การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนหนังสือต่อน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

นุศรา ยินยอม, ปิญชาน์ พิมพานุวัตร, พีระ สำเภาเงิน และศิริวรรณ วิชัย

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร

และคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

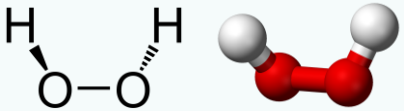
การกำจัดหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บนกระดาษด้วยการใช้สารเคมี

- แอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 50-90%

  ทำให้โปรตีนตกตะกอนและเสียสภาพมีผลต่อแบคทีเรีย ไวรัส และฟังไจ

  ไม่ทำลายสปอร์ ในการยับยั้งเชื้อรา

การใช้ butanol 80-90%, isopropanol 30% และ ethanol 90% ยับยั้งเซลล์ของ *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Chaetomium globosum* และ *Trichoderma viride* บนกระดาษได้แต่ไม่ยับยั้งสปอร์ (Baciikova 2006,น.186)



น้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ความไวของเชื้อที่แยกได้จากบาดแผลผู้ป่วยต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3%

tube dilution method

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, *Proteus* spp., Coagulase negative Staphylococci, *Klebsiella pneumonia* และ *Pseudomonas aeruginosa*

กำจัดจุลินทรีย์ได้ทั้งหมดภายในเวลา 10 นาที

(Mama, M. et al, 2014 น.1)

การทดสอบความไวต่อน้ำยาฆ่าเชื้อของ non fermenting gram negative bacilli ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาล

agar cup diffusion method

จากจำนวน 240 ไอโซเลท มีความไวต่อไฮโดรเจน-เปอร์ออกไซด์ คิดเป็น 97%

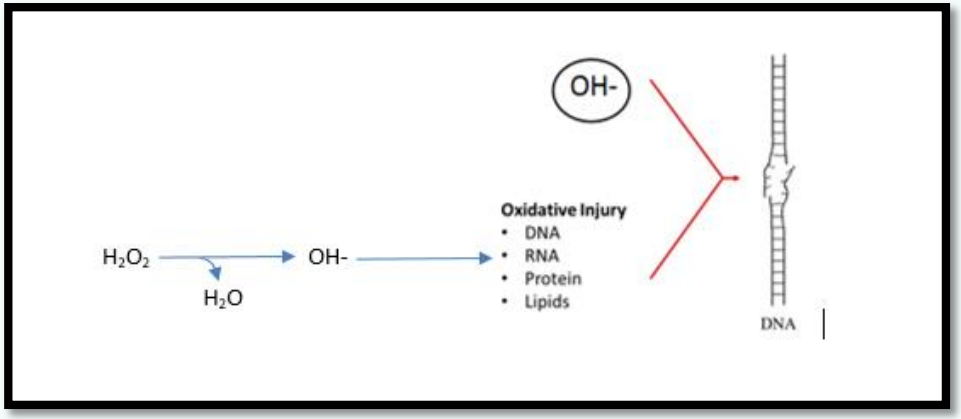
Bhuvaneshwari, G. et al, 2018 น.1313

วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบความไวของเชื้อที่แยกได้จากหนังสือในสำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยนเรศวรต่อน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิค disc diffusion method

สมมติฐานการวิจัย

น้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็น oxidizing agent มีฤทธิ์ในการทำลายดีเอ็นเอ เยื่อหุ้มเซลล์ตลอดจนองค์ประกอบอื่นๆของ**เซลล์จุลินทรีย์ที่แยกได้จากหนังสือนำไปใช้ในการทำความสะอาดหนังสือได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพเมื่อเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสม**



ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงาน

วัสดุ อุปกรณ์ และอาหารเลี้ยงเชื้อ

1) อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment) ได้แก่ ชุดปฏิบัติงาน หมวก ถุงมือ หน้ากากกรองอากาศ แว่นตา

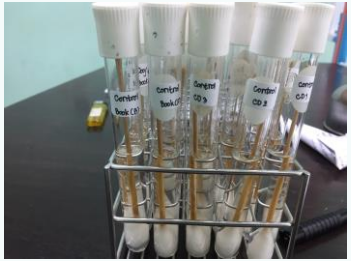
2) อุปกรณ์ในการแยกและการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อรา Sabouraud dextrose agar (SDA) อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Tryptic soy agar (TSA) สารละลายเจือจาง 0.85%NaCl ไม้พันสำลี

3) อุปกรณ์ในการทดสอบความไวต่อน้ำยาฆ่าเชื้อ ได้แก่ เอธานอล 70%, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10%, 20% และ 30% กระดาษ paper disc เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

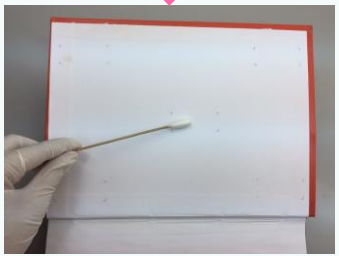
ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงาน

