แผนบริหารการสอนประจำบทที่ 1

ชื่อบท ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาทางการแพทย์

หัวข้อเนื้อหาประจำบท

ความหมายของจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาทางการแพทย์
- ความหมายจุลชีววิทยา
- ความหมายปรสิตวิทยา

ประวัติและความเป็นมาของวิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา
- การเริ่มต้นทางด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา
- ทฤษฎีการเกิดขึ้นเอง

การจัดหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิตและประเภทของสิ่งมีชีวิตก่อโรค
- การจัดหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิต
- ประเภทของสิ่งมีชีวิตก่อโรคการเรียกชื่อวิทยาศาสตร์

ความสำคัญของจุลินทรีย์ ปรสิตและสัตว์ขาข้อ

การควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรค
- คำศัพท์ที่สำคัญทางการควบคุมจุลินทรีย์
- วิธีการควบคุมจุลินทรีย์

อุปกรณ์และเครื่องมือพื้นฐานที่ใช้ในงานด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา
- กล้องจุลทรรศน์
- เครื่องนึ่งอัดไอ
- ตู้อบความร้อนแห้ง
- ตู้เพาะเชื้อหรือตู้บ่มเชื้อตู้ปลอดเชื้อ

อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์พื้นฐานอื่นๆ

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. บอกความหมายของจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาทางการแพทย์ได้
2. บรรยายประวัติและความเป็นมาของวิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาได้
3. จำแนกหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิตก่อโรคได้
4. อธิบายความสำคัญของจุลินทรีย์ ปรสิตและสัตว์ขาข้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์ได้
5. อธิบายวิธีการต่างๆในการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคได้

6. บอกหน้าที่ของอุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์พื้นฐานที่ใช้ในงานด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาได้

วิธีสอนและกิจกรรมการเรียนการสอน

1. วิธีสอน

1.1 วิธีสอนแบบบรรยายประกอบสื่ออินเทอร์เน็ต

1.2 ร่วมกับวิธีสอนแบบปฏิบัติการ เรื่อง การใช้กล้องจุลทรรศน์ อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์พื้นฐานที่ใช้ในงานด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาได้

1.3 วิธีการสอนแบบเน้นการเรียนรู้ด้วยตนเอง

2. กิจกรรมการเรียนการสอน

2.1 เริ่มจากการเสนอปัญหาและตั้งคำถามเกี่ยวกับโรคติดเชื้อที่สำคัญของประเทศไทยเพื่อนำเข้าสู่การบรรยายโดยใช้สื่ออินเทอร์เน็ตประกอบการสอน มีการตั้งคำถามคำตอบระหว่างผู้สอนและนักศึกษา

2.2 แบ่งกลุ่มนักศึกษาให้ทดลองฝึกการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยมีตัวอย่างที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม แล้วนำผลที่ได้มาเสนอหน้าชั้นเรียน แลกเปลี่ยนความคิดเห็นและประสบการณ์ระหว่างกลุ่ม

2.3. นักศึกษาศึกษาบทเรียนและทบทวนบทเรียนตามใบงานที่ได้มอบหมาย

สื่อการเรียนการสอน

1. เอกสารประกอบการสอน
2. สไลด์ประกอบเนื้อหาประจำบท
3. กล้องจุลทรรศน์และอุปกรณ์อื่นๆทางวิทยาศาสตร์
4. ใบงานประจำบท
5. สื่ออินเทอร์เน็ต

การวัดผลและประเมินผล

1. สังเกตการตอบคำถามและตั้งคำถามในชั้นเรียน
2. สังเกตบทบาทสมาชิกในแต่ละกลุ่มในการปฏิบัติงาน
3. คุณภาพงานที่มอบหมาย

บทที่ 1
ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาทางการแพทย์

โรคติดเชื้อเป็นสาเหตุสำคัญในการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก ซึ่งโรคเหล่านี้เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogenic microoraganisms) เช่น ไวรัส แบคทีเรีย รา โปรโตซัวและหนอนพยาธิที่สามารถถ่ายทอดเชื้อก่อโรคสู่คนหรือสู่สัตว์ สำหรับนักศึกษาในสาขาทางสาธารณสุขและวิทยาศาสตร์สุขภาพมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาทางด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาทางการแพทย์เพื่อเป็นพื้นฐานสำคัญที่ทำให้เข้าใจสาเหตุและการเกิดโรค โดยบทนี้ได้อธิบายความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาทางการแพทย์ที่นักศึกษาควรทราบและทำเข้าใจเพื่อเตรียมความพร้อมในการเรียนบทที่สูงขึ้นต่อไป

1. ความหมายของจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาทางการแพทย์

1.1 ความหมายจุลชีววิทยา

จุลชีววิทยา (microbiology) มีรากศัพท์จากภาษากรีก ซึ่ง micro- แปลว่าขนาดเล็ก ส่วน bios- แปลว่าชีวิตและ logy มาจากคำว่า logos แปลว่าวิชา ดังนั้นเมื่อรวมทั้ง 2 คำเข้าด้วยกัน Microbiology จึงมีความหมายว่า วิชาที่ว่าด้วยสิ่งมีชีวิตเล็กๆหรือจุลินทรีย์ (Madigan, Martinko, Stahl, & Clark, 2012) โดยเนื้อหาหลักของวิชาจุลชีววิทยาประกอบด้วย การศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ก่อโรค ทั้งรูปร่าง โครงสร้างทั้งภายในและภายนอก การสืบพันธุ์ สรีรวิทยา การจำแนก (identification) การแพร่กระจาย ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ด้วยกันและระหว่างจุลินทรีย์กับสิ่งมีชีวิตอื่น (Brooks GF, Butel JS, Morse SA, 2004; ธวัชชัย เอกสันติ, ยุพิณ ศาลางาม, วนิดา แสงทอง, อุไรวรรณ สวัสดิ์ และ กมลวรรณ ดีเลิศ, ม.ป.ป.)

โดยสามารถแบ่งการศึกษาทางจุลชีววิทยา (ธวัชชัย เอกสันติ และคณะ, ม.ป.ป.) ออกเป็น

แบ่งประเภทตามชนิดจุลินทรีย์ เช่น ไวรัสวิทยา (virology) แบคทีเรียวิทยา (bacteriology) สาหร่ายวิทยา (phycology) ราวิทยา (mycology) และโปรโตซัววิทยา (protozoology)

แบ่งประเภทตามถิ่นที่อยู่ของจุลินทรีย์ เช่น จุลชีววิทยาทางน้ำ (aquatic microbiology) จุลชีววิทยาทางดิน (soil microbiology) จุลชีววิทยาทางทะเล (marine microbiology)

แบ่งประเภทตามเนื้อหาในแต่ละด้านที่เป็นปัญหา เช่น จุลชีววิทยาทางการแพทย์ (medical microbiology) จุลชีววิทยาทางการเกษตร (agricultural microbiology) จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม (industrial microbiology) และจุลชีววิทยาทางสุขาภิบาล (sanitary microbiology)

1.2 ความหมายปรสิตวิทยา

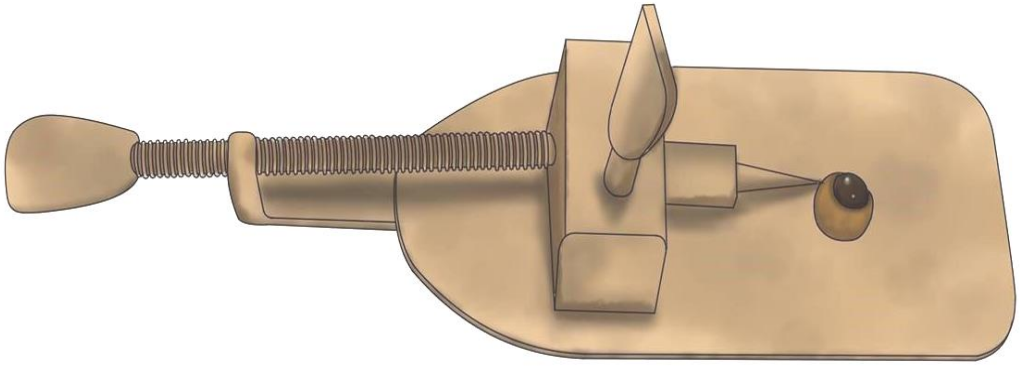
ปรสิตวิทยา (parasitology) เป็นวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต 2 ชนิดที่อาศัยอยู่ร่วมกัน โดยสิ่งมีชีวิตหนึ่งได้ประโยชน์ (parasites) ขณะที่อีกฝ่ายเสียประโยชน์ (host) (Bogitsh, Carter, & Oeltmann, 2013) สำหรับวิชาปรสิตวิทยาได้แยกออกมาจากจุลชีววิทยา โดยแบ่งตามประเภทสิ่งมีชีวิตที่ศึกษา ซึ่งจุลชีววิทยาศึกษาเกี่ยวกับ แบคทีเรีย ไวรัสและเชื้อรา ขณะที่ปรสิตวิทยาศึกษาสิ่งมีชีวิตในกลุ่มของโปรโตซัว หนอนพยาธิ รวมทั้งสัตว์ขาข้อที่เป็นพาหะนำโรคและอันตรายมาสู่คน ซึ่งส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบปรสิต บางตำราได้อธิบายไว้ว่าปรสิตวิทยาศึกษาเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ (multicellular organism) ที่มีขนาดใหญ่ แต่ก็มีข้อถกเถียงในกลุ่มของโปรโตซัวที่เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว (unicellular organism)

2. ประวัติและความเป็นมาของวิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา

2.1 การเริ่มต้นทางด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา

ประวัติการค้นพบที่สำคัญทางด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยานั้น เริ่มต้นขึ้นในปี ค.ศ. 1655 โดยโรเบิร์ต ฮุค (Robert Hooke) นักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษ ได้ค้นพบเซลล์ (cell) ของไม้คอร์ก ซึ่งเป็นหน่วยที่เล็กที่สุด ซึ่งมีลักษณะเป็นกล่องสี่เหลี่ยมเล็กๆ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่เขาประดิษฐ์เอง การค้นพบของฮุคเป็นจุดเริ่มต้นที่ว่าสิ่งมีชีวิตประกอบไปด้วยเซลล์และเป็นหน่วยพื้นฐานของชีวิต หลังจากนั้นกล้องจุลทรรศน์ได้กลายมาเป็นอุปกรณ์สำคัญในการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อ (Gest, 2004)

