

## ผลการประเมินสารเคมีในหลอดทดลองที่ต้านเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วย

ฐิติมา ไชยทา<sup>1</sup>, ณัฐชมล ปทุมวัน<sup>1</sup>, เพลินพิศ หานนท์<sup>1</sup>, อรัญญา คงถาวร<sup>1</sup>, วิเศษ นามวาท<sup>1</sup>, สรรเพชญ์ อังกิติตระกูล<sup>2</sup> และ ทิฆัมพร กุญยกานนท์<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์

<sup>2</sup> ภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

### In-vitro Evaluation of Antiseptics and Disinfectants Against *Burkholderia pseudomallei* from Clinical Isolates

Thitima Chaita<sup>1</sup>, Natchamon Patoomwan<sup>1</sup>, Pleonphit Hannond<sup>1</sup>, Arunya Kongthaworn<sup>1</sup>, Wiset Namwat<sup>1</sup>, Sunpetch Angkititrakul<sup>2</sup> and Thicumporn Kuyyakanond<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Faculty of Medicine

<sup>2</sup> Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen university

#### หลักการและเหตุผล

**วัตถุประสงค์:** สารเคมีที่นำมาใช้เป็น antiseptics และ disinfectants เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์มีการศึกษาในเชื้ออื่น ๆ ที่เป็นสาเหตุติดเชื้อมากมายแต่ยังไม่มีรายงานไหนให้ความสนใจศึกษาผลของสารเคมีดังกล่าวต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei*

**วิธีการ:** ดัชนีการศึกษานี้จึงศึกษาผลของสารกลุ่มดังกล่าว เพื่อให้แพทย์ที่ทำการรักษาโรคติดเชื้อเมลิออยโดสิสซึ่งมักพบในแถบภาคอีสานได้มั่นใจว่าสารเคมีความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ อนุพันธ์ฟีนอล อนุพันธ์ปรอท แอลกอฮอล์ สารกลุ่มฮาโลเจน แอลดีไฮด์และสารกลุ่มดีเทอร์เจนเพื่อใช้ในการทำลายเชื้อและลดการแพร่กระจายของเชื้อดังกล่าวในสิ่งแวดล้อมในโรงพยาบาล เพราะเชื้อมีชีวิตได้นานในน้ำหรือบริเวณที่ชื้นๆ คล้ายๆ *Pseudomonas aeruginosa* ดังนั้นจึงนำสารเคมีที่ใช้ในคลินิก มาทดสอบประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ โดยวิธี dilution method

**ผลการศึกษา:** การศึกษาพบว่าสารในกลุ่ม antiseptics ที่มีประสิทธิภาพดีในการทำละลายเชื้อนี้คือ 70% Alcohol 2% Providine<sup>®</sup> 0.1% Thimersal<sup>®</sup> และ 2% Mecurochrome<sup>®</sup> สารในกลุ่ม disinfectants ที่มีประสิทธิภาพดีในการทำละลายเชื้อนี้คือ 4% Formaldehyde 2% Lysol<sup>®</sup> และ 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> สารที่มี

#### Background

**Objective:** Chemical widely used as antiseptics and disinfectants for killing various microorganisms in many studies whether no evaluation of chemical agents against *B. pseudomallei*.

**Materials:** Our study performed various concentrations of common used as antiseptics and disinfectants in hospitals for example phenol derivatives, mercury compound, alcohol, halogen compounds, aldehyde and quaternary ammonium compounds against *B. pseudomallei*. These informations will help physician who work in infectious unit easy choose these agents for killing or controlling spread in hospital environment especially these organisms can survive in water or humid area as *Pseudomonas aeruginosa*.

**Results:** This study using chemical agents in clinic performed in-vitro evaluation on *B. pseudomallei* from various specimens of Srinagarind hospital by dilution method. This found that good antiseptics against these organisms were 70% Alcohol 2% Providine<sup>®</sup> 0.1% Thimersal<sup>®</sup> and 2% Mecurochrome<sup>®</sup>; good disinfectants against that were 4% Formaldehyde, 2% Lysol<sup>®</sup> and 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The 0.5% Hibitane<sup>®</sup> has moderately antibactericidal effect on *B. pseudomallei*. Both 1:100 Savlon<sup>®</sup> and 0.1% Acriflavin<sup>®</sup> were poor antibactericidal against these

ประสิทธิภาพปานกลางคือ 0.5% Hibitane® สารที่มีประสิทธิภาพต่ำในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์คือ 1:100 Savlon® และ 0.1% Acriflavin® ส่วน Virkon® ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำลายเชื้อนี้คือ 1% และปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนต้องไม่เกิน 10<sup>7</sup> เซลล์/มล.

