

การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนหนังสือต่อน้ำยาฆ่าเชื้อ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

Susceptibility Testing of Contaminated Microorganisms on The Books to Hydrogen Peroxide Disinfectant

นุศรา ยินยอม*, ปิณชาน์ พิมพานูวัตร*, พิระ ลำเนาเงิน**, ศิริวรรณ วิชัย*

*คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

**สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร

nusaray57@email.nu.ac.th

tulip-flower20@hotmail.com

pheeras@nu.ac.th

siriwanwichai@nu.ac.th

บทคัดย่อ

หนังสือและทรัพยากรสารสนเทศในสำนักหอสมุดที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน ผู้ใช้บริการและส่งผลต่อคุณภาพของอากาศภายในอาคาร การทำความสะอาดหนังสือด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสามารถลดปริมาณการปนเปื้อนลงได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความไวของเชื้อที่แยกได้จากหนังสือในสำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยนเรศวรต่อน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิค Disc diffusion Method ผลการวิจัยพบว่าสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนตัวอย่างหนังสือ 10 เล่ม ได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลทที่แตกต่างกัน แบ่งออกเป็นแบคทีเรีย 8 ไอโซเลท และเชื้อรา 6 ไอโซเลท และพบว่าแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนหนังสือทนต่อเอทานอล 70% แต่มีความไวต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10%, 20% และ 30% ซึ่งเป็นสาร Oxidizing Agent มีฤทธิ์ในการทำลายดีเอ็นเอ เยื่อหุ้มเซลล์ตลอดจนองค์ประกอบอื่นๆของเซลล์ นอกจากนั้นเชื้อราที่แยกได้มีความไวต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จำนวน 4 ไอโซเลทจาก 6 ไอโซเลท ดังนั้นน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10% ขึ้นไป สามารถนำไปใช้ทำความสะอาดหนังสือและทรัพยากรสารสนเทศในห้องสมุดเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและเชื้อราที่ปนเปื้อนเพื่อความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงานและผู้ใช้บริการได้

คำสำคัญ: น้ำยาฆ่าเชื้อ, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, การทดสอบความไวของเชื้อ, หนังสือปนเปื้อน

ABSTRACT

Book and information resources contaminated with microorganisms in the library may be harmful to operators and customers. Cleaning books by using appropriate disinfectant can reduce the contamination. This study aims to determine the susceptibility testing of microorganism that contaminated on the books from Naresuan University Library to hydrogen peroxide disinfectant by disc diffusion technique. The results found that 14 isolates were obtained from 10 books and then were classified to 8 isolates of bacteria and 6 of molds. Then 14 isolates of bacteria can resist to ethanol 70% but sensitive to hydrogen peroxide 10, 20 and 30%. Because its affect to DNA, cell membrane and other elements of microbial cells. Moreover, it was indicated that 4 isolates of all mold were sensitive to hydrogen peroxide. Therefore, 10% hydrogen peroxide or more can be used to clean up books and information resources to reduce the amounts of bacteria and fungi contaminated to the safety of operators and users.

Keyword: Disinfectant, Hydrogen Peroxide, Susceptibility Testing, Contaminated Book

บทนำ

การเสื่อมสลายของหนังสือจากจุลินทรีย์เป็นปัญหาที่พบอยู่เป็นประจำในห้องสมุด พิพิธภันท์ และแหล่งเก็บรักษาจดหมายเหตุ แบคทีเรียและเชื้อราสามารถเจริญโดยได้รับสารอาหารจากการย่อยกระดาษโดยพบว่าเชื้อราในกลุ่ม Cellulose Fungi จะสร้างเอนไซม์ Extracellular Cellulase ย่อยเซลลูโลสได้น้ำตาลโมเลกุลเล็ก ซึ่งถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ (Gallo, 1998, p. 61) และ Excreted Organic Acids ทำให้กระดาษเปื่อยยุ่ย (Abdel-Kareem 2010, p. 40)

การกำจัดหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บนกระดาษด้วยการใช้สารเคมี เช่น แอลกอฮอล์ เป็นวิธีที่ใช้กันมานาน ความเข้มข้นที่ใช้เท่ากับ 50-90% ออกฤทธิ์โดยทำให้โปรตีนตกตะกอนและเสียสภาพมีผลต่อแบคทีเรีย ไวรัสและฟังไจแต่ไม่มีรายงานการทำลายสปอร์ ในการยับยั้งเชื้อราที่มีรายงานการใช้ Butanol 80-90%, Isopropanol 30% และ Ethanol 90% ยับยั้งเซลล์ของ *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Chaetomium globosum* และ *Trichoderma Viride* บนกระดาษได้แต่ไม่ยับยั้งสปอร์ (Baciikova, 2006, p. 186) สำหรับน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็น Oxidizing Agent มีรายงานการทดสอบความไวของเชื้อที่แยกได้จากบาดแผลผู้ป่วยต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3% ด้วยเทคนิค Tube Dilution Method พบว่า *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, *Proteus Spp.*, Coagulase Negative Staphylococci, *Klebsiella Pneumonia* และ *Pseudomonas Aeruginosa* พบว่าสามารถกำจัดจุลินทรีย์ได้ทั้งหมดภายในเวลา 10 นาที (Mama, 2014, p. 1) (Bhuvaneshwari, 2018 p. 1313) ได้รายงานการทดสอบความไวต่อน้ำยาฆ่าเชื้อของ Non Fermenting Gram Negative Bacilli ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาล ด้วยเทคนิค Agar Cup Diffusion Method พบว่า จากจำนวน 240 ไอโซเลท มีความไวต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ คิดเป็น 97% นอกจากนั้นมียางานการวิจัยการศึกษาความไวของเชื้อราที่แยกได้จากหนังสือและทรัพยากรสารสนเทศอื่นๆที่เก็บรักษาไว้ที่พิพิธภันท์ Tianjin

ประเทศจีนต่อ Biocide ชนิดต่างๆด้วยเทคนิค Disc Diffusion Method พบว่า Isothiazolinones มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการกำจัดเชื้อรา Genus Aspergillus, Penicillium และ Chaetomium และพบว่าสารเคมี Methylisothiazolinone และ Benzyl Alcohol มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด แต่อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีดังกล่าวก่อนนำมาใช้จริง (Zijun, 2018, p. 10) การทำความสะอาดหนังสือและทรัพยากรสารสนเทศเป็นงานประจำของบุคลากรของห้องสมุด ซึ่งต้องการวิธีและสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนและปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน งานวิจัยครั้งนี้ได้เลือกใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ที่แยกได้จากหนังสือ เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆตามที่กล่าวไปข้างต้นตลอดจนมีความสะดวกและปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน

วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบความไวของเชื้อที่แยกได้จากหนังสือในสำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวรต่อน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิค Disc Diffusion Method

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงาน

1. วัสดุ อุปกรณ์ และอาหารเลี้ยงเชื้อ

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

1.2 อุปกรณ์ในการแยกและการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อรา Sabouraud Dextrose agar (SDA) อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Tryptic Soy Agar (TSA) สารละลายเจือจาง 0.85% NaCl ไม้ปั่นสำลี

1.3 อุปกรณ์ในการทดสอบความไวต่อน้ำยาฆ่าเชื้อ ได้แก่ เอทานอล 70%, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10%, 20% และ 30% กระดาษ Paper Disc เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2. การแยกเชื้อจากหนังสือ

2.1 ตัวอย่างหนังสือจำนวน 10 เล่มจากสำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร

2.2 แยกเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค Wet and Dry Swab โดยใช้ไม้ปั่นสำลีจุ่มสารละลาย 0.85%NaCl ป้ายบนปกหน้า-หลังของหนังสือ จากนั้น Streak Plate ลงบนอาหาร TSA และ SDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน และ 5 วัน ตามลำดับ สังเกตลักษณะโคโลนีของเชื้อและทำให้บริสุทธิ์

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

3.1 การเตรียมจุลินทรีย์ทดสอบ โดยเฉพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้บนอาหาร 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

3.2 การทดสอบความไวด้วยเทคนิค Agar Disc Diffusion โดยป้ายเซลล์ (Swab) ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร TSA จากนั้นวางแผ่น Paper Disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อหยดสารที่ต้องการทดสอบลงบนแผ่น Paper Disc ตำแหน่งละ 10 ไมโครลิตร ใช้ Paper Disc ที่ไม่มีสารเป็น

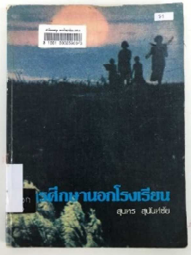
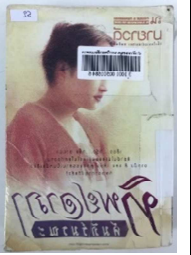
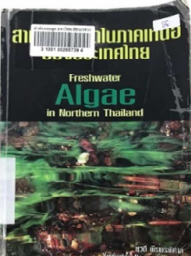
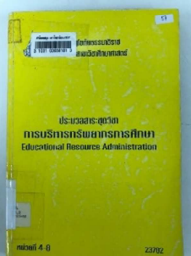
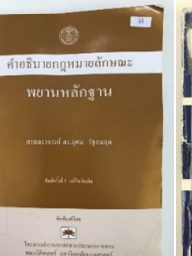
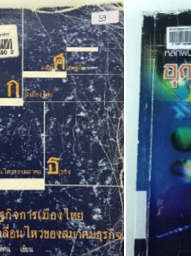
Control บ่มงานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน สำหรับเชื้อราเริ่มจากวางสปอร์ของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA บริเวณตรงกลางงานเพาะเชื้อ จากนั้นวาง Paper Disc รอบๆราทดสอบ หยดสารที่ต้องการทดสอบบน Paper Disc เช่นเดียวกัน บ่ม 3-5 วัน วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone)

