

ประสิทธิภาพและอายุการใช้งานของน้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde ในถังจุ่มฆ่าเชื้อในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

วิไล ลิ้นจงสูงงกช ชาลินี ดีเปลง จรรยา สมานิตย์ สุรเชษฐ์ คุณแก้ว
รัตนิย์ ทองทา ปิยภรณ์ เจริญผล

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพและอายุการใช้งานของน้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde ซึ่งเป็นสารละลายใสในถังจุ่มฆ่าเชื้อที่ติดตั้งในอาคารห้องปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยชีวภาพระดับ 3 หรือ Biosafety Laboratory level-3 (BSL-3) ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เพื่อใช้สำหรับทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ปนเปื้อนมากับวัสดุ อุปกรณ์ สารตรวจสอบต่างๆ หรือ viral RNA ที่มีความประสงค์จะนำออกนอกพื้นที่เขตควบคุมของห้องปฏิบัติการ BSL-3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายไวรัสของน้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde และการเจือจางน้ำยาฆ่าเชื้อให้มีความเข้มข้นเป็น 0.5%, 0.1% และ 0.01% เมื่อผสมกับไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์เอเชียวัน พบว่า 1% glutaraldehyde สามารถทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้อย่างสมบูรณ์ และเมื่อเจือจางให้มีความเข้มข้นเป็น 0.5 % และ 0.1 % ยังคงมีประสิทธิภาพในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้เช่นกัน ในขณะที่ความเข้มข้น 0.01% พบว่าไม่มีประสิทธิภาพทำลายไวรัสได้ ส่วนการทดสอบอายุการใช้งานของน้ำยาฆ่าเชื้อ glutaraldehyde ภายหลังการเตรียมและใช้งานในถังจุ่มฆ่าเชื้อที่ระยะ 3, 4, 5, 6 และ 7 เดือน พบว่าที่ความเข้มข้น 1%, 0.5% และ 0.1% ยังคงมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้และมีอายุการใช้งานนานถึง 7 เดือน ซึ่งเป็นการยืดอายุการใช้งานและประหยัดน้ำยาฆ่าเชื้อโดยไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนทุกๆ 3 เดือนตามปกติ

คำสำคัญ: ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย glutaraldehyde ถังจุ่มฆ่าเชื้อ

บทนำ

โรคปากและเท้าเปื่อยเกิดจากเชื้อไวรัสซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม picornavirus สามารถแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วจากสัตว์ป่วยและจากสิ่งของที่เป็นพาหุเชื้อ วิธีการควบคุมและป้องกันโรคไม่ให้แพร่กระจายไปสู่สัตว์อื่นหรือสิ่งแวดล้อมบริเวณข้างเคียงให้ได้ผลดีคือการคัดวงจรการแพร่เชื้อโดยการฆ่าเชื้อไวรัสที่ปนเปื้อนในสิ่งของต่างๆ วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ เครื่องใช้หรือบริเวณพื้นที่ที่เกิดโรคหรือที่มีเชื้อไวรัสปนเปื้อน การใช้น้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพเป็นวิธีที่ดีและเหมาะสมในการฆ่าหรือทำลายไวรัสได้อย่างสมบูรณ์และยังป้องกันการแพร่กระจายเชื้อไวรัสไปสู่บริเวณข้างเคียงหรือสู่สิ่งแวดล้อม มีรายงานการใช้สารเคมีที่มีคุณสมบัติเป็นกรดและด่างชนิดเข้มข้นจะสามารถฆ่าเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้ผลดี (Sellers, 1968) แต่มีข้อเสียคือสารบางชนิดทำให้เกิดอันตรายต่อผิวหนังและกัดกร่อนอุปกรณ์หรือเครื่องมือ ปัจจุบันได้มีการใช้เป็นยาฆ่าเชื้อไวรัสที่มีคุณสมบัติในการฆ่าหรือทำลายเชื้อไวรัสอย่างแพร่หลาย เช่นสารในกลุ่ม quaternary ammonium compound, chlorine และ iodine สำหรับฆ่าเชื้อไวรัส Swine Vesicular Disease, Vesicular Stomatitis ได้ผลและมีประสิทธิภาพโดยไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (Shirai *et al.*, 1999) จากรายงานของพยนต์และคณะ (2543) ได้มีการศึกษาประสิทธิภาพน้ำยาฆ่าเชื้อชนิดต่างๆที่สามารถฆ่าหรือทำลายเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 5 นาที ได้แก่ 4% โซดาแอช (Na_2CO_3), 0.5% Glutar-Z (glutaraldehyde) และ 0.25% speedyne เป็นต้น จากข้อมูลเหล่านี้จึงมีการนำสารละลาย 1% glutaraldehyde มาใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อไวรัสใส่ในถังจุ่มฆ่าเชื้อเพื่อใช้สำหรับทำลายไวรัสที่อาจปนเปื้อนมากับวัสดุ อุปกรณ์ หรือภาชนะที่ใส่สารหรือ viral RNA ต่างๆ ที่ได้ใช้งานในพื้นที่ควบคุมของห้องปฏิบัติการมีความปลอดภัยทางชีวภาพระดับ 3 หรือ BSL-3 ก่อนที่จะส่งต่อไปยังหน่วยล้างเพื่อทำการล้าง อบหรือนิ่งฆ่าเชื้อเพื่อใช้งานใหม่ต่อไปหรือมีความประสงค์จะนำสารตรวจสอบหรือ viral RNA ไปใช้ในการศึกษาวิจัยต่อไปจำเป็นต้องผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อปนเปื้อนก่อนตามหลักการ biosecurity system ของอาคาร BSL-3 โดยนำวัสดุอุปกรณ์ดังกล่าวในถังจุ่มฆ่าเชื้อ ซึ่งเป็นถังใส่น้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde เป็นเวลา 20 นาทีก่อนนำออกนอกพื้นที่ BSL-3

