การเปรียบเทียบผลของสารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดต่อการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์

เมธี ศรีประพันธ์ (วท.ด.) นันทวรรณ จินากุล (วท.บ.)

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เปรียบเทียบผลของสารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วชนิดต่างๆ รวมถึงศึกษาวิธีการล้างเครื่องแก้วที่ส่งผลต่อการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

วิธีการศึกษา ใช้ตัวอย่างน้ำยาทดสอบได้แก่ 1) น้ำยาล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการที่มีความเข้มข้น 2.0% (ชนิด A) ซึ่งมีส่วนผสมของ polyethylene glycol dodecyl และ ethylene oxide 2) น้ำยาล้างจานที่มีความเข้มข้น 2.0% (ชนิด B) ซึ่งมีส่วนผสมของ linear alkylbenzene sulfonate, potassium salt และ sodium lauryl ether sulfate และ 3) ผงซักฟอก ที่มีความเข้มข้น 0.5% (ชนิด C) ซึ่งมีส่วนผสมของ anionic surfactant, zeolite, sodium carbonate, sodium carboxymethyl และ cellulose ทดสอบวิธีการล้างกับจานเพาะเชื้อ (glass petri dishes) โดยมีวิธีการล้าง 5 วิธี ได้แก่ ไม่ล้างน้ำยาออก ล้างผ่านน้ำสะอาด 1 ครั้ง ล้างผ่านน้ำสะอาด 3 ครั้ง ล้างผ่านน้ำสะอาด 6 ครั้ง และล้างผ่านน้ำสะอาด 12 ครั้ง โดย ใช้ sterile glass petri dishes เป็นกลุ่มควบคุม ทดสอบความเป็นกรด-ด่างของสารตกค้างจากน้ำยาในวิธีการล้างแบบต่างๆ โดยใช้ 0.04 % Bromthymol blue นอกจากนี้ใช้เชื้อมาตรฐาน 50-100 CFU/mL *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อโดยวิธี Pour plate method จากนั้นรายงานจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/mL) เป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียและค่าเฉลี่ยเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± SEM) วิเคราะห์เชิงสถิติโดยใช้โปรแกรม IBM® SPSS® version 23 และ GraphPad Prism® version 6.01 โดยค่า $p < 0.05$ แสดงนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษา น้ำยาชนิด A มีคุณสมบัติเป็นด่างและเปลี่ยนเป็นกลางหลังการล้าง 3 ครั้ง ในขณะที่น้ำยาชนิด B มีคุณสมบัติเป็นกรดและเปลี่ยนเป็นกลางภายหลังการล้าง 3 ครั้ง และน้ำยาชนิด C มีคุณสมบัติเป็นด่างและเปลี่ยนเป็นกลางเมื่อล้าง 6 ครั้ง น้ำยาทั้ง 3 ชนิดส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทุกวิธีการล้าง ยกเว้นเมื่อล้างด้วยน้ำสะอาด 12 ครั้ง การใช้น้ำยาชนิด A และ B ให้ผลการเจริญของ *S. aureus* ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ภายหลังการล้างอย่างน้อย 3 ครั้งในขณะที่การใช้น้ำยาชนิด C เทียบกับน้ำยาชนิด A หรือ B ให้ผลการเจริญของเชื้อไม่แตกต่างกันเมื่อล้าง 12 ครั้ง เมื่อพิจารณาจำนวนครั้งของการล้างด้วยน้ำสะอาดในน้ำยาแต่ละชนิดที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จำนวนครั้งที่เหมาะสมเมื่อใช้ น้ำยาชนิด A คือควรล้าง 3-12 ครั้ง เมื่อใช้น้ำยาชนิด B ควรล้าง 6-12 ครั้ง และถ้าใช้น้ำยาชนิด C ควรล้าง 12 ครั้ง

สรุป น้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วแต่ละชนิดมีคุณสมบัติความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน การล้างด้วยน้ำสะอาดสามารถลดความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาที่ตกค้างในเครื่องแก้วได้ นอกจากนี้ความแตกต่างของชนิดน้ำยาทำความสะอาดและวิธีการล้างส่งผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิธีการล้างที่

เหมาะสมคือ ถ้าใช้น้ำยาชนิด A ควรล้างอย่างน้อย 3 ครั้ง เมื่อใช้น้ำยาชนิด B ควรล้างอย่างน้อย 6 ครั้ง และเมื่อใช้น้ำยาชนิด C ควรล้างอย่างน้อย 12 ครั้ง ตามลำดับ

คำสำคัญ สารตกค้าง สารทำความสะอาด น้ำยาล้างเครื่องแก้ว

ผู้นิพนธ์ที่รับผิดชอบ นันทวรรณ จินากุล
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ ประเทศไทย
E-mail: nanthawan.jin@mahidol.ac.th

วันที่รับบทความ : 26 กุมภาพันธ์ 2562 **วันที่ตอบรับบทความ : 22 มีนาคม 2562**

The effect of cleaning solution residues on microbiological testing

Methee Sriprapun (Ph.D.) Nanthawan Jinakul (B.Sc.)

Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok

Abstract

Objective To compare the effect of glassware cleaning solution residues and the different rinsing procedures on microbial testing in microbiology laboratory.

Materials and Methods The 2.0% glassware-washing solution for laboratory purpose (reagent type A) composing of polyethylene glycol dodecyl and ethylene oxide, 2.0% dish-washing reagent (reagent type B) composing of linear alkylbenzene sulfonate, potassium salt and sodium lauryl ether sulfate, and 0.5% detergent (reagent type C) composing of anionic surfactant, zeolite, sodium carbonate, sodium carboxymethyl and cellulose were used to evaluate the detergent residues after performing 5 different rinsing procedures (No rinsing, rinsing for 1, 3, 6 and 12 times) on petri dishes. Sterile glass petri dishes were included as negative control. The pH of cleaning residue was determined using 0.04% Bromthymol blue. The 50-100 CFU/mL of *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) was used to explore the efficiency of bacterial growth on glass petri dishes with pour plate method and reported as mean CFU/mL with standard error of the mean (SEM). Statistical analysis was performed using IBM® SPSS® version 23 and GraphPad Prism® version 6.01. The *p*-value < 0.05 indicated statistical significant at 95% confident interval.

Results The reagent type A was alkaline and became neutral after rinsing for 3 times. Additionally, the reagent type B was acidic and turned into neutral after rinsing for 3 times. Moreover, the reagent type C was alkaline and became neutral after rinsing for 6 times. All 3 detergents affect microbial growth at statistically significant level ($p < 0.05$) in the conditions of no rinsing, rinsing for 1, 3 and 6 times. Using reagent type A or B following by rinsing for 3 times did not show statistically significant in bacterial growth ($p > 0.05$). However, the bacterial growth was not significant different in the use of reagent type C comparing with reagent type A or B. When considering the rinsing procedures less significantly affecting bacterial growth ($p > 0.05$), the suggested protocols for using reagent type A or was 3-12 times whereas the protocol for reagent type B was 6-12 times and the protocol for reagent type C was 12 times.

Conclusion Each cleaning solution has different pH properties in detergent residues, which is solved by rinsing protocols**.** Moreover, different types of detergent and rinsing procedures significantly affect the bacterial growth**.** The suitable protocols for each washing solution are

rinsing at least 3 time for 2.0% glassware-washing solution, rinsing at least 6 times for 2.0% dish-washing reagent and rinsing at least 12 times for 0.5% detergent, respectively.

