

เปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของคลอเฮกซิดีนกลูโคเนตความเข้มข้น ร้อยละ 2 และ ร้อยละ 4 ในแอลกอฮอล์ต่อการทำลายเชื้อ *สแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส* ที่ผิวหนังและดื้อต่อยาเมทิซิลลินในห้องปฏิบัติการ

ณัฐมน นิยมเดชา^{1*}, กัญศุต วงษาเนา², นริศรา มังกรแก้ว³

Received: June 6, 2016

Revised & Accepted: December 12, 2016

บทคัดย่อ

ยาฆ่าเชื้อ chlorhexidine gluconate (CHG) เป็นที่ยอมรับในประสิทธิภาพด้านการทำลายจุลชีพโดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก แต่ความเข้มข้นและส่วนผสมในการใช้งานที่หลากหลายในปัจจุบันอาจส่งผลต่อคุณสมบัติในการทำลายเชื้อและการคงฤทธิ์ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาแบบ *in vitro* เพื่อทดสอบการทำลาย methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) และ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ของ CHG ในส่วนผสม 4 แบบคือ 2 % และ 4% CHG ใน 70 % ethyl alcohol (EtOH) และ 2 % และ 4% CHG ใน 70 % isopropyl alcohol (IPA) โดยเปรียบเทียบค่าไตเตอร์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (inhibitory titer) และติดตามระยะเวลาในการออกฤทธิ์และคงฤทธิ์ทำลายเชื้อทั้งสองกลุ่ม (time-kill kinetic) ผลวิจัยพบว่า ค่า inhibitory titer ต่อเชื้อทั้งสองสายพันธุ์เมื่อทดสอบด้วย CHG ที่ความเข้มข้นตั้งต้นเดียวกันอยู่ในระดับสูงและไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งบ่งชี้ว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ยังคงไวต่อการทำลายด้วย CHG นอกจากนี้พบว่าส่วนผสมของ CHG ทั้งสี่รูปแบบให้ผลทำลายเชื้อได้รวดเร็วภายในเวลา 15 วินาทีและคงฤทธิ์ได้นานถึง 6 ชั่วโมง ดังนั้นงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ส่วนผสมของ CHG ทั้งสี่รูปแบบทำลายเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว และคงฤทธิ์ได้ยาวนานไม่แตกต่างกัน แต่ในการใช้งานทางการแพทย์ผู้วิจัยแนะนำให้ใช้ความเข้มข้น 2 % เพื่อลดโอกาสในการเกิดเชื้อดื้อต่อ CHG และลดปัญหาการแพ้ต่อ CHG บริเวณผิวหนังของผู้ป่วยเมื่อสัมผัสกับ CHG ที่ความเข้มข้นสูง ทั้งนี้การใช้ยาฆ่าเชื้อตามแนวทางที่เหมาะสมจะช่วยควบคุมและป้องกันปัญหาการแพร่กระจายโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต, เอ็มเอสเอสเอ, ไตเตอร์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ, ระยะเวลาในการออกฤทธิ์และการคงฤทธิ์ทำลาย

¹ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี

²กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ปทุมธานี

³หน่วยจุลชีววิทยา โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ปทุมธานี

* ผู้รับผิดชอบบทความ

In vitro* comparing the antimicrobial activity of 2 % and 4 % of chlorhexidine gluconate in alcohol solution against methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus

Nattamon Niyomdecha^{1*}, Titeyut Wongsanao², Narissare Mungkornkaew³

Abstract

Chlorhexidine gluconate (CHG) has been well recognized in antimicrobial activity especially to Gram positive bacteria. However, there are several mixtures and concentrations of CHG used nowadays, thus, this may affect to its bactericidal and persistent activity. This study used four different CHG mixtures, including 2 % and 4 % CHG in 70 % ethyl alcohol (EtOH), and 2 % and 4 % CHG in 70 % isopropyl alcohol (IPA), to evaluate inhibitory titer and time-kill kinetic of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in an *in vitro* model. The results revealed that when tested at the same CHG concentration, inhibitory titers derived from both strains were very high and no comparable, indicating that MSSA and MRSA were still susceptible to CHG. Furthermore, all CHG mixtures could destroy MSSA and MRSA immediately within 15 seconds and also showed persistent activity for six hours of exposure in time-kill kinetic measurement. Although our study demonstrated that four different CHG mixtures had the similar properties of immediate and persistent antimicrobial activity to MSSA and MRSA, we recommend that using 2 % CHG is better than 4 % CHG in medical applications to avoid the problem of microorganism drug resistance and skin irritation of patients. In addition, the optimal use of antiseptic can help to control and prevent the nosocomial infection problem effectively.

