช่ใน water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิ 20 ± 1 ℃ หลังจากระยะเวลาสัมผัสที่กำหนด ดูดสารผสมในหลอดทดลองจำนวน 1 มล. ไปเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 36 ± 1℃ เป็นเวลา 20 - 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เหลือรอดและบันทึกผล

5.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation) “C”

เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีและความสามารถของ neutralizer ในการยับยั้งปฏิกิริยาการฆ่าเชื้อของสารละลายผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ โดยการผสม diluent ปริมาตร 1 มล. และน้ำกระด้างปริมาตร 1 มล. เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นผสมกับสารละลายผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อปริมาตร 8 มล. แล้วแช่ใน water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิ 20 ± 1 ℃ ตามระยะเวลาสัมผัสที่กำหนด จากนั้นดูดสารผสมในหลอดทดลองจำนวน 1 มล.มาผสมกับ neutralizer ปริมาตร 8 มล. ทิ้งระยะเวลาเพื่อให้เป็นกลางเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายฆ่าเชื้อ ที่ใช้เพื่อทวนสอบ“Nv”จำนวน 1 มล. เข้าไป ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปแช่ใน water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิ 20 ± 1 ℃ เป็นเวลา 30 ± 1 นาที ขั้นตอนสุดท้ายดูดสารผสมในหลอดทดลองจำนวน 1 มล. ไปเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 36 ± 1°C เป็นเวลา 20 - 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เหลือรอดและบันทึกผลการทดสอบ

**6.การทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ “Na”**

ผสมสารละลายเชื้อทดสอบ“N”ปริมาตร 1 มล. กับ interfering substant (bovine albumin ความเข้มข้น 0.3 % w/v) ปริมาตร 1 มล. เขย่าสารผสมให้เข้ากันอย่างน้อย 2 นาที แล้วเติมผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อปริมาตร 8 มล. ให้มีระยะเวลาสัมผัสระหว่างเชื้อแบคทีเรียและผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ 1, 5, 10 และ 20 นาที ที่อุณหภูมิ 20 ± 1 ℃ หลังจากครบเวลาสัมผัส ดูดสารผสมในหลอดทดลองมา 1 มล. เพื่อทำการหยุดปฏิกิริยาการฆ่าเชื้อด้วย neutralizer ที่เหมาะสม ปริมาตร 8 มล. และน้ำกระด้างปริมาตร 1 มล.ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 5-10 นาที

แล้วนำไปเพาะโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 36 ± 1°C เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เหลือรอดและบันทึกผลการทดสอบ การทดสอบประสิทธิภาพด้วยวิธี suspension test ดำเนินการทั้งหมด 4 ซ้ำ

**7.การคำนวณค่า log reduction**

สูตรการคำนวณ log reduction (_log R) คือ Log reduction = $\log_{10}(N_o)$ - $\log_{10}(N_a)$ โดย

$N_0$ = จำนวนเซลของแบคทีเรีย/มล. ในส่วนผสมทดสอบ (number of bacteria cells per ml. in the test mixture) = N/10

Na = จำนวนเซลของเชื้อแบคทีเรียที่รอดชีวิต/มล. ในส่วนผสมทดสอบ ((Number of survivors bacteria cells per ml. in the test mixture)

N = จำนวนเซลของแบคทีเรีย/มล. ในสารละลายทดสอบ (Number of bacteria cells per ml. in the test suspension)

ตามมาตรฐาน EN1276 : 2019 กำหนดว่าผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ ต้องสามารถลดจำนวนเชื้อได้อย่างน้อย 5 log reduction จึงจะถือว่าผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

**8.การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

นำผลการทดสอบที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการลดลงของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (log reduction) ต่อผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อแต่ละชนิด ในแต่ละระยะเวลาสัมผัสที่ 1, 5, 10 และ 20 นาที ด้วยวิธีวิเคราะห์สถิติ Duncan's multiple range test (DMRT)

**ผลการทดสอบ**

1.การควบคุมการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation control)

การทดสอบของกลุ่มควบคุม (validation suspension),การควบคุมการทดลอง (experiment control) "A",การตรวจสอบสารทำให้เป็นกลาง (neutralizer control) "B"และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation) "C"เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน ผลแสดงในตารางที่ 2

หมายเหตุ ; เกณฑ์มาตรฐานดังนี้

- ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีของ Nvo ต้องอยู่ระหว่าง 30 – 160 โคโลนี
- ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีของ "A", "B" และ "C" ต้องมากกว่า 0.5 × ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีของ Nvo

**ตารางที่ 2** การควบคุมการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation control)

| เชื้อแบคทีเรีย | การควบคุมการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | สารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ "Nvo" | | | การควบคุมการทดลอง "A" | | | การตรวจสอบสารทำให้เป็นกลาง "B" | | | การตรวจสอบวิธีการ "C" | | |
| *Pseudomonas aeruginosa* | Vc 1 | 32 | X mean | Vc 1 | 31 | X mean | Vc 1 | 34 | X mean | Vc 1 | 37 | X mean |
| | Vc 2 | 37 | 34.5 | Vc 2 | 36 | 33.5 | Vc 2 | 39 | | Vc 2 | 39 | 38 |
| | 30< X mean of Nvo > 160 /yes | | | X mean of "A" is > 0.5x mean of Nvo/yes | | | X mean of "B" is > 0.5x mean of Nvo /yes | | | X mean of "C" is > 0.5x mean of Nvo /yes | | |
| *Staphylococcus aureus* | Vc 1 | 49 | X mean | Vc 1 | 37 | X mean | Vc 1 | 41 | X mean | Vc 1 | 47 | X mean |
| | Vc 2 | 48 | 48.5 | Vc 2 | 30 | 33.5 | Vc 2 | 46 | 43.5 | Vc 2 | 52 | 49.5 |
| | 30< X mean of Nvo > 160 /yes | | | X mean of "A" is > 0.5x mean of Nvo/yes | | | X mean of "B" is > 0.5x mean of Nvo /yes | | | X mean of "C" is > 0.5x mean of Nvo /yes | | |
| *Enterococcus hirae* | Vc 1 | 42 | X mean | Vc 1 | 55 | X mean | Vc 1 | 52 | X mean | Vc 1 | 51 | X mean |
| | Vc 2 | 44 | 43 | Vc 2 | 46 | 50.5 | Vc 2 | 57 | 54.5 | Vc 2 | 46 | 48.5 |
| | 30< X mean of Nvo > 160 /yes | | | X mean of "A" is > 0.5x mean of Nvo/yes | | | X mean of "B" is > 0.5x mean of Nvo /yes | | | X mean of "C" is > 0.5x mean of Nvo /yes | | |
| *Escherichia coli* | Vc 1 | 60 | X mean | Vc 1 | 61 | X mean | Vc 1 | 66 | X mean | Vc 1 | 54 | X mean |
| | Vc 2 | 69 | 64.5 | Vc 2 | 67 | 64 | Vc 2 | 60 | 63 | Vc 2 | 62 | 58 |
| | 30< X mean of Nvo > 160 /yes | | | X mean of "A" is > 0.5x mean of Nvo/yes | | | X mean of "B" is > 0.5x mean of Nvo /yes | | | X mean of "C" is > 0.5x mean of Nvo /yes | | |

2.การทดสอบปริมาณสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ (test suspension ) “N”

การตรวจสอบเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน ผลแสดงในตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** ผลการทดสอบปริมาณสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ (test suspension )“N”

| เชื้อทดสอบ | จำนวนเชื้อ cfu/ml | Log N | No (N/10) | Log No | มาตรฐาน 7.17≤ Log No≥7.70 |
|---|---|---|---|---|---|
| *Pseudomonas aeruginosa* | $1.89\times10^{8}$ | 8.28 | $1.89\times10^{7}$ | 7.28 | ได้มาตรฐาน |
| *Staphylococcus aureus* | $2.09\times10^{8}$ | 8.32 | $2.09\times10^{7}$ | 7.32 | ได้มาตรฐาน |
| *Enterococcus hirae* | $2.60\times10^{8}$ | 8.42 | $2.60\times10^{7}$ | 7.42 | ได้มาตรฐาน |
| *Escherichia coli* | $3.05\times10^{8}$ | 8.48 | $3.05\times10^{7}$ | 7.48 | ได้มาตรฐาน |

หมายเหตุ : คำอธิบายตารางที่ 2 และ 3

Vc : จำนวนโคโลนีที่สามารถนับได้

Nv : สารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์สำหรับทวนสอบวิธี (Validation)

Nvo : Nv/10

X mean : จำนวนโคโลนีเฉลี่ยที่สามารถนับได้

N : จำนวนเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น (cfu/ml)

No : (N/10)