Keywords Residue, Detergent, Glassware washing solution

Corresponding author Nanthawan Jinakul
Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy,
Mahidol University, Bangkok, Thailand
E-mail: nanthawan.jin@mahidol.ac.th

บทนำ

เครื่องแก้วเป็นอุปกรณ์สำคัญที่ใช้ช่วยในการวิเคราะห์และทดสอบทางห้องปฏิบัติการต่างๆ รวมทั้งในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ข้อดีประการสำคัญของเครื่องแก้วคือสามารถใช้ซ้ำได้ทำให้ลดค่าใช้จ่ายและต้นทุนในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเครื่องแก้วเหล่านี้จำเป็นต้องมีการล้างและนำกลับมาใช้ใหม่ การทำความสะอาดจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องคำนึงถึงเพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและน่าเชื่อถือ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำความสะอาดเครื่องแก้วให้สะอาด หากมีสารตกค้างอยู่ในเครื่องแก้วอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่อาจรบกวนการทดสอบทางห้องปฏิบัติการที่อาจส่งผลให้ผลการทดลองผิดพลาดได้ นอกจากนี้หากทำการทดสอบเกี่ยวกับการเจริญของจุลชีพ สารตกค้างเหล่านี้อาจมีผลต่อการเจริญของเชื้อ ปัจจุบันมีการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการอย่างแพร่หลายควบคู่กับการล้างด้วยน้ำเปล่า โดยน้ำยาที่นิยมใช้ ได้แก่ น้ำยาล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการที่มีส่วนผสมของ polyethylene glycol dodecyl และ ethylene oxide น้ำยาล้างจานที่ใช้ในครัวเรือนที่มีส่วนผสมของ linear alkylbenzene sulfonate, potassium salt และ sodium lauryl ether sulfate และผงซักฟอกที่มีส่วนผสมของ anionic surfactant, zeolite, sodium carbonate, sodium carboxymethyl, cellulose เป็นต้น

เนื่องจากน้ำยาที่ใช้ในการล้างเครื่องแก้วอาจตกค้างภายหลังขั้นตอนการล้างเสร็จสิ้น ซึ่งสารเหล่านี้สามารถส่งผลต่อการตรวจวิเคราะห์โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตรวจการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากสารตกค้างเหล่านี้มีผลต่อความเป็นกรดและด่าง (pH) ของสภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (bacteriostatic) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการล้าง 6-12 ครั้ง เพื่อลดปริมาณหรือกำจัดสารตกค้างและให้แน่ใจว่าปราศจากสารที่มีคุณสมบัติดังกล่าว โดยการสุ่มตรวจเครื่องแก้วที่ล้างแล้วมาทดสอบ pH นอกจากนี้ถ้ามีการใช้อุปกรณ์พลาสติกและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ล้างมาก่อนหรือมีการฆ่าเชื้อแล้วให้ทดสอบสารตกค้างก่อนนำมาใช้เช่นกัน[1]

จากการศึกษาของ Polonini, et al พบว่าการใช้ 2% detergent ตามด้วยล้างน้ำประปา 10 ครั้ง ล้างด้วย ultra-pure water 3 ครั้ง และ ล้างด้วย 77 °GL ethanol 1 ครั้ง พบว่าขั้นตอนนี้ไม่ได้ผลตามที่คาดหวังในเครื่องแก้วประเภทขวด หรือ vial และพบว่าการใช้ 77 °GL ethanol จะช่วยให้เครื่องแก้วนั้นแห้งเร็วขึ้นทำให้ปฏิบัติงานต่อเนื่องได้โดยไม่เสียเวลามาก[2]

องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ได้กำหนดให้มีการตรวจสอบสารตกค้างในเครื่องแก้วและพลาสติกที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เชื้อมาตรฐาน *Escherichia coli* ที่มีปริมาณตั้งต้น 50-200 CFU/mL ทดสอบใน glass petri dishes ที่แบ่งเป็น 4 กลุ่มโดยอาศัยวิธีการล้างได้แก่ (A) ล้างปกติ (B) ล้างน้ำ 12 ครั้ง (C) ไม่ล้างน้ำยาออก และ (D) Sterile plastic petri dishes (กลุ่มควบคุม) จากนั้นคำนวณค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม ถ้าค่าความแตกต่างน้อยกว่าร้อยละ 15 แสดงว่าไม่มีสารตกค้างที่เป็นพิษหรือยังยั้งการเจริญของเชื้อ แต่ถ้าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยนั้นน้อยกว่าร้อยละ 15 ระหว่างกลุ่ม A และ B หรือมากกว่าร้อยละ 15 ระหว่างกลุ่ม A และ C แสดงให้เห็นว่ามีการตกค้างของน้ำยาที่ใช้ล้างทำให้มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ[3]

San Diego County Public Health ได้กำหนดวิธีมาตรฐานในการตรวจสอบสารตกค้างในเครื่องแก้วและพลาสติก โดยใช้เชื้อ *Enterobacter aerogenes* ตั้งต้นในการตรวจสอบ 30-300 CFU/plate ทำการทดสอบกับ Glass petri dishes โดยแบ่งกลุ่มการล้างด้วยน้ำยา 4 กลุ่ม คือ (A) ล้างปกติ (B) ล้างน้ำ 12 ครั้ง (C) ไม่ล้างน้ำยาออก และ (D) plastic petri dishes จากนั้นคำนวณหาค่าความแตกต่างเฉลี่ยจำนวนเชื้อระหว่างกลุ่ม ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าไม่มีสารตกค้างของน้ำยาล้างเครื่องแก้ว[4]

นอกจากนี้ Sandle T และ Satyada R ทำการศึกษาการตกค้างของน้ำยาล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการที่มีองค์ประกอบของ polyethylene glycol dodecyl และ ethylene oxide ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้ *Escherichia coli* ไม่เกิน 100 CFU เป็นเชื้อทดสอบ ซึ่งแบ่งกลุ่มการล้างด้วยน้ำยาเป็น 4 กลุ่มได้แก่ (A) ล้าง 1 ครั้ง (B) ล้างน้ำ 12 ครั้ง (C) ไม่ล้างน้ำยาออก และ (D) ล้างน้ำโดยไม่ใช้น้ำยา ผลการศึกษาพบว่า กลุ่ม A B และ D ไม่พบการตกค้างของน้ำยา แต่ กลุ่ม C พบการตกค้างของน้ำยาที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ[5]

จากการศึกษาก่อนหน้าดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาที่เป็นกลางและการล้างน้ำ 12 ครั้งเป็นวิธีที่เหมาะสมในการทำให้ปราศจากสารเคมีตกค้างและไม่ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามการศึกษาเกี่ยวกับผลของสารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ยังมีการศึกษาไม่มากในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวก รวมถึงยังไม่มีการศึกษาที่ดำเนินการกับน้ำยาล้างเครื่องแก้วที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการของประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ส่วนใหญ่จะทำเป็นเอกสารวิธีการปฏิบัติงาน (standard operation procedures หรือ SOP) เพื่อใช้ตรวจสอบสารตกค้างในเครื่องแก้วก่อนนำมาใช้ในการทดสอบทางห้องปฏิบัติการในแต่ละที่เท่านั้น นอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาก่อนหน้าดำเนินการวิจัยผลของสารตกค้างจากน้ำยาล้างเครื่องแก้วกับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทดสอบกับเชื้อแกรมบวก ผู้วิจัยได้ตั้งสมมุติฐานว่า ผลของสารตกค้างจากน้ำยาล้างเครื่องแก้วน่าจะมีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวกเช่นเดียวกับเชื้อแกรมลบ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้ว รวมถึงวิธีการล้างเครื่องแก้วด้วยน้ำยาชนิดต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวกรวมถึงศึกษาความเป็นกรด - ด่างของสารตกค้างแต่ละประเภท

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบความเป็นกรด - ด่างของสารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วชนิดต่างๆ
2. เพื่อศึกษาผลของสารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วชนิดต่างๆ
3. เพื่อศึกษาวิธีการล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการเมื่อใช้น้ำยาชนิดต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
4. เพื่อศึกษาวิธีเลือกใช้น้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วและวิธีการล้างที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ

วิธีการศึกษา

ทำการคัดแยก glass petri dishes ขนาด 100 x 20 มม. (Pyrex®, Merck, Thailand) เป็น 15 กลุ่ม กลุ่มละ 12 plates โดยแต่ละกลุ่มจะนำมาล้างด้วยชนิดน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วและใช้วิธีการล้างกลุ่มละ 1 ประเภท ซึ่งการทดลองในแต่ละกลุ่มจะทำทั้งหมด 4 ครั้ง ครั้งละ 3 plates น้ำยาล้างเครื่องแก้วจะถูกเตรียมเป็นความเข้มข้นที่ใช้งานจริง ตามที่ระบุไว้ที่ฉลากและคู่มือการใช้น้ำยาได้แก่ น้ำยาที่ใช้ล้างเครื่องแก้วทางห้องปฏิบัติการที่มีองค์ประกอบของ polyethylene glycol dodecyl และ ethylene oxide โดยเตรียมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 (กำหนดเป็นน้ำยาชนิด A หรือ Reagent A), น้ำยาล้างจานที่มีองค์ประกอบของ linear alkylbenzene sulfonate, potassium salt และ sodium lauryl ether sulfate โดยเตรียมที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 (กำหนดเป็นน้ำยาชนิด B หรือ Reagent B) และ ผงซักฟอกที่มีองค์ประกอบของ anionic surfactant, zeolite, sodium carbonate, sodium carboxymethyl และ cellulose โดยเตรียม

ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (กำหนดเป็นน้ำยาชนิด C หรือ Reagent C) ซึ่งวิธีการล้างแบ่งเป็น 5 วิธี ได้แก่ 1) ไม่ล้างน้ำยาออก 2) ล้างผ่านน้ำสะอาด 1 ครั้ง 3) ล้างผ่านน้ำสะอาด 3 ครั้ง 4) ล้างผ่านน้ำสะอาด 6 ครั้ง และ 5) ล้างผ่านน้ำสะอาด 12 ครั้ง นอกจากนี้ยังมี glass petri dishes ที่ผ่านกระบวนการทำให้ปลอดเชื้อแล้วและไม่ผ่านการล้างด้วยน้ำยาล้างเครื่องแก้วจำนวน 12 plates เป็นกลุ่มควบคุม

ภายหลังการล้างเครื่องแก้วด้วยน้ำยาแต่ละชนิดรวมถึงวิธีการทำความสะอาดแต่ละแบบเรียบร้อยแล้ว ผึ่ง glass petri dishes ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นสุ่มเครื่องแก้วที่ล้างแล้วแต่ละกลุ่มจำนวนร้อยละ 5 - 10 มาตรวจสอบความสะอาดของเครื่องแก้วโดยการทดสอบความเป็นกรด - ด่าง ด้วยการหยดสารละลาย 0.04 % bromthymol blue (Cat.No. 32714, Riedel - deHaën, Germany) ลงบนผิวด้านในของเครื่องแก้ว ถ้าเครื่องแก้วไม่มีสารตกค้างของกรด หรือด่าง จะได้สภาวะเป็นกลางสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue- green) ของ bromthymol blue ถ้าสภาวะเป็นกรดจะได้สีเหลือง (yellow) ถ้าสภาวะเป็นด่างจะได้สีน้ำเงิน (blue) จากนั้นนำไปอบฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง hot air oven (Memmert, Germany) ที่อุณหภูมิ 180°C นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกภายหลังการทำความสะอาดด้วยน้ำยาและวิธีการล้างชนิดต่างๆ ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้เชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์มาตรฐาน ATCC 6538 ซึ่งเชื้อดังกล่าวเป็นหนึ่งในสายพันธุ์ที่ใช้เป็นเชื้อควบคุมบวกและเชื้ออ้างอิงสำหรับการทดสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ยาที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (non-sterile pharmaceutical products) ตามที่อธิบายไว้ในเกณฑ์มาตรฐานอ้างอิงต่างๆ เช่น United States Pharmacopeia (USP), British Pharmacopeia (BP) และ Thai Pharmacopoeia[6-8]

วิธีวิจัยในส่วนนี้ดำเนินการโดยนำเชื้อ *S.aureus* ที่เลี้ยงด้วย Trypticase soy broth (TSB) (Difco, BD, USA) ที่อุณหภูมิ 35 - 37°C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง มาวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density หรือ OD) และปรับค่าให้ได้ 0.1 โดยเครื่อง spectrophotometer รุ่น Novaspec II (Pharmacia Biotech, Netherlands) ที่ความยาวคลื่น 580 nm ซึ่งค่า OD เท่ากับ 0.1 จะได้ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 CFU/mL จากนั้นเตรียมเชื้อแบคทีเรียให้ได้ 50-100 CFU/mL ทดสอบการเจริญของเชื้อใน glass petri dishes ภายหลังการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วและวิธีการล้างแบบต่างๆ โดยใช้วิธี pour plate method ทำการทดสอบจำนวน 4 ครั้ง ครั้งละ 3 plates ของแต่ละวิธีการล้างในแต่ละน้ำยา จากนั้นนำเสนอผลการวิจัยในรูปแบบของตารางและกราฟ โดยข้อมูลการทดสอบความเป็นกรด - ด่างของเครื่องแก้วนำเสนอในรูปแบบตาราง ในขณะที่การเจริญของเชื้อแบคทีเรียรายงานเป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรีย และค่าเฉลี่ยเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SEM) วิเคราะห์ความแตกต่างเชิงสถิติของจำนวนแบคทีเรียใน glass petri dishes ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำยาล้างเครื่องแก้วรวมถึงวิธีการล้างแบบต่างๆ โดยใช้ค่าความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม IBM® SPSS® version 23 และ GraphPad Prism® version 6.01 ซึ่งค่า $p < 0.05$ แสดงนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษา

1. ผลการทดสอบความเป็นกรด-ด่างของสารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดแต่ละชนิดเมื่อดำเนินการในวิธีการล้างแบบต่างๆ

ผลการทดสอบความเป็นกรด - ด่างใน glass petri dishes ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาดและวิธีการล้างแบบต่างๆ แสดงในตารางที่ 1 สารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วแต่ละชนิดมีคุณสมบัติความเป็นกรด - ด่างที่ต่างกัน เมื่อใช้น้ำยาชนิด A มีความเป็นด่าง เมื่อใช้น้ำยาชนิด B มี

ความเป็นกรด และเมื่อใช้น้ำยาชนิด C มีความเป็นด่างตามลำดับ เมื่อทดสอบความเป็นกรดและด่างในเครื่องแก้วที่ล้างด้วยน้ำยาชนิด A และ น้ำยาชนิด B จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้งขึ้นไปจะให้ผลการทดสอบเป็นกลาง ในขณะที่ล้างด้วยน้ำยาชนิด C จะให้ผลการทดสอบเป็นกลางเมื่อล้างน้ำสะอาดตั้งแต่ 6 ครั้งขึ้นไป

ตารางที่ 1 ค่าความเป็นกรด-ด่างบน glass petri dishes เมื่อทำการทดสอบกับน้ำยาทำความสะอาดและวิธีการล้างแบบต่างๆ

วิธีการล้าง	ผลการทดสอบ
น้ำยาชนิด A ไม่ล้างด้วยน้ำสะอาด	Alkaline
น้ำยาชนิด A ล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง	Alkaline
น้ำยาชนิด A ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง	Neutral
น้ำยาชนิด A ล้างด้วยน้ำสะอาด 6 ครั้ง	Neutral
น้ำยาชนิด A ล้างด้วยน้ำสะอาด 12 ครั้ง	Neutral
น้ำยาชนิด B ไม่ล้างด้วยน้ำสะอาด	Acid
น้ำยาชนิด B ล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง	Acid
น้ำยาชนิด B ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง	Neutral
น้ำยาชนิด B ล้างด้วยน้ำสะอาด 6 ครั้ง	Neutral
น้ำยาชนิด B ล้างด้วยน้ำสะอาด 12 ครั้ง	Neutral
น้ำยาชนิด C ไม่ล้างด้วยน้ำสะอาด	Alkaline
น้ำยาชนิด C ล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง	Alkaline
น้ำยาชนิด C ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง	Alkaline
น้ำยาชนิด C ล้างด้วยน้ำสะอาด 6 ครั้ง	Neutral
น้ำยาชนิด C ล้างด้วยน้ำสะอาด 12 ครั้ง	Neutral
กลุ่มควบคุม (ไม่ใช้น้ำยาทำความสะอาด)	Neutral

2. ผลของสารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วและวิธีการล้างเครื่องแก้วที่ส่งผลต่อการเจริญขึ้นของเชื้อ *S. aureus*

ผลของน้ำยาทำความสะอาดที่ตกค้างและวิธีการล้างโดยใช้สารทำความสะอาด 3 ชนิด ได้แก่ น้ำยาที่ใช้ล้างเครื่องแก้วทางห้องปฏิบัติการ โดยมีการเตรียมใช้งานที่ความเข้มข้น 2.0% (น้ำยาชนิด A) น้ำยาล้างจานที่มีการเตรียมใช้งานที่ความเข้มข้น 2.0% (น้ำยาชนิด B) และ ผงซักฟอกที่มีการเตรียมใช้งานที่ความเข้มข้น 0.5% (น้ำยาชนิด C) พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ *S.aureus* ที่เจริญขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ (CFU/mL) เมื่อดำเนินการทดสอบใน glass petri dishes ภายหลังการล้างด้วยน้ำยา 3 ชนิดข้างต้นและวิธีการล้างที่ต่างกัน 5 วิธี เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (control) ที่ผลการเจริญของเชื้อเป็น 95.92±6.067 CFU/mL (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ *S.aureus* ที่เจริญขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อทำการทดสอบใน glass petri dishes ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำยาและวิธีการล้างที่ต่างกัน

น้ำยา	ไม่ล้าง (CFU/mL)*	ล้าง 1 ครั้ง (CFU/mL)*	ล้าง 3 ครั้ง (CFU/mL)*	ล้าง 6 ครั้ง (CFU/mL)*	ล้าง 12 ครั้ง (CFU/mL)*
ชนิด A	54.67±5.795	67.17±3.155	83.17±4.078	92.42±4.992	95.58±5.693
ชนิด B	48.42±5.493	56.00±3.954	75.75±4.389	87.58±5.070	94.00±5.828
ชนิด C	35.17±4.584	41.50±4.318	53.67±4.500	71.08±5.412	86.33±5.237

*ผลการวิจัยนำเสนอในรูปแบบของค่าเฉลี่ยและค่าเฉลี่ยเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± standard error of mean (SEM))

ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 95.92±6.067 CFU/mL

ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า ในเครื่องแก้วที่ล้างด้วยน้ำยาชนิด A จะมีการเจริญของเชื้อ *S. aureus* มากที่สุดในวิธีการล้างทำความสะอาดทั้ง 5 แบบเมื่อเปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำยาชนิด B และ C ตามลำดับ นอกจากนี้การเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการล้างด้วยน้ำยาแต่ละชนิดจะเพิ่มมากขึ้นถ้ามีการล้างด้วยน้ำสะอาดเป็นจำนวนครั้งมากขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำยาล้างเครื่องแก้วแต่ละชนิดและวิธีการล้างเครื่องแก้วแบบต่างๆ ทั้ง 5 วิธีต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* พบว่า การเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการล้างด้วยน้ำยาล้างเครื่องแก้วแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อไม่ล้างด้วยน้ำสะอาด (p = 0.041) ล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง (p = 0.000) ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง (p = 0.000) และล้างด้วยน้ำสะอาด 6 ครั้ง (p = 0.016) อย่างไรก็ตามการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการล้างด้วยน้ำสะอาด 12 ครั้งไม่มีความแตกต่างกันเมื่อใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วแต่ละชนิด (p = 0.464)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้น้ำยาชนิด A และ B พบว่า การเจริญของเชื้อ *S. aureus* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง (p = 0.038) อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้น้ำยาชนิด A และ C พบว่าเมื่อไม่ล้างด้วยน้ำสะอาดรวมถึงล้างด้วยน้ำสะอาด 1, 3 และ 6 ครั้งภายหลังล้างเครื่องแก้วด้วยน้ำยาข้างต้นจะให้ค่าการเจริญของเชื้อ *S. aureus* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p = 0.015, p = 0.000, p = 0.000 และ p = 0.008 ตามลำดับ) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อภายหลังการล้างด้วยน้ำยาชนิด B และ C พบว่าการเจริญของเชื้อภายหลังการล้างด้วยน้ำสะอาด 1, 3 และ 6 ครั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.021, p = 0.002 และ p = 0.037 ตามลำดับ) (ตารางที่ 3 และรูปที่ 1 - 5)

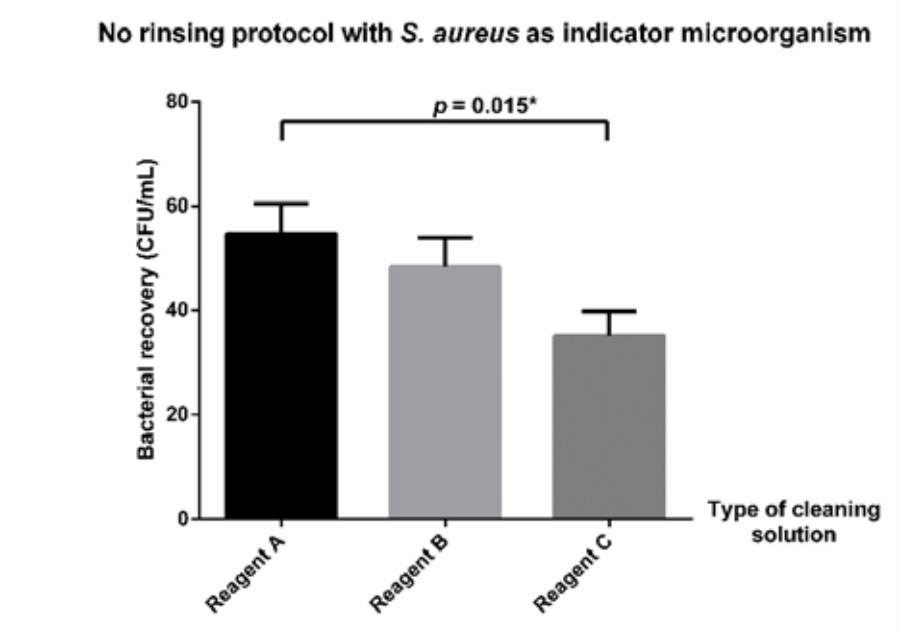
ตารางที่ 3 ผลการทดสอบทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบวิธีการล้างเครื่องแก้วด้วยน้ำยาที่ต่างชนิดกันต่อการเจริญของเชื้อ *S.aureus*

วิธีการล้าง	*p*-value*	น้ำยาชนิด A และน้ำยาชนิด B *p*-value**	น้ำยาชนิด A และ น้ำยาชนิด C *p*-value**	น้ำยาชนิด B และน้ำยาชนิด C *p*-value**
ไม่ล้าง	0.041***	0.442	0.015***	0.077
ล้าง 1 ครั้ง	0.000***	0.038***	0.000***	0.021***
ล้าง 3 ครั้ง	0.000***	0.229	0.000***	0.002***
ล้าง 6 ครั้ง	0.016***	0.504	0.008***	0.037***
ล้าง 12 ครั้ง	0.464	0.847	0.242	0.338

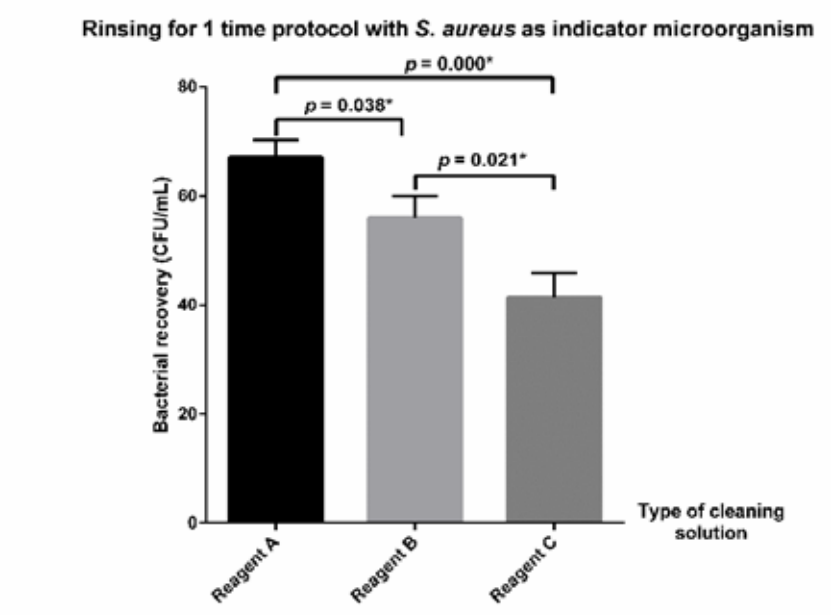
*ค่า *p*-value จากการคำนวณทางสถิติชนิด One-way ANOVA