ต่อมาในช่วง ค.ศ. 1665-1683 แอนโทนี แวน ลีเวนฮุค (Antonie van Leeuwenhoek) นักวิทยาศาสตร์ชาวเนเธอร์แลนด์ ได้ประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์โดยใช้เลนส์ที่มีกำลังขยายสูงๆ (ภาพที่ 1.1) ส่องดูของเหลว รวมทั้งชิ้นส่วนต่างๆที่ได้จากซอกฟันและได้พบสิ่งมีชีวิตที่มีรูปร่างต่างๆและได้ตั้งชื่อว่า แอนิแมลคิวเลส (animalcules) ต่อมาก็ได้รายงานไปยังราชสมาคมแห่งลอนดอน (Royal Society of London) ภายหลังก็ได้ทราบว่าสิ่งที่พบนั้นคือแบคทีเรียและโปรโตซัว ทำให้ลีเวนฮุคเป็นบุคคลแรกที่ค้นพบจุลินทรีย์ (Gest, 2004) หลังจากการค้นพบของลีเวนฮุค การวิจัยทางวิทยาศาสตร์ก็เริ่มให้ความสำคัญและมุ่งเป้าไปยังสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กเหล่านั้น อย่างไรก็ตามในช่วงเวลาดังกล่าวก็มีนักวิทยาศาสตร์และนักปรัชญาหลายท่านมีความเชื่อว่า สิ่งมีชีวิตสามารถเกิดขึ้นได้เองจากสิ่งที่ไม่มีชีวิต (ธวัชชัย เอกสันติ และคณะ, ม.ป.ป.)



ภาพที่ 1.1 กล้องจุลทรรศน์ของลีเวนฮุค

ดัดแปลงจาก: Karamanou, Poulakou-Rebelakou, Tzetis, & Androutsos (2010, p.313)

2.2 ทฤษฎีการเกิดขึ้นเอง

ทฤษฎีการเกิดขึ้นเอง (abiogenesis หรือ spontaneous generation) เป็นทฤษฎีความเชื่อที่ว่าสิ่งมีชีวิตสามารถเกิดขึ้นได้เองจากสิ่งที่ไม่มีชีวิต เช่น คางคก งูและหนูเกิดขึ้นมาจากดิน แมลงเกิดมาจากขยะมูลฝอยและตัวหนอนหรือดักแด้ของแมลงเกิดมาจากซากหรือสิ่งเน่าเปื่อยผุพัง ซึ่งในช่วงเวลาของลีเวนฮุคและก่อนหน้านี้ได้มีนักวิทยาศาสตร์จำนวนหนึ่งที่ไม่เห็นด้วยกับทฤษฎีดังกล่าว แต่ไม่มีหลักฐานออกมาโต้แย้งได้

จนในปี ค.ศ. 1665 แพทย์ชาวอิตาลี ฟรานเซสโก เรดิ (Francesco Redi) ได้ทำการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าสิ่งมีชีวิตไม่ได้เกิดจากสิ่งที่ไม่มีชีวิตตามทฤษฎีการเกิดขึ้นเอง โดยใช้ขวด 2 ขวดในการทดสอบ ขวดแรกบรรจุเนื้อเน่าและเปิดฝาทิ้งไว้ ขณะที่อีกขวดใส่เนื้อเน่าพร้อมปิดฝาสนิทแน่นวางอยู่ใกล้กัน และพบว่าขวดที่เปิดฝามีหนอนและแมลงเกิดขึ้น ขณะที่ขวดที่ปิดฝาไม่มีทั้งตัวหนอนและแมลง แต่ผลการทดลองก็ไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากความคิดที่ว่าการที่สิ่งมีชีวิตเกิดขึ้นจำเป็นต้องใช้อากาศร่วมด้วย เรดิจึงได้ทำการทดลองใหม่อีกครั้งโดยใช้ผ้าขาวบางปิดบริเวณฝาขวดแทนฝาจุก ส่วนอีกขวดปิดฝาจุกสนิท ในที่สุดก็พบว่าถึงแม้อากาศผ่านผ้าขาวบางลงไปที่เนื้อแต่ก็ไม่มีหนอนเกิดขึ้น และขวดที่ปิดฝาสนิทก็ไม่มีหนอนเช่นเดียวกัน เรดิจึงสรุปได้ว่าตัวหนอนไม่ได้เกิดจากเนื้อเน่าแต่เกิดขึ้นจากแมลงวันไปวางไข่ที่ก้อนเนื้อ ซึ่งเนื้อเน่าเป็นเพียงสิ่งที่ช่วยกระตุ้นให้แมลงวันมาวางไข่ (ภาพที่1.2) ซึ่งผลงานของเขาได้ตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 1668 และ 1684 หลังจากนั้นเขาได้ทำการทดลองนี้กับปรสิตมากกว่า 100 ชนิด (หนอน, ไร และแมลงต่างๆ) รวมทั้งในกลุ่มสัตว์มีกระดูกสันหลังและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง การทดลองของเรดินี้เป็นการลบล้างความเชื่อเดิมที่มีมายาวนานที่ว่า สิ่งมีชีวิตเกิดขึ้นได้จากสิ่งที่ไม่มีชีวิต (Hawgood, 2003)

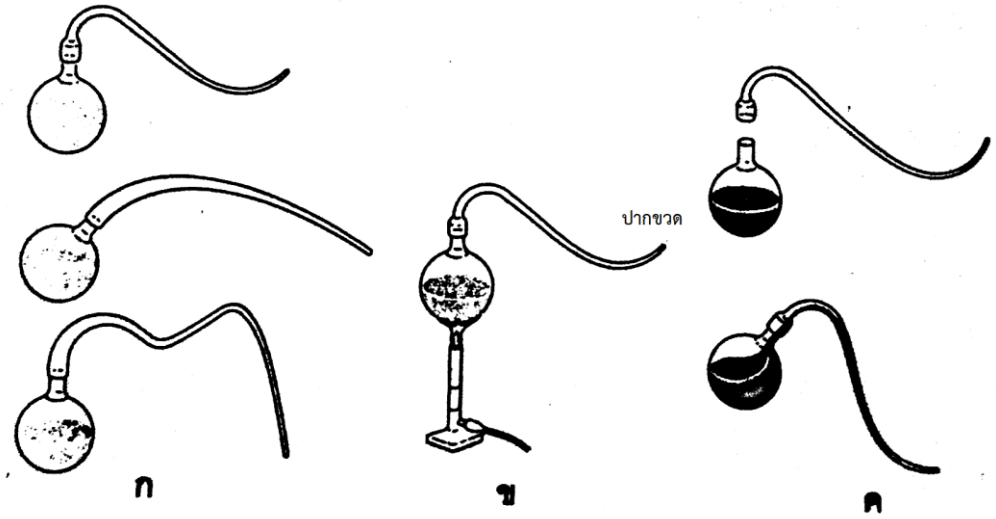
ภาพที่ 1.2 การทดลองของฟรานเซสโก เรดิ
ที่มา: Lumenlearning (n.d.)

อย่างไรก็ตามทฤษฎีการเกิดขึ้นเอง ได้กลับมามีบทบาทอีกครั้งในปี ค.ศ. 1745 เมื่อ จอร์น นีดแฮม (John Needham) นักชีววิทยาชาวอังกฤษ ได้รายงานว่าแม้เอาอาหารเหลว เช่น พวกน้ำซุป ไปทำให้ร้อนก่อนแล้วนำมาเทลงในภาชนะที่มีฝาปิดสนิทก็ตาม เมื่อตั้งทิ้งไว้ก็สามารถพบสิ่งมีชีวิตเล็กๆมากมาย นีดแฮมได้อธิบายว่าสิ่งมีชีวิตเล็กๆ ที่เกิดขึ้นนั้นเป็นสิ่งที่เกิดจากน้ำซุปและเป็นตัวรับการถ่ายทอดช่วงพลัง (ความเชื่อที่ว่าพืชและสัตว์มีพลังวิญญาณและพลังชีวิต) และมีการลบล้างทฤษฎีการเกิดขึ้นเองอีกครั้งใน 20 ปีต่อมา โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวอิตาลี ลาซซาโร สปาลแลนซานี (Lazzaro Spallanzani) ได้ทำการทดลองและพบว่าถ้าปิดภาชนะก่อนต้มน้ำซุปจะไม่พบสิ่งมีชีวิตเล็กๆ เกิดขึ้นในน้ำซุปที่ต้มแล้ว จึงได้ข้อสรุปว่าสิ่งมีชีวิตเกิดขึ้นเองไม่ได้ถ้ามีการใช้ความร้อนและปิดภาชนะให้แน่น (Ariatti & Mandrioli, 1993) อย่างไรก็ตามยังมีข้อโต้แย้งต่อมาอีก หลังจากที่ อลเรนต์ ลาวัวซิเยร์ (Laurent Lavoisier) ค้นพบว่าออกซิเจนเป็นแก๊สที่จำเป็นสำหรับการเกิดของสิ่งมีชีวิต ดังนั้นการที่ สปาลแลนซานี ไม่พบสิ่งมีชีวิตเล็กๆ เพราะภาชนะปิดสนิททำให้ไม่มีออกซิเจนเข้าไป