โดยปกติจะทำการเตรียมสารละลาย 1% glutaraldehyde จำนวนปริมาตร 70 ลิตรใส่ในถังจุ่มฆ่าเชื้อ และทำการเปลี่ยนใหม่ทุกๆ 3 เดือน ตามคำแนะนำของผู้เชี่ยวชาญด้าน biocontainment จากออสเตรเลีย (เอกสารไม่ตีพิมพ์) ซึ่งค่อนข้างจะสิ้นเปลืองน้ำยาฆ่าเชื้อและมีราคาแพง หากสามารถยืดอายุการใช้งานของน้ำยาฆ่าเชื้อดังกล่าวโดยยังคงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อไวรัสได้จะทำให้ประหยัดงบประมาณได้ระดับหนึ่ง ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการตรวจสอบประสิทธิภาพและอายุการใช้งานของน้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde ในถังจุ่มฆ่าเชื้อภายหลังการเตรียมและใช้งานเกิน 3 เดือน เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

อุปกรณ์และวิธีการ

เพาะเลี้ยงเซลล์

เพาะเลี้ยงเซลล์ baby hamster kidney-21(BHK-21)ใน growth medium ประกอบด้วย MEM + 5% bovine serum + 0.07% NaHCO_3 บ่มในตู้ incubator 37°C เป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้ได้เซลล์เป็น confluent monolayer สำหรับใช้ศึกษาด้าน cell toxicity และ inhibitory test ของน้ำยาม้าเชื้อ

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

เพาะเลี้ยงไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (FMDV) ไทป์เอเชียวันในเซลล์ BHK-21 ทำการเก็บน้ำเลี้ยงเชื้อเมื่อเกิด complete cytopathic effect (CPE) ภายใน 18 ชั่วโมง ตกตะกอนเซลล์โดยการปั่น แยกเก็บส่วนใสเป็นสัดเชื้อสำหรับการทดลองและตรวจสอบ virus titer โดยวิธี 50% tissue culture infectivity dose (TCID_{50}) คำนวณ virus titer ตามวิธีของ Reed and Muench (1938)