Yes : เป็นไปตามมาตรฐาน

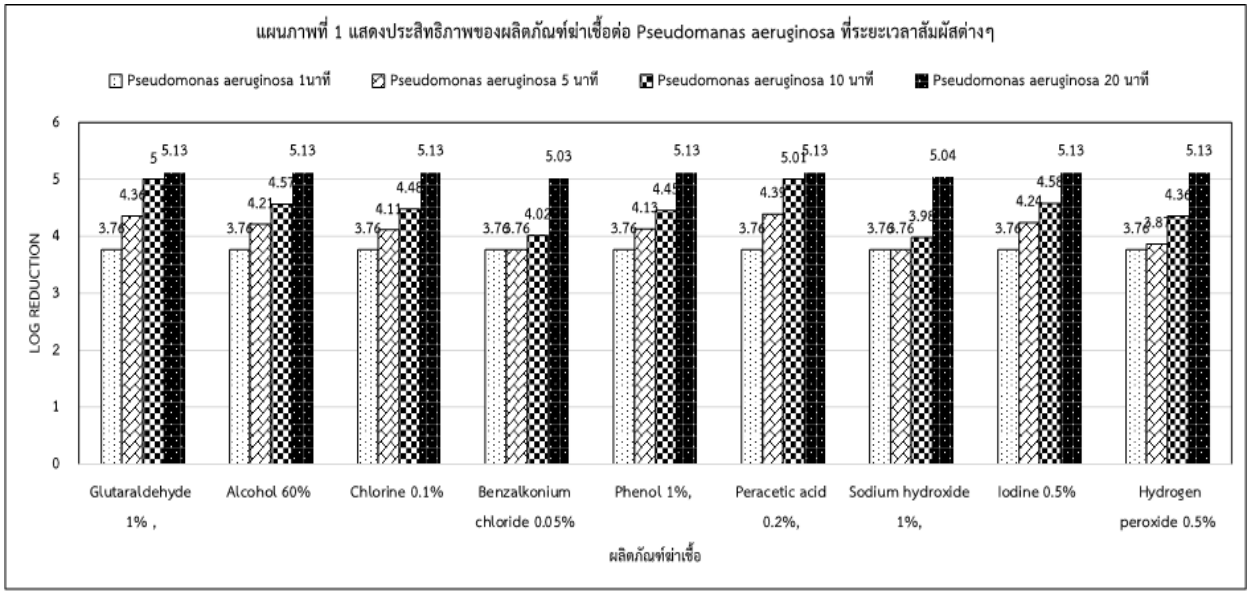
3. ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ผลการศึกษาพบว่า glutaraldehyde 1% และ peracetic acid 0.2% แสดงประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมี log R เท่ากับ 5.00 และ 5.01 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาสัมผัสเพียง 10 นาที ในขณะที่ alcohol 60%, chlorine 0.1%, phenol 1%, iodine 0.5% และ hydrogen peroxide 0.5% ต้องใช้เวลาถึง 20 นาที จึงสามารถฆ่าเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ (log R >5.13) สำหรับ benzalkonium chloride 0.05% และ sodium hydroxide 1% มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ โดยระยะเวลาสัมผัสที่ 20 นาที มี log R เท่ากับ 5.03 และ 5.00 ตามลำดับ และพบว่าระยะเวลาสัมผัสที่นานขึ้นส่งผลให้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของผลิตภัณฑ์ทุกชนิดดีขึ้น รายละเอียดดังตารางที่ 4 และแผนภาพที่ 1

**ตารางที่ 4** ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ระยะเวลาสัมผัสต่างๆ

| ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ | *Pseudomonas aeruginosa* log7.28 | 1นาที | | | 5 นาที | | | 10 นาที | | | 20 นาที | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) |
| Glutaraldehyde 1% | $1.89\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $8.3\times10^{2}$ | 2.92 | 4.36 | $1.91\times10^{2}$ | 2.28 | 5.00 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.13 |
| Alcohol 60% | $1.89\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $1.18\times10^{3}$ | 3.07 | 4.21 | $5.10\times10^{2}$ | 2.71 | 4.57 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.13 |
| Chlorine 0.1% | $1.89\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $1.48\times10^{3}$ | 3.17 | 4.11 | $6.30\times10^{2}$ | 2.80 | 4.48 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.13 |
| Benzalkonium chloride 0.05% | $1.89\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $1.82\times10^{3}$ | 3.26 | 4.02 | $1.78\times10^{2}$ | 2.25 | 5.03 |
| Phenol 1% | $1.89\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $1.41\times10^{3}$ | 3.15 | 4.13 | $6.80\times10^{2}$ | 2.83 | 4.45 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.13 |
| Peracetic acid 0.2% | $1.89\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $7.9\times10^{2}$ | 2.89 | 4.39 | $1.86\times10^{2}$ | 2.27 | 5.01 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.13 |
| Sodium hydroxide 1% | $1.89\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $2.00\times10^{3}$ | 3.30 | 3.98 | $1.90\times10^{2}$ | 2.28 | 5.00 |
| Iodine 0.5% | $1.89\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $1.10\times10^{3}$ | 3.04 | 4.24 | $5.01\times10^{2}$ | 2.70 | 4.58 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.13 |
| Hydrogen peroxide 0.5% | $1.89\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.76 | $2.57\times10^{3}$ | 3.41 | 3.87 | $8.30\times10^{2}$ | 2.92 | 4.36 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.13 |

**แผนภาพที่ 1** แสดงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ระยะเวลาสัมผัสต่างๆ



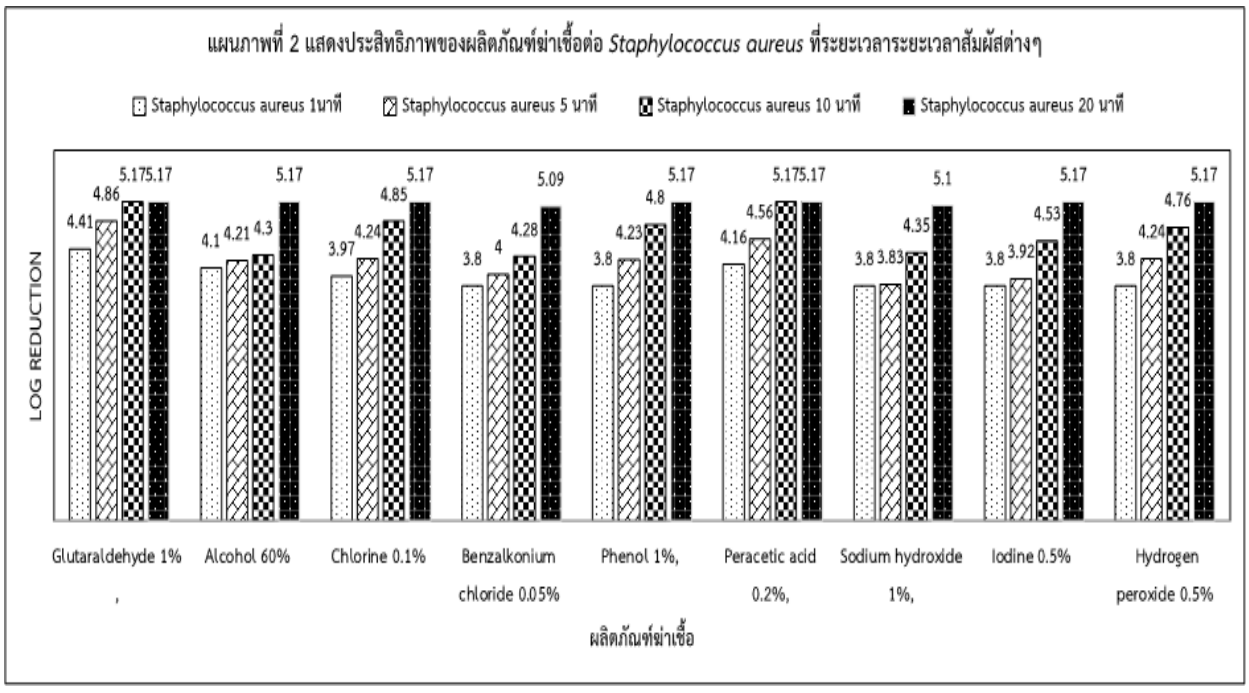
4.ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ผลการศึกษาพบว่า glutaraldehyde 1% และ peracetic acid 0.2% มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมี log R มากกว่า 5.17 ที่ระยะเวลาสัมผัสเพียง 10 นาที และพบว่าเมื่อระยะเวลาครบ 20 นาที ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสูงมาก โดยมีค่า log R มากว่า 5.17 สำหรับ benzalkonium chloride 0.05% และ sodium hydroxide มีประสิทธิภาพต่ำกว่าผลิตภัณฑ์อื่นๆ เล็กน้อย (log R = 5.09 และ 5.10 ตามลำดับ) รายละเอียดดังตารางที่ 5 และแผนภาพที่ 2