ข้อโต้แย้งทฤษฎีการเกิดขึ้นเองนั้นยังพิสูจน์ไม่ได้แน่ชัดและเป็นที่ถกเถียงกันอยู่ตลอดในช่วงอดีต อย่างไรก็ตามมันก็ได้สิ้นสุดลงในปี ค.ศ. 1861 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศส หลุยส์ ปาสเตอร์ (Louis Pasteur) ได้ทำการทดลองเพื่อพิสูจน์ให้เห็นว่าจุลินทรีย์แท้จริงแล้วอยู่ในอากาศและปนเปื้อนลงไปในอาหารเหลว โดยได้ใช้ขวดคอสั้นหลายๆ ใบ ต้มน้ำซุปเนื้อ หลังจากการต้มจนเดือดแล้วทิ้งไว้ให้เย็น แบ่งใส่ขวดที่ปิดฝาและขวดที่เปิดฝา ซึ่งพบว่าขวดที่เปิดฝาทิ้งไว้นั้นมีจุลินทรีย์เกิดขึ้นในเวลาไม่กี่วันต่อมา ส่วนขวดที่ปิดฝาแน่นไม่พบว่ามีจุลินทรีย์ใดๆ ปาสเตอร์จึงสรุปว่าจุลินทรีย์ในอากาศเป็น

ตัวการที่ปนเปื้อนลงไปในน้ำซุป ทำให้อาหารเหลวนั้นเกิดมีจุลินทรีย์ขึ้นและไม่ได้เกิดขึ้นได้เองในน้ำซุป

การทดลองต่อไปของปาสเตอร์ได้นำอาหารเหลวลงไปบรรจุในขวดที่มีปากยาว จากนั้นนำปากขวดไปลนไฟ แล้วทำให้โค้งงอเป็นรูปคอห่านและนำไปทำให้เดือด ตั้งขวดทิ้งไว้ให้เย็น ซึ่งไม่พบจุลินทรีย์ใดๆในขวดดังกล่าว การทดลองของปาสเตอร์จึงแสดงให้เห็นว่าแม้มีอากาศผ่านเข้าไปในขวด แต่อากาศต้องผ่านส่วนโค้งงอทำให้จุลินทรีย์ถูกดักจับ จึงไม่สามารถผ่านเข้าไปในขวดได้ ทำให้อาหารเหลวในขวดไม่มีจุลินทรีย์เกิดขึ้น (Bordenave, 2003) ดังที่แสดงในภาพที่ 1.3



ภาพที่ 1.3 การทดลองของหลุยส์ ปาสเตอร์
ที่มา: นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ (2553, น. 11)

นอกจากนี้ปาสเตอร์ยังได้สรุปว่าจุลินทรีย์สามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนและนำหลักการนี้ไปใช้กำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งเป็นพื้นฐานที่สำคัญของเทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) (Schlich, 2012) หลังจากการค้นพบของปาสเตอร์ในช่วง ค.ศ. 1857-1914 ก็เข้าสู่ยุคทองของการศึกษาทางด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาทางการแพทย์ ไม่นานหลังจากนั้นโรเบิร์ต คอคซ์ (Robert Koch) แพทย์ชาวเยอรมันก็ได้เสนอสมมุติฐานของการเกิดโรคไว้ 4 ข้อ เรียกว่า สมมติฐานของคอคซ์ (Koch's postulate) โดยได้ทำการทดลองนำเลือดของวัวที่เป็นโรคแอนแทรกซ์ที่มีแบคทีเรียอยู่และนำเลือดจากสัตว์ที่ป่วยนั้นไปฉีดให้กับสัตว์ที่ไม่ได้ป่วยและพบว่าสัตว์ที่รับเลือดเหล่านั้นป่วยและตายในที่สุด จึงสรุปได้ว่าแบคทีเรียเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรกซ์และคอคซ์ยังได้ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ได้จากสัตว์ที่ป่วยนั้นด้วย โดยสมมุติฐานของการเกิดโรค 4 ข้อ (ธวัชชัย เอกสันติ และคณะ, ม.ป.ป.) ได้แก่

(1) ต้องพบเชื้อก่อโรคในบริเวณที่แสดงอาการเป็นโรค

(2) เชื้อก่อโรคนั้นสามารถแยกออกมาเป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้

(3) เมื่อนำเชื้อที่แยกได้นี้เพาะลงในพืชหรือสัตว์ปกติก็ทำให้เกิดโรคชนิดเดิมนั้นได้

(4) สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ของโรคนั้นจากสิ่งมีชีวิตนั้นทดลองกลับมาได้อีก

แต่ก็มีจุลินทรีย์บางชนิดอาศัยอยู่ในร่างกายของมนุษย์โดยไม่ทำให้เกิดโรค เรียกจุลินทรีย์เหล่านี้ว่า จุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) นอกจากนี้ยังมีการค้นพบสิ่งต่างๆ อีกมากมาย เช่น ค้นพบเชื้อที่ทำให้เกิดโรคหลายชนิด ค้นพบบทบาทของภูมิคุ้มกัน การป้องกันและการรักษาโรค คุณสมบัติบางประการของเชื้อ การเพาะเลี้ยงเชื้อและการพัฒนาวัคซีน

3. การจัดหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิตและประเภทของสิ่งมีชีวิตก่อโรค

3.1 การจัดหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิต

จากการค้นพบจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตต่างๆมากมายทำให้นักวิทยาศาสตร์ต้องมีการจัดหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิต (biological classification) โดยเริ่มแรกได้จัดสิ่งมีชีวิตเป็นสองอาณาจักรคือ พืชและสัตว์ ต่อมาในปี ค.ศ. 1866 เอิร์น ไฮน์ริช เฮกเกล (Ernest Heinrich Haeckel) นักสัตววิทยาชาวเยอรมัน ได้เสนอให้ใช้อาณาจักรโพรทิสตา (Kingdom Protista) เป็นอาณาจักรที่สามของสิ่งมีชีวิตนอกเหนือไปจากอาณาจักรพืชและอาณาจักรสัตว์ (Kutschera, 2011) โดยรวมเอาสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวทุกกลุ่มและเรียกสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ว่าโพรทิส ได้แก่ แบคทีเรีย รา สาหร่าย และโปรโตซัว

กลุ่มอาณาจักรโพรทิสตา สามารถแบ่งออกเป็น 2 พวก ได้แก่

(1) โพรคาริโอต (prokaryote) เซลล์เป็นแบบโพรคาริโอติกเซลล์ (prokaryotic cell) ไม่มีนิวเคลียสที่แท้จริง เนื่องจากไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) มีลักษณะทางพันธุกรรมกระจายอยู่ภายในเซลล์ สิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้ ได้แก่ แบคทีเรีย และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (cyanobacteria)

(2) ยูคาริโอต (eukaryote) เซลล์เป็นแบบยูคาริโอติกเซลล์ (eukaryotic cell) มีเยื่อหุ้มเซลล์นิวเคลียส มีนิวเคลียสที่แท้จริง สามารถมองเห็นขอบเขตของนิวเคลียสแบบไมโตรซีส (mitosis) สิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้ ได้แก่ รา ยีสต์ โปรโตซัว สาหร่าย พืชและสัตว์

ต่อมาได้มีการจัดแบ่งใหม่อีกครั้งโดยโรเบิร์ต วิทแทคเกอร์ (Robert Whittaker) ในปี ค.ศ. 1969 ซึ่งได้รับการยอมรับและยังใช้อยู่จนถึงปัจจุบัน ซึ่งแบ่งสิ่งมีชีวิตออกเป็น 5 อาณาจักร (ภาพที่ 1.4) ดังนี้

(1) อาณาจักรโมเนรา (Kingdom Monera) ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกโพรคาริโอต เซลล์เดียว เช่น แบคทีเรีย และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

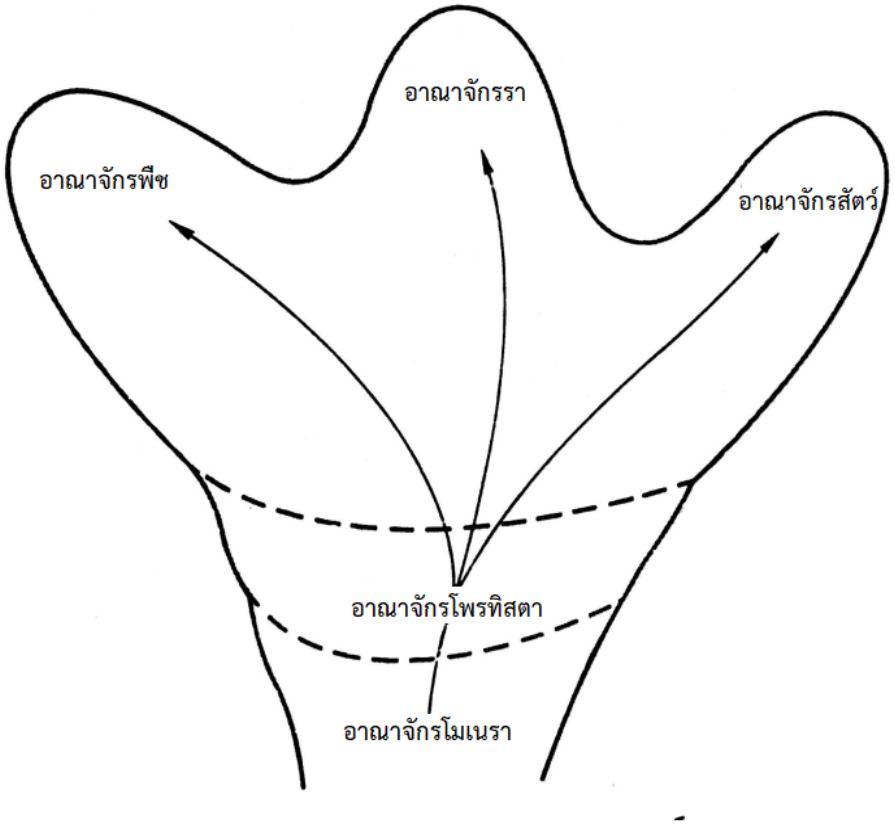
(2) อาณาจักรโพรทิสตา (Kingdom Protista) ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอต เซลล์เดียวซึ่งสามารถทำหน้าที่ของสิ่งมีชีวิตได้ครบถ้วน เช่น สาหร่ายขนาดเล็ก (algae) และโปรโตซัว

(3) อาณาจักรรา (Kingdom Fungi) ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอตไม่สามารถสร้างอาหารด้วยตนเองได้ ส่วนมากย่อยสลายอินทรีย์สารตามสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ เช่น พวกเห็ดและราชนิดต่างๆ