Keywords : Chlorhexidine gluconate, MSSA, MRSA, Inhibitory titer, Time-kill kinetic

¹Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathumthani province, Thailand

²Pharmacy Department, ThammasatChalermprakiet Hospital, Pathumthani province, Thailand

³Microbiology Laboratory Unit, ThammasatChalermprakiet Hospital, Pathumthani province, Thailand

*Corresponding author: (e-mail: nissaree.fy@gmail.com)

บทนำ

ปัญหาสำคัญที่พบในโรงพยาบาลคือการเกิดโรคติดเชื้อในผู้ป่วยภายหลังเข้ารับการรักษาซึ่งเรียกว่า Hospital-Acquired Infection (HAI) หรือ Nosocomial Infection⁽¹⁾ สาเหตุหลักมาจากการได้รับเชื้อปนเปื้อนบนผิวหนังของผู้ป่วยหรือจากมือของบุคลากรทางการแพทย์ที่ปฏิบัติงานกับผู้ป่วย ซึ่งมีการทำความสะอาดเพื่อกำจัดเชื้อไม่เพียงพอ⁽²⁾ ลักษณะการติดเชื้อมักเกิดในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการใส่สายสวน (catheter) หรือได้รับการผ่าตัดทำให้เชื้อสามารถเข้าสู่กระแสเลือดและแพร่ไปยังอวัยวะต่างๆ ได้⁽³⁾ โดย *Staphylococcus aureus* เป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบทั้งในประเทศที่พัฒนาและกำลังพัฒนา *S. aureus* ทนต่อสิ่งแวดล้อมได้ดีสามารถก่อโรคได้หลายรูปแบบ เช่น ฝี หนอง แผลติดเชื้อที่ผิวหนังภายนอกตลอดจนการติดเชื้อในอวัยวะภายใน ปัจจุบันการรักษาโรคติดเชื้อจาก *S. aureus* ยากขึ้นเนื่องจากการดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาโดยเฉพาะสายพันธุ์ที่เรียกว่า methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ที่ดื้อต่อยาในกลุ่ม beta-lactam ทั้งหมดและขณะนี้พบเชื้อ MRSA เพิ่มมากขึ้นทั่วโลก⁽⁴⁾ ในแถบเอเชียพบ MRSA ถึงร้อยละ 67.4 เป็นเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิตจำนวนมาก^(5,6) และในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของ MRSA มายาวนานกว่า 20 ปีซึ่งส่วนใหญ่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาล

จากความสำคัญของปัญหาการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่เกิดขึ้นทั่วโลกจำเป็นต้องจัดหาแนวทางปฏิบัติที่ดีที่สุดเพื่อป้องกันการติดเชื้อในผู้ป่วย โดยแนวทางหนึ่งที่มีประสิทธิภาพคือ การใช้ยาฆ่าเชื้อ (antiseptic) ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อหรือฆ่าเชื้อ ในการเช็ดทำความสะอาดผิวหนังของผู้ป่วยหรือมือผู้ปฏิบัติงาน⁽⁷⁾ คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต (chlorhexidine-gluconate, CHG) จัดเป็นยาฆ่าเชื้อที่มีการยอมรับในด้านประสิทธิภาพและใช้อย่างกว้างขวางในโรงพยาบาลทั่วโลกนานกว่า 60 ปี ยาออกฤทธิ์ทำลายจุลชีพได้หลากหลายกลุ่มโดยเฉพาะกับแบคทีเรียแกรมบวก มีความคงฤทธิ์ได้ยาวนาน และเป็นพิษต่ำจึงปลอดภัยในการใช้งานกับมนุษย์⁽⁸⁾ มีงานวิจัยหลายฉบับบ่งชี้ถึงประโยชน์ของการใช้งาน CHG กับผู้ป่วยพบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อที่เกาะอยู่บนผิวหนัง ลดการติดเชื้อจากแผลผ่าตัด ลดการติดเชื้อในกระแสเลือด รวมทั้งช่วยลดการระบาดของเชื้อในโรงพยาบาล⁽⁹⁻¹¹⁾ แต่เนื่องจากรูปแบบและความเข้มข้นที่ใช้ภายในแต่ละโรงพยาบาลมีความแตกต่างกันโดยความเข้มข้นที่นิยมใช้สำหรับทำความสะอาดผิวหนังผู้ป่วย คือ ร้อยละ 2 และ ร้อยละ 4 และมักใช้ผสมร่วมกับแอลกอฮอล์