**ตารางที่ 5** ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ระยะเวลาสัมผัสต่างๆ

| ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ | *Staphylococcus aureus* log7.32 | 1นาที | | | 5 นาที | | | 10 นาที | | | 20 นาที | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) |
| Glutaraldehyde 1% | $2.09\times10^{8}$ | $8.2\times10^{2}$ | 2.91 | 4.41 | $2.88\times10^{2}$ | 2.46 | 4.86 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.17 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.17 |
| Alcohol 60% | $2.09\times10^{8}$ | $1.66\times10^{3}$ | 3.22 | 4.10 | $1.29\times10^{3}$ | 3.11 | 4.21 | $1.05\times10^{3}$ | 3.02 | 4.30 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.17 |
| Chlorine 0.1% | $2.09\times10^{8}$ | $2.24\times10^{3}$ | 3.35 | 3.97 | $8.0\times10^{2}$ | 2.90 | 4.24 | $2.95\times10^{2}$ | 2.47 | 4.85 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.17 |
| Benzalkonium chloride 0.05% | $2.09\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.80 | $2.09/\times10^{3}$ | 3.32 | 4.00 | $1.10\times10^{3}$ | 3.04 | 4.28 | $1.70\times10^{2}$ | 2.23 | 5.09 |
| Phenol 1% | $2.09\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.80 | $1.23\times10^{3}$ | 3.09 | 4.23 | $3.30\times10^{2}$ | 2.52 | 4.80 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.17 |
| Peracetic acid 0.2% | $2.09\times10^{8}$ | $1.45\times10^{3}$ | 3.16 | 4.16 | $5.8\times10^{2}$ | 2.76 | 4.56 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.17 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.17 |
| Sodium hydroxide 1% | $2.09\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.80 | $3.09\times10^{3}$ | 3.49 | 3.83 | $9.4\times10^{2}$ | 2.97 | 4.35 | $1.65\times10^{2}$ | 2.22 | 5.10 |
| Iodine 0.5% | $2.09\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.80 | $2.51\times10^{3}$ | 3.40 | 3.92 | $6.20\times10^{2}$ | 2.79 | 4.53 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.17 |
| Hydrogen peroxide 0.5% | $2.09\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.80 | $1.20\times10^{3}$ | 3.08 | 4.24 | $3.60\times10^{2}$ | 2.56 | 4.76 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.17 |

**แผนภาพที่ 2** แสดงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ระยะเวลาสัมผัสต่างๆ



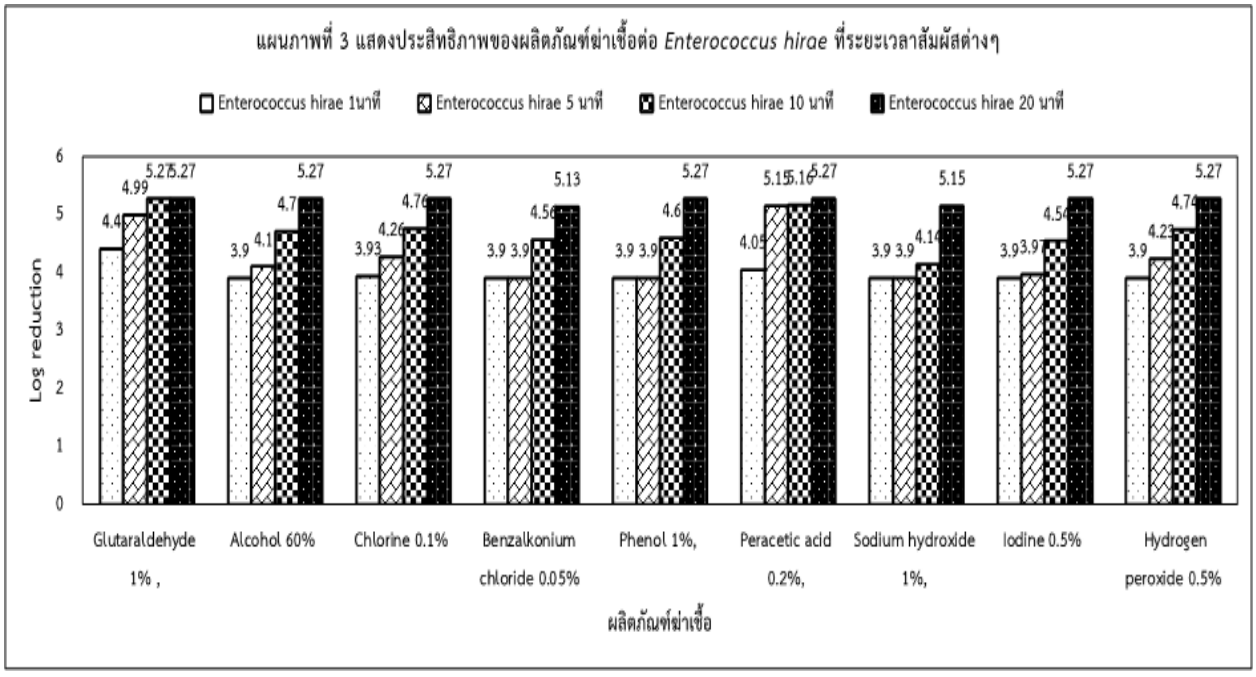
5. ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Enterococcus hirae*

ผลการศึกษาพบว่าที่ระยะเวลา 10 นาที glutaraldehyde 1% มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถลดจำนวนเชื้อได้ที่ log R มากกว่า 5.27 ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือ peracetic acid 0.2% และ alcohol 60% ที่มี log R เท่ากับ 5.16 และ 5.02 ตามลำดับ ส่วนผลิตภัณฑ์อื่นๆ มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นแต่ยังต่ำกว่า 5 log เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลา 20 นาที ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสูงขึ้น โดยสามารถลดจำนวนเชื้อได้ที่ log R มากกว่า 5.27 ยกเว้น benzalkonium chloride 0.05% และ sodium hydroxide 1% มี log R เท่ากับ 5.13 และ 5.15 ตามลำดับ รายละเอียดดังตารางที่ 6 และแผนภาพที่ 3

**ตารางที่ 6** ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Enterococcus hirae* ที่ระยะเวลาสัมผัสต่างๆ

| ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ | *Enterococcus hirae* log7.42 | 1นาที | | | 5 นาที | | | 10 นาที | | | 20 นาที | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) |
| Glutaraldehyde 1% | $2.60\times10^{8}$ | $1.05\times10^{3}$ | 3.02 | 4.40 | $2.69\times10^{2}$ | 2.43 | 4.99 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.27 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.27 |
| Alcohol 60% | $2.60\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.90 | 2.1×103 | 3.32 | 4.10 | 5.25×102 | 2.72 | 4.70 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.27 |
| Chlorine 0.1% | $2.60\times10^{8}$ | $3.09\times10^{3}$ | 3.49 | 3.93 | $1.45\times10^{3}$ | 3.16 | 4.26 | $4.60\times10^{2}$ | 2.66 | 4.76 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.27 |
| Benzalkonium chloride 0.05% | $2.60\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.90 | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.90 | $7.30\times10^{2}$ | 2.86 | 4.56 | $1.95\times10^{2}$ | 2.29 | 5.13 |
| Phenol 1% | $2.60\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.90 | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.90 | $6.5\times10^{2}$ | 2.82 | 4.60 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.27 |
| Peracetic acid 0.2% | $2.60\times10^{8}$ | $2.34\times10^{3}$ | 3.37 | 4.05 | $5.30\times10^{2}$ | 2.27 | 5.15 | $1.82\times10^{2}$ | 2.26 | 5.16 | <1.40×102 | <2.15 | >5.27 |
| Sodium hydroxide 1% | $2.60\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.90 | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.90 | $1.91\times10^{3}$ | 3.28 | 4.14 | $1.86\times10^{2}$ | 2.27 | 5.15 |
| Iodine 0.5% | $2.60\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.90 | $2.80\times10^{2}$ | 3.45 | 3.97 | $7.60\times10^{2}$ | 2.88 | 4.54 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.27 |
| Hydrogen peroxide 0.5% | $2.60\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.90 | $1.55\times10^{3}$ | 3.19 | 4.23 | $4.80\times10^{2}$ | 2.68 | 4.74 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.27 |