(4) อาณาจักรพืช (kingdom Plantae) ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอตมีหลายเซลล์และมีเซลล์ที่ทำหน้าที่เฉพาะอย่างแบบถาวร มีคลอโรฟิลล์จึงสามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ สิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ เช่น พืชชนิดต่างๆ

(5) อาณาจักรสัตว์ (Kingdom Animalia) ได้แก่ สิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอตมีหลายเซลล์และมีเซลล์ที่ทำหน้าที่เฉพาะอย่างแบบถาวร ไม่มีคลอโรฟิลล์จึงสังเคราะห์อาหารเองไม่ได้ สิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ เช่น สัตว์ชนิดต่างๆ

โดยไม่รวมไวรัสไว้ในอาณาจักรต่างๆ เนื่องจากไวรัสไม่ได้มีลักษณะเป็นเซลล์ (cellular level) เป็นเพียงสิ่งมีชีวิตระดับอนุภาค (particular level) (Singh & Satyanarayana, 2016)



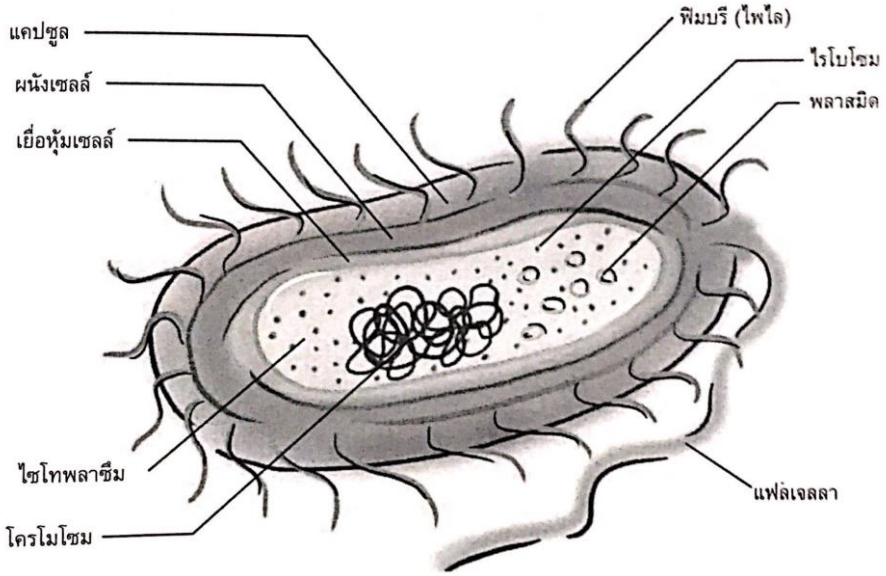
ภาพที่ 1.4 หมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิต 5 อาณาจักร

ดัดแปลงจาก: นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ (2553, น. 5)

3.2 ประเภทของสิ่งมีชีวิตก่อโรค

3.2.1 แบคทีเรีย (bacteria)

เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เซลล์เป็นแบบโพรคาริโอต มีดีเอ็นเอ (DNA, deoxy-ribonucleic acid) เป็นสารที่ควบคุมลักษณะทางพันธุกรรม มีผนังเซลล์ทำให้แบคทีเรียคงรูปร่าง จัดอยู่ในอาณาจักรโมเนรา (Singh & Satyanarayana, 2016) แบคทีเรียมีรูปร่างหลายแบบ แตกต่างตามชนิด ซึ่งส่วนมากมีรูปร่างที่แน่นอน เช่น ทรงกลม (coccus) แท่ง (bacillus) และเกลียว (spiral) มีการเรียงตัวที่ค่อนข้างคงที่ ได้แก่ เป็นกลุ่ม เป็นคู่และเป็นสาย แบคทีเรียสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามส่วนประกอบของผนังเซลล์ (cell wall) ได้แก่ แกรมบวก (gram positive) และแกรมลบ (gram negative) และมีการเพิ่มจำนวนโดยแบ่งตัวแบบทวิภาค (binary fission) (Raven et al., 2011; คณะอนุกรรมการข่ายงานเพื่อพัฒนาและประสานงานในด้านการเรียนการสอนและการวิจัยในสาขาแบคทีเรีย, 2540) แบคทีเรียสามารถพบได้ทั่วไป แต่ชนิดที่ทำให้เกิดโรคมีอยู่ไม่มีมาก ซึ่งเนื้อหาแบคทีเรียวิทยาทางการแพทย์ได้กล่าวเพิ่มเติมในบทที่ 3 (ภาพที่ 1.5)

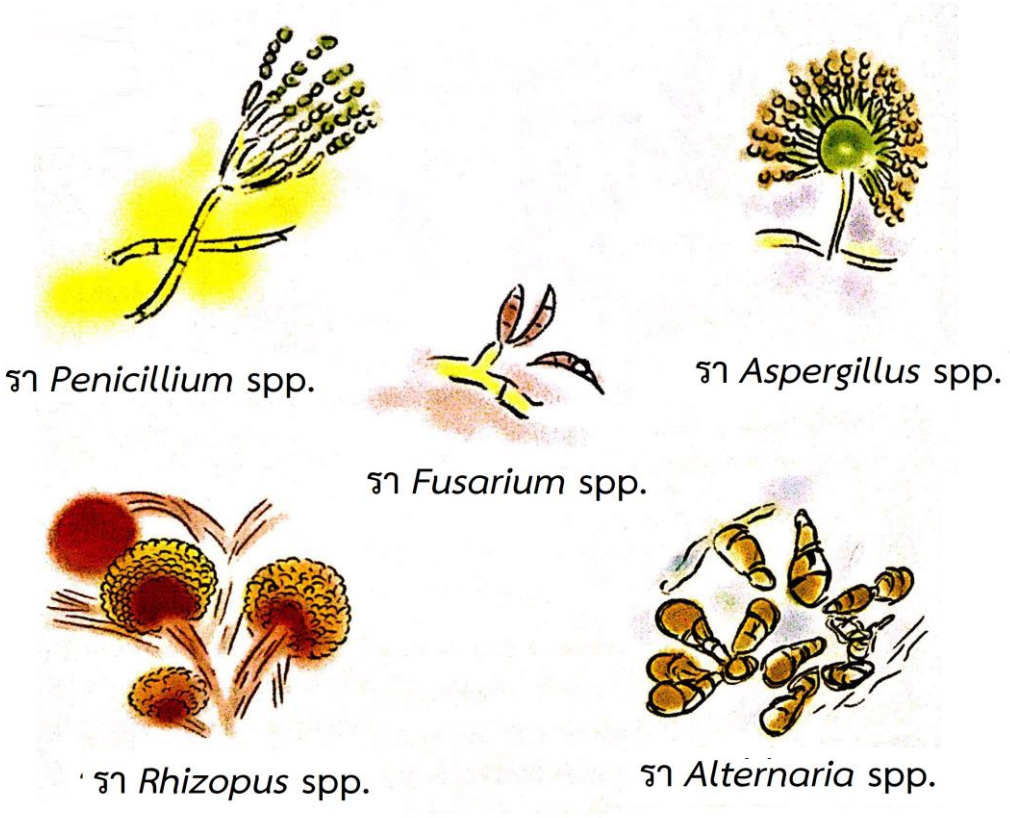


ภาพที่ 1.5 รูปร่างลักษณะของแบคทีเรีย
ที่มา: ธารารัตน์ ซือตอฟ (2558, น.19)

3.2.2 รา (fungi)

ราเป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) สร้างอาหารเองไม่ได้ (heterotrop) ทำให้ต้องได้รับพลังงานและสารอาหารจากแหล่งอาหารอื่น เซลล์เป็นแบบยูคาริโอตมีทั้งที่เป็นเซลล์เดียวขนาดเล็ก ได้แก่ ยีสต์ จนถึงหลายๆเซลล์และมีขนาดใหญ่ ได้แก่ เห็ดชนิดต่างๆ มีการสืบพันธุ์โดยการแบ่งตัวแตกหน่อหรือสร้างสปอร์ (Stajich et al. 2009) รามีอยู่มากมายตามธรรมชาติและมีบทบาทสำคัญในฐานะผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ (decomposer) บางชนิดมีประโยชน์

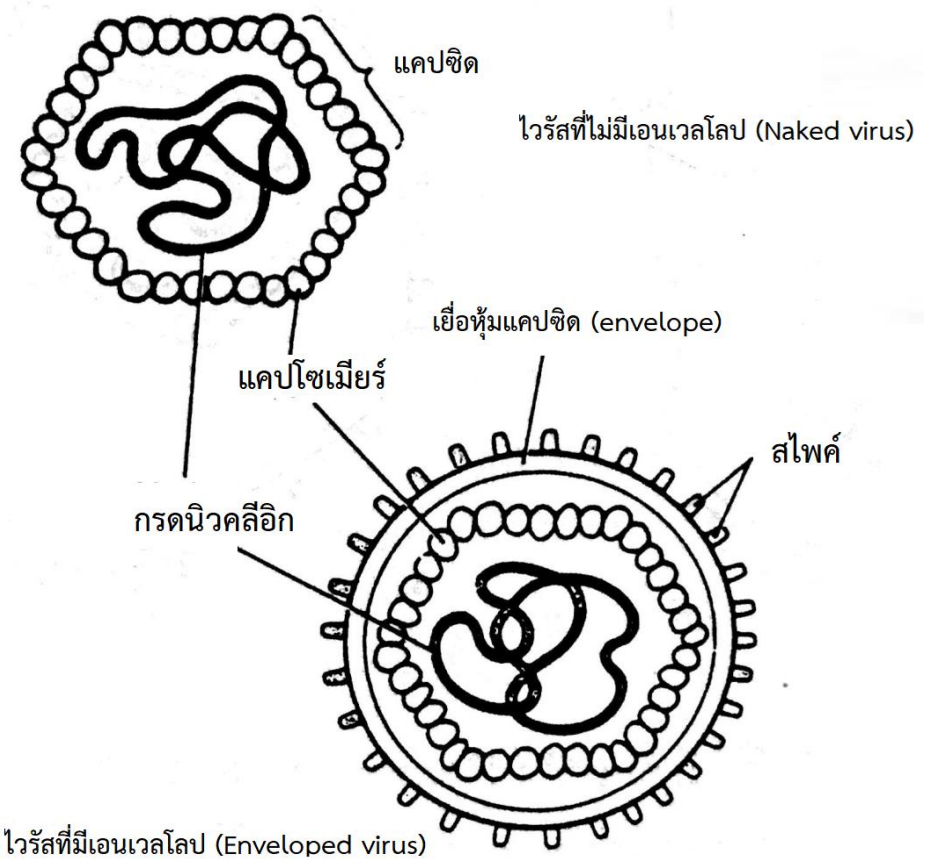
ทางด้านอุตสาหกรรมและหลายชนิดได้ถูกนำมาผลิตเป็นยาปฏิชีวนะ ขณะที่บางชนิดทำความเสียหายหรือทำให้เกิดโรคแก่พืชและสัตว์ (ภาพที่ 1.6) ซึ่งเนื้อหาราวิทยาทางการแพทย์ได้กล่าวเพิ่มเติมในบทที่ 5