ชนิด เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol, EtOH) หรือ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ (isopropyl alcohol, IPA) ที่ความเข้มข้น 70% เพื่อเสริมฤทธิ์ทำลายเชื้อได้รวดเร็วขึ้นซึ่งผู้วิจัยสังเกตเห็นว่าความแตกต่างในการใช้งานอาจส่งผลต่อคุณสมบัติในการทำลายเชื้อ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของ CHG ในส่วนผสม 4 แบบได้แก่ 2% และ 4% CHG ใน 70% EtOH (2% CHG/EtOH และ 4% CHG/EtOH) และ 2% และ 4% CHG ใน 70% IPA (2% CHG/IPA และ 4% CHG/IPA) ต่อการยับยั้งหรือทำลายเชื้อ methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) และ MRSA แบบ *in vitro* โดยดูค่าไตเตอร์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (inhibitory titer) และติดตามระยะเวลาในการออกฤทธิ์และการคงฤทธิ์ทำลายเชื้อทั้งสองกลุ่ม (time-kill kinetic) ซึ่งผลวิจัยที่ได้จะเป็นแนวทางในการเลือกใช้อย่างเหมาะสมและเหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุดให้แก่แต่ละโรงพยาบาล

วัสดุและวิธีการ

1. แบคทีเรียที่ใช้ศึกษาและการเพาะเชื้อ

การทดสอบการออกฤทธิ์ของ CHG สรุปรูปแบบใช้ MSSA และ MRSA อย่างละ 1 สายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจประเภท hemoculture ของผู้ป่วยในหอวิกฤติ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ช่วงเดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2558 ซึ่งผลความไวต่อยาต้านจุลชีพของ MSSA มีดังนี้ Penicillin (P) -R, Tetracycline (TE) -S, Erythromycin (E) -S, Fosfomycin (FOS) -S, Oxacillin (OX) -S, Clindamycin (DA) -S, Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT) -S, Teicoplanin (TEC) -S, Vancomycin (VA) -S, Cefoxitin (FOX) -S และ Linezolid (LZD) -S และสำหรับ MRSA มีดังนี้ P-R, TE -S, E -R, FOS -S, OX -R, DA -R, SXT -S, TEC -S, FOX -R, LZD -S และ VA -S (MIC 1.0 µg/ml)

เชื้อมีการเก็บรักษาไว้ใน tryptic soy broth (TSB, BD) ที่ผสมกลีเซอรอลร้อยละ 20 ที่อุณหภูมิ -80 °C จนกว่าทำการศึกษา การเพาะเชื้อทำโดยใช้อาหาร blood agar และ บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 35-37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง

2. การเตรียมยาฆ่าเชื้อ CHG สรุปรูปแบบ

ส่วนประกอบของยาฆ่าเชื้อ CHG แต่ละรูปแบบในปริมาตร 1 L แสดงในตารางที่ 1 โดยบรรจุในขวดสีชา ฝาเกลียวปิดสนิท และมีอายุการใช้งาน 6 เดือนนับจากวันเตรียม

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบในการเตรียมน้ำเชื้อ CHG แต่ละรูปแบบในปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาตรที่ใช้ (ml)			
	2% CHG/EtOH	4% CHG/EtOH	2% CHG/IPA	4% CHG/IPA
20 % CHG	100	200	100	200
95 % Ethanol	736.84	736.84	-	-
99 % IPA	-	-	707.07	707.07
Sterile water	ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml			

