บทคัดย่อ

การประเมินประสิทธิภาพของเครื่องมือทำลายเชื้อโรค (Sterilants) สารฆ่าเชื้อโรคที่ใช้กับอุปกรณ์ทางการแพทย์ (Disinfectants) และสารฆ่าเชื้อโรคที่ใช้ภายนอกร่างกาย (Antiseptics) ต่อการทำลายไบโอฟิลม์ของเชื้อก่อโรคที่พบบ่อยในโรงพยาบาล

ภูมิหลัง: ปัญหาการติดเชื้อในโรงพยาบาลเป็นปัญหาสำคัญระดับนานาชาติ เนื่องจากส่งผลต่อการดูแลรักษาชีวิตของผู้ป่วยรวมทั้งต่อเศรษฐกิจเนื่องจากการจัดการปัญหาดังกล่าวต้องใช้ค่าใช้จ่ายที่สูง ปัญหาการติดเชื้อในโรงพยาบาลนั้นส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียซึ่งมีความทนทานต่อการทำลายโดยยาปฏิชีวนะ โดยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยว่าเป็นสาเหตุในโรงพยาบาลได้แก่ *Staphylococcus aureus* (ทั้งสายพันธุ์ Methicillin-sensitive *S. aureus* และ Methicillin-resistant *S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* และ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นต้น เชื้อเหล่านี้สามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อมโรงพยาบาลรวมถึงภายในร่างกายของผู้ป่วยและบุคคลากรทางการแพทย์ โดยพบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อนั้นเกิดขึ้นในรูปแบบจำเพาะที่เรียกว่า ไบโอฟิลม์ (Biofilm) ซึ่งการเจริญเติบโตในลักษณะดังกล่าวทำให้เชื้อมีความทนทานต่อการถูกทำลายมากยิ่งขึ้น เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อที่ก่อโรคในโรงพยาบาล (Nosocomial pathogens) มีความดื้อต่อยาปฏิชีวนะสูงกว่าเชื้อที่ติดมาจากชุมชน แต่ปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับความทนทานของเชื้อเมื่อเจริญในรูปแบบไบโอฟิลม์ต่อการถูกกำจัดโดยเครื่องมือทำลายเชื้อโรค เช่น หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Steam Sterilization or Autoclave) เครื่องกำเนิดรังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet Irradiation) สารฆ่าเชื้อที่ใช้กับอุปกรณ์ทางการแพทย์ เช่น สารกำจัดไบโอฟิลม์ (Biofilm Removal Multi-Enzyme Cleaner; 3M^{TM}) ซึ่งเครื่องมือและสารเคมีเหล่านี้เป็นวิธีการที่ใช้ในการกำจัดเชื้อในโรงพยาบาล

วัตถุประสงค์: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเครื่องมือที่ใช้ในการกำจัดเชื้อก่อโรค ต่อการทำลายไบโอฟิลม์ที่สร้างขึ้นโดยเชื้อก่อโรคที่พบบ่อยในโรงพยาบาล

วัสดุและวิธีการ: เพาะเลี้ยงเชื้อ *Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), *Streptococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, ESBL-producing *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter baumannii* ให้เจริญในรูปแบบไบโอฟิลม์ใน Calgary Biofilm Device และในโมเดลการเลี้ยงไบโอฟิลม์ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ แล้วนำเชื้อที่เจริญในรูปแบบไบโอฟิลม์ไปทดสอบกับ รังสีอัลตราไวโอเลต หม้อนึ่งอัดไอน้ำ และ Biofilm Removal Multi-Enzyme Cleaner (3M^{TM}) โดยวัดความสามารถในการกำจัดเชื้อของเครื่องมือด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และวัดความสามารถในการทำลายไบโอฟิลม์ของเครื่องมือด้วยวิธีการย้อมไบโอฟิลม์ด้วย crystal violet

ผลการศึกษา: ภายใต้การทดสอบด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตจากเครื่อง Biosafety cabinet with UV เชื้อ *A. baumannii* ถูกทำลายที่ 1 นาที เชื้อ *S. aureus, S. epidermidis,*

MRSA, ESBL-producing *E. coli* ถูกทำลายที่ 5 นาที ในขณะที่ *E. coli* ถูกทำลายที่ 20 นาที และ ต้องใช้เวลาถึง 30 นาทีในการทำลายเชื้อ *P. aeruginosa* ที่เจริญในรูปแบบไบโอฟิลม์ ส่วนใน UV sterilizer เชื้อ *A. baumannii* และ MRSA ถูกทำลายที่ 1 นาที เชื้อ *S. aureus, S. epidermidis,* และ ESBL-producing *E. coli* ถูกทำลายที่ 5 นาที ในขณะที่ต้องใช้เวลาถึง 20 นาทีในการทำลายเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ที่เจริญในรูปแบบไบโอฟิลม์ได้หมด อย่างไรก็ตามปริมาณไบโอฟิลม์จากการวัดด้วย crystal violet และลักษณะของไบโอฟิลม์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนระหว่างตัวอย่างที่ได้รับการฉายรังสีไม่แตกต่างกับตัวอย่างที่ไม่ได้รับการฉายรังสี ภายใต้การทดสอบด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ หรือ Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที 15 psi พบว่าเชื้อถูกทำลายทั้งหมด แต่ไม่สามารถกำจัดไบโอฟิลม์ได้ และภายใต้การทดสอบด้วย Biofilm Removal Multi-Enzyme Cleaner (3M™) พบว่าวิธีนี้มีความสามารถในการกำจัดไบโอฟิลม์ได้ดี แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้