ภาพที่ 1.6 ราที่มีความสำคัญทางการแพทย์
ที่มา: ธารารัตน์ ชือตอฟ (2558, น.30)

3.2.3 ไวรัส (virus)

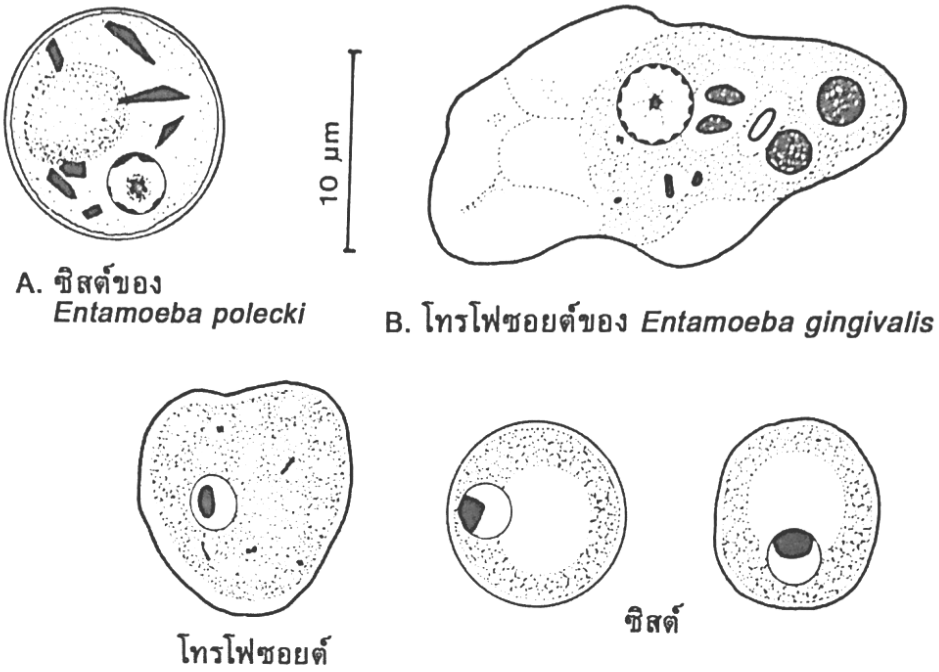
ไวรัสมีขนาดเล็กมาก ตั้งแต่ 20-300 นาโนเมตร (nm) จึงไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดาต้องใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ไวรัสมีคุณสมบัติและมีส่วนประกอบหลายอย่างแตกต่างจากจุลินทรีย์ประเภทอื่นๆ ซึ่งมีกรดนิวคลีอิกเพียงชนิดเดียว ดีเอ็นเอ หรือ อาร์เอ็นเอ (RNA, ribonucleic acid) ไม่มีความสามารถในการสังเคราะห์สารใดๆได้ด้วยตัวเอง (ภาพที่ 1.7) (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ, 2553) จึงไม่จัดให้ไวรัสเป็นเซลล์ แต่เป็นอนุภาค (particle) และสามารถเพิ่มจำนวนได้เฉพาะในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเท่านั้น (Singh & Satyanarayana, 2016) ซึ่งเนื้อหาไวรัสวิทยาทางการแพทย์ได้กล่าวเพิ่มเติมในบทที่ 4



ภาพที่ 1.7 รูปร่างลักษณะทั่วไปของไวรัส
ที่มา: นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ (2553, น. 439)

3.2.4 โปรโตซัว (protozoa)

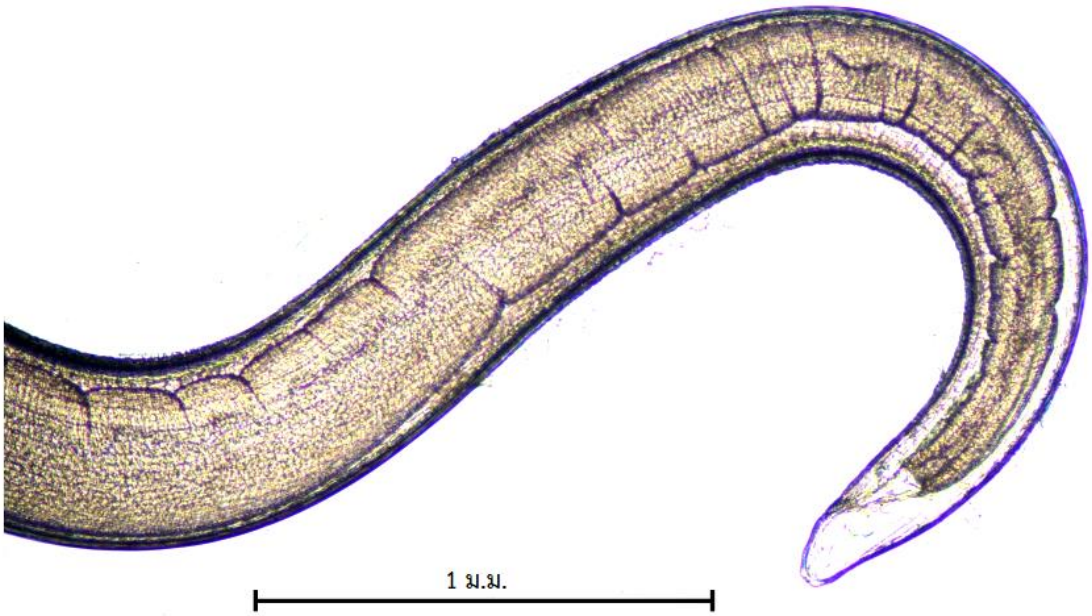
โปรโตซัวเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เซลล์เป็นแบบยูคาริโอตจัดอยู่ในอาณาจักรโปรตีสตา มีขนาดเล็กไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Lindsay & Sundermann, 2008) ตั้งแต่ 1 ไมโครเมตร (μm) จนถึง 150 ไมโครเมตร โปรโตซัวหลายชนิดมีระยะซิสต์ ซึ่งเป็นการหลั่งสารปกคลุมตัวเองและเข้าสู่ภาวะหยุดพัก (ภาพที่ 1.8) โปรโตซัวบางชนิดก่อโรคมาสู่คน โดยโรคจากโปรโตซัวที่เป็นปัญหาสำคัญ ได้แก่ โรคมาลาเรีย (malaria), โรคไข้ง่วงหลับ (trypanosomiasis), โรคชากาส (chagas disease) และโรคลิชมาเนีย (leishmaniasis) ซึ่งโรคเหล่านี้เป็นเป้าหมายขององค์การอนามัยโลกที่ต้องการควบคุมและกำจัดให้หมดไปเนื่องจากเป็นโรคที่มีผลกระทบต่อประชากรโลกเป็นอย่างมาก (นิมิตร มรกต และ คม สุคนธสรรพ์, 2554) โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคมาลาเรียที่เกิดจากโปรโตซัว *Plasmodium* spp. โดยมียุงก้นปล่องเป็นพาหะ (Sriwichai et al. 2016) ซึ่งเนื้อหาโปรโตซัววิทยาทางการแพทย์จะกล่าวเพิ่มเติมในบทที่ 6



ภาพที่ 1.8 รูปร่างลักษณะทั่วไปของโปรโตซัว
ที่มา: นิมิตร มรกต และ คม สุคนธสรรพ์ (2554, 54)

3.2.5 หนอนพยาธิ (helminths)