น้ำยาม้าเชื้อ 1% glutaraldehyde สำหรับใส่ในถังจุ่มฆ่าเชื้อ

น้ำยาม้าเชื้อ Glutar-vet ซึ่งมีส่วนประกอบของ 10 % glutaraldehyde (W/V) จากบริษัทผู้ผลิต ทำการเตรียมเป็นน้ำยา 1% glutaraldehyde โดยการเจือจางด้วย deionized (DI) water ในอัตราส่วน 1: 10 เตรียมปริมาตรทั้งหมด 70 ลิตรใส่ในถังจุ่มฆ่าเชื้อโดยใช้ glutaraldehyde 7 ลิตร ผสมน้ำ DI จำนวน 63 ลิตร จดบันทึกวันที่เตรียมและวันที่เปลี่ยนน้ำยาซึ่งปกติจะเปลี่ยนน้ำยาม้าเชื้อใหม่ทุก ๆ 3 เดือนโดยเปิดวาล์วด้านล่างถึงเพื่อทิ้งน้ำยาเดิมออกให้หมด ล้างทำความสะอาดถังและใส่น้ำยา 1 % glutaraldehyde ที่เตรียมใหม่ลงในถังจุ่มฆ่าเชื้อในการใช้งานตามปกติ ในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีการเปลี่ยนน้ำยาเมื่อครบกำหนดโดยยังใช้งานตามปกติ แต่จะทำการเก็บตัวอย่างน้ำยาม้าเชื้อต่อเนื่องในถังจุ่มที่ระยะการใช้งานที่ 3, 4, 5, 6 และ 7 เดือนตามลำดับ ตัวอย่างที่เก็บในแต่ละครั้งต้องทำการตรวจสอบทันที โดยตรวจสอบประสิทธิภาพในการฆ่าหรือทำลายไวรัสด้วยวิธี virus titration

การตรวจสอบคุณสมบัติด้านความเป็นกรดและด่าง

น้ำยาม้าเชื้อ 1% glutaraldehyde นำมาทำการเจือจางให้เป็น 0.5%, 0.1 และ 0.01 % โดยใช้ DI water นำไปตรวจสอบคุณสมบัติความเป็นกรดและด่าง โดยการวัดด้วยเครื่อง pH meter ทำการวัดค่า pH จำนวน 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

การตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำยาม้าเชื้อที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity)

ตรวจสอบความเป็นพิษของน้ำยาม้าเชื้อที่มีต่อเซลล์ BHK-21 โดยเจือจางน้ำยาม้าเชื้อโดยวิธี 10-fold serial dilution จาก undiluted ถึง 10^{-5} จากนั้น inoculate ลงบนเซลล์ BHK-21 บ่มในตู้ CO_2 incubator 37°C เป็น

เวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ภายใน 24-48 ชั่วโมง โดยแสดงค่าเป็นความเจือจางสูงสุด ที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์

การตรวจหาประสิทธิภาพในการฆ่าไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (Inhibition test)

เป็นการตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde ในความเข้มข้นต่างๆที่สามารถฆ่า หรือทำลายคุณสมบัติด้าน infectivity ของไวรัสได้อย่างสมบูรณ์

วิธีการมีดังนี้ นำตัวอย่างน้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde ใน dunk tank ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.5 %, 0.1 % และ 0.01 % ตามลำดับโดยใช้ DI water เตรียมไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (FMDV) ไทยเชื้อเข็ญ โดยใช้ปริมาณความรุนแรงไวรัส (virus titer) ไม่ต่ำกว่า 6.0 log TCID₅₀/0.2 ml ทำการผสม virus-disinfectant mixture ในปริมาณที่เท่ากันผสมให้เข้ากัน นำไปตรวจสอบด้วยวิธี virus titration โดยเจือจางแบบ 10-fold serial dilution และ inoculate สารละลายดังกล่าวปริมาณ 0.2 ml ลงบนเซลล์ BHK-21 ในไมโครเพลทแบบ 24 หลุม บ่มในตู้ CO₂ incubator ที่ 37°C ตรวจสอบ CPE ภายใน 48 ชั่วโมง หาปริมาณไวรัสที่มีหลงเหลือโดยวิธี TCID₅₀ คำนวณตามวิธีของ Reed and Muench (1938) และวิเคราะห์ เป็นค่า log inhibition titer หรือ log reduction titer ซึ่งค่าที่ยอมรับจะต้องมีค่าไม่ต่ำกว่า 3 log inhibition titer หรือ reduction titer ซึ่งถือว่าน้ำยาฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพในการฆ่าหรือทำลายคุณสมบัติด้าน infectivity ของไวรัสได้ตามมาตรฐานของ United State Environmental Protection Agency หรือ UEPA (1976)