**แผนภาพที่ 3** แสดงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Enterococcus hirae* ที่ระยะเวลาสัมผัสต่างๆ



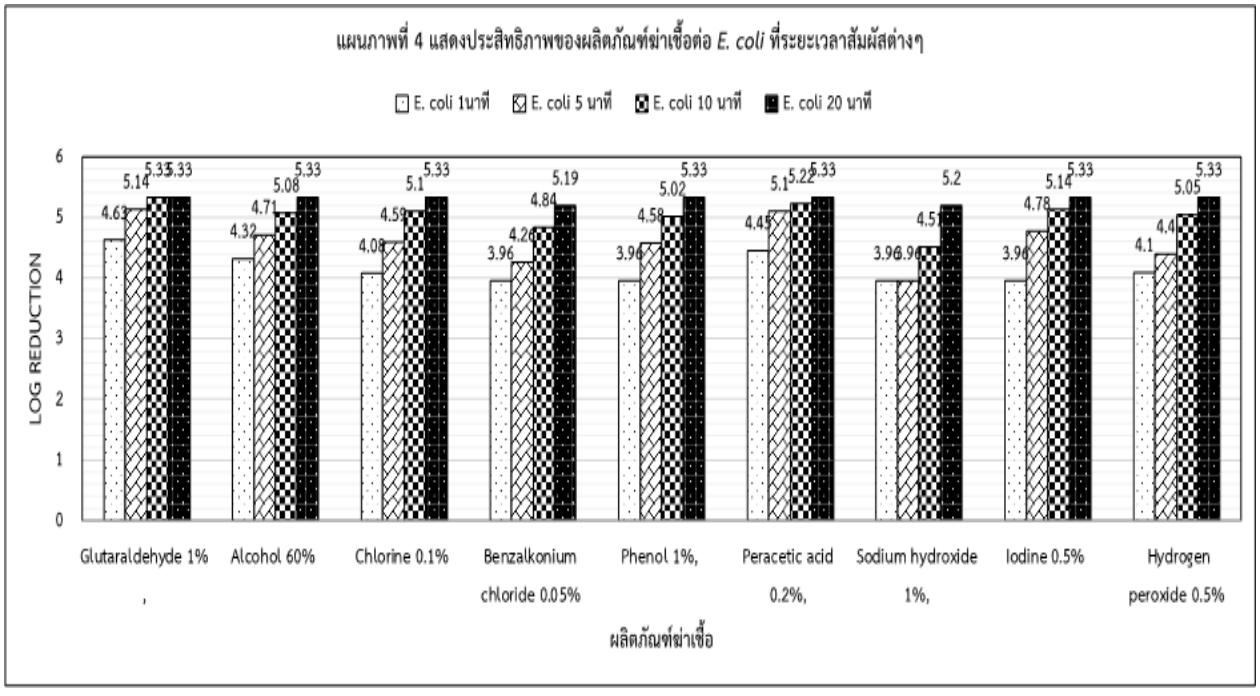
6. ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ *Escherichia coli*

ผลการทดลองพบว่าที่ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที glutaraldehyde 1% มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถลดจำนวนเชื้อได้ที่ log R มากกว่า 5.33 ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือ peracetic acid 0.2%, chlorine 0.1%, alcohol 60%, phenol 1% ที่มีค่า log R เท่ากับ 5.22, 5.10, 5.08 และ 5.02 ตามลำดับ ส่วนผลิตภัณฑ์อื่นๆ มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นแต่ยังต่ำกว่า 5 log เมื่อครบ 20 นาที ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อทุกชนิดมีประสิทธิภาพสูง สามารถลดจำนวนเชื้อได้มากกว่า 5 log รายละเอียดดังตารางที่ 7 และแผนภาพที่ 4

**ตารางที่ 7** ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Escherichia coli* ที่ระยะเวลาสัมผัสต่างๆ

| ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ | *Escherichia coli* log 7.48 | 1นาที | | | 5 นาที | | | 10 นาที | | | 20 นาที | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) | เชื้อที่เหลือรอด (Na) (cfu/ml) | Log (Na) เชื้อที่เหลือรอด | Log R (เชื้อที่ลดลง) |
| Glutaraldehyde 1% | $3.05\times10^{8}$ | $7.10\times10^{2}$ | 2.85 | 4.63 | $2.20\times10^{2}$ | 2.34 | 5.14 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.33 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.33 |
| Alcohol 60% | $3.05\times10^{8}$ | $1.45\times10^{3}$ | 3.16 | 4.32 | $5.90\times10^{2}$ | 2.77 | 4.71 | $2.51\times10^{2}$ | 2.40 | 5.08 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.33 |
| Chlorine 0.1% | $3.05\times10^{8}$ | $2.51\times10^{3}$ | 3.40 | 4.08 | $7.80\times10^{2}$ | 2.89 | 4.59 | $2.40\times10^{2}$ | 2.38 | 5.10 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.33 |
| Benzalkonium chloride 0.05% | $3.05\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.96 | $1.66\times10^{3}$ | 3.22 | 4.26 | $4.37\times10^{2}$ | 2.64 | 4.84 | $1.95\times10^{2}$ | 2.29 | 5.19 |
| Phenol 1% | $3.05\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.96 | $7.90\times10^{2}$ | 2.90 | 4.58 | $2.88\times10^{2}$ | 2.46 | 5.02 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.33 |
| Peracetic acid 0.2% | $3.05\times10^{8}$ | $1.07\times10^{3}$ | 3.03 | 4.45 | $2.40\times10^{2}$ | 2.38 | 5.10 | $1.82\times10^{2}$ | 2.26 | 5.22 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.33 |
| Sodium hydroxide 1% | $3.05\times10^{8}$ | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.96 | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.96 | $9.40\times10^{2}$ | 2.97 | 4.51 | $1.91\times10^{2}$ | 2.28 | 5.20 |
| Iodine 0.5% | 3.05×108 | $>3.30\times10^{3}$ | >3.52 | <3.96 | $5.01\times10^{2}$ | 2.70 | 4.78 | $2.2\times10^{2}$ | 2.34 | 5.14 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.33 |
| Hydrogen peroxide 0.5% | 3.05×108 | $2.40\times10^{3}$ | 3.38 | 4.10 | $1.20\times10^{3}$ | 3.08 | 4.40 | $2.7\times10^{2}$ | 2.43 | 5.05 | $<1.40\times10^{2}$ | <2.15 | >5.33 |

**แผนภาพที่ 4** แสดงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Escherichia coli* ที่ระยะเวลาสัมผัสต่างๆ



7.ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์

จากการวิเคราะห์ผลการทดลองประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่า glutaraldehyde 1% แสดงประสิทธิภาพดีที่สุด สามารถลดจำนวนเชื้อได้อย่างรวดเร็ว มี log R มากกว่า 5 ในเวลาเพียง 10 นาที โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับ*เชื้อ Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae* และ *Escherichia coli* ในลำดับถัดมาพบว่า Peracetic acid 0.2% มีผลการฆ่าเชื้อที่ดีเช่นกัน สามารถลดจำนวนเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* มี log R มากกว่า 5 ภายในเวลา 10 นาที ขณะที่เชื้อสายพันธุ์อื่นก็มีค่า log R ใกล้เคียง 5 ในช่วงเวลาเดียวกัน ส่วน alcohol 60%, chlorine 0.1%, phenol 1%, iodine 0.5% และ hydrogen peroxide 0.5% มีประสิทธิภาพในระดับปานกลางถึงดี โดยต้องใช้เวลานานขึ้นที่ 20 นาที จึงจะสามารถฆ่าเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ (log R >5) สำหรับทุกสายพันธุ์ สำหรับ benzalkonium chloride 0.05% และ sodium hydroxide 1% มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดในบรรดาผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบทั้งหมด โดยมีค่าการลดจำนวนเชื้อต่ำกว่า 4 log ในเวลา 5 นาที สำหรับเชื้อส่วนใหญ่ แต่เมื่อได้มีเวลาเพียงพอ 20 นาที ก็สามารถฆ่าเชื้อได้ใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์อื่นๆ

เมื่อพิจารณาความต้านทานของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า *Pseudomonas aeruginosa* มีความทนทานต่อผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อมากกว่าสายพันธุ์อื่น โดยเฉพาะในช่วงเวลาสั้นๆ (1-5 นาที) ขณะที่ *Escherichia coli* ถูกกำจัดได้ง่ายกว่าเมื่อเทียบกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ โดยสรุป หากต้องการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอย่างรวดเร็วภายในเวลา 10 นาที ควรเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ glutaraldehyde 1% และ peracetic acid 0.2% แต่หากมีเวลาเพียงพอถึง 20 นาที ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อเกือบทั้งหมดสามารถลดจำนวนเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ (log R >5) ซึ่งถือว่าเพียงพอสำหรับการฆ่าเชื้อ รายละเอียดดังตารางที่ 8