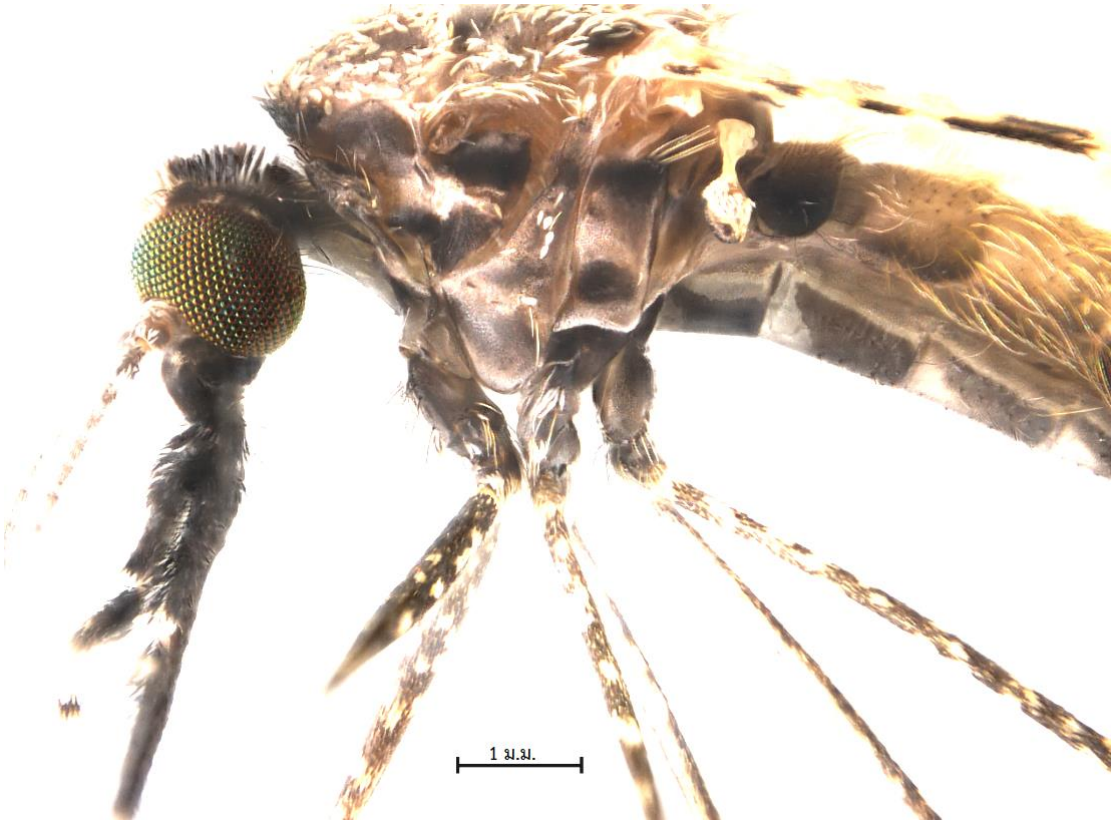
หนอนพยาธิเป็นสิ่งมีชีวิตที่ดำรงชีวิตแบบปรสิตอาศัยอยู่ในร่างกายมนุษย์และสัตว์ จัดอยู่ในอาณาจักรสัตว์ หนอนพยาธิมีมากมายหลายชนิดและมีรูปร่างแตกต่างกัน เช่น พยาธิตัวกลม (nematodes, roundworm) มีลักษณะยาวเป็นเส้น (ภาพที่ 1.9) พยาธิใบไม้ (trematodes, flukes) มีรูปร่างเป็นแผ่นและพยาธิตัวตืด (cestodes, tapeworms) มีรูปร่างลักษณะเป็นปล้องแบนๆต่อกันเป็นสายยาว (Bogitsh et al. 2013) พยาธิบางชนิดต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตหลายชนิดเพื่อเจริญวัยเป็นตัวเต็มวัย (adult worm) (Outreman, Bollache, Plaistow, & Cézilly, 2002; นิมิต มรกต และ เกตุรัตน์ สุขวัจน์, 2546) ซึ่งเนื้อหาหนอนพยาธิที่มีความสำคัญทางการแพทย์ได้กล่าวเพิ่มเติมในบทที่ 7



ภาพที่ 1.9 *Anisakis* spp. ตัวอย่างจากสะพานปลา จังหวัดสมุทรสงคราม (scale bar = 1 ม.ม.)

3.2.6 สัตว์ขาข้อ (arthropod)

เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะเป็นข้อปล่อง จัดอยู่ในอาณาจักรสัตว์ไฟลัมอาร์โทรโพดา (Phylum Arthropoda) มีสารไคทิน (chitin) ปกคลุมร่างกาย ไม่มีกระดูกสันหลัง มีรยางค์ (appendages) เป็นคู่ๆ ลักษณะเป็นข้อๆ ต่อกัน ได้แก่ หนวดและขา (Service, 1996; สนธยา เตียวศิริทรัพย์, 2554) ความสำคัญของสัตว์ขาข้อทางการแพทย์และสาธารณสุขคือเป็นพาหะของโรคต่างๆ (transmission of disease agents) โดยแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ mechanical transmission โดยสามารถนำเชื้อไปแต่เชื้อนั้นไม่มีการเจริญเติบโต เช่น แมลงวันไปเกาะอุจจาระที่มีซิสต์ (cysts) ของ *Entamoeba histolytica* และติดไปกับขาของแมลงวัน เมื่อแมลงวันไปเกาะอาหารซิสต์ก็ติดไปกับอาหาร เมื่อคนรับประทานเข้าไปก็ทำให้เกิดโรคบิดมีตัว (amoebiasis) และ biological transmission โดยสัตว์ขาข้อสามารถนำเชื้อและมีการเจริญเติบโตในร่างกายของพาหะ เช่น โปรโตซัว *Plasmodium* spp. ที่เข้าไปเจริญเติบโตในยุงก้นปล่อง (*Anopheles* spp.) ที่เป็นพาหะของโรคมาลาเรีย (ภาพที่ 1.10) (WHO, 2016) ซึ่งเนื้อหาสัตว์ขาข้อได้กล่าวเพิ่มเติมในบทที่ 8 กีฏวิทยาทางการแพทย์



ภาพที่ 1.10 ยุงก้นปล่อง *Anopheles maculatus* พาหะหลักนำโรคมาลาเรียในประเทศไทย (scale bar = 1 ม.ม.)

3.3 การเรียกชื่อวิทยาศาสตร์

ระบบการเรียกชื่อสิ่งมีชีวิตที่เป็นสากลที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ได้ถูกเสนอโดยคาโรลัส ลินเนียส (Carolus Linnaeus) นักพฤกษศาสตร์ชาวสวีเดน ในปี ค.ศ.1735 (Reid, 2009) คือระบบแบบทวินาม (binomial nomenclature) โดยกำหนดให้ชื่อวิทยาศาสตร์เป็นภาษาละติน โดยเขียนเป็น 2 ชื่อ แบ่งเป็นชื่อแรกคือสกุล (genus) ใช้อักษรธรรมดาและตัวอักษรแรกเป็นตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ขีดเส้นใต้หรือใช้อักษรตัวเอน ชื่อที่สองเป็นชื่อสายพันธุ์ (species) ใช้ตัวอักษรพิมพ์เล็กและขีดเส้นใต้หรือใช้ตัวเอน ตัวอย่างเช่น

Ascaris lumbricoides หรือ *Ascaris lumbricoides*

Staphylococcus aureus หรือ *Staphylococcus aureus*

โดยปกติเมื่อมีการเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ครั้งหนึ่งแล้ว ครั้งต่อไปอาจใช้ตัวย่อโดยใช้อักษรตัวแรก เป็นตัวอักษรพิมพ์ใหญ่และใส่จุดหลังตัวอักษรได้ ตัวอย่างเช่น

A. lumbricoides หรือ *A. lumbricoides*

S. aureus หรือ *S. aureus*

4. ความสำคัญของจุลินทรีย์ ปรสิตและสัตว์ขาข้อ

จุลินทรีย์ ปรสิตและสัตว์ขาข้อมีความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ไม่ทางตรงก็ทางอ้อม ซึ่งมีทั้งเป็นประโยชน์และโทษ เช่น ช่วยย่อยสลายซากพืชและซากสัตว์ในดิน เปลี่ยนสภาพสารอินทรีย์ให้เป็นสารอนินทรีย์ที่มีโมเลกุลเล็กลง มีประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมในการใช้ทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ และยารักษาโรค ในส่วนที่เป็นโทษคือทำให้เกิดโรคในมนุษย์ สัตว์และพืช ซึ่งสามารถสรุปความสำคัญของจุลินทรีย์ได้ดังต่อไปนี้ (ธวัชชัย เอกสันติ และคณะ, ม.ป.ป.)

(1) เป็นสาเหตุของโรค เช่น พวกแบคทีเรีย โปรโตซัว ไวรัสและหนอนพยาธิ

(2) เป็นพาหะนำโรคที่สำคัญ ได้แก่ พวกสัตว์ขาข้อ (arthropod) ซึ่งเป็นตัวกลางในการส่งต่อเชื้อก่อโรคต่างๆ สัตว์ขาข้อที่เป็นพาหะนำโรคที่สำคัญ ได้แก่ ยุง ริ้น แมลงวันและแมลงสาบ (Service, 1996)

(3) ใช้ในการผลิตยารักษาโรคและวัคซีน มียาปฏิชีวนะหลายชนิดที่ผลิตจากรา เช่น ยาเพนิซิลลินส์ (penicillin) ได้จาก *Penicillium notatum* และ *Penicillium chrysogenum* ยาสเตรปโตไมซิน (streptomycin) ได้จาก *Streptomyces griseus* และยาคลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol) ได้จาก *Streptomyces venezuelae* นอกจากยาปฏิชีวนะการผลิตวัคซีนป้องกันโรคก็เป็นผลผลิตจากเชื้อก่อโรคนั้นๆ ซึ่งวัคซีนที่ได้รับจะทำหน้าที่เป็นแอนติเจน โดยไม่ทำให้เกิดโรค แต่ไปกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะกับเชื้อก่อโรคชนิดนั้น

(4) ใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม อุตสาหกรรมหลายประเภทที่ต้องอาศัยจุลินทรีย์ในการผลิต ตัวอย่างเช่น อุตสาหกรรมผลิตเบียร์ ไวน์ ขนมปังใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ช่วยในการหมัก การทำกรดน้ำส้มใช้แบคทีเรีย *Acetobacter* การทำกรดกลูตามิกในอุตสาหกรรมผลิตผงชูรส (monosodium glutamate) ใช้แบคทีเรีย *Corynebacterium, Arthrobacter* และ *Brevibacterium* การทำกรดซิตริก (citric acid) ใช้รา *Aspergillus* และยีสต์ *candida* การทำสาร butanol และ acetone ใช้แบคทีเรีย *Clostridium*

(5) ใช้ในการบริโภค อาหารที่ผลิตจากจุลินทรีย์เซลล์เดียวเรียกกันโดยทั่วไปว่าโปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein, SCP) ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารของมนุษย์หรือสัตว์ (Nasseri, Rasoul-Amini, Morowvat, & Ghasemi, 2011) โดยมากผลิตขึ้นจากการเลี้ยงจุลินทรีย์นั้นในน้ำเสีย เช่น น้ำเสียจาก โรงงานทำน้ำตาล โรงงานทำกระดาษ ตัวอย่างโปรตีนเซลล์เดียว เช่น สาหร่ายเกลียวทอง (spirulina) มีลักษณะเป็นเกลียว จัดอยู่ในพวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ปัจจุบันเป็นที่นิยมเพราะถือเป็นอาหารสุขภาพ ไม่มีพิษ มีโปรตีนสูงและรสชาติอร่อย