การตรวจสอบไวรัสที่หลงเหลืออยู่ในสารละลาย virus-disinfectant mixture

เป็นการตรวจหาไวรัสที่หลงเหลืออยู่ในสารละลาย virus-disinfectant mixture โดยวิธี virus isolation test และ ELISA typing เพื่อยืนยันผลการทดสอบ

วิธีการมีดังนี้ นำสารละลาย virus-disinfectant mixture ในแต่ละ dilution ของแต่ละชุดมาทำการ inoculate ลงบน primary lamb kidney cell ปล่อยให้สารละลายถูก absorb เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในตู้ CO₂ incubator 37°C ดูด inoculum ที่ให้หมด จากนั้นเติม maintenance medium ใหม่ บ่มใน Incubator อ่านผล CPE ภายใน 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างทั้งหมดไปทำการตรวจหาไวรัสที่หลงเหลือ ด้วยวิธี ELISA typing ตามวิธีการของ Roeder and Le Blanc Smith (1987)

ผล

1. การตรวจสอบคุณสมบัติความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาฆ่าเชื้อ 1%, 0.5%, 0.1% และ 0.01% glutaraldehyde ดังแสดงในตารางที่ 1
2. การตรวจสอบคุณสมบัติที่น้ำยาฆ่าเชื้อที่เป็นพิษต่อเซลล์ ดังแสดงในตารางที่ 2

3. การตรวจสอบหาประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ FMDV (Inhibition test) และอายุการใช้งานของ น้ำยาฆ่าเชื้อ 1%, 0.5%, 0.1% และ 0.01% glutaraldehyde ที่สามารถทำลายหรือยับยั้งคุณสมบัติทาง infectivity ของ FMDV ได้อย่างสมบูรณ์ และการใช้งานใน dunk tank ที่ระยะ 3-7 เดือน ดังแสดงในตารางที่ 3, 4, 5, 6 และ 7 ตามลำดับ

สรุปผลและวิจารณ์

จากการศึกษาสถานะความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาฆ่าเชื้อ พบว่ามีสถานะเป็นกรดอย่างแรง (ช่วง pH 4.9 - 5.6) ซึ่งไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยจะไว (sensitive) และถูกทำลายได้ง่ายในสถานะเป็นกรด (Sellers, R.F, 1968) การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ BHK-21 ของน้ำยาฆ่าเชื้อในระดับความเข้มข้นต่างๆ เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ทำให้เซลล์ตาย เป็นการป้องกันการอ่านผลผิดพลาดในการจำแนก ระหว่างเซลล์ตายเนื่องจากความเป็นพิษของน้ำยาฆ่าเชื้อหรือเนื่องจากไวรัสหลงเหลืออยู่ใน virus-disinfectant mixture จากตารางที่ 2 พบว่าอยู่ที่ dilution 1:1905 (log 3.28) หมายถึงต้องเจือจางน้ำยาฆ่าเชื้อ เป็น 1905 เท่าจะทำให้เซลล์ไม่เป็นพิษหรือตาย นอกจากนี้ยังทำการยืนยันผลโดยการตรวจสอบ virus isolation และ ELISA typing เพื่อให้การวิเคราะห์ผลถูกต้องและมีความสมบูรณ์มากที่สุด จากการศึกษาการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde ในถังจุ่มฆ่าเชื้อสำหรับจุ่มหรือแช่วัสดุ อุปกรณ์หรือภาชนะใส่สารหรือ viral RNA เพื่อทำลายเชื้อไวรัสที่ปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการ BSL-3 ก่อนนำออกนอกพื้นที่เขตหวงห้ามหรืออาคารปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยทางชีวภาพระดับ 3 ตามหลักการ biosecurity นั้น ผลการทดสอบใน ตารางที่ 7 สรุปได้ว่าน้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde สามารถฆ่าหรือทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนการทดสอบอายุการใช้งานของ 1% glutaraldehyde ใน dunk tank พบว่าสามารถใช้งานต่อไปได้ถึง 7 เดือนโดยยังคงให้ประสิทธิภาพการทำลายไวรัสได้อย่างสมบูรณ์ตามตารางที่ 3