การแยกเชื้อจากหนังสือ

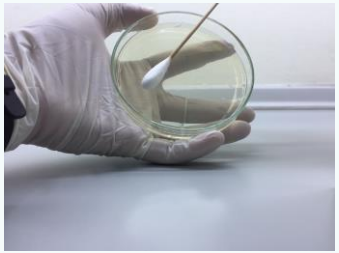
ตัวอย่างหนังสือจำนวน 10 เล่ม
จากสำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร



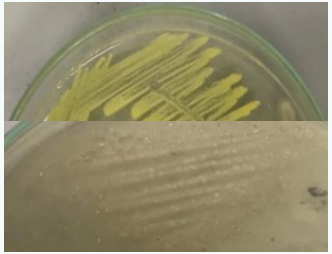
ไม้พันสำลีจุ่มสารละลาย 0.85%NaCl



แยกเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค
wet and dry swab



streak plate ลงบนอาหาร TSA และ
SDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน
และ 5 วัน



สังเกตลักษณะโคโลนีของเชื้อ
และทำให้บริสุทธิ์

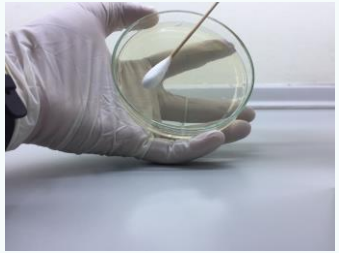
ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงาน

การทดสอบความไวต่อน้ำยาฆ่าเชื้อ (อมรรัตน์ และคณะ, 2016 น.69-82)

การเตรียมจุลินทรีย์ทดสอบ

เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้บนอาหาร TSA บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง เตรียมเซลล์แขวนตะกอน (Cell suspension) ในสารละลาย 0.85% NaCl วัดความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรให้มีค่าการดูดกลืนแสง 0.08-0.1 ปริมาณเซลล์ประมาณ 10^8 CFU/ml เตรียมสปอร์เชื้อราโดยการเลี้ยงบนอาหาร SDA ประมาณ 5 วัน

การทดสอบความไวด้วยเทคนิค agar disc diffusion

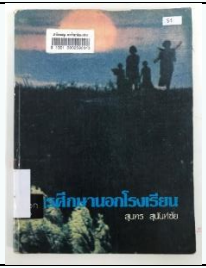
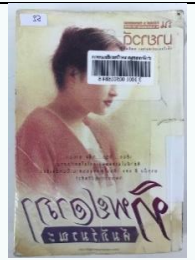
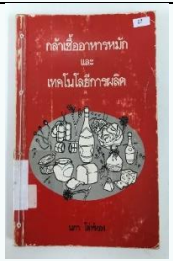
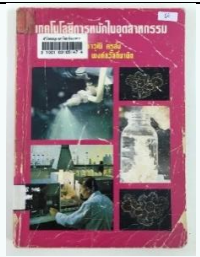
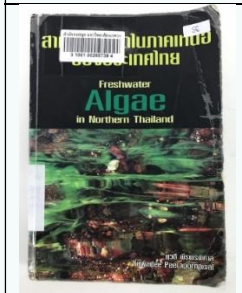


ป้ายเซลล์ (swab) ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร TSA

วางแผ่น paper disc หยดสารที่ต้องการทดสอบลงบนแผ่น paper disc ตำแหน่งละ 10 µl

วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone)

ผลการทดลอง

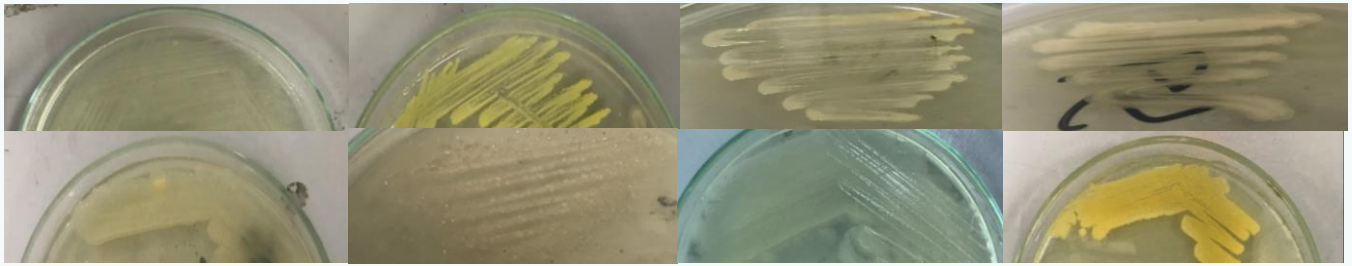
ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3	ตัวอย่างที่ 4	ตัวอย่างที่ 5
				