(6) ช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ ได้แก่ พวกรา ซึ่งมีบทบาทในการช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์จากพืชและสัตว์ให้เป็นสารอนินทรีย์ นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังมีความเกี่ยวข้องกับวัฏจักรของสารต่างๆ ในธรรมชาติ เช่น วัฏจักรไนโตรเจน วัฏจักรซัลเฟอร์ วัฏจักรฟอสฟอรัส วัฏจักรคาร์บอน และยังมี

ประโยชน์ในการกำจัดน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์เจือปนเพื่อปล่อยกลับลงสู่แหล่งน้ำได้โดยไม่เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

(7) ใช้ประโยชน์ในงานเทคโนโลยีชีวภาพ ปัจจุบันเทคโนโลยีด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์มีความก้าวหน้ามากขึ้น มีการค้นคว้าทางด้านพันธุวิศวกรรมของจุลินทรีย์ สามารถสร้างจุลินทรีย์สายพันธุ์ใหม่ๆ ที่เป็นประโยชน์ในหลายๆด้าน เช่น แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* israelensis (Bti) ที่นำมาปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีความสามารถในการฆ่าลูกน้ำยุงลาย เพื่อนำมาใช้เป็นวิธีทางเลือกในการควบคุมโรคไข้เลือดออก (Sanahuja, Banakar, Twyman, Capell, & Christou, 2011)

5. การควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรค

การควบคุมจุลินทรีย์ คือการทำลายจุลินทรีย์และการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ลง ซึ่งเป็นประโยชน์ในการควบคุมและป้องกันไม่ให้เกิดการติดเชื้อ (infection) ยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อที่มาจากการปนเปื้อน (contamination) และการเน่าเสีย (spoilage) ของอาหารหรือสิ่งต่างๆ

5.1 คำศัพท์ที่สำคัญทางการควบคุมจุลินทรีย์

คำศัพท์ที่สำคัญทางการควบคุมจุลินทรีย์ (ธวัชชัย เอกสันติ และคณะ, ม.ป.ป.) มีดังนี้

(1) Sterilization เป็นการทำให้ปราศจากเชื้อหรือปลอดเชื้อโดยฆ่าจุลินทรีย์ทุกชนิด ทุกรูปแบบ รวมทั้งสปอร์ของแบคทีเรีย ให้หมดไปจากสิ่งของวัตถุที่ต้องการ

(2) Disinfection เป็นการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (pathogens) ในสภาพเซลล์ปกติ (vegetative cells) แต่ไม่สามารถกำจัดสปอร์ของแบคทีเรียได้ โดยทั่วไปใช้กับสิ่งที่ไม่มีชีวิต เช่นพวกอุปกรณ์และเครื่องมือเครื่องใช้

(3) Antisepsis เป็นการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บนผิวหนังหรือเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต

(4) Sanitization เป็นการทำความสะอาด (mechanical cleansing) หรือวิธีการใช้สารเคมีเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ติดอยู่ตามภาชนะและเครื่องมือ เพื่อให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยสำหรับผู้ใช้งาน

5.2 วิธีการควบคุมจุลินทรีย์

แบ่งออกเป็น 2 วิธีคือ วิธีทางกายภาพ (physical method) และวิธีทางเคมี (chemical method)

5.2.1 วิธีทางกายภาพ มีหลายวิธี ได้แก่ การใช้ความร้อน การกรอง การใช้รังสีและการทำให้แห้ง

5.2.1.1 การใช้ความร้อน (heat) เป็นวิธีการที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยความร้อนจะทำให้โปรตีนและส่วนประกอบต่างๆภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เสียสภาพไป (irreversible denaturation) การใช้ความร้อนมี 2 แบบ คือ ความร้อนชื้น (moist heat) และความร้อนแห้ง (dry heat)

5.2.1.1.1 ความร้อนชื้น (moist heat) เป็นการใช้ความร้อนทำลายจุลินทรีย์ ในขณะที่มีไอน้ำร่วมอยู่ด้วย ซึ่งวิธีการนี้จุลินทรีย์จะถูกทำลายเพราะเอนไซม์และโปรตีนในเซลล์เกิดการแข็งตัว (coagulation) วิธีที่นิยมใช้ ได้แก่

(1) การต้ม (boiling) ถ้าต้มที่ 100°C จะทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้เป็นส่วนใหญ่ ยกเว้นจุลินทรีย์ที่มีสปอร์ นิยมใช้กับอุปกรณ์ที่มีขนาดเล็กเช่น ปากคีบ กรรไกร ฯลฯ

(2) การนึ่งโดยใช้ความดันน้ำ (autoclaving) โดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิที่ใช้คือ 121°C นาน 15-20 นาที เป็นที่นิยมใช้กันมากเนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงสามารถทำลายสปอร์ได้ มักใช้ทำลายเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ สิ่งของต่างๆ เสื้อผ้า สำลี ฯลฯ

(3) Tyndallization (fractional sterilization) มักใช้กับอาหารหรือสารบางชนิดที่เสื่อมคุณภาพเมื่อถูกความร้อนสูงๆ หลักการคือเอาสิ่งนั้นๆ ใส่เข้าไปในเครื่อง tyndallizer แล้วผ่านไอน้ำที่ 100°C นาน 20-45 นาที ติดต่อกัน 3 วัน เพื่อทำลายสปอร์

5.2.1.1.2 ความร้อนแห้ง (dry heat)

(1) การใช้ตู้อบความร้อน (hot air oven) ใช้หลักการนำความร้อนจากไฟฟ้า โดยทั่วไปใช้อุณหภูมิ160°C นาน 1 ชั่วโมงหรือในช่วง 160-170 °C นาน 2-3 ชั่วโมง แล้วแต่ชนิดของจุลินทรีย์ที่ต้องการฆ่า มักใช้กับอุปกรณ์เครื่องแก้ว เครื่องมืออุปกรณ์ที่เป็นโลหะ ซึ่งวิธีนี้ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของสารในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ซึ่งพบว่าถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 140°C สปอร์ของแบคทีเรียจะไม่ถูกทำลาย

(2) การเผาจนแดง (red heat) นิยมใช้สำหรับเผาเข็มหรือห่วงเขี่ยเชื้อที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

(3) การลน (flamming) นิยมใช้เมื่อต้องการฆ่าเชื้อบริเวณปากหลอดทดลอง

(4) การเผาจนไหม้ (incineration) เป็นการกำจัดเชื้อ โดยใช้ความร้อนสูงโดยใช้เตาเผา (incineration) จุลินทรีย์จะถูกกำจัดโดยการเผาไหม้หมด วิธีนี้ใช้กับสิ่งของที่ไม่ต้องการใช้อีก เช่น ผ้าพันแผล สำลี กระดาษเช็ดปาก สิ่งขับถ่ายออกทางร่างกายและซากสัตว์

5.2.1.2 พาสเจอไรเซชัน (pasteurization)

เป็นการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารหรือเครื่องดื่มที่ต้องการให้คงรสชาติและคุณภาพไว้ (O'Connor, Ewaschuk, & Unger, 2015) โดยอุณหภูมิที่ใช้คือ 60°C นาน 30 นาที หรือ 70°C นาน 20 นาที ส่วนมากใช้กับนมเพราะสามารถทำลายเชื้อที่ทำให้เกิดโรคทุกชนิดได้ เช่น แบคทีเรีย *Salmonella typhi* ที่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ แต่แบคทีเรียบางชนิดที่ไม่ทำให้เกิดโรคจะยังมีชีวิตอยู่ (Pilcher, 1943)

5.2.1.3 การกรอง (filtration)

เป็นการแยกจุลินทรีย์บางชนิดออกจากของเหลว โดยใช้กระดาษกรองหรือแผ่นกรองที่มีรูขนาดเล็กกว่าจุลินทรีย์หรือขนาด 0.45 ไมครอน นิยมใช้เมื่อต้องการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในของเหลวที่สลายตัวเร็วระเหยง่ายเมื่อถูกความร้อน

5.2.1.3 การใช้รังสี (radiation)

รังสีที่ใช้ได้แก่รังสีแกมมา (gamma rays) รังสีอัลตราไวโอเลต (UV) โดยทำให้กรดนิวคลิอิกและโปรตีนของจุลินทรีย์เสียสภาพไป ความสามารถของรังสีในการทำลายจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับความยาวคลื่น (wavelength) ความเข้มข้นของรังสี (intensity) รวมทั้งระยะเวลาที่สัมผัสกับรังสี

5.2.1.4 การทำให้แห้ง (desiccation)

จุลินทรีย์บางชนิดถูกกำจัดได้ในกรณีที่ไม่มีน้ำ เนื่องจากการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์จำเป็นต้องใช้น้ำ ถ้าอยู่ในสภาวะที่ขาดน้ำ จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตหรือเพิ่มจำนวนได้ แต่ก็มีจุลินทรีย์บางชนิดที่ทนต่อสภาพแห้งแล้งได้นาน ตัวอย่างเช่น *Mycobacterium tuberculosis* สาเหตุของวัณโรค เชื้อนี้สามารถทนได้ต่อสภาวะแห้งแล้งได้นานเป็นเดือนและสปอร์สามารถทนต่อสภาวะแห้งแล้งได้ดีที่สุด (Sakamoto, 2012)

5.2.2 วิธีทางเคมี

ปัจจุบันสารเคมีหลายชนิดได้ถูกนำมาใช้ในการกำจัดและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ตามผิวหนังและเนื้อเยื่อของร่างกายและบนวัสดุสิ่งของต่างๆ สารเคมีส่วนใหญ่ที่นำมาใช้มีความสามารถในการลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้จนถึงระดับที่ปลอดภัย แต่มีสารเคมีเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถกำจัดจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ ตัวอย่างสารเคมีที่นิยมใช้กัน ได้แก่