กรณีการทดสอบน้ำยา glutaraldehyde ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.5%, 0.1 % และ 0.01% จากตารางที่ 4 และ 5 พบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 0.5 % และ 0.1% ให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อไวรัสได้อย่างสมบูรณ์ คือมีค่า log inhibition titer > 3 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของพอนด์และคณะ (2543) ได้ทดสอบน้ำยาฆ่าเชื้อ glutaraldehyde ที่ความเข้มข้น 0.25% สามารถทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้ภายในเวลา 5 นาที และจากการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อดังกล่าวมีอายุการใช้งานได้นานถึง 7 เดือนเช่นเดียวกัน ในขณะที่ระดับความเข้มข้นที่ 0.01% glutaraldehyde นั้นไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายไวรัสได้เนื่องจากตรวจพบมีไวรัสหลงเหลืออยู่จึงไม่แนะนำให้ใช้ที่ความเข้มข้น 0.01% ตามตารางที่ 6 จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ทำการทดลองอายุการใช้งานของน้ำยาฆ่าเชื้อเพียง 7 เดือนเท่านั้น เนื่องจากพบว่าการยืดเวลาการใช้งานนานมากกว่า 7 เดือน พบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อมีความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงสูงขึ้น ทำให้ไม่สามารถ

อ่านผลการเปลี่ยนแปลงเซลล์หรือจำแนกกระหว่างเซลล์ตายจากความเป็นพิษหรือตายเนื่องจากไวรัสได้ โดยปกติการนำวัสดุ อุปกรณ์หรือภาชนะใส่สารต่างๆออกนอกพื้นที่ BSL-3 จำเป็นต้องผ่านกระบวนการทำลายหรือฆ่าเชื้อไวรัสที่อาจปนเปื้อนออกสู่ภายนอก โดยการแช่สิ่งต่างๆดังกล่าวลงในถังจุ่มฆ่าเชื้อที่บรรจุน้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งจากการศึกษาทดลองของพยนต์และคณะ (2543) ใช้ 1% glutaraldehyde สำหรับฆ่าหรือทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยใช้เวลาเพียง 5 นาทีเท่านั้น ดังนั้นระยะเวลาในการแช่สิ่งของในถังจุ่มฆ่าเชื้อเป็นเวลา 20 นาทีในอาคาร BSL-3 ทำให้มั่นใจว่าน้ำยาฆ่าเชื้อสามารถทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้อย่างสมบูรณ์และยังพบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อดังกล่าวสามารถมีประสิทธิภาพและมีอายุการใช้งานนานถึง 7 เดือน ซึ่งผู้เชี่ยวชาญ Biocontainment จากออสเตรเลียแนะนำให้เปลี่ยนน้ำยาฆ่าเชื้อใน dunk tank ทุก 3 เดือน (เอกสารไม่ตีพิมพ์) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสามารถยืดอายุการใช้งานและประหยัดน้ำยาฆ่าเชื้อดังกล่าวโดยไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนทุกๆ 3 เดือนตามปกติ ทั้งนี้ยังทำให้เกิดความเชื่อมั่นว่าวัสดุ อุปกรณ์ หรือสิ่งต่างๆที่ผ่านการจุ่มฆ่าเชื้อใน dunk tank แล้วมีความปลอดภัย ไม่มีโอกาสเสี่ยงต่อการแพร่กระจายเชื้อไวรัสไปสู่ภายนอกหรือสิ่งแวดล้อมตามหลักความปลอดภัยและมั่นคงทางชีวภาพ (biosafety and biosecurity)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และพนักงานทุกท่านในหน่วยเตรียมสาร ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมสารละลายต่างๆ และเซลล์เพาะเลี้ยงทำให้งานศึกษาวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

พยนต์ สินสุวรรณวัฒน์ วิไล ลิณจงสุขงกช ธนรัตน์ จานุกิจ สุนันท์ ร่มลำควน 2543 ประสิทธิภาพน้ำยาฆ่าเชื้อชนิดต่างๆในการฆ่าเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 26 หน้า 85-93

Anon. 1976. United State Environmental Protection Agency (US-EPA). Efficacy data requirement: virucides. pp.1-5.

Reed, L. and Muench, H. 1938. A Simple method of estimating 50 percent end-points. Amer. J. Hyg. 27: 493-497.

Roeder, P. and Le Blanc Smith, P.M. 1987. The detection and typing of foot and mouth disease virus by enzyme linked immunosorbent assay: a sensitive, rapid and reliable technique for primary diagnosis.

Res. Vet. Sci. 43:225-232.