3. การทดสอบหาค่า inhibitory titer ของ CHG สัรูปแบบ

การหาค่า inhibitory titer ของ CHG ใช้วิธี macrodilution broth ตามงานวิจัยของ DeBaun⁽¹²⁾ ทำโดยปรับความขุ่นของ MSSA และ MRSA ในน้ำเกลือปราศจากเชื้อ (NSS) ให้เทียบเท่า McFarland no. 4 ($\sim 1.2 \times 10^9$ CFU/ml) และทำการเจือจาง CHG แต่ละรูปแบบลงทีละสองเท่า (two-fold dilution) เริ่มจากผสม 1 ml ของ CHG ที่ความเข้มข้นตั้งต้นกับ 1 ml ของตัวเจือจาง (TSB) จากนั้นจึงดูดสารผสมออกไป 1 ml เพื่อทำการเจือจางจนได้อัตราส่วน 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1,024, 1:2,048, 1:4,096 และ 1:8,192 ตามลำดับ แล้วจึงเติม 1 ml ของเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้วลงไปในแต่ละความเจือจางในหลอดทดลองเขย่าผสมกันและบ่มเพาะที่ 37°C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

การอ่านผลการทดลองต้องอาศัยตัวควบคุมบวกและลบดังนี้ ตัวควบคุมบวกต้องเห็นความขุ่นจากการเจริญของเชื้อที่ผสมกับอาหาร TSB และตัวควบคุมลบต้องไม่มีความขุ่นจากการเจริญของเชื้อซึ่งมีสามแบบ คือ (i) แบบไม่มีเชื้อผสมใน TSB (ii) แบบไม่มีเชื้อผสมใน CHG+TSB และ (iii) แบบมีเชื้อผสมกับ CHG โดยถ้าผลจากตัวควบคุมผ่านแล้วจึงทำการอ่านผลการทดสอบ MIC โดยดูค่าความเจือจางสูงสุดของหลอดทดลองที่ไม่พบความขุ่นหรือการเจริญของเชื้อด้วยตาเปล่า

4. การติดตามระยะเวลาในการออกฤทธิ์และการคงฤทธิ์ทำลายเชื้อ (Time-kill kinetic)

การทดลองนี้ทำเพื่อติดตามระยะเวลาในการทำลายเชื้อและการคงฤทธิ์ของ CHG แต่ละรูปแบบโดยทั่วไปจำนวนเชื้อที่มีชีวิตจะต้องลดจำนวนลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น การวัดผลจึงต้องอาศัย neutralizer ในการลบฤทธิ์ของ CHG เพื่อหยุดปฏิกิริยา ณ เวลาที่กำหนด ดังนั้นก่อนการทดสอบ

time-kill kinetic ต้องทดสอบความสามารถของ neutralizer ในการหยุดปฏิกิริยาเพื่อผลการทดสอบที่ถูกต้องแม่นยำ

การทดสอบปฏิกิริยาลบฤทธิ์ของ neutralizer ต่อสาร CHG

การเตรียมสาร neutralizer ผสม 11.67 g ของ lecithin และ 100 ml polysorbate 80 ในน้ำกลั่น 1 L ละลายสารบน hot plate stirrer เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม 10.1 g Na_2HPO_4 , 0.4 g K_2HPO_4 , 1.0 ml Triton X-100, 5 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ 10 g Tamol ละลายผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ของสารให้อยู่ในช่วง 7.8-7.9 ด้วย 0.1 N NaOH หรือ 0.1 N HCl

การทดสอบปฏิกิริยาลบฤทธิ์ ใช้แนวทางมาตรฐานในการทดสอบจาก ASTM E 1054-02⁽¹³⁾ โดยปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียอ้างอิง *S. epidermidis* ATCC 12228 ให้ได้ประมาณ 3×10^3 CFU/ml จากนั้นทดสอบ 4 ขั้นตอนดังนี้ (i) ศึกษาการเจริญของเชื้อใน non-inhibitory medium ผสม 100 μl ของเชื้อกับ 9.9 ml NSS (ii) ศึกษาประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ทำลายเชื้อของ CHG แต่ละรูปแบบ ผสม 100 μl ของเชื้อกับ 9.9 ml CHG (iii) ศึกษาความไม่เป็นพิษ (non-toxic) ของ neutralizer ต่อตัวเชื้อ ผสม 100 μl ของเชื้อกับ 9.9 ml neutralizer และ (iv) ศึกษาความสามารถในการลบฤทธิ์ CHG ของ neutralizer ผสม 1 ml CHG กับสาร neutralizer 8.9 ml และเติม 100 μl ของเชื้อ จากนั้นในทุกขั้นตอนทำการจับเวลา เมื่อครบ 1 นาที และ 30 นาที ดูดสารผสมมา 1 ml ลงบนอาหารแข็ง nutrient agar (Oxoid) ทำให้กระจายตัวด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยม และบ่มเพาะที่ 37 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมงเพื่อนับจำนวนโคโลนี (ทดสอบซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง) โดยมีข้อแนะนำของขั้นตอนที่ 1 คือ จำนวนของเชื้อที่นับได้ต้องอยู่ในช่วง 30-300 CFU /plate