**ค่า *p*-value จากการคำนวณทางสถิติชนิด Student t-test

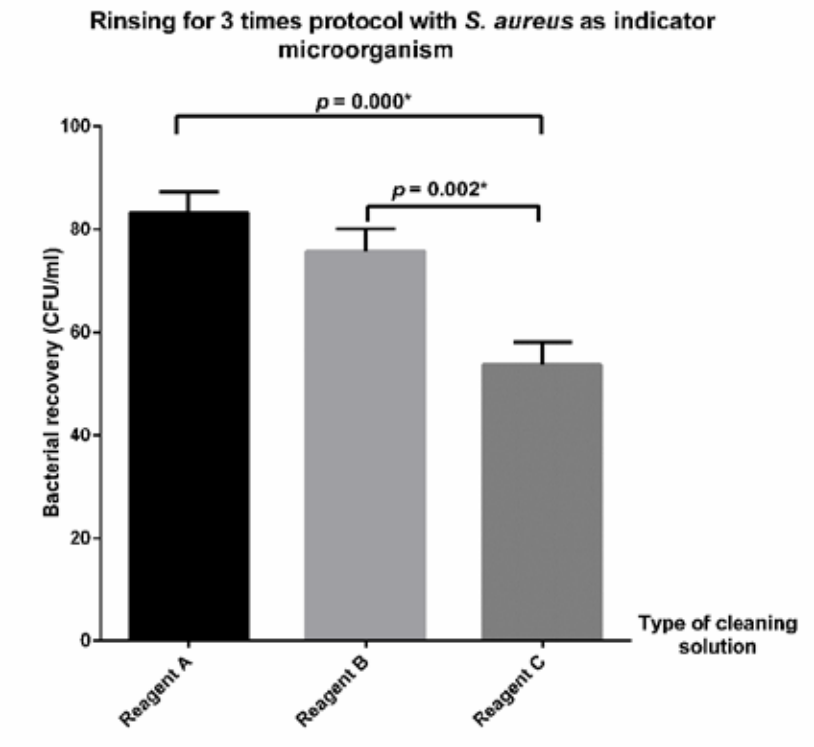
***แสดงค่าการทดสอบทางสถิติที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



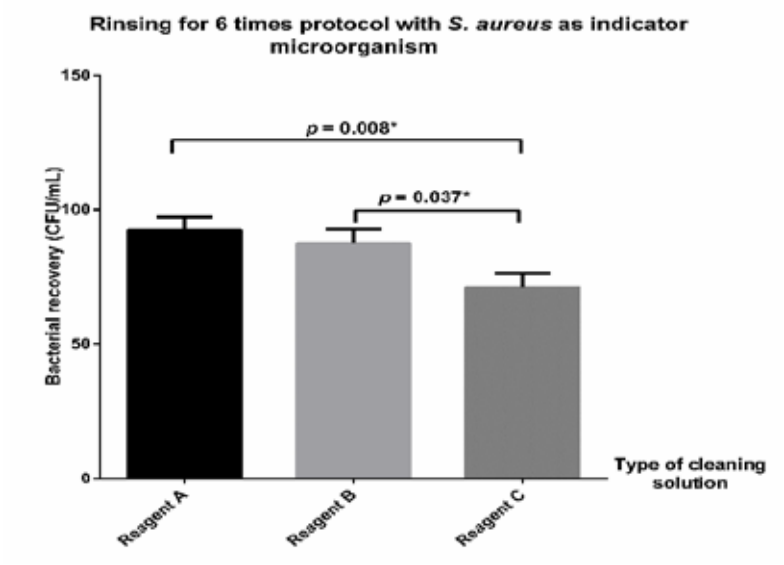
รูปที่ 1 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้น้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วชนิด A (Reagent A), ชนิด B (Reagent B) และ ชนิด C (Reagent C) เมื่อไม่มีการล้างด้วยน้ำสะอาด



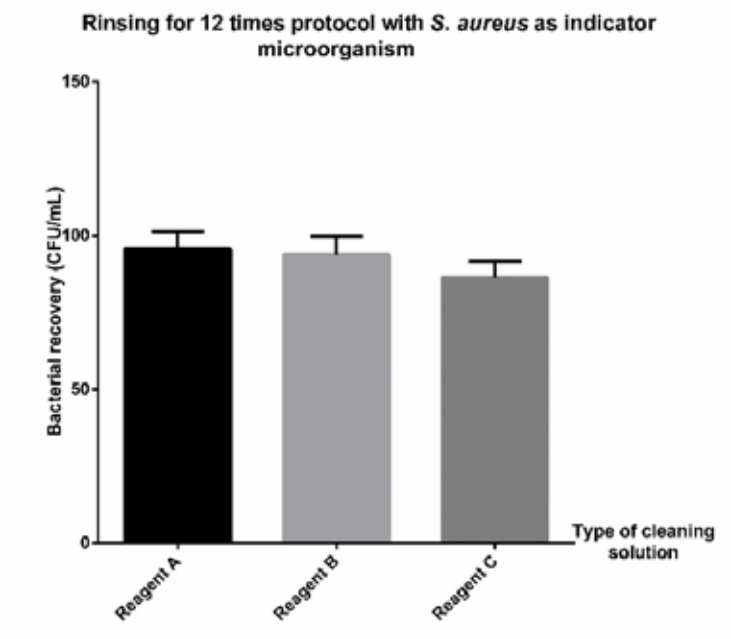
รูปที่ 2 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้น้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วชนิด A (Reagent A), ชนิด B (Reagent B) และ ชนิด C (Reagent C) เมื่อมีการล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง



รูปที่ 3 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้น้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วชนิด A (Reagent A), ชนิด B (Reagent B) และ ชนิด C (Reagent C) เมื่อมีการล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง



รูปที่ 4 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้น้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วชนิด A (Reagent A), ชนิด B (Reagent B) และ ชนิด C (Reagent C) เมื่อมีการล้างด้วยน้ำสะอาด 6 ครั้ง



รูปที่ 5 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้น้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วชนิด A (Reagent A), ชนิด B (Reagent B) และ ชนิด C (Reagent C) เมื่อมีการล้างด้วยน้ำสะอาด 12 ครั้ง

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้วิธีต่างๆ เพื่อล้างเครื่องแก้วของน้ำยาทั้ง 3 ชนิด พบว่าเมื่อใช้น้ำยาชนิด A เป็นน้ำยาล้างเครื่องแก้ว การล้าง 1 ครั้งหรือไม่ล้างด้วยน้ำสะอาด ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้งหรือ 6 ครั้ง ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้งหรือ 12 ครั้ง และล้างด้วยน้ำสะอาด 6 ครั้งหรือ 12 ครั้ง ให้ผลการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกัน (p = 0.071, p = 0.165,

p = 0.089 และ p = 0.679 ตามลำดับ) ในขณะที่การไม่ล้างน้ำสะอาดเทียบกับการล้างด้วยน้ำสะอาด 3, 6 หรือ 12 ครั้ง และการล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้งเทียบกับการล้างด้วยน้ำสะอาด 3, 6 หรือ 12 ครั้ง ให้ผลการเจริญของเชื้อที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.000 และ p = 0.005) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 6)