Shirai, J., Kanno, T., Tsuchiya, Y., Mitsubayashi, S. and Seiki, K. 1999. Effect of chlorine, iodine and quaternary ammonium compound disinfectants on several exotic disease viruses. J. Vet. Med. Sci. 62(1): 85-92.

Sellers, R.F. 1968. The inactivation of foot and mouth disease virus by chemicals and disinfectants. Vet. Rec. 83: 504-506.

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำยาฆ่าเชื้อในความเป็นพิษขึ้นต่างๆ

ขนาดความเข้มข้นน้ำยาฆ่าเชื้อ	ค่าเฉลี่ย pH
1 % glutaraldehyde	4.91
0.5% glutaraldehyde	4.90
0.1% glutaraldehyde	5.12
0.01% glutaraldehyde	5.62

ตารางที่ 2 แสดงค่าความเป็นพิษของน้ำยาฆ่าเชื้อต่อเซลล์ BHK-21

ขนาดความเข้มข้นน้ำยาฆ่าเชื้อ	ระดับความเจือจางสูงสุดที่มีผลต่อเซลล์
1% glutaraldehyde	1:1905 (log 3.28)
0.5% glutaraldehyde	1:316 (log 2.50)
0.1% glutaraldehyde	1:316 (log 2.50)
0.01% glutaraldehyde	1:56 (log 1.75)

ตารางที่ 3 แสดงผลการเป็นพิษต่อเซลล์และประสิทธิภาพน้ำยาฆ่าเชื้อ 1% glutaraldehyde ในการทำลายหรือยับยั้งคุณสมบัติทาง infectivity ของไวรัส แสดงผลเป็น log inhibition titer (log TCID₅₀/0.2 ml)

น้ำยาฆ่าเชื้อ	อายุการใช้งาน ของน้ำยาฆ่าเชื้อ 1 % glutaraldehyde ใน dunk tank					
	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	
TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml
1% glutar	2.75	-	2.50	-	3.50	-
Virus control	6.75	-	6.0	-	6.875	-
1% glutar + virus	0	6.75*	0	6.0*	0	6.875*

*Log inhibition titer = virus titer of control – virus titer of sample

หมายเหตุ: Log inhibition titer ที่ยอมรับได้จะต้องมีค่า ไม่ต่ำกว่า 3 log inhibition titer ถือว่าน้ำยาฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพในการทำคุณสมบัติทาง infectivity ของไวรัสได้ตามมาตรฐาน UEPA

ตารางที่ 4 แสดงผลการเป็นพิษต่อเซลล์และประสิทธิภาพน้ำยาฆ่าเชื้อ 0.5% glutaraldehyde ในการทำลายหรือยับยั้งคุณสมบัติทาง infectivity ของไวรัส โดยแสดงผลเป็น log inhibition titer (log TCID₅₀/0.2 ml)

น้ำยาฆ่าเชื้อ	อายุการใช้งาน ของน้ำยาฆ่าเชื้อ 0.5 % glutaraldehyde ใน dunk tank					
	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	
TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition Titer	TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml
0.5% glutar	ND**	2.50	-	2.50	-	ND**
Virus control	ND**	6.0	-	7.25	-	ND**
0.5% glutar + virus	ND**	2.75	3.25*	2.625	4.525*	ND**

*Log inhibition titer = virus titer of control – virus titer of sample, ** = Not done

ตารางที่ 5 แสดงผลการเป็นพิษต่อเซลล์และประสิทธิภาพน้ำยาฆ่าเชื้อ 0.1% glutaraldehyde ในการทำลายหรือยับยั้งคุณสมบัติทาง infectivity ของไวรัส โดยแสดงผลเป็น log inhibition titer (log TCID₅₀/0.2 ml)

น้ำยาฆ่าเชื้อ	อายุการใช้งาน ของน้ำยาฆ่าเชื้อ 0.1 % glutaraldehyde ใน dunk tank					
	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	
TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition Titer	TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml
0.1% glutar	2.50	-	ND**	2.50	-	2.50
Virus control	7.25	-	ND**	6.50	-	7.25
0.1% glutar + virus	2.50	4.75*	ND**	2.50	4.0*	2.375

*Log inhibition titer = virus titer of control – virus titer of sample, ** = Not done