ภายหลังได้ผลการทดสอบของ neutralizer ที่สามารถลบล้างฤทธิ์ต่อ CHG จึงเริ่มทำการทดสอบ time-kill kinetic โดยใช้ MSSA และ MRSA ที่ปรับความเข้มข้นให้มีค่าประมาณ 1.2×10^9 CFU/ml ปริมาตร 100 μ l เติมนลงในหลอดทดลองที่มี 900 μ l CHG แต่ละรูปแบบเขย่าผสมกันและเริ่มจับเวลา เมื่อครบเวลาที่ 15 วินาที, 30 วินาที, 1 นาที, 2 นาที, 30 นาที และ 6 ชั่วโมง ให้เติม 1 ml neutralizer เขย่าผสมกันเพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนับจำนวนเชื้อมีชีวิตที่เหลืออยู่ด้วยเทคนิค pour plate โดยการนำสารผสมในหลอดทดลองทั้งหมด (2 ml) ใส่ในจานเพาะเชื้อ แล้วจึงเทอาหาร nutrient agar ที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อและมีอุณหภูมิประมาณ 45-50 °C ผสมและเขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน ร่อนอาหารแข็งตัวบนจานเพาะเชื้อที่ 37 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

5. ความปลอดภัยทางชีวภาพ

โครงการวิจัยนี้ผ่านการพิจารณารับรองจากคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (เลขที่ 010/2557)

ผลการศึกษา

1. ค่า inhibitory titer ของ CHG สี่รูปแบบ

ผลการหาค่า inhibitory titer จาก CHG ทั้งสี่รูปแบบต่อ MSSA และ MRSA พบว่าค่า inhibitory titer ที่ได้จากความเข้มข้นระดับเดียวกัน (2% หรือ 4%) ของ CHG ในทุกรูปแบบต่อเชื้อทั้งสองสายพันธุ์มีค่าเท่ากัน และอยู่ในระดับไตเตอร์ที่สูงมากคือ 2,048 ของ 2% และ 4,096 ของ 4% ทั้งใน EtOH และ IPA

2. การทดสอบปฏิกิริยาลบล้างฤทธิ์ และ time-kill kinetic

ผลการทดสอบความสามารถในการลบล้างฤทธิ์หรือหยุดปฏิกิริยาของ neutralizer ต่อ CHG พบว่ามีประสิทธิภาพเหมาะสมต่อการใช้เป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยา CHG และไม่เป็นพิษทำลายเชื้อแบคทีเรียที่มีชีวิต (ตารางที่ 2) สำหรับผลการศึกษา time-kill kinetic แบบ *in vitro* พบว่า ยาฆ่าเชื้อทั้งสี่รูปแบบมีประสิทธิภาพสูงในการทำลายทั้ง MSSA และ MRSA เนื่องจากสามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 15 วินาที และยังคงฤทธิ์ได้ยาวนานจนถึง 6 ชั่วโมงของการทดสอบ

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาศักยภาพการลบล้างฤทธิ์ที่มีต่อเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228

Phase	การทดสอบ	ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ^a (CFU/plate)	
		1 นาที	30 นาที
I	การเจริญของเชื้อใน non-inhibitory medium	42	48
II	ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ทำลายเชื้อของ CHG	0	0
III	ศึกษาความไม่เป็นพิษของ neutralizer	45	52
IV	ความสามารถของ neutralizer ในการลบล้างฤทธิ์ CHG	56	47