สรุปผล อภิปรายผล ข้อเสนอแนะ และการนำไปใช้ประโยชน์

สรุปผล และอภิปรายผล

ลักษณะของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากตัวอย่างหนังสือ จากตัวอย่างหนังสือทั้งหมด 10 เล่ม ที่เก็บรักษาไว้ที่สำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยนเรศวร หนังสือเหล่านี้เป็นหนังสือเก่าและเคยเปียกน้ำมาก่อนดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างหนังสือที่ทำการทดสอบจากสำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร

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

ผลการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากหนังสือได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลทที่แตกต่างกัน ประกอบด้วยแบคทีเรีย 8 ไอโซเลท และเชื้อรา 6 ไอโซเลท ดังแสดงในภาพที่ 1 และภาพที่ 2 จากลักษณะสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์พบว่าเป็นจุลินทรีย์ทั่วไป พบได้ในธรรมชาติ เจริญได้ง่ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านความเสี่ยงและการประเมินความเสี่ยงของการก่อให้เกิดโรคต่อไป

B1 ตัวอย่างหนังสือ 8



B2 ตัวอย่างหนังสือ 2



B3 ตัวอย่างหนังสือ 1



B5 ตัวอย่างหนังสือ 7



B6 ตัวอย่างหนังสือ 3



B7 ตัวอย่างหนังสือ 3



B10 ตัวอย่างหนังสือ 9

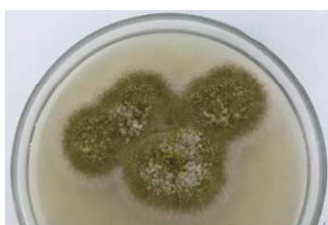


B12 ตัวอย่างหนังสือ 6



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะแบคทีเรียที่แยกได้จากหนังสือบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน

F1 ตัวอย่างหนังสือ 4



F2 ตัวอย่างหนังสือ 6



F3 ตัวอย่างหนังสือ 7



F4 ตัวอย่างหนังสือ 7



F5 ตัวอย่างหนังสือ 5



F6 ตัวอย่างหนังสือ 5

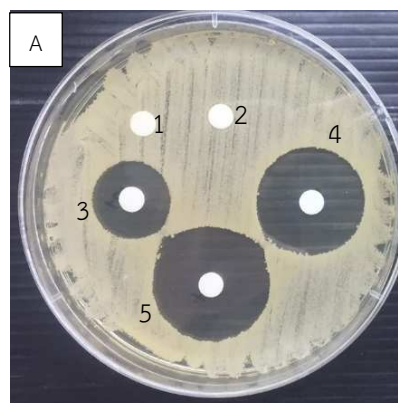


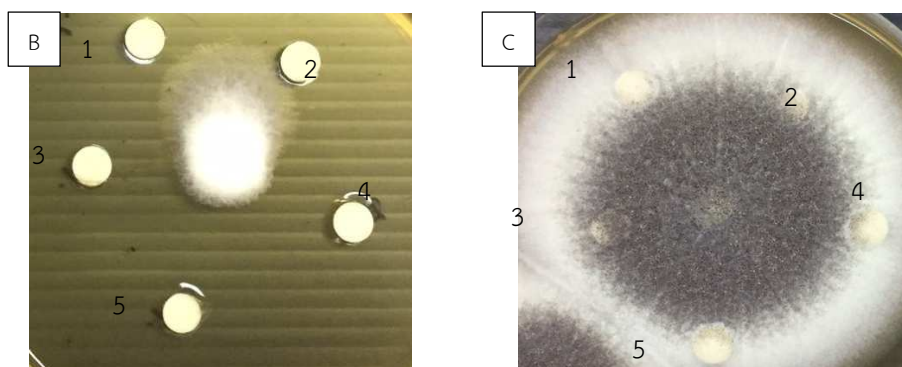
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะเชื้อราที่แยกได้จากหนังสือบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA ปุ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