หมายเหตุ: Log inhibition titer ที่ยอมรับได้จะต้องมีค่าไม่ต่ำกว่า 3 log inhibition titer ถือว่าน้ำยาฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพในการทำลายคุณสมบัติทาง infectivity ของไวรัสได้ตามมาตรฐาน UEP A

ตารางที่ 6 แสดงผลการเป็นพิษต่อเซลล์และประสิทธิภาพน้ำยาฆ่าเชื้อ 0.01% glutaraldehyde ในการทำลายหรือยับยั้งคุณสมบัติทาง infectivity ของไวรัส โดยแสดงผลเป็น log inhibition titer (log TCID₅₀/0.2 ml)

น้ำยาฆ่าเชื้อ	อายุการใช้งาน ของน้ำยาฆ่าเชื้อ 0.01 % glutaraldehyde ใน dunk tank						
	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน		
	TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml	Inhibition titer	TCID ₅₀ / 0.2ml
0.01% glutar	ND**		ND**	1.50	-	ND**	1.50
Virus control	ND**		ND**	6.50	-	ND**	5.75
0.01% glutar + virus	ND**		ND**	3.75	2.75 *	ND**	4.0
							1.75*

** = Not done

ตารางที่ 7 สรุปผลประสิทธิภาพน้ำยาฆ่าเชื้อในการทำลายหรือยับยั้งคุณสมบัติทาง infectivity ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย และอายุการใช้งานของน้ำยาฆ่าเชื้อ 1%, 0.5%, 0.1% และ 0.01% glutaraldehyde ใน dunk tank ที่ระยะ 3, 4, 5, 6 และ 7 เดือน

อายุการใช้งานของน้ำยาฆ่าเชื้อ glutaraldehyde ใน dunk tank	Virus titer ของ FMDV ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของ glutaraldehyde (log TCID ₅₀ /0.2ml)				Log inhibition titer* ที่ลดลงเมื่อ ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (log TCID ₅₀ /0.2ml)			
	1 %	0.5 %	0.1 %	0.01%	1 %	0.5 %	0.1 %	0.01%
3 เดือน	0	ND**	2.50	ND**	6.75	ND	4.75	ND**
4 เดือน	0	2.75	ND**	ND**	6.0	3.25	ND**	ND**
5 เดือน	0	2.625	ND**	3.75	6.875	4.625	ND**	2.75
6 เดือน	0	ND**	2.375	ND**	7.25	ND**	4.437	ND
7 เดือน	0	ND**	2.50	4.0	6.5	ND**	3.938	1.75

* Log inhibition titer = log titer of control virus – log titer of sample,

** = Not done

หมายเหตุ: Log inhibition titer มีค่าน้อยกว่า log 3 หมายถึงน้ำยาฆ่าเชื้อ ไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายไวรัสได้ตามมาตรฐาน UEPa

The efficacy and expiry time of 1% glutaraldehyde as a disinfectant in dunk tank for killing foot and mouth disease virus

Wilai Linchongsungkoch Chaine Deepang Janya Samanit
Surached Khunkeaw Rattanee Thongtha Piyaporn Chareonpol

Abstract

The efficacy and expiry time of 1% glutaraldehyde used as a disinfectant in dunk tank for killing foot and mouth disease virus (FMDV) contaminated in materials or reagents were studied. As the biosecurity laboratory principle, all those materials need to be passed the decontamination process before taking out from the restriction area in the biosafety laboratory level-3 (BSL-3) at the FMD Regional Reference Laboratory. The results of this studies showed that 1% glutaraldehyde could kill FMDV completely. The similar results were occurred when used glutaraldehyde at the concentration 0.5% and 0.1%, whereas the concentration of 0.01% glutaraldehyde could not kill FMDV completely. In addition, the expiry time of the glutaraldehyde after being prepared and kept in dunk tank during period of 3, 4, 5, 6 and 7 months were investigated in order to study the duration of effective glutaraldehyde. It was showed that only 1%, 0.5% and 0.1% glutaraldehyde were effective at the period of 7 months. In conclusion, it was indicated that 1%, 0.5% and 0.1% glutaraldehyde could kill FMDV completely and could be prolong in using for 7 months. This investigation would be benefit for saving budget and time in routine changing and preparing of disinfectant.

Key words: Foot and mouth disease virus, glutaraldehyde, dunk tank