^aค่าเฉลี่ยจากการทดสอบจำนวนอย่างน้อยสองครั้ง

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

ยาฆ่าเชื้อ CHG ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในโรงพยาบาลทั่วโลกซึ่งองค์การอนามัยโลก (WHO) ได้จัดให้เป็นเคมีภัณฑ์ที่จำเป็นต่อระบบสาธารณสุขในแต่ละประเทศ⁽⁸⁾ โดยศูนย์ควบคุมและป้องกันโรค (CDC) และองค์การอาหารและยา (FDA) ของประเทศสหรัฐอเมริกาแนะนำให้ใช้ alcoholic chlorhexidine (2% CHG/70% IPA) เพื่อเป็นยาฆ่าเชื้อที่ผิวหนัง ซึ่งทำลายเชื้อได้หลากหลายกลุ่ม ออกฤทธิ์รวดเร็วเนื่องจากคุณสมบัติของแอลกอฮอล์ และคงฤทธิ์ได้ยาวนาน⁽¹⁴⁾ อย่างไรก็ตามพบว่า การใช้งาน CHG ตามโรงพยาบาลในประเทศไทยมีรูปแบบการใช้งานที่หลากหลาย

จึงต้องคำนึงถึงผลต่อการทำลายเชื้อ การเหนี่ยวนำให้เกิดการดื้อต่อ CHG หรืออาจส่งผลให้เกิดการแพ้เมื่อใช้ในผู้ป่วย งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของ CHG ความเข้มข้น 2% และ 4% ใน EtOH และ IPA ต่อการทำลาย MSSA และ MRSA โดย IPA และ EtOH มีสูตรโครงสร้างที่ต่างกันจึงทำให้การออกฤทธิ์ทำลายกลุ่มจุลชีพได้แตกต่างกัน ซึ่ง EtOH มีฤทธิ์ทำลายไวรัสได้ดีกว่า IPA แต่ IPA มีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียได้ดีกว่า EtOH⁽¹⁵⁾

จากการหาค่า inhibitory titer ของ CHG ทุกรูปแบบต่อเชื้อทั้งสองสายพันธุ์พบว่าค่าไตเตอร์ที่ได้อยู่ในระดับสูงมากและมีค่าเท่ากันบ่งชี้ว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ยังคงไวต่อ

การทำลายด้วย CHG และความแตกต่างของชนิดแอลกอฮอล์ที่ผสมไม่มีผลต่อคุณสมบัติการทำลายเชื้อ โดยค่า inhibitory titer ที่ได้จากการเจือจางสาร CHG ตั้งต้นลงทีละสองเท่าของ 4% CHG/IPA/EtOH มีค่าสูงกว่าของ 2% CHG/IPA/EtOH อยู่สองเท่า (4,096:2,048) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้น CHG ที่สูงขึ้นสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ทำลายเชื้อได้ดีกว่า ซึ่งหากมีการทดสอบค่า inhibitory titer กับเชื้อจำนวนมากขึ้นจะสามารถใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงเพื่อดูการพัฒนาของเชื้อในการติดเชื้อ CHG ในอนาคต เนื่องจากมีบางรายงานของต่างประเทศพบ MRSA ที่ติดเชื้อ CHG โดยเฉพาะในโรงพยาบาลซึ่งมีการใช้ยาฆ่าเชื้อจำนวนมากมาเป็นเวลานาน⁽¹⁶⁾ รวมถึงในปี พ.ศ. 2555 ที่มีรายงานพบว่าเชื้อ MRSA บางส่วนที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลศรีนครินทร์มีความไวต่อ CHG ลดลง⁽¹⁷⁾ จึงควรมีการติดตามการเปลี่ยนแปลงผ่านการศึกษาค่า inhibitory titer หรือ MIC เป็นระยะ