**สรุป:** สารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อ *B. pseudomallei* คือ 0.1-0.5% Chlorine 4% Formaldehyde 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2% Lysol® 70% Alcohol 2% Providine® 0.1% Thimerosal® และ 2% Mecurochrome®

organisms. Whereas 1% Virkon® was optimum concentration for killing these organisms and against contaminations not more than 10<sup>7</sup> cells/ml.

**Conclusions:** The effective chemical agents against *B. pseudomallei* were 0.1-0.5% Chlorine, 4% Formaldehyde, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 2% Lysol®, 70% Alcohol, 2% Providine®, 0.1% Thimerosal® and 2% Mecurochrome®

**Keywords:** antiseptics, disinfectants, *Burkholderia pseudomallei*, clinical isolates

ศรีนครินทร์เวชสาร 2549; 21(4): 289-92 • Srinagarind Med J 2006; 21(4): 289-92

## บทนำ

*Burkholderia pseudomallei* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง พบอาศัยในดินและน้ำแถบกึ่งอบอุ่นถึงร้อนชื้นในเอเชียและตอนเหนือของทวีปออสเตรเลีย เป็นสาเหตุของโรคmelioidosis-โดสิสและเกือบครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยมีอาการรุนแรงถึงเสียชีวิตจาก septicemic melioidosis โรคติดเชื้อมักพบในกลุ่มอาชีพที่สัมผัสกับดินและน้ำในแหล่งระบาดของโรค<sup>1,2</sup> เชื้อมีความทนทานสามารถมีชีวิตในน้ำกลั่นได้ โดยไม่เพิ่มจำนวนได้นานหลายปี<sup>3</sup> รวมทั้งพบเชื้อนี้ในน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนได้ สามารถเจริญในดินที่เป็นกรดได้เช่น pH 4.5-7.4, 5 ส่วนความทนทานต่อสารเคมีอื่นมีรายงานน้อยมากได้แก่ เชื้อถูกทำลายในดินที่ผสมปูนขาวได้ตั้งแต่ pH 8.816 ดังนั้น การศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารเคมีกลุ่มต่างๆ ที่ใช้ในคลินิกต่อเชื้อดังกล่าวโดยวิธี dilution method เพื่อเป็นข้อบ่งชี้ว่าควรใช้สารใดในการควบคุมป้องกันการแพร่กระจายเชื้อนี้ในโรงพยาบาลและในชุมชน

## วิธีการทดลอง

### เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

*B. pseudomallei* ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลศรีนครินทร์และป่วยเป็นโรคmelioidosis-โดสิส 20 isolates ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากเลือด 10 isolates และจากบริเวณอื่นๆ ทั่วร่างกายอีก 10 isolates ได้แก่ เสมหะ 3 isolates หนอง 3 isolates ปัสสาวะ 1 isolate peritoneal fluid 1 isolate และ joint fluid 2 isolates

### การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี dilution method

สารเคมีที่ใช้ทดลองได้แก่ 0.1% Acriflavin® (สารผสมของ 3,6-Diamino-10-methyl-acridinium และ 3,6-diaminoacridine) 70% Alcohol 0.1-0.5% Chlorine 4% Formaldehyde 0.25- 0.5% Hibitane® (Chlorhexidine) 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2% Lysol® (O-Phenylphenol)

2% Mecurochrome® (Dibromohydroxymercurifluorescein) 2% Providine® (Polyvinyl Pyrrolidone-Iodine) 1:100 Savlon® (15% Cetrимide+1.5% Chlorhexidine) 0.1% Thimerosal® (Ethyl Mercury Salicylate) 0.25-1% Virkon® (Trisalt of Potassium Hydrogen Monoperoxysulphate, Potassium Hydrogen Sulphate และ Potassium Sulphate) นำเชื้อที่ต้องการทดสอบมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Brain heart infusion broth ข้ามคืน(ปริมาณเชื้อประมาณ 6x10<sup>8</sup> เซลล์/มล.) นำเชื้อมา 0.5 มล. ใส่ในสารละลายด้านบน หลอดละ 4.5 มล. เป็นเวลา 5 10 15 30 60 นาทีและ 24 ชั่วโมง ต่อจากนั้นนำเชื้อที่สัมผัสสารเคมีในเวลาต่างๆ มา 1 loop และนำไปเพาะบนอาหาร nutrient agar แล้วนำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วรายงานผลว่าเจริญหรือไม่เจริญในเวลาต่างๆ เพื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาประเมินประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว

## ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 และตารางที่ 2 แสดงการประเมินผลของสารเคมีกลุ่มต่างๆ ที่ทำลายเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่เป็นโรคmelioidosis-โดสิส พบว่าสารเคมีกลุ่มที่ใช้ในปริมาณสูงและเป็นพิษต่อเซลล์ของมนุษย์จะใช้เป็น disinfectants ในวัสดุอุปกรณ์ทางการแพทย์ที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อปริมาณสูงได้เช่น 0.1-0.5 % Chlorine 2% Lysol® และ 4% Formaldehyde สามารถทำลายเชื้อทุกสายพันธุ์ภายในเวลา 5 ถึง 10 นาที ส่วน 1 % Virkon® นั้นสามารถทำลายเชื้อทุกสายพันธุ์ที่มีปริมาณไม่เกิน 10<sup>7</sup> เซลล์/มล. ภายในเวลา 5 นาที หากใช้ความเข้มข้น 0.25% Virkon® จะต้องใช้เวลาราว 1 ชั่วโมงจึงจะทำลายเชื้อทั้ง 20 isolates ได้ สารที่เป็นพิษต่อเซลล์น้อยและมักใช้ปริมาณต่ำๆ จะใช้เป็น antiseptics สารที่มีประสิทธิภาพดีในการฆ่าเชื้อนี้คือ 2% Providine® 70% Alcohol 0.1% Thimerosal® และ 2% Mecurochrome® สามารถทำลายเชื้อทุกสายพันธุ์ภายใน

ตารางที่ 1 การประเมินผลของ disinfectants ในการทำลาย *B. pseudomallei*

เวลา	Chlorine			Lysol® 2%	Formaldehyde 4%	Virkon®*		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%
	0.1%	0.3%	0.5%			0.25%	1%	
5 นาที	+	+	+ <sup>ก</sup>	-	-	+	-	-
10 นาที	-	-	- <sup>ข</sup>	-	-	+	-	-
15 นาที	-	-	-	-	-	+	-	-
30 นาที	-	-	-	-	-	+	-	-
60 นาที	-	-	-	-	-	-	-	-
24 ชั่วโมง	-	-	-	-	-	-	-	-

ก = พบการเจริญของเชื้อตั้งแต่ 1-20 isolates

ข = ไม่พบการเจริญของเชื้อทั้ง 20 isolates

\*ใช้เชื้อในการทดสอบ 107 เซลล์/มล.

ตารางที่ 2 การประเมินผลของ antiseptics ในการทำลาย *B. pseudomallei*

เวลา	Hibitane®		Savlon® 1:100(V/V)	Providine 2%	Alcohol 70%	Acriflavin® 0.1%	Thimerosal® 0.1%	Mercurochrome® 2%
	0.25%	0.5%						
5 นาที	+	+	+	-	-	+	-	+
10 นาที	+	+	+	-	-	+	-	-
15 นาที	+	+	+	-	-	+	-	-
30 นาที	+ <sup>ก</sup>	-	+	-	-	+	-	-
60 นาที	- <sup>ข</sup>	-	+	-	-	+	-	-
24 ชั่วโมง	-	-	-	-	-	-	-	-

เวลา 5 ถึง 10 นาที สารละลาย 0.25 และ 0.5% Hibitane® มีประสิทธิภาพปานกลางต้องใช้เวลา 30 และ 60 นาทีตามลำดับจึงจะทำลายเชื้อทุกสายพันธุ์ได้ แต่สารละลาย 1:100 Savlon® และ 0.1% Acriflavin® มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดเพราะต้องใช้เวลา 24 ชั่วโมงจึงจะทำลายเชื้อทุกสายพันธุ์ได้

### วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า 1:100 Savlon® มีประสิทธิภาพต่ำในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *B. pseudomallei* การศึกษาอื่นพบว่า สารนี้มีฤทธิ์ต้านต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบอื่นเช่น *Pseudomonas spp.* ซึ่งเป็นเชื้อที่มักพบปนเปื้อนใน Savlon® ในโรงพยาบาลหลายแห่งทั้งยังก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาลภายหลังการใช้สารนี้ทำความสะอาดแผลหรือผิวหนัง<sup>8,9,10</sup> สารละลาย 0.25 และ 0.5% Hibitane® มีประสิทธิภาพปานกลางในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ ส่วน 0.1-0.5% Chlorine 4% Formaldehyde 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2% Lysol® 2% Providine®