เมื่อใช้น้ำยาชนิด B พบว่า วิธีการล้างโดยไม่ใช้น้ำสะอาดหรือใช้น้ำสะอาด 1 ครั้ง และ ล้างโดยใช้น้ำสะอาด ล้างโดยใช้น้ำสะอาด 3 ครั้งหรือ 6 ครั้ง และล้างด้วยน้ำสะอาด 6 ครั้งหรือ 12 ครั้งให้ผลการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.248 และ p = 0.092) ในขณะที่การไม่ล้างด้วยน้ำสะอาดเทียบกับล้างด้วยน้ำสะอาด 3, 6 หรือ 12 ครั้ง ล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้งเทียบกับล้างด้วยน้ำสะอาด 3, 6 หรือ 12 ครั้ง และล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้งหรือ 12 ครั้ง ให้ผลการเจริญของเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.000 และ p = 0.020) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 7)

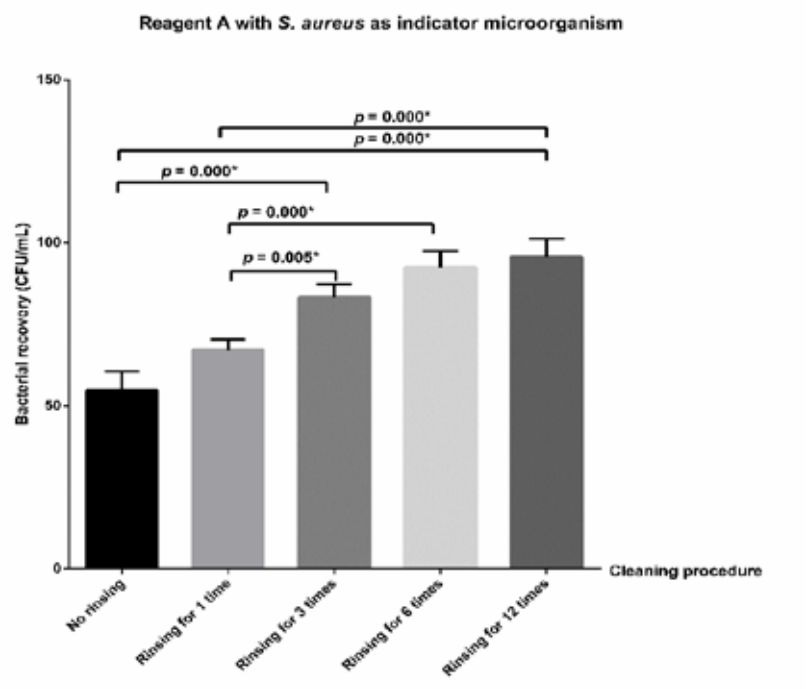
เมื่อใช้น้ำยาชนิด C พบว่า วิธีการล้างโดยไม่ใช้น้ำสะอาดหรือใช้น้ำสะอาด 1 ครั้ง และล้างโดยใช้น้ำสะอาด 1 ครั้งเทียบกับ 3 ครั้ง ให้ผลการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p = 0.326 และ p = 0.064 ตามลำดับ) ในขณะที่ การไม่ล้างด้วยน้ำสะอาดเทียบกับการล้างด้วยน้ำสะอาด 3, 6 หรือ 12 ครั้ง การล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้งเทียบกับ 6 หรือ 12 ครั้ง การล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้งเทียบกับ 6 หรือ 12 ครั้งและ การล้างด้วยน้ำสะอาด 6 หรือ 12 ครั้ง ให้ผลการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.009, p = 0.000, p = 0.022 และ p = 0.050) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 8)

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้วิธีล้างเครื่องแก้วแบบต่างๆ ของน้ำยาแต่ละชนิด

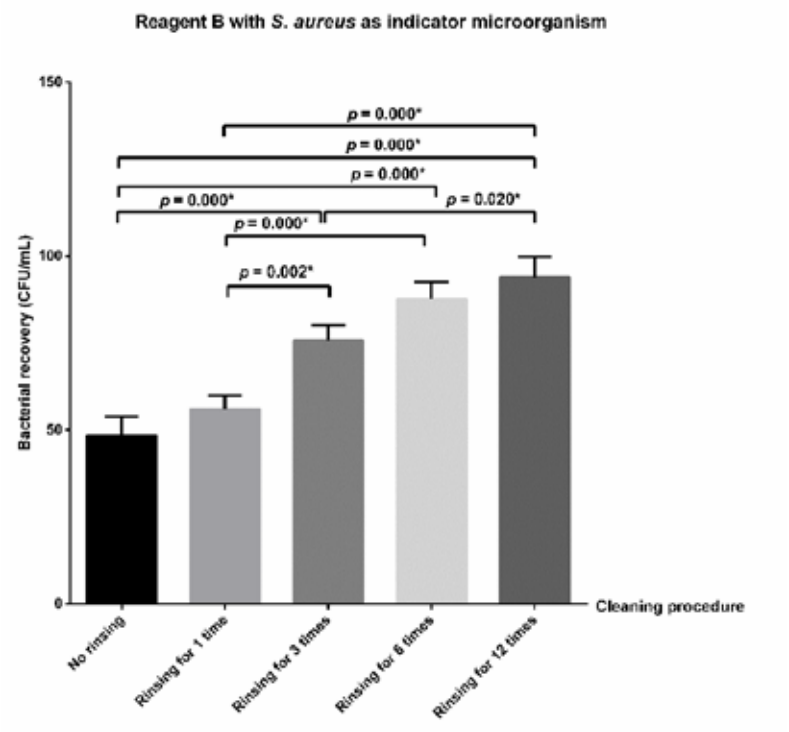
วิธีการล้าง	น้ำยาชนิด A	น้ำยาชนิด B	น้ำยาชนิด C
	p-value*	*p*-value*	*p*-value*
ไม่ล้าง กับ ล้าง 1 ครั้ง	0.071	0.248	0.326
ไม่ล้าง กับ ล้าง 3 ครั้ง	0.000**	0.000**	0.009**
ไม่ล้าง กับ ล้าง 6 ครั้ง	0.000**	0.000**	0.000**
ไม่ล้าง กับ ล้าง 12 ครั้ง	0.000**	0.000**	0.000**
ล้าง 1 ครั้ง กับ ล้าง 3 ครั้ง	0.005**	0.003**	0.064
ล้าง 1 ครั้ง กับ ล้าง 6 ครั้ง	0.000**	0.000**	0.000**
ล้าง 1 ครั้ง กับ ล้าง 12 ครั้ง	0.000**	0.000**	0.000**
ล้าง 3 ครั้ง กับ ล้าง 6 ครั้ง	0.165	0.092	0.022**
ล้าง 3 ครั้ง กับ ล้าง 12 ครั้ง	0.089	0.020**	0.000**
ล้าง 6 ครั้ง กับ ล้าง 12 ครั้ง	0.679	0.415	0.050**

*ค่า *P*-value จากการคำนวณทางสถิติชนิด Student t-test

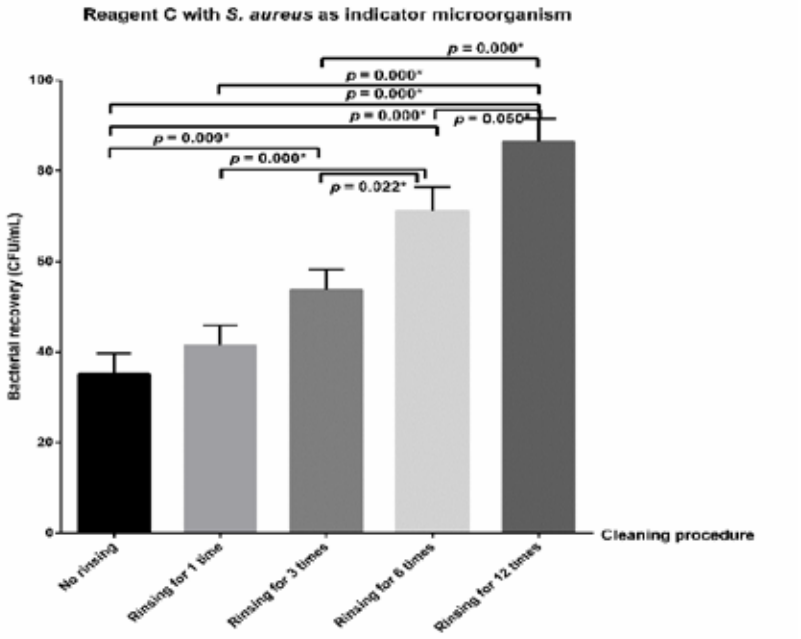
**แสดงค่าการทดสอบทางสถิติที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