ตาราง 8 เปรียบเทียบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียลดลงหลังสัมผัสผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อนาน 1, 5, 10 และ 20 นาที

| ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ | *Pseudomonas aeruginosa* | | | | *Staphylococcus aureus* | | | | *Enterococcus hirae* | | | | *Escherichia coli* | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 นาที | 5 นาที | 10 นาที | 20 นาที | 1 นาที | 5 นาที | 10 นาที | 20 นาที | 1 นาที | 5 นาที | 10 นาที | 20 นาที | 1 นาที | 5 นาที | 10 นาที | 20 นาที |
| Glutaraldehyde 1% | <3.76 | 4.36$^{ab}$ | 5.00$^{a}$ | >5.13$^{a}$ | 4.41$^{a}$ | 4.86$^{a}$ | >5.17$^{a}$ | >5.17$^{a}$ | 4.40$^{a}$ | 4.99$^{a}$ | >5.27$^{a}$ | >5.27$^{a}$ | 4.63$^{a}$ | 5.14$^{a}$ | >5.33$^{a}$ | >5.33a |
| Alcohol 60% | <3.76 | 4.21$^{c}$ | 4.57$^{b}$ | >5.13$^{a}$ | 4.10$^{bc}$ | 4.21$^{bc}$ | 4.30$^{d}$ | >5.17$^{a}$ | 3.90$^{b}$ | 4.10$^{bc}$ | 4.70$^{b}$ | >5.27$^{a}$ | 4.32$^{b}$ | 4.71$^{bc}$ | 5.08$^{bc}$ | >5.33$^{a}$ |
| chlorine 0.1% | <3.76 | 4.11$^{c}$ | 4.48$^{bc}$ | >5.13$^{a}$ | 3.97$^{bc}$ | 4.24$^{bc}$ | 4.85$^{ab}$ | >5.17$^{a}$ | 3.93$^{b}$ | 4.26$^{b}$ | 4.76$^{b}$ | >5.27$^{a}$ | 4.08$^{c}$ | 4.59$^{bc}$ | 5.10$^{bc}$ | >5.33$^{a}$ |
| Benzalkonium chloride 0.05% | <3.76 | <3.76$^{d}$ | 4.02$^{d}$ | 5.03$^{b}$ | <3.80$^{c}$ | 4.00$^{c}$ | 4.28$^{d}$ | 5.09$^{a}$ | <3.90$^{b}$ | <3.90$^{d}$ | 4.56$^{bc}$ | 5.13$^{a}$ | <3.96$^{c}$ | 4.26$^{de}$ | 4.84$^{d}$ | 5.19$^{b}$ |
| Phenol 1% | <3.76 | 4.13$^{c}$ | 4.45$^{bc}$ | >5.13$^{a}$ | <3.80$^{c}$ | 4.23$^{bc}$ | 4.80$^{ab}$ | >5.17$^{a}$ | <3.90$^{b}$ | <3.90$^{d}$ | 4.60$^{b}$ | >5.27$^{a}$ | <3.96$^{c}$ | 4.58$^{bc}$ | 5.02$^{c}$ | >5.33$^{a}$ |
| Peracetic acid 0.2% | <3.76 | 4.39$^{a}$ | 5.01$^{a}$ | >5.13$^{a}$ | 4.16$^{ab}$ | 4.56$^{ab}$ | >5.17$^{a}$ | >5.17$^{a}$ | 4.05$^{b}$ | 5.15$^{a}$ | 5.16$^{a}$ | >5.27$^{a}$ | 4.45$^{ab}$ | 5.10$^{a}$ | 5.22$^{ab}$ | >5.33$^{a}$ |
| Sodium hydroxide 1% | <3.76 | <3.76$^{d}$ | 3.98$^{d}$ | 5.04$^{b}$ | <3.80$^{c}$ | 3.83$^{c}$ | 4.35$^{cd}$ | 5.10$^{a}$ | <3.90$^{b}$ | <3.90$^{d}$ | 4.14$^{d}$ | 5.15$^{a}$ | <3.96$^{c}$ | <3.90$^{e}$ | 4.51$^{e}$ | 5.20$^{b}$ |
| Iodine 0.5% | <3.76 | 4.24$^{bc}$ | 4.58$^{b}$ | >5.13$^{a}$ | <3.80$^{c}$ | 3.92$^{c}$ | 4.53$^{bcd}$ | >5.17$^{a}$ | <3.90$^{b}$ | 3.97$^{cd}$ | 4.54$^{bc}$ | >5.27$^{a}$ | <3.96$^{c}$ | 4.78$^{b}$ | 5.14$^{bc}$ | >5.33$^{a}$ |
| Hydrogen peroxide 0.5% | <3.76 | 3.87$^{d}$ | 4.36$^{c}$ | >5.13$^{a}$ | <3.80$^{c}$ | 4.24$^{bc}$ | 4.76$^{abc}$ | >5.17$^{a}$ | <3.90$^{b}$ | 4.23$^{b}$ | 4.74$^{b}$ | >5.27$^{a}$ | 4.10$^{c}$ | 4.40$^{cd}$ | 5.05$^{bc}$ | >5.33$^{a}$ |

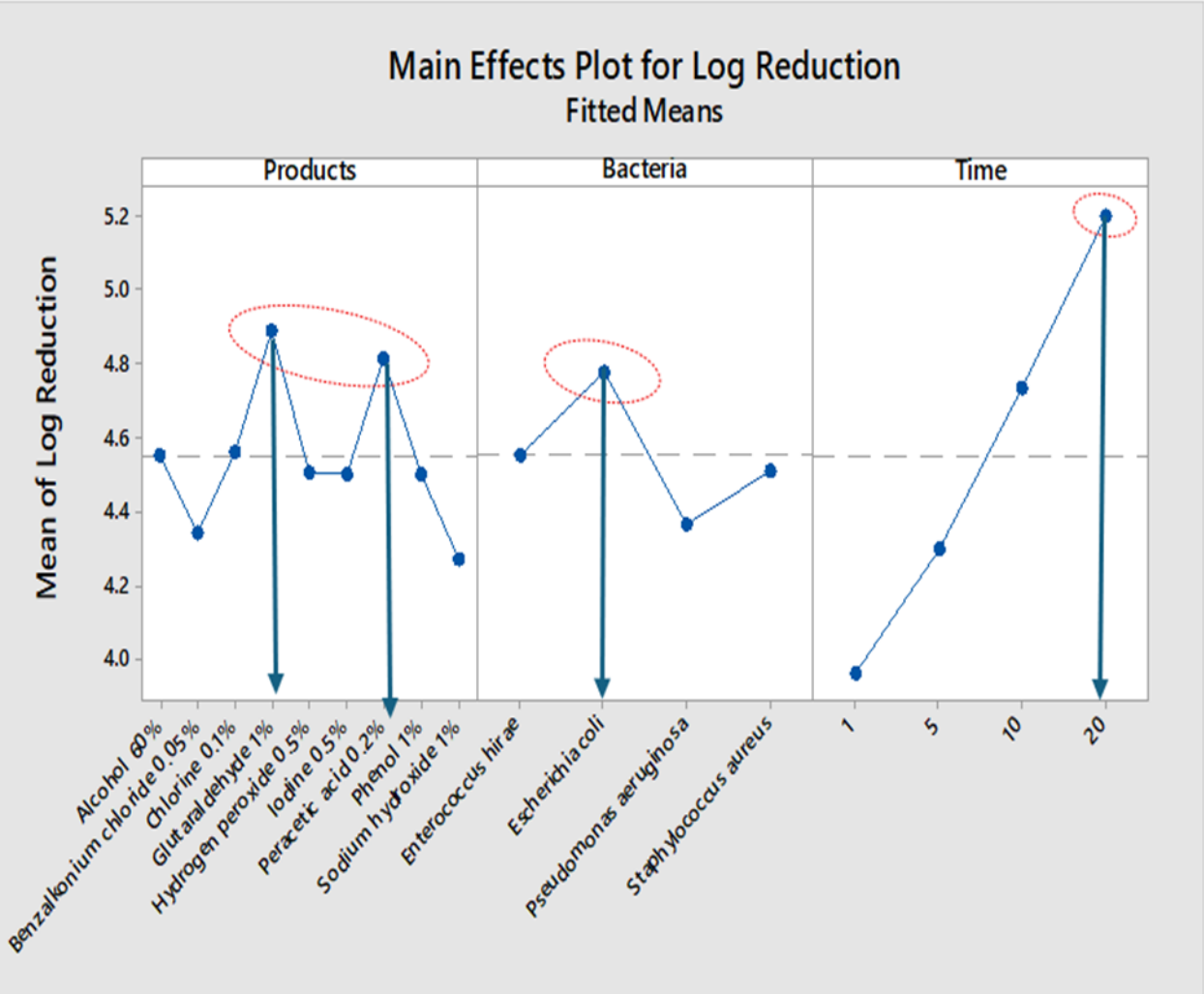
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05) โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

จากผลการทดสอบพบว่าระยะเวลาสัมผัสที่นานขึ้นส่งผลให้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดเพิ่มขึ้น โดยที่ระยะเวลา 1 นาที ค่า log reduction ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงต่ำซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 3.76 ถึง 4.63 สะท้อนให้เห็นว่าในช่วงเริ่มต้นของการสัมผัส ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อยังไม่สามารถ ออกฤทธิ์ได้อย่างเต็มที่ เมื่อเพิ่มระยะเวลาเป็น 5 นาที พบว่าค่า log reduction เพิ่มขึ้นเป็นช่วง 3.87 ถึง 5.15 สำหรับที่ระยะเวลา 10 นาที ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้นอีกครั้งเป็นช่วง 3.98 ถึง 5.22 และที่ระยะเวลา 20 นาที ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยมีค่า log reduction อยู่ระหว่าง 5.13 ถึง 5.33 ซึ่งเป็นค่าสูงสุดที่สามารถวัดได้ในการศึกษานี้ เมื่อนำผลการทดสอบไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test โดยอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยรูปแบบการจัดกลุ่มของอักษรกำกับแสดงให้เห็นถึงลำดับการเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพตามเวลาอย่างชัดเจน ค่าที่ระยะเวลา 20 นาทีมักกำกับด้วยอักษร "a" ซึ่งแสดงถึงค่าสูงสุดในกลุ่ม ตามด้วยค่าที่ระยะเวลา 10 นาทีที่มักมีอักษร "b" ค่าที่ระยะเวลา 5 นาทีที่มีอักษร "c" และค่าที่ระยะเวลา 1 นาทีที่มีอักษร "d" ซึ่งแสดงถึงค่าต่ำสุด รายละเอียดดังตารางที่ 9