ความไวของจุลินทรีย์ที่แยกได้น้ำยาฆ่าเชื้อ การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ที่แยกได้ต่อน้ำยาฆ่าเชื้อ เอทานอล 70% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10%, 20% และ 30% ค่าการยับยั้งแบคทีเรียดังแสดงในตารางที่ 2 และลักษณะการยับยั้งแสดงในภาพที่ 3

ตารางที่ 2 แสดงผลการทดสอบความไว (Susceptibility Testing) ของแบคทีเรียที่แยกได้

รหัส	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) (มิลลิเมตร)				
	Ethanol 70%	H ₂ O ₂ 10%	H ₂ O ₂ 20%	H ₂ O 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





ภาพที่ 3 ผลการทดสอบความไวของแบคทีเรีย และเชื้อรา (A) แสดงบริเวณยับยั้งของ paper disc ควบคุม, 70% Ethanol , 10%, 20% และ 30% hydrogen peroxide ต่อแบคทีเรีย (B) แสดงบริเวณยับยั้ง ของ Paper Disc ควบคุม, 70% Ethanol, 10%, 20% และ 30% Hydrogen Peroxide ต่อเชื้อรา และ (C) แสดง 70% Ethanol, 10%, 20% และ 30% Hydrogen Peroxide ที่ไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา

หมายเหตุ Paper disc ควบคุม (1), 70% ethanol (2), 10% hydrogen peroxide (3), 20% hydrogen peroxide (4), 30% hydrogen peroxide (5)

ผลการทดสอบความไวพบว่าแบคทีเรีย 7 ไอโซเลท (ยกเว้น B2) ถูกยับยั้งด้วย Hydrogen Peroxide 10% เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 20% และ 30% แบคทีเรียทุกไอโซเลทถูกยับยั้ง โดยมีขนาด Inhibition Zone มากขึ้น โดยทั่วไปไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้ในการทำแผลมีความเข้มข้น 3% มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคเพื่อป้องกันการติดเชื้อ ในกรณีนี้ใช้กับหนังสือที่ปนเปื้อนจึงต้องการความเข้มข้นที่สูงขึ้น ส่วนแอลกอฮอล์ 70% ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 8 ไอโซเลทได้ ผลการทดสอบความไวของเชื้อราพบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10%ขึ้นไป มีฤทธิ์ยับยั้งทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ F2, F3, F4 และ F6 ส่วน F1 และ F5 ทนต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นมากกว่า 30% สรุปได้ว่าการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10%หรือมากกว่ามีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่พบบนหนังสือได้เท่ากับ 86% จึงสามารถใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อเพื่อทำความสะอาดหนังสือและทรัพยากรสารสนเทศที่มีอยู่ในห้องสมุดได้ และหากควบคุมปัจจัยอื่นเช่น อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์และปริมาณจุลินทรีย์ในอากาศในห้องเก็บรักษาหนังสือจะสามารถยืดอายุหนังสือให้นานขึ้นได้

ข้อเสนอแนะ

ผลการทดสอบพบว่าเชื้อราบางไอโซเลทที่ทนต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ควรมีการศึกษาหาแนวทางการกำจัดเชื้อราและสปอร์ต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์บนหนังสือและทรัพยากรสารสนเทศโดยการทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10% ขึ้นไป ก่อนและหลังการบริการยืม-คืน

รายการอ้างอิง

- อมรรัตน์ สีสุกอง, กัลยาภรณ์ จันตรี, และศรีสุตา หาญภาคภูมิ. (2016). การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากวัชพืชบางชนิด. *VRU Research and Development Journal Science and Technology*, 11(1), 69-82.
- Abdel-Kareem, O. (2010). Fungal deterioration of historical textiles and approaches for their control in Egypt. *E-Preservation Science*, 7, 40-47.
- Bacilkova, B. (2006). Study on the effect of butanol vapours and other alcohols on fungi. *Restaurator*, 27, 186-199.
- Bhuvaneshwari, G., Shameembanu, A. S., & Kalyani, M. (2018). Disinfectant Susceptibility Testing of Non-Fermenting Gram Negative Bacilli. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 11(4), 1313-1315.
- Gallo, F., Pasquariello, G., & Rocchetti, F. (1998). Biological investigation on sizings for permanent papers. *Restaurator*, 19, 61-84.
- Mama, M., Abdissa, A., & Sewunet, T. (2014). Antimicrobial susceptibility pattern of bacterial isolates from wound infection and their sensitivity to alternative topical agents at Jimma University Specialized Hospital, South-West Ethiopia. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 13(1), 1-20.
- Zijun Liu, Yanhong Zhang, Fengyu Zhang, Cuiting Hu, Genliang Liu, & Jiao Pan. (2018). Microbial community analyses of the deteriorated storeroom objects in the TianJin Museum using culture-independent and culture-dependent approaches. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-10.