รูปที่ 6 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วชนิด A (Reagent A) ร่วมกับวิธีการล้างแบบต่างๆ



รูปที่ 7 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วชนิด B (Reagent B) ร่วมกับวิธีการล้างแบบต่างๆ



รูปที่ 8 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วชนิด C (Reagent C) ร่วมกับวิธีการล้างแบบต่างๆ

จากผลการทดสอบสารตกค้างจากน้ำยาทำความสะอาดต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้แก่ น้ำยาชนิด A, B และ C ที่ทำการล้างด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ ไม่ล้างออกด้วยน้ำสะอาด ล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง ล้างด้วยน้ำสะอาด 6 ครั้ง และล้างด้วยน้ำสะอาด 12 ครั้ง เมื่อเปรียบเทียบผลของสารที่ตกค้างจากการล้างโดยนับจำนวนค่าเฉลี่ยการเจริญขึ้นของเชื้อ *S.aureus* ทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพของน้ำยาแต่ละชนิดด้วยวิธีการล้างที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนโคโลนีของ *S.aureus* (CFU/mL) ที่เจริญขึ้นจากการล้างด้วยน้ำยาล้างเครื่องแก้วและวิธีการล้างที่ต่างกัน

ชนิดน้ำยาล้างเครื่องแก้ว	ไม่ล้าง (CFU/mL)	ล้าง 1 ครั้ง (CFU/mL)	ล้าง 3 ครั้ง (CFU/mL)	ล้าง 6 ครั้ง (CFU/mL)	ล้าง 12 ครั้ง (CFU/mL)
น้ำยาชนิด A	54.67	67.17	83.17	92.42	95.58
น้ำยาชนิด B	48.42	56.00	75.75	87.58	94.00
น้ำยาชนิด C	35.17	41.50	53.67	71.08	86.3
กลุ่มควบคุม (control)	95.92				

ในการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วแต่ละชนิด เมื่อใช้น้ำยาชนิด A การล้างด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 3 ครั้ง จึงจะให้ค่าการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ใช้น้ำยาชนิด B ถ้าล้างด้วยน้ำสะอาด 6 ครั้งจะให้ค่าการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและ เมื่อล้างด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 12 ครั้งหลังจากใช้น้ำยาชนิด C จึงจะให้ค่าการเจริญของเชื้อใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

อภิปรายผล

การล้างทำความสะอาดเครื่องแก้วเพื่อไม่ให้มีสารตกค้างภายหลังการทำปฏิบัติการรวมถึงสารตกค้างจากน้ำยาล้างเครื่องแก้วถือเป็นสิ่งที่สำคัญที่จะช่วยให้ผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ นอกจากนี้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาการตกค้างของสารเคมียังส่งผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้เช่นกัน ปัจจุบันมีน้ำยาล้างเครื่องแก้วหลายชนิดที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการต่างๆ รวมถึงใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเช่น น้ำยาที่ใช้ล้างเครื่องแก้วโดยตรง หรือการประยุกต์ใช้น้ำยาทำความสะอาดอื่นๆ เพื่อล้างเครื่องแก้ว เช่น การใช้ผงซักฟอก เป็นต้น งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาแรกที่นำความรู้หรือประสบการณ์การทำงานประจำเกี่ยวกับการล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาในประเทศไทยมาพัฒนาเป็นงานวิจัย (Routine to research หรือ R2R) โดยใช้ตัวอย่างน้ำยาทำความสะอาดเครื่องแก้วที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการของประเทศไทยได้แก่ 1) น้ำยาที่ใช้ล้างเครื่องแก้วทางห้องปฏิบัติการที่มีองค์ประกอบของ polyethylene glycol dodecyl และ ethylene oxide 2) น้ำยาล้างจานที่มีองค์ประกอบของ linear alkylbenzene sulfonate, potassium salt และ sodium lauryl ether sulfate และ 3) ผงซักฟอกที่มีองค์ประกอบของ anionic surfactant, zeolite, sodium carbonate, sodium carboxymethyl และ cellulose นอกจากนี้งานวิจัยนี้ใช้เชื้อมาตรฐาน *S. aureus* เป็นตัวดัชนีทดสอบผลของสารตกค้างของน้ำยาล้างเครื่องแล้วและทดสอบประสิทธิภาพของวิธีล้างเครื่องแก้วเนื่องจากยังไม่มีงานวิจัยก่อนหน้าที่ทำการศึกษาในเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก รวมถึงในงานทดสอบทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเชื้อดังกล่าวจัดเป็นเชื้อที่มีความสำคัญทั้งทางการแพทย์และการควบคุมคุณภาพในเภสัชภัณฑ์[6-9] นอกจากนี้งานวิจัยนี้ใช้ glass petri dishes เป็นตัวแทนของเครื่องแก้วในการศึกษาผลของสารตกค้างจากน้ำยาล้างเครื่องในแง่ของความเป็น กรด - ด่างและผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ผลการทดสอบความเป็นกรด - ด่างของสารตกค้างของน้ำยาทั้ง 3 ชนิดแสดงให้เห็นว่า น้ำยาที่ใช้ล้างเครื่องแก้วแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันซึ่งสามารถเป็นได้ทั้งกรดและด่าง นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังแสดงให้เห็นว่าจำนวนครั้งของการใช้น้ำสะอาดเพื่อล้างน้ำยาล้างเครื่องแก้วมีผลต่อความเป็นกรด - ด่างของสารตกค้างในเครื่องแก้วโดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำให้เกิดภาวะเป็นกลาง ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าจำนวนครั้งของการล้างด้วยน้ำเปล่าและทำให้เครื่องแก้วอยู่ในสภาวะเป็นกลางหรือมีสารตกค้างน้อยที่สุดขึ้นอยู่กับชนิดและคุณสมบัติของน้ำยา ในงานวิจัยนี้ถ้าใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการที่มีส่วนผสมของ polyethylene glycol dodecyl และ ethylene oxide ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่างควรล้างน้ำสะอาดอย่างน้อย 3 ครั้ง ถ้าใช้น้ำยาล้างจานที่มีส่วนผสมของ linear alkylbenzene sulfonate, potassium salt และ sodium lauryl ether sulfate ทำให้มีคุณสมบัติเป็นกรด ควรล้างเครื่องแก้วด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 3 ครั้ง และเมื่อใช้ผงซักฟอกที่มีส่วนผสมของ anionic surfactant, zeolite, sodium carbonate, sodium carboxymethyl และ cellulose มีคุณสมบัติเป็นด่างควรล้างเครื่องแก้วอย่างน้อย 6 ครั้ง ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานควรที่จะทราบถึงลักษณะหรือคุณสมบัติของน้ำยาล้างเครื่องแก้วแต่ละชนิดก่อนนำมาใช้ รวมถึงควรทดสอบความเป็นกรด-ด่างที่เกิดขึ้นหลังจากการล้างเครื่องแก้วเพื่อไม่ให้มีสารตกค้างที่อาจส่งผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์หรือการทดสอบอื่นๆ ทางห้องปฏิบัติการ

เมื่อศึกษาผลของสารตกค้างของน้ำยาล้างเครื่องแก้วต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยในงานวิจัยนี้ใช้จำนวนเชื้อ *S. aureus* (CFU/mL) ที่สามารถเจริญได้ใน glass petri dishes ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำยาและวิธีการล้างประเภทต่างๆ เป็นตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพของกระบวนการล้างเครื่องแก้ว ผลการวิจัยที่ได้แสดง