(1) ฟีนอล (phenol) หรือ กรดคาร์บอลิก (carbolic acid) มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อเซลล์และสามารถทำลายแบคทีเรียได้เกือบทุกชนิด (Heipieper, Keweloh, & Rehm, 1991) สารฟีนอลเป็นสารเคมีชนิดแรกๆที่ได้ถูกนำมาใช้ฆ่าเชื้อในห้องผ่าตัดโดยพบว่าสามารถลดการติดเชื้อลงได้ แต่ปัจจุบันไม่นิยมนำมาใช้กับผิวหนังเพราะฟีนอลมีฤทธิ์ระคายเคืองผิวหนังและมีกลิ่นแรง อนุพันธ์ของสารฟีนอล คือฟีนอลิก (phenolic) มีหลายชนิดที่

มีความสามารถในการฆ่าเชื้อได้ดีฟีนอลิก ที่ใช้กันบ่อย คือ ครีซอล (cresol) หรือ ออโธ-ฟีนีลฟีนอล (O-phenylphenol)

(2) คลอโรไซลีนอล (chloroxylenol) หรือเดททอล (Dettol) เป็นอนุพันธ์ของสารฟีนอล ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ ปัจจุบันทางการพยาบาลได้นำมาใช้เป็นเวชภัณฑ์สำหรับทำความสะอาดผิวหนังและแผล รวมทั้งเครื่องมือทางการแพทย์ (Chan & Critchley, 1994) ลักษณะการใช้งานอาจผสมน้ำหรือผสมแอลกอฮอล์เพื่อเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม

(3) เฮ็กซาคลอโรฟีน (hexachlorophene) เป็นอนุพันธ์ของสารฟีนอลอีกชนิดหนึ่ง เป็นยาฆ่าเชื้อที่ใช้อย่างแพร่หลายในโรงพยาบาล มีพิษน้อย

(4) คลอร์เฮกซิดีน (chlorhexidine) ไม่ใช่สารประเภทสารฟีนอลนิยมนำมาผสมกับสบู่หรือแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการทำความสะอาดมือ ผิวหนัง ขณะที่เครื่องสำอางก็มีการนำสารเคมีชนิดนี้มาเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ เช่น ครีมทาผิว ยาสีฟัน น้ำยากำจัดกลิ่นตัว และผลิตภัณฑ์ระงับเหงื่อ (Climo et al. 2013) การออกฤทธิ์ของคลอร์เฮกซิดีน คือ ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้

(5) สารไอโอดีน (iodine) เป็นสารประเภทเป็นสารระงับเชื้อ (antiseptic) ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรีย ราและไวรัส รวมทั้งสปอร์ของแบคทีเรียบางชนิด กลไกในการออกฤทธิ์ของไอโอดีนจะไปรวมตัวกับกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของโปรตีนต่างๆ และเอนไซม์ของแบคทีเรีย ทำให้โปรตีนเหล่านั้นจึงสูญเสียหน้าที่ ไอโอดีนที่นิยมใช้กันคือ ทิงเจอร์ไอโอดีน (tincture of iodine)

(6) คลอรีน (chlorine) นำมาใช้ในรูปของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) และแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ (calcium hypochlorite) ซึ่งจะให้กรดไฮโปคลอรัส (HClO) ที่จะสลายตัวต่อให้กรดเกลือและออกซิเจน โดยนำไปสู่ปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต่างๆ ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Meulenbelt, 2012) คลอรีนมีประโยชน์โดยใช้ฆ่าเชื้อก่อโรคในน้ำ โดยเฉพาะน้ำประปาและน้ำในสระว่ายน้ำ ข้อดีของคลอรีนคือราคาไม่แพง ใช้ง่าย และการดูแลเก็บรักษาง่าย

(7) แอลกอฮอล์ (alcohol) มีฤทธิ์ในการกำจัดแบคทีเรีย ราและไวรัส แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ การออกฤทธิ์ของแอลกอฮอล์คือการทำลายโปรตีนของจุลินทรีย์ ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ และละลายไขมันที่ผนังเซลล์ ข้อดีของแอลกอฮอล์คือ ระเหยเร็ว ไม่มีสีติดค้างที่ผิวหนัง แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้คือ เอทานอล (ethanol) และไอโซโพรพานอล (isopropanol) ที่ความเข้มข้น 70%

(8) สารประกอบควอเตอร์นารีแอมโมเนียม (quaternary ammonium compound) เป็นสารเคมีฆ่าเชื้อ (sanitizer) นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ออกฤทธิ์โดยทำให้โปรตีนหมดสภาพและขัดขวางการผ่านเข้าออกของสารสู่เซลล์ นอกจากนี้ยังมีข้อดีคือ ไม่ทำให้ระคายเคืองผิวหนัง ไม่กัด

โลหะ ที่นิยมใช้กันได้แก่ เบนซาลโคเนียมคลอไรด์ (Benzalkonium Chloride) ชื่อทางการค้า คือ Zephiran หรือ Roccal zephiran และ cepaeol

(9) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) มีการใช้ในรูปแบบเภสัชภัณฑ์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 3 และ 6 ใช้ทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรค ทั้งไวรัส แบคทีเรียและรา (Clifford & Repine, 1982) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ก่อให้เกิดการระคายต่อเนื้อเยื่อและต่อเซลล์จึงสามารถทำให้เนื้อเยื่อหรือเซลล์ที่สัมผัส เช่น เซลล์ผิวหนังหลุดลอกได้ (Jansen, Bolm, Balling, Chhatwal, & Schnabel, 2002)

(10) ด่างทับทิม (potassium permanganate) เป็นสารเคมีประเภทอนินทรีย์ (inorganic) ชนิดหนึ่งที่สามารถใช้ฆ่าเชื้อชนิดต่างๆได้ดี แต่ใช้ระยะเวลานาน ถ้าความเข้มข้นมากอาจทำให้เกิดการระคายเนื้อเยื่อผิว

(11) แอลดีไฮด์ (aldehyde) ออกฤทธิ์โดยทำให้โปรตีนของจุลินทรีย์แข็งตัว ที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือ ฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) และกลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde)

(12) สารชำระล้าง (Detergent) และสบู่ มีคุณสมบัติในการลดแรงตึงผิวของน้ำโดยชำระล้างหรือฟอกด้วยสารเหล่านี้ทำให้จุลินทรีย์หลุดออกง่ายและเมื่อใช้รวมกับยาฆ่าเชื้อบางชนิดจะทำให้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อได้ดีขึ้น เช่น รวมกับฟีนอลเป็นสบู่คาร์บอลิก ใช้ฟอกกำจัดเชื้อที่ผิวหนัง

(13) กรด (acid) มีหลายชนิด ที่ใช้กันในปัจจุบัน ได้แก่ ยากรดบอริก (boric acid) เป็นกรดอ่อน ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 2-3 ใช้สำหรับล้างตา กรดเบนโซอิก (benzoic acid) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ใช้สำหรับเป็นสารกันบูด รวมทั้งสามารถใช้ป้องกันเชื้อราได้

(14) เอทิลีนออกไซด์ (ethylene oxide) เป็นแก๊ส มีกลิ่นคล้ายอีเทอร์ (ether) ไม่มีสี ติดไฟได้ง่าย ในการใช้งานมักผสมกับคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 10-20 มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี นิยมใช้กับอุปกรณ์เครื่องมือเครื่องใช้ที่เป็นพลาสติกที่ทนความร้อนไม่ได้และจำเป็นต้องทำให้ปราศจากเชื้อ อย่างไรก็ตามปัจจุบันองค์การอาชีวอนามัยและความปลอดภัยของในหลายประเทศได้ประกาศให้ เอทิลินออกไซด์เป็นสารก่อมะเร็ง (Mikoczy, Tinnerberg, Björk, & Albin, 2011)

6. อุปกรณ์และเครื่องมือพื้นฐานที่ใช้ในงานด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา

6.1 กล้องจุลทรรศน์

กล้องจุลทรรศน์ (microscope) เป็นเครื่องมือที่สำคัญในงานด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา ใช้สำหรับขยายภาพของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

กล้องจุลทรรศน์ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

6.1.1 Light microscope เป็นกล้องที่ใช้กำลังขยายโดยใช้ระบบแสงและเลนส์ โดยแสงจะวิ่งผ่านเลนส์ต่างๆและส่องไปที่วัตถุ ก่อนที่แสงจะส่องผ่านเข้าสู่สายตาเราทำให้เห็นภาพ ตัวอย่างกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงประเภทต่างๆ ได้แก่

(1) กล้องจุทรรศน์แบบไบรท์ฟิลด์ (bright-field microscope) เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงจากธรรมชาติหรือหลอดไฟฟ้า โดยอาศัยหลักการการดูดกลืนแสงของวัตถุ เหมาะสำหรับวัตถุที่บางหรือโปร่งแสง เช่น เนื้อเยื่อบางๆ (Wayne, 2014)

(2) กล้องจุทรรศน์แบบดาร์คฟิลด์ (dark- field microscope) เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่มีเลนส์รวมแสง (condenser) ชนิดพิเศษที่ทำให้สิ่งที่ต้องการดูเป็นสีขาวต่างจากฉากหลังรอบๆ ซึ่งเป็นสีดำ (Liu et al. 2014) กล้องจุลทรรศน์ชนิดนี้เหมาะสำหรับใช้ในการมองวัตถุที่ใสไม่มีสีหรือย้อมสีติดยาก เช่นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กหรือเนื้อเยื่อบางชนิด

(3) กล้องจุทรรศน์แบบเฟสคอนทรัสต์ (phase- contrast microscope) เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถทำให้เกิดภาพที่มีความแตกต่างสูงกว่ากล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยอาศัยหลักการหักเหของแสงสะท้อนหลังจากแสงส่องผ่านวัตถุ ซึ่งกล้องจุลทรรศน์ชนิดนี้เหมาะสำหรับใช้ในการมองวัตถุที่เป็นสิ่งมีชีวิตเล็กๆที่บางและโปร่งใส ไม่มีสี ตัวอย่างเช่น