สรุป: เครื่องมือที่ใช้ในการทำลายเชื้อในโรงพยาบาลที่สำคัญคือ หม้อนึ่งอัดไอน้ำ และเครื่องมือที่ใช้ในการกำจัดเชื้อในสิ่งแวดล้อมโรงพยาบาบที่สำคัญคือ เครื่องกำเนิดรังสีอัลตราไวโอเลต การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าหม้อนึ่งอัดไอน้ำและการใช้รังสีอัลตราไวโอเลตมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อในไบโอฟิลม์ แต่ไม่ได้กำจัดไบโอฟิลม์ให้หมดไป ในขณะที่ Biofilm Removal Multi-Enzyme Cleaner (3M™) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ในการล้างทำความสะอาดอุปกรณ์ทางการแพทย์สามารถกำจัดไบโอฟิลม์ได้ดีแต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ ข้อมูลที่ได้นี้มีความสำคัญสำหรับการนำมาใช้เพื่อการควบคุมและกำจัดเชื้อก่อโรคในโรงพยาบาล

คำสำคัญ: ไบโอฟิลม์, การติดเชื้อในโรงพยาบาล, การกำจัดเชื้อ, การใช้รังสีอัลตราไวโอเลต, การใช้หม้อนึ่งอัดแรงดันไอน้ำ

Abstract

Biofilms Decontamination: Measurements of the Effectiveness of Decontamination Agents and Methods against Biofilms Formed by Common Nosocomial Pathogens

Background: Healthcare-associated infection (HAI), or nosocomial infection, has been an urgent problem globally. It is a significant cause of morbidity and mortality among people who receive hospital or healthcare services, and over millions of patients are affected by HAI every year worldwide. It also creates a significant economic burden as the overall costs arising from HAI are very high. HAI is usually resulted from infections by bacterial pathogens. Common causative pathogens include *Staphylococcus aureus* (both methicillin-sensitive and methicillin-resistant strains), coagulase negative Staphylococci (such as *Staphylococcus epidermidis*), *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa*. These pathogens dwell in the hospital environment as well as colonize on the human skin, nasal cavity or in the gastrointestinal tract. There is a growing body of evidence showing that the growth of bacteria in nature is in the form of biofilms. Bacteria growing within biofilms are more resistant to treatment with antimicrobial agents than planktonic cells of the same species. Biofilms are involved in a variety of infectious conditions such as catheter-associated infections, urinary tract infections, infections of prostheses and heart valves, bacterial endocarditis, dental plaque and gingivitis, and infections in people with cystic fibrosis. In healthcare facilities, biofilms can be commonly found on various surfaces and settings. Such biofilms serve as a possible source of transmission, contributing to the increasing incidence of hospital-acquired infections. While hospitals generally have sanitation protocols regarding surface bio-decontamination and equipment sterilization, they are not created specifically to deal with biofilms. There is limited available data concerning the true efficacy of such sterilization methods as well as for the use of disinfectants or detergents against biofilms.

Objectives: The main objective of this study was to measure the efficacy of decontamination agents and methods against biofilms formed by common nosocomial pathogens. We tested the efficacy of UV Irradiation, Steam Sterilization (Autoclave) in adjunct with the usage of multi-enzymes biofilm removal (3M™). A novel model supporting the growth of biofilms was also developed to aid the tests against Autoclave decontamination.

Results: When tested biofilms with Biosafety cabinet with UV irradiation, it was found that *A. baumannii* was completely destroyed within 1 minute, *S. aureus, S. epidermidis,* MRSA, ESBL-producing *E. coli* were destroyed within 5 minutes, *E. coli* was destroyed within 20 minutes and it took up to 30 minute to eliminate all vital *P. aeruginosa* that grew in biofilms. For UV sterilizer, it was found that *A. baumannii* and MRSA were completely destroyed within 1 minute, *S. aureus, S. epidermidis* and ESBL-producing *E. coli* were destroyed within 5 minutes, and it took up to 20 minute to eliminate all vital *P. aeruginosa* and *E. coli* that grew in biofilms. However, the biofilms of each pathogen were not removed by these instruments. The microscopic characteristics of biofilms were no change between samples that exposed to UV and that did not expose. When tested biofilm against the steam sterilization (Autoclave), all pathogens were completely destroyed. However, the biofilms were not eliminated. When pre-treated biofilm samples with Biofilm Removal Multi-Enzyme Cleaner (3M™) prior to the steam sterilization, the complete removal of biofilms was observed. However, using Biofilm Removal Multi-Enzyme Cleaner alone could not destroy the bacteria.

Conclusion: Two common and important methods of decontamination within the healthcare facilities are Autoclave and UV irradiation. This study demonstrated that the two methods can eliminate the bacterial pathogen commonly causing nosocomial infections. However, they cannot eliminate biofilms of those pathogens. Combined usage of chemicals such as Biofilm Removal Multi-Enzyme Cleaner (3M™) can improve the effectiveness of these decontamination methods.

Keywords: Biofilms, Nosocomial Infections, Decontamination, UV Irradiation, Steam Sterlization