ให้เห็นว่าการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วและวิธีการล้างที่แตกต่างกันส่งผลทำให้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มีความแตกต่างกัน สารตกค้างจากน้ำยาล้างเครื่องแก้วที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อน้อยที่สุดคือ น้ำยาที่ใช้สำหรับล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ รองลงมาคือน้ำยาล้างจานและผงซักฟอกตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบชนิดของน้ำยาล้างเครื่องแก้วกับการเจริญของเชื้อแสดงให้เห็นว่าการล้างด้วยน้ำสะอาด 12 ครั้งทำให้การเจริญของเชื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าถ้าห้องปฏิบัติการเคยใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วชนิดเดิมอยู่แล้วและต้องการเปลี่ยนน้ำยาล้างเครื่องแก้วชนิดใหม่ การล้างด้วยน้ำสะอาด 12 ครั้งจึงเป็นวิธีที่จะช่วยลดผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อในภาชนะที่ใช้ในการทำปฏิบัติการมากที่สุด นอกจากนี้เมื่อศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการล้างด้วยน้ำสะอาดภายหลังการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วแต่ละชนิด การศึกษานี้สามารถเป็นข้อมูลและแนวทางให้กับผู้ปฏิบัติงานได้ในกรณีที่ทางห้องปฏิบัติการไม่ต้องการเปลี่ยนชนิดน้ำยาล้างเครื่องแก้วหรือมีงบประมาณจำกัดในการเปลี่ยนการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วที่มีสารตกค้างที่น้อยกว่า ผลการศึกษาในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการโดยเฉพาะ การล้างด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 3 ครั้งขึ้นไปจะช่วยลดการตกค้างของน้ำยาล้างเครื่องแก้ว ซึ่งถ้าล้าง 6 หรือ 12 ครั้งจะช่วยลดการตกค้างของน้ำยาได้มากที่สุดตามลำดับ อย่างไรก็ตามถ้าผู้ปฏิบัติงานต้องการลดระยะเวลาในการล้างเครื่องแก้วและเพื่อให้สามารถปฏิบัติงานได้ต่อเนื่องโดยไม่เสียเวลาในการล้างมากสามารถล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้งได้เช่นกัน เมื่อใช้น้ำยาล้างจานในการล้างเครื่องแก้ว การล้างน้ำสะอาด 3 ครั้งหรือ 6 ครั้งจะไม่ส่งผลต่อความแตกต่างในการเจริญของเชื้อ *S. aureus* อย่างไรก็ตามการล้าง 3 ครั้งหรือ 12 ครั้งจะพบความแตกต่างของการเจริญของเชื้อ ดังนั้นควรล้างด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 6 ครั้งขึ้นไปจึงจะช่วยลดการตกค้างของน้ำยาล้างเครื่องแก้วได้ นอกจากนี้เช่นเดียวกับการใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการโดยเฉพาะที่สามารถล้างน้ำสะอาดที่ 12 ครั้งได้เช่นกัน แต่ถ้าผู้ปฏิบัติงานต้องการลดเวลาสามารถใช้วิธีการล้างแค่ 6 ครั้งได้ ในส่วนของการใช้ผงซักฟอกในการล้างเครื่องแก้ว ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าควรล้างด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 12 ครั้งจึงจะช่วยลดปริมาณสารตกค้างในเครื่องแก้วและลดผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ สาเหตุที่การล้างโดยใช้ผงซักฟอกจำเป็นต้องล้างน้ำหลายครั้งมากกว่าการใช้น้ำยาอื่นๆ เนื่องจากผงซักฟอกมีส่วนผสมของฟอสเฟต มีสารลดแรงตึงผิว สารลดความกระด้างของน้ำ สารรักษาระดับความเป็นด่าง สารกันคราบคืน สารเพิ่มความสดใส และส่วนประกอบอื่นๆ ที่บริษัทผู้ผลิตต่างคิดค้นนวัตกรรมใหม่ๆ ที่แตกต่างกันออกไปทำให้ไม่มีความคงตัว[10-11] ทำให้ล้างออกให้สะอาดได้ยากจึงให้เกิดการตกค้างของสารได้ง่ายกว่าการใช้น้ำยาทั้ง 2 ชนิดที่กล่าวข้างต้น

ข้อจำกัดของงานวิจัยนี้คือ จำนวนของน้ำยาล้างเครื่องแก้วที่นำมาเป็นตัวอย่างในงานวิจัยอาจมีน้อยชนิด รวมถึงเชื้อที่ทดสอบประสิทธิภาพยังไม่มีความหลากหลายของกลุ่มเชื้อที่มีความสำคัญและมีการทดสอบในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังไม่สามารถบอกได้ว่าชนิดของสารตกค้างใดในน้ำยาล้างเครื่องแก้วที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อทดสอบดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยในอนาคตควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในประเด็นดังที่กล่าวข้างต้น

สรุป

ผู้วิจัยแสดงให้เห็นว่าในห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการใช้อุปกรณ์เครื่องแก้ว น้ำยาและวิธีการล้างทำความสะอาดเป็นสิ่งสำคัญที่ควรคำนึงถึง โดยการเลือกน้ำยาทำความสะอาดควรคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นความสะดวกของผู้ปฏิบัติงานในการจัดหาน้ำยาล้าง

เครื่องแก้ว งบประมาณของห้องปฏิบัติการ เป็นต้น ซึ่งน้ำยาชนิดต่างๆ จะมีขั้นตอนและวิธีการล้างที่แตกต่างกัน ซึ่งผู้ปฏิบัติงานควรศึกษาและสังเกต รวมถึงนำมาใช้ปฏิบัติงานอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้ผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือรวมถึงลดขั้นตอนความผิดผลาดในระหว่างปฏิบัติงานได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ทำการวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงขอขอบคุณ นางสาวธนัชพร หวานชะเอม ที่ช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

1. รวิวรรณ อาจสำอาง. การประกันคุณภาพห้องปฏิบัติการทดสอบทางจุลชีววิทยา ตอนที่ 2: ข้อแนะนำสำหรับการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ : บุคลากร สิ่งอำนวยความสะดวก เครื่องมือ และอุปกรณ์ วัสดุที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ. วารสารออนไลน์สำนักบริหารและรับรองห้องปฏิบัติการ. 2554; 21: 2-8.
2. Polonini HC, Grossi LN, Ferreira AO, Brandão MAF. Development of a standardized procedure for cleaning glass apparatus in analytical laboratories. Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences. 2011; 32(1) :133-136.
3. World Health Organization. Glassware and plasticware. [Internet]. [Accessed: Aug 7, 2018]. Available from: http://www.who.int/water sanitation_health/resourcesquality/wqmchap10.pdf.
4. San Diego County Public Health Laboratory. Water Microbiology Quality Assurance Manual. [Internet]. [Accessed: Aug 10, 2018]. Available from: https://www.waterboards.ca.gov/water_issues/programs/tmdl/records/region_9/2006/ref2714.pdf.
5. Sandle T, Satyada R. Determination of the cleaning efficiency for glassware in the pharmaceutical microbiology laboratory. European Journal of Parenteral & Pharmaceutical Sciences. 2016; 21(1): 16-22.
6. The United States Pharmacopeia. USP 42: NF36 The United Srates Pharmacopeia. Rockville, MD, USA: The United States Phramacopeial convention; 2019.
7. British Pharmacopeia. British Pharmacopeia Volume V. London, UK: The Stationery Office; 2019.
8. Department of Medical Sciences: Ministry of Public Health. Thai Pharmacopoeia II, Volume 1, Part 1. Bangkok, Thailand: Office of National Buddishm Press; 2018.
9. Kahl BC, Becker K, Löffler B. Clinical significance and pathogenesis of staphylococcal small colony variants in persistent infections. Clinical microbiology reviews. 2016; 29(2): 401-27.
10. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก.78-2549. ผงซักฟอก. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ: กระทรวงอุตสาหกรรม; 2550.
11. อารัมภ์รัตน์ รัชดานุรักษ์. มาตรฐานผงซักฟอกกับการพัฒนาผงซักฟอก. สมอ สาร. 2548; 31: 6-7.