0.1% Thimerosal® 2% Mercurochrome® และ 70% Alcohol มีประสิทธิภาพดีในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย แต่ Virkon® พบว่าความเข้มข้นเหมาะสม ที่ควรใช้ฆ่าเชื้อนี้คือ 1 เปอร์เซ็นต์ เพราะหากใช้ความเข้มข้นนี้ใช้เวลา 5 นาที ในการฆ่าเชื้อนี้ ถ้าใช้ความเข้มข้นต่ำกว่านี้ต้องใช้ระยะเวลาจนถึง 1 ชั่วโมง จึงจะทำลายเชื้อนี้ได้และสิ่งของนั้นต้องมีเชื้อปนเปื้อนไม่เกิน 10<sup>7</sup> เซลล์/มิลลิลิตร หากเชื้อมีมากเกินไปทำให้ประสิทธิภาพลดลงเพราะสารนี้มีประจุลบเหมือนเชื้อแบคทีเรีย<sup>11</sup>

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลเพื่อให้แพทย์ที่ทำงานในหน่วยโรคติดเชื้อได้ใช้ข้อมูลนี้ไปพิจารณาเลือกสารเคมีต่างๆ เพื่อเป็น disinfectants ได้เหมาะสมต่อการควบคุมป้องกันไม่ให้เชื้อจากผู้ป่วยที่มาจากสารน้ำ สารคัดหลั่งต่างๆ ทั่วร่างกาย เช่น เสมหะ เลือด น้ำในไขข้อ น้ำช่องท้อง หนอง ปัสสาวะ จากผู้ป่วยที่ติดเชื้อต่างๆ ทั่วร่างกาย หรือใช้สารเคมีกลุ่ม

antiseptics ในขนาดแผลผู้ป่วยที่ติดเชื้อชนิดนี้ได้เหมาะสม เช่น สารในกลุ่ม disinfectants ที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อ *B. pseudomallei* คือ 0.1-0.5% Chlorine 2% Lysol<sup>®</sup> 4% Formaldehyde 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> สารในกลุ่ม Antiseptics ที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อนี้คือ 70% Alcohol 2% Mecurochrome<sup>®</sup> 2% Providine<sup>®</sup> และ 0.1% Thimerosal<sup>®</sup>

### กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ไม่สามารถจะเสร็จสิ้นได้หากขาดการสนับสนุนการให้คำแนะนำและการได้รับ *B. pseudomallei* เพื่อใช้ในการทดลองนี้จากเชื้อที่สะสมในห้องปฏิบัติการของรองศาสตราจารย์ สุรศักดิ์ วงศ์รัตนชีวินและรองศาสตราจารย์ อรุณลักษณ์ ฤทธิตานนท์

### เอกสารอ้างอิง

1. Chaowagul W, White NJ, Dance DAB, et al. Melioidosis : a major cause of community acquired septicemia in Northeastern Thailand. *Journal of Infectious Disease*. 1989.; 159:890-9.
2. Dance DAB. Melioidosis: The tip of the iceberg? *Clinical Microbial Review* 1991;4:52-60.
3. Wutheikanun V, Smith MD, White NJ. Survival of *Burkholderia pseudomallei* in the absence of nutrients. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1995;89:491.
4. Zanetti F, De Luca G, Stampi S. Recovery of *Burkholderia pseudomallei* and *B. cepacia* from drinking of water. *Inter-national Journal Food Microbiology*. 2000;59:67-72.
5. Howard K, Inglis TJ. The effect of free chlorine on *Burkholderia pseudomallei* in potable water. *Water Reseach*. 2003;37:4425-32.
6. Na-ngam N, Angkitikul S, Noimay P, Thamlikitkul V. The effect of quicklime(calcium oxide) as an inhibitor of *Burkholderia pseudomallei*. *Transections of Royal Society of Tropical and Hygiene*. 2004;298:337-41.
7. DiLiello LR. Antimicrobial chemical agents. In:Manual of methods for clinical microbiology. Connecticut : AVI publishing; 1979:120-1.
8. Wishart MM, Riley TV. Infection with *Pseudomonas maltophilia* hospital outbreak due to contaminated disinfectant. *Medical Journal Australia*. 1976;19:710-2.
9. Ogunsola FT, Orji BO, Oduyebo OO. Contamination levels of in-use disinfectants in teaching in Lagos, Nigeria. *African Journal Medical Science*. 2002; 31:111-4.
10. Gajadhar T, Lara A, Sealy P, Adesiyun AA. Microbial contamination of disinfectants and antiseptics in four major hospitals in Trinidad. *Review Pham Salud Publica*. 2003;14: 193-200.
11. Hernandez A, Martro E, Matas L, Martin M, Ausina V. Assessment of in-vitro efficacy of 1%VirKon<sup>®</sup> against bacteria, fungus, viruses and spores by means of AFNOR guidelines. *Journal of Hospital Infection*. 2000;46:203-9.