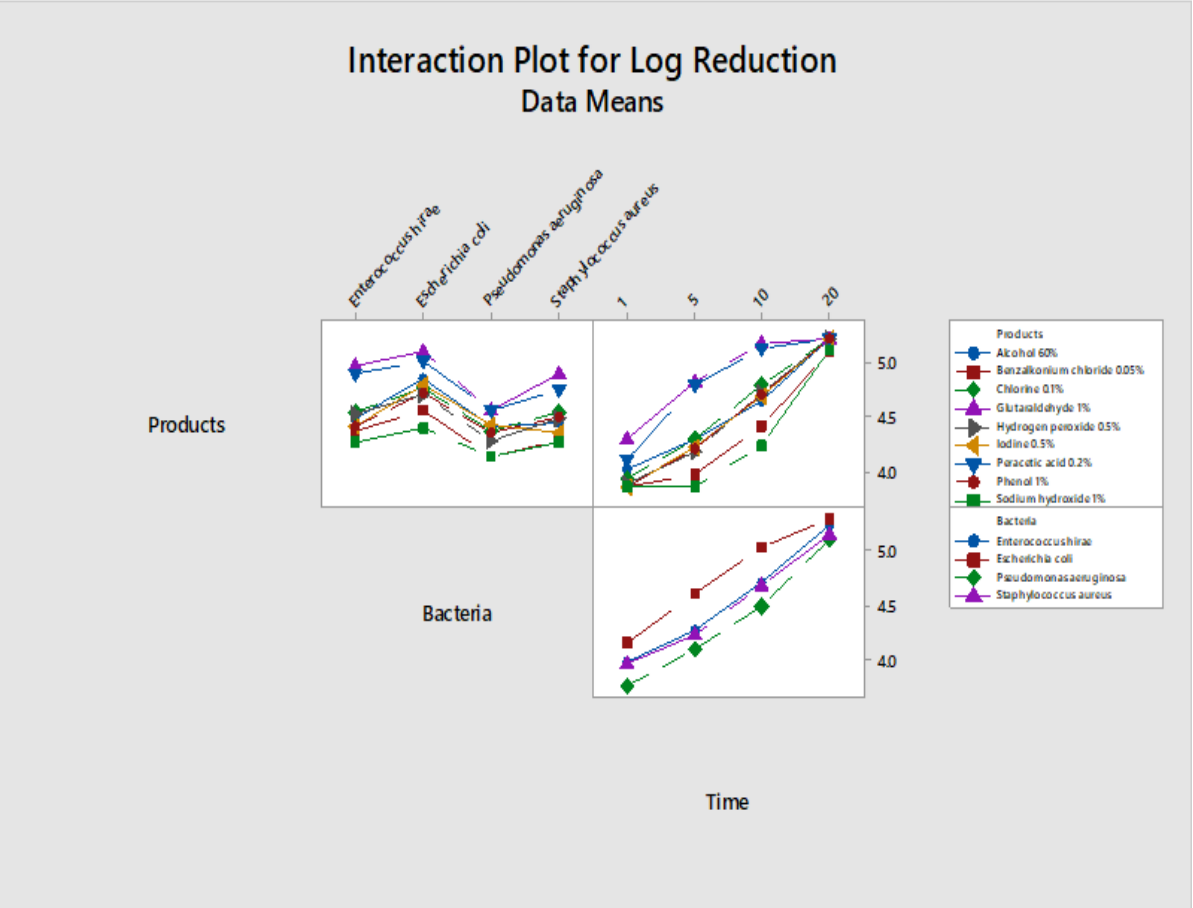
**ตาราง 9** เปรียบเทียบระยะเวลาที่มีผลต่อค่าเฉลี่ยจำนวนแบคทีเรียลดลงหลังให้สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อแต่ละชนิดที่ระยะเวลา 1, 5, 10 และ 20 นาที

| เชื้อแบคทีเรีย | เวลาสัมผัส (นาที) | ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Glutaraldehyde 1% | Alcohol 60% | chlorine 0.1% | Benzalkonium chloride 0.05% | Phenol 1% | Peracetic acid 0.2% | Sodium hydroxide 1% | Iodine 0.5% | Hydrogen peroxide 0.5% |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 1 | <3.76$^{d}$ | <3.76$^{d}$ | <3.76$^{d}$ | <3.76$^{c}$ | <3.76$^{d}$ | <3.76$^{c}$ | <3.76$^{c}$ | <3.76$^{d}$ | <3.76$^{d}$ |
| | 5 | 4.36$^{c}$ | 4.21$^{c}$ | 4.11c | <3.76$^{c}$ | 4.13$^{c}$ | 4.39$^{b}$ | <3.76$^{c}$ | 4.24$^{c}$ | 3.87$^{c}$ |
| | 10 | 5.00$^{b}$ | 4.57$^{b}$ | 4.48$^{b}$ | 4.02$^{b}$ | 4.45$^{b}$ | 5.01$^{a}$ | 3.98$^{b}$ | 4.58$^{b}$ | 4.36$^{b}$ |
| | 20 | >5.13$^{a}$ | >5.13$^{a}$ | >5.13$^{a}$ | 5.03$^{a}$ | >5.13$^{a}$ | >5.13$^{a}$ | 5.04$^{a}$ | >5.13$^{a}$ | >5.13$^{a}$ |
| *Staphylococcus aureus* | 1 | 4.41$^{c}$ | 4.10$^{b}$ | 3.97$^{c}$ | <3.80$^{c}$ | <3.80$^{d}$ | 4.16$^{c}$ | <3.80$^{c}$ | <3.80$^{d}$ | <3.80$^{d}$ |
| | 5 | 4.86$^{b}$ | 4.21$^{b}$ | 4.24$^{bc}$ | 4.00$^{bc}$ | 4.23$^{c}$ | 4.56$^{b}$ | 3.83$^{c}$ | 3.92$^{c}$ | 4.24$^{c}$ |
| | 10 | >5.17$^{a}$ | 4.30$^{b}$ | 4.85$^{ab}$ | 4.28$^{b}$ | 4.80$^{b}$ | >5.17$^{a}$ | 4.35$^{b}$ | 4.53$^{b}$ | 4.76$^{b}$ |
| | 20 | >5.17$^{a}$ | >5.17$^{a}$ | >5.17$^{a}$ | 5.09$^{a}$ | >5.17$^{a}$ | >5.17$^{a}$ | 5.10$^{a}$ | >5.17$^{a}$ | >5.17$^{a}$ |
| *Enterococcus hirae* | 1 | 4.40$^{b}$ | 3.90$^{c}$ | 3.93$^{d}$ | <3.90$^{c}$ | <3.90$^{c}$ | 4.05$^{b}$ | <3.90$^{b}$ | <3.90$^{c}$ | <3.90$^{d}$ |
| | 5 | 4.99$^{a}$ | 4.10$^{c}$ | 4.26$^{c}$ | <3.90$^{c}$ | <3.90$^{c}$ | 5.15$^{a}$ | <3.90$^{b}$ | 3.97$^{c}$ | 4.23$^{c}$ |
| | 10 | >5.27$^{a}$ | 4.70$^{b}$ | 4.76$^{b}$ | 4.56b | 4.60$^{b}$ | 5.16$^{a}$ | 4.14$^{b}$ | 4.54$^{b}$ | 4.74$^{b}$ |
| | 20 | >5.27$^{a}$ | >5.27$^{a}$ | >5.27$^{a}$ | 5.13$^{a}$ | >5.27$^{a}$ | >5.27$^{a}$ | 5.15$^{a}$ | >5.27$^{a}$ | >5.27$^{a}$ |
| *Escherichia coli* | 1 | 4.63$^{c}$ | 4.32$^{c}$ | 4.08$^{c}$ | <3.96$^{d}$ | <3.96d | 4.45$^{c}$ | <3.96$^{c}$ | <3.96$^{d}$ | 4.10$^{d}$ |
| | 5 | 5.14$^{b}$ | 4.71$^{b}$ | 4.59$^{b}$ | 4.26$^{c}$ | 4.58$^{c}$ | 5.10$^{b}$ | <3.96$^{c}$ | 4.78$^{c}$ | 4.40$^{c}$ |
| | 10 | >5.33$^{a}$ | 5.08$^{a}$ | 5.10$^{a}$ | 4.84$^{b}$ | 5.02$^{b}$ | 5.22$^{ab}$ | 4.54$^{b}$ | 5.14$^{b}$ | 5.05$^{b}$ |
| | 20 | >5.33$^{a}$ | >5.33$^{a}$ | >5.33$^{a}$ | 5.19$^{a}$ | >5.33$^{a}$ | >5.33$^{a}$ | 5.20$^{a}$ | >5.33$^{a}$ | >5.33$^{a}$ |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์ของแต่ละเชื้อแบคทีเรียแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05) โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)




ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ของการลดลงของเชื้อแบคทีเรียต่อผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย และเวลา




ภาพที่ 6 เปรียบเทียบการลดลงของเชื้อแบคทีเรีย

## วิจารณ์และสรุปผล

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ 9 ชนิด ได้แก่ glutaraldehyde, alcohol, chlorine, benzalkonium chloride, phenol, peracetic acid, sodium hydroxide, iodine และ hydrogen peroxide ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ในด้านการปศุสัตว์อย่างแพร่หลาย ด้วยวิธีการทดสอบ suspension test EN 1276:2019 พบว่าประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อสอดคล้องกับการศึกษาของ Rutala and Weber (2008) ที่พบว่าผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่ออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดคือ glutaraldehyde และ peracetic acid สำหรับผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือ alcohol, chlorine, phenol, iodine และ hydrogen peroxide `ส่วน benzalkonium chloride และ sodium hydroxide มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ในการทดลองนี้ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) ซึ่งเหตุผลที่ glutaraldehyde และ peracetic acid มีประสิทธิภาพสูงกว่าผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ เนื่องจากมีกลไกการทำลายเชื้อที่ครอบคลุม โดย Glutaraldehyde ทำปฏิกิริยาแบบ cross-linking กับโปรตีนหลายตำแหน่งพร้อมกัน โดยทำลายทั้งเยื่อหุ้มเซลล์และโปรตีนภายในเซลล์ จึงมีประสิทธิภาพสูงในการทำลายสปอร์แบคทีเรียซึ่งทนทานมาก อีกทั้งมีประสิทธิภาพสูงแม้ในสภาวะที่มีสารอินทรีย์ปนเปื้อน (organic load) และเป็นผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อระดับสูงที่มี

ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา และสปอร์ได้ (McDonnell and Russell, 1999) ส่วน Peracetic acid เป็นสารออกซิไดซ์ที่แรงมาก สามารถทำลายพันธะซัลไฟด์และพันธะในโมเลกุลโปรตีน ทำลายเอนไซม์สำคัญ และทำลาย DNA ของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kitis, 2004) และ Peracetic acid มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้เร็วแม้ในอุณหภูมิต่ำ และมีความสามารถในการทำลายไบโอฟิล์มซึ่งมักทนต่อผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อทั่วไป (Bridier et al.,2011) ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพรองลงมาได้แก่ alcohol, chlorine, phenol, iodine และ hydrogen peroxide เนื่องจากมีข้อจำกัดในการฆ่าเชื้อ ซึ่ง alcohol ถึงแม้จะมีประสิทธิภาพดีกับ เชื้อแบคทีเรียบางชนิด แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์แบคทีเรียได้ และระเหยเร็ว ทำให้เวลาสัมผัสกับเชื้อสั้น (Rutala and Weber, 2020) ส่วน chlorine จะมีประสิทธิภาพลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสภาวะที่มีสารอินทรีย์ปนเปื้อน สลายตัวได้ง่าย และไม่เสถียร (Antonelli et al.,2013) สำหรับ phenol ออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียค่อนข้างช้า (Russell, 2019) กรณีของ iodine ถูกยับยั้งโดยสารอินทรีย์ได้ง่ายทำให้สีเปลี่ยน และมีประสิทธิภาพลดลงในสภาพที่เป็นด่าง (Gottardi,2001) ส่วน hydrogen peroxide มีความคงตัวต่ำ สลายตัว ได้ง่าย และที่ความเข้มข้นต่ำมีประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ได้น้อย (Linley et al., 2019) และจากผลการทดสอบนี้ เมื่อเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่ทำการทดสอบทั้งหมดพบว่า benzalkonium chloride และ sodium hydroxide มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ ซึ่งเกิดจาก benzalkonium chloride ออกฤทธิ์เฉพาะที่เยื่อหุ้มเซลล์ โดยทำลายชั้นไขมันที่ผนังเซลล์แบคทีเรีย ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ (Gerba, 2015) แบคทีเรียบางชนิดสามารถพัฒนาความต้านทานได้และประสิทธิภาพลดลงเมื่อมีสารอินทรีย์ปนเปื้อน (Chen and Roberts, 2020) จากผลการทดสอบ benzalkonium chloride ต้องใช้เวลาสัมผัสนานกว่าผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อชนิดอื่นสอดคล้องกับการศึกษาของ (Maillard, 2005) ดังนั้นการใช้ benzalkonium chloride เพื่อฆ่าเชื้อต้องเพิ่มระยะเวลาสัมผัสให้นานขึ้น ส่วน sodium hydroxide ประสิทธิภาพจะขึ้นกับค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) หากค่า pH ไม่เหมาะสมจะฆ่าเชื้อได้ไม่ดี (Thompson et al., 2019) และ sodium hydroxide สามารถทำปฏิกิริยากับ $CO_2$ ในอากาศ ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น อีกทั้งในการทดสอบ ครั้งนี้มีการเติม bovine albumin เพื่อเป็นสารจำลองแทนอินทรีย์สารที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม จึงทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อลดลงเนื่องจากเกิดปฏิกิริยากับไขมันและโปรตีน อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อทั้ง 2 ชนิด ยังคงมีประโยชน์ ในบางสถานการณ์ เช่น sodium hydroxide มีประสิทธิภาพในการทำความสะอาด และละลายสารอินทรีย์ได้ดี (Kahrs, 1995)

ระยะเวลาสัมผัสระหว่างผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อและเชื้อแบคทีเรีย มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ (Russell, 2004) เนื่องจากผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต้องอาศัยเวลาเพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ การจับกับเป้าหมายทางชีวเคมี และการเกิดปฏิกิริยาที่นำไปสู่การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Maillard, 2002) ด้วยเหตุนี้ระยะเวลาในการสัมผัสที่เพียงพอจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการฆ่าเชื้อ (McDonnell, 1999) และเมื่อปล่อยให้เวลาที่ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อสัมผัสกับจุลินทรีย์นานขึ้น จะทำให้จุลินทรีย์ถูกยับยั้งหรือถูกทำลายมากขึ้น (Denyer, 1998) จากการทดสอบพบว่า glutaraldehyde และ peracetic acid สามารถฆ่าเชื้อได้รวดเร็วที่สุด ในระยะเวลา 10 นาที สำหรับผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อส่วนใหญ่จะฆ่าเชื้อได้ในระยะเวลา

มากกว่า 20 นาที ส่วน benzalkonium chloride และ sodium hydroxide ฆ่าเชื้อได้ช้าที่สุด ดังนั้นจะต้องปล่อยให้มีระยะเวลาการฆ่าเชื้อมากขึ้น (Block, 2001) ผลการศึกษานี้สนับสนุนหลักการจลนศาสตร์การฆ่าเชื้อ และแสดงให้เห็นว่าการให้เวลาเพียงพอสำหรับกระบวนการฆ่าเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่ไม่ควรละเลย และการเข้าใจความสัมพันธ์นี้จะช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถ ฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยคำนึงถึงข้อจำกัดด้านเวลาและทรัพยากรในสถานการณ์จริง

อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ภัณฑ์ฆ่าเชื้อแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อจะทำให้มีโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ปริมาณมากขึ้น สามารถทำปฏิกิริยากับเซลเป้าหมายได้อย่างรวดเร็ว จึงสามารถลดระยะเวลาสัมผัสกับพื้นผิวหรือวัสดุที่ต้องการฆ่าเชื้อ

การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าผลประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ glutaraldehyde ~ peracetic acid > alcohol~ chlorine~ phenol~iodine ~ hydrogen peroxide > benzalkonium chloride ~ sodium hydroxide และพบว่าประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อขึ้นอยู่กับระยะเวลาสัมผัสโดยผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อส่วนใหญ่ต้องการเวลาสัมผัสมากกว่า 20 นาที เพื่อให้สามารถลดจำนวนเชื้อได้มากกว่า 5 log

การใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ควรทำความสะอาดพื้นผิวให้ปราศจากสารอินทรีย์ก่อนการใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ มีการตรวจสอบความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อเป็นประจำ โดยเฉพาะในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูง การเตรียมผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ ต้องเตรียมในปริมาณที่พอเหมาะกับการใช้งาน และหลีกเลี่ยงการเก็บรักษาเป็นเวลานาน โดยเฉพาะ peracetic acid และ chlorine ซึ่งมีการเสื่อมประสิทธิภาพในระยะเวลาอันรวดเร็ว (Antonelli et al., 2013) ใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อในความเข้มข้นที่เหมาะสมและเวลาสัมผัสที่เพียงพอเพื่อให้เกิดการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์และมีการหมุนเวียนการใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ เพื่อลดโอกาสการเกิดเชื้อดื้อยา

การศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อได้อย่างเหมาะสมในสถานการณ์ต่าง ๆ อย่างไรก็ตาม การตัดสินใจเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ ควรพิจารณาปัจจัยอื่น ๆ ประกอบด้วย เช่น ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ ความสะดวกในการใช้งาน และเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการขึ้นทะเบียนจากกรมปศุสัตว์ อย่างไรก็ตาม ผลทดสอบจากห้องปฏิบัติการเป็นข้อมูลเบื้องต้นและอาจให้ผลแตกต่างจากการทดสอบในภาคสนาม ซึ่งมีปัจจัยต่างๆ เข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น อินทรีย์วัตถุ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความกระด้างของน้ำ (hardness of water) และไบโอฟิล์ม (Biofilm) เป็นต้น ดังนั้นการทดสอบในภาคสนามหรือพื้นที่การใช้งานจริงจึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อเป็นการยืนยันว่า ผลจากห้องปฏิบัติการไม่แตกต่างจากภาคสนามในอนาคตควรขยายขอบเขตการศึกษาให้ครอบคลุมเชื้อก่อโรค ชนิดอื่น ๆ รวมถึงไวรัสและเชื้อรา ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อร่วมกัน (combination) เพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อรูปแบบใหม่ ๆ เพิ่มประสิทธิภาพและลดผลข้างเคียง และศึกษาเกี่ยวกับกลไกการดื้อต่อผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อของแบคทีเรียด้วย นอกจากนี้ การศึกษาผลกระทบของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อต่อสิ่งแวดล้อมและการพัฒนาผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้นก็เป็นประเด็น ที่ควรให้ความสำคัญในอนาคต

**กิตติกรรมประกาศ**

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ที่ได้ที่อนุญาตให้ใช้อุปกรณ์ทดสอบและสถานที่สำหรับใช้ในการทดสอบ และอนุเคราะห์ตรวจสอบปริมาณสารสำคัญของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อทางห้องปฏิบัติการ รวมทั้งขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินการวิจัย จนงานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง


กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ กรมปศุสัตว์. 2566.ระบบบริการอิเลคทรอนิคส์ ปี 2567. http://eservice.afvc.dld.go.th/dld-portal/doLogin.do

พลวัฒน์ จันทร์ผิว. 2561. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารผสมระหว่าง Ethanol และ Clorox® ในห้องปฏิบัติการ. ศรีนครินทร์เวชสาร. 33(5): 444-450.

สุวรรณา เธียรอังกูร, ปรียา ปิ่นนิล, กนกอร กรีเหลี่ยง และ สิราวรรณ อ้นเกตุ. 2562. ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเชิงปริมาณของแฮนด์รับแอลกอฮอล์ในประเทศไทยใช้วิธีดัดแปลง EN 1276:200. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 61(2): 60-72.

Antonelli M, Turolla A, Mezzanotte V, Nurizzo C. 2013. Peracetic acid for secondary effluent disinfection: a comprehensive performance assessment. Water Sci Technol. 68(12): 2638-2644.

Best M, Sattar SA, Springthorpe VS, Kennedy ME. 1988. Comparative mycobactericidal efficacy of chemical disinfectants in suspension and carrier tests. Appl Environ Microbiol. 54(11): 2856-2858.

Block SS. 2001. Disinfection, sterilization, and preservation. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1504 p.

Bloomfield SF, Partel H. 1991. Comparative testing of disinfectant and antiseptic products using proposed European suspension testing methods. Lett Appl Microbiol. 13(5): 233-237.

Bragg R, Jansen A, Coetzee M, van der Westhuizen W, Boucher C. 2014. Bacterial resistance to Quaternary Ammonium Compounds (QAC) disinfectants. Adv Exp Med Biol. 808: 1-13.

Bridier A, Briandet R, Thomas V, Dubois-Brissonnet F. 2011. Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: A review. Biofouling. 27(9): 1017-1032.

Centers for Disease Control and Prevention. 2019. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. 163 p.

Denyer SP. 1998. Mechanisms of action of antibacterial biocides. Int Biodeterior Biodegradation. 41(3-4): 261-268.

European Committee for Standardization. 2019. EN 1276:2019 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic and institutional areas - Test method and requirements (phase 2, step 1). CEN. 43 p.

Gerba CP. 2015. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. Appl Environ Microbiol. 81(2): 464-469.

Gottardi W. 2001. Iodine and iodine compounds. In: Block SS, editor. Disinfection, sterilization, and preservation. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p. 159-184.

Kahrs RF. 1995. Principles of disinfection of veterinary facilities. J Am Vet Med Assoc. 206(7): 1007-1014.

Kitis M. 2004. Disinfection of wastewater with peracetic acid: A review. Environ Int. 30(1): 47-55.

Lineback CB, Nkemngong CA, Wu ST, Li X, Teska PJ, Oliver HF. 2018. Hydrogen peroxide and sodium hypochlorite disinfectants are more effective against Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa biofilms than quaternary ammonium compounds. Antimicrob Resist Infect Control. 7(1): 1-7.

Linley E, Denyer SP, McDonnell G, Simons C. 2019. Use of hydrogen peroxide as a biocide: new consideration of its mechanisms of biocidal action. J Antimicrob Chemother. 74(7): 1789-1799.

Machado I, Lopes SP, Sousa AM, Pereira MO. 2021. Adaptive response of single and binary Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli biofilms to benzalkonium chloride. J Basic Microbiol. 52(1): 43-52.

Maillard JY. 2002. Bacterial target sites for biocide action. J Appl Microbiol. 92(Suppl): 16S-27S.

Maillard JY. 2005. Antimicrobial biocides in the healthcare environment: efficacy, usage, policies, and perceived problems. Ther Clin Risk Manag. 1(4): 307-320.

McDonnell G. 2021. Antisepsis, disinfection, and sterilization: Types, action, and resistance. 2nd ed. Washington, DC: ASM Press. 432 p.

McDonnell G, Russell AD. 1999. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. Clin Microbiol Rev. 12(1): 147-179.

Power EGM, Russell AD. 1990. Sporicidal action of alkaline glutaraldehyde: factors influencing activity and a comparison with other aldehydes. J Appl Bacteriol. 69(2): 261-268.

Russell AD. 2019. Mechanisms of antimicrobial action of phenolic compounds. J Appl Microbiol. 95(2): 213-235.

Rutala WA, Weber DJ. 2008. Guideline for disinfection and sterilization in Healthcare facilities. Centers for Disease Control and Prevention. 163 p.

World Health Organization. 2020. Guide to Local Production: WHO-recommended Handrub Formulations. Geneva: WHO.

Zaman T, Siddiqui J. 2015. Comparison of different surface cleaner's efficacy with the help of statistical analysis. IOSR J Humanit Soc Sci. 20(4): 87-93.

# Comparison of bactericidal efficacy of disinfectants: glutaraldehyde, alcohol, chlorine, benzalkonium chloride, phenol, peracetic acid, sodium hydroxide, iodine and hydrogen peroxide in laboratory conditions

Sudarat Chuachan[1] Jaroonlak Ma-iad[2] Kitilak Mailiang[2] Sarunya Kotakarn[2] Kloychai Polsena[2]
[1]Department of Livestock Development and Certification, Department of Livestock, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok 10400
[2]Bureau of Quality Control of Livestock Products, Department of Livestock, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Pathum Thani 12000
Corresponding author, Email: sudaratchuachan@gmail.com

## Abstract

The objective of this research was to evaluate and compare the bactericidal effectiveness of nine disinfectants frequently utilized in livestock management glutaraldehyde, alcohol, chlorine, benzalkonium chloride, phenol, peracetic acid, sodium hydroxide, iodine and hydrogen peroxide against four bacterial pathogens Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae and Escherichia coli. The assessment by suspension test followed the EN 1276: 2019 standard, quantifying bacterial reduction as log reduction. Bacterial suspensions were created at concentrations ranging from $1.5 \times 10^8$ to $5 \times 10^8$ cfu/mL and were exposed to the disinfectants for contact times of 1, 5, 10 and 20 minutes. Findings revealed that glutaraldehyde 1% and peracetic acid 0.2% demonstrated the highest bactericidal effectiveness against all four bacterial strains, achieving over 5 log reduction in just 10 minutes. They were followed by alcohol 60%, chlorine 0.1%, iodine 0.5%, phenol 1% and hydrogen peroxide 0.5%, which all reached over 5 log reduction within 20 minutes. In contrast, 0.05% benzalkonium chloride 0.05% and sodium hydroxide 1%exhibited lower effectiveness compared to the other disinfectants. The variations in efficacy among the three performance levels were statistically significant ($p<0.05$). This study highlights glutaraldehyde and peracetic acid as the most potent disinfectants; however, factors such as safety, cost and the nature of surfaces needing disinfection should also be taken into account when choosing disinfectants for livestock use.

**Keywords**: Disinfectants, Bactericidal effectiveness, Contact time, Log reduction