การเลือกชนิดยาฆ่าเชื้อเพื่อทำลายเชื้อที่ผิวหนังก่อนทำหัตถการนับเป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก ที่ช่วยปกป้องผู้ป่วยจากการติดเชื้อปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกายอันจะส่งผลต่อการเสียชีวิตได้ นอกจากคุณสมบัติในการออกฤทธิ์รวดเร็ว คงฤทธิ์ยาวนาน มีความปลอดภัยในการใช้งาน สารดังกล่าวจะต้องคงทนเมื่อสัมผัสกับสารต่าง ๆ ที่อาจลดการออกฤทธิ์ได้ เช่น เลือด เนื้อเยื่อที่เน่าตาย หรือหนอง⁽¹⁴⁾ ในการวิจัยนี้จึงทำการศึกษาแบบ *in vitro* เพื่อดูระยะเวลาในการออกฤทธิ์และคงฤทธิ์เปรียบเทียบกับระหว่าง CHG ทั้งสี่รูปแบบต่อการทำลาย MSSA และ MRSA ผลวิจัยพบว่า CHG ทุกสูตรออกฤทธิ์ได้อย่างรวดเร็วไม่แตกต่างกันกับเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ได้ภายในเวลา 15 วินาที และมีความคงฤทธิ์ยาวนานถึง 6 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ DeBaun⁽¹²⁾ พบว่า CHG ที่ใช้ในการศึกษานี้ออกฤทธิ์ทำลายเชื้อได้เร็วกว่าถึง 4 เท่า (15 วินาที:60 วินาที) เนื่องจากมีการผสมร่วมกับแอลกอฮอล์ซึ่งต่างจากในงานวิจัยของ DeBaun ที่ใช้ 2% CHG เป็นตัวทดสอบ นอกจากนี้ผลวิจัยมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Steczko และคณะ⁽¹⁴⁾ พบว่า MSSA สามารถถูกทำลายได้อย่างรวดเร็วภายในเวลา 15 วินาทีเมื่อทดสอบกับยาฆ่าเชื้อที่มีส่วนผสมของ IPA โดยเป็นการศึกษาแบบ *in vitro* เช่นเดียวกัน แม้ว่าคุณสมบัติของ CHG ทั้งสี่รูปแบบในด้านระยะเวลาออกฤทธิ์ และการคงฤทธิ์ทำลาย MSSA และ MRSA จากงานวิจัยนี้ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามผู้วิจัยเห็นว่าทางเลือกใช้ 2% CHG ที่ผสมด้วย IPA หรือ EtOH มี

ความเหมาะสมกว่าที่ความเข้มข้น 4% ในการนำไปใช้งานในโรงพยาบาล เนื่องจากลดโอกาสในการเกิดเชื้อดื้อต่อ CHG ที่ความเข้มข้นสูง นอกจากนี้ยังพบว่าโอกาสเกิดการแพ้ที่ผิวหนัง (skin irritation) สัมพันธ์กับความเข้มข้นของ CHG ที่เลือกใช้ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย 4% CHG มักทำให้เกิดผิวหนังอักเสบ dermatitis ได้ โดยเฉพาะเมื่อถูกใช้บนน้ำยาล้างมือซึ่งจะต้องมีการสัมผัสกับสารบ่อยครั้ง⁽¹⁸⁾ และแม้ว่าจากผลวิจัยนี้ CHG สามารถทำลายเชื้อได้อย่างสมบูรณ์แบบ แต่ประสิทธิภาพเมื่อนำไปใช้กับผู้ป่วยอาจมีความแปรผันได้เนื่องจากในธรรมชาติเชื้อ *S. aureus* อาจสร้าง biofilm ขึ้นมาเพื่อปกป้องตัวเองจากการถูกทำลาย⁽¹⁹⁾ รวมไปถึงปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของ CHG ได้แก่ อายุการใช้งานไม่เกิน 6 เดือน เก็บในภาชนะปิดมิดชิดป้องกันเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อน เก็บในที่แห้ง และอากาศถ่ายเทสะดวก⁽⁸⁾

ดังนั้นงานวิจัยนี้สรุปได้ว่าการออกฤทธิ์และการคงฤทธิ์ของ CHG ความเข้มข้น 2% และ 4% ใน IPA หรือ EtOH ต่อการทำลาย MSSA และ MRSA ไม่แตกต่างกันซึ่งสามารถทำลายเชื้อได้ภายในเวลา 15 วินาที แต่การนำไปใช้งานจริงผู้วิจัยเห็นควรเลือกใช้ที่ความเข้มข้น 2% เพื่อลดปัญหาจากการเกิดเชื้อดื้อต่อ CHG และปัญหาการแพ้ CHG ความเข้มข้นสูงในผู้ป่วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ. ดร. วรดา สโมสรสุข ที่ให้คำปรึกษาในโครงการวิจัยและนาย วสุพล ผกามาต นักศึกษาภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ที่ให้ความช่วยเหลือจนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (ทุนนักวิจัยรุ่นใหม่) ประจำปีงบประมาณ 2557

เอกสารอ้างอิง

1. Sievert D, Armola R, Halm MA. Chlorhexidine gluconate bathing: does it decrease hospital-acquired infections? Am J Crit Care. 2011; 20: 166-70.
2. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. Am J Med. 1991; 91: 72-5.