ตัวอย่างที่ 6	**ตัวอย่างที่ 7**	**ตัวอย่างที่ 8**	**ตัวอย่างที่ 9**	**ตัวอย่างที่ 10**
				

ตัวอย่างหนังสือทั้งหมด 10 เล่ม ที่เก็บรักษาไว้ที่สำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยนเรศวร

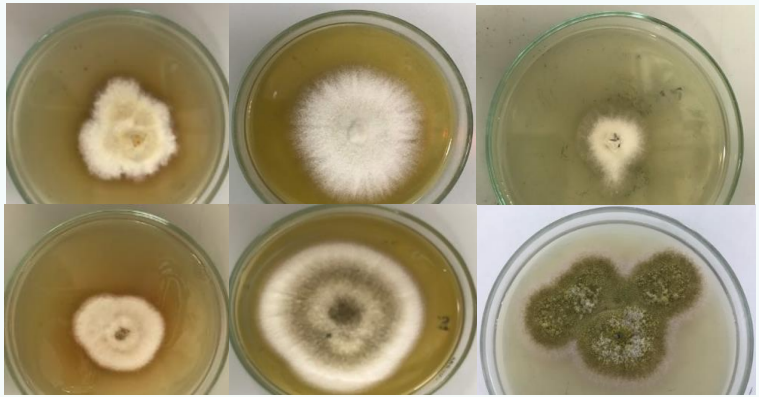
หนังสือเหล่านี้เป็นหนังสือเก่าและเคยเปียกน้ำมาก่อน

การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากหนังสือ

แบคทีเรีย 8 ไอโซเลท

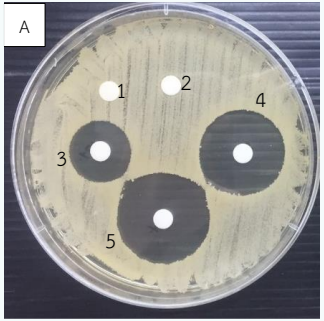


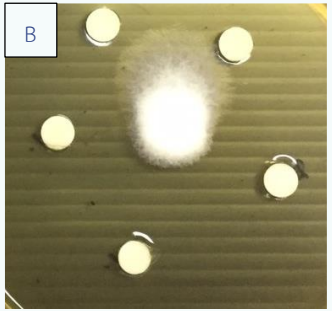
เชื้อรา 6 ไอโซเลท

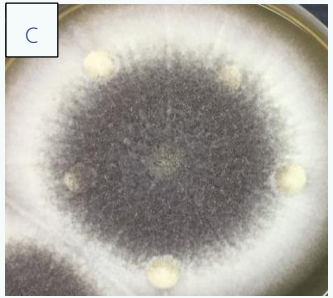


ความไวของจุลินทรีย์ที่แยกได้ต่อน้ำยาฆ่าเชื้อ

รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) (มิลลิเมตร)				
	เอธานอล 70%	H_2O_2 10%	H_2O_2 20%	H_2O_2 30%	control
B1	<6	22±4.2	25.5±3.5	29.5±0.7	<6
B2	<6	<6±0	25.0±1.4	32.0±1.4	<6
B3	<6	16.5±3.5	26.0±0	27.5±0.7	<6
B5	<6	18.0±1.4	29.5±2.1	33.0±0	<6
B6	<6	22.0±0	23.0±5.7	31.0±1.4	<6
B7	<6	20.0±1.4	31.8±0.4	37.3±0.4	<6
B10	<6	18.3±1.1	25.5±1.4	28.8±2.5	<6
B12	<6	19.8±2.5	26.3±1.8	28.8±3.2	<6







เชื้อราไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10% ขึ้นไป มีฤทธิ์ยับยั้งทั้งหมด 4 ไอโซเลท 2 ไอโซเลททนต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ >30%

(A) แสดงบริเวณยับยั้งของ paper disc ต่อแบคทีเรีย (B) แสดงบริเวณยับยั้ง ของ paper disc ต่อเชื้อรา และ (C) แสดง hydrogen peroxide ที่ไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา

สรุปผลการทดลอง

การใช้น้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10% หรือมากกว่ามีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่พบบนหนังสือได้เท่ากับ 86% จึงสามารถใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อเพื่อทำความสะอาดหนังสือและทรัพยากรสารสนเทศที่มีอยู่ในห้องสมุดได้ และหากควบคุมปัจจัยอื่น เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์และปริมาณจุลินทรีย์ในอากาศในห้องเก็บรักษาหนังสือจะสามารถยืดอายุหนังสือให้นานขึ้นได้

ข้อเสนอแนะ

ผลการทดสอบพบว่ามีเชื้อราบางไอโซเลทที่ทนต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ควรมีการศึกษาหาแนวทางการกำจัดเชื้อราและสปอร์ต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์บนหนังสือและทรัพยากรสารสนเทศโดยการเช็ดทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10% ขึ้นไป ก่อนและหลังการบริการยืม-คืน

THANKS