3. Popovich K, Hota B, Hayes R, Weinstein RA, Hayden MK. Effectiveness of routine patient cleansing with chlorhexidine gluconate for infection prevention in the medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009; 30: 959-63.
4. Lestari ES, Severin JA, Verbrugh HA. Antimicrobial resistance among pathogenic bacteria in Southeast Asia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2012; 43: 385-422.
5. Kang CI, Song JH. Antimicrobial resistance in Asia: current epidemiology and clinical implications. *Infect Chemother.* 2013; 45: 22-31.
6. Kim SH, Song JH, chung DR, Thamlikitkul V, Yang Y, Wang H, et al. Changing trends in antimicrobial resistance and serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates in Asian countries: an Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) study. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56: 1418-26.
7. Boyce JM, Pittet D. Guideline for hand hygiene in health-care settings. *Am J Infect Control.* 2002; 30: 1-46.
8. Niyomdech N. Chlorhexidine gluconate (CHG): antimicrobial activity and medical applications. *J Med Assoc Thai.* 2015; 43: 5113-26.
9. Thamlikitkul V. The prevention of precatheter insertion skin preps infection by chlorhexidines. *SiMedBull* [serial on the internet]. 2011 Aug [cited 2015 Mar 13]. Available from: http://www.simedbull.com/content.php?content_id=2568.
10. Lee I, Agarwal RK, Lee BY, Fishman NO, Umscheid CA. Systematic review and cost analysis comparing use of chlorhexidine with use of iodine for preoperative skin antisepsis to prevent surgical site infection. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010; 31: 1219-29.
11. Climo MW, Sepkowitz KA, Zuccotti G, Fraser VJ, Warren DK, Perl TM, et al. The effect of daily bathing with chlorhexidine on the acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant *Enterococcus*, and health-care-associated bloodstream infections: results of a quasi-experimental multicenter trial. *Crit Care Med.* 2009; 37: 1858-65.
12. DeBaun B. Evaluation of the antimicrobial properties of an alcohol-free 2% chlorhexidine gluconate solution. *AORN J.* 2008; 87: 925-33.
13. Anonymous ASTM E1054-02. Standard test method for evaluation of inactivators of antimicrobial agents. 2002
14. Stecko J, Ash S, Brewer L, Guilleum A. *In vitro* and *in vivo* evaluation of efficacy of citrate/methylene blue/parabens/IPA solution as a skin disinfectant. *J Infect.* 2010; 60: 36-43.
15. วรณพร ศรีสุคนธ์รัตน์. สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในบ้านเรือนหรือทางสาธารณสุข. นนทบุรี: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข; 2558. [ค้นคว้า 10 เมษายน 2559] จาก: <http://fda.moph.go.th/psiond/download/km/KM24.8.58/KM%20สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในบ้านเรือนหรือทางสาธารณสุข.pdf>
16. Block C, Furman M. Association between intensity of chlorhexidine use and microorganisms of reduced susceptibility in a hospital environment. *J Hosp Infect.* 2002; 51: 201-6.
17. Lulitanond A, Damna T, Chanawong A, Sribenjalux P, Charoensri N, Sungkeeree S, et al. Current update on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin and chlorhexidine in Srinagarind Hospital. *J Med Tech Phy Ther.* 2012; 24: 22-8.
18. Stingeni L, Lapomarda V, Lisi P. Occupational hand dermatitis in hospital environments. *Contact Dermatitis.* 1995; 33: 172-6.
19. Nathan KA, Mark J, William C, Jeff GL, Mary EP, Mark ES. *Staphylococcus aureus* biofilms properties, regulation and roles in human disease. *Virulence.* 2011; 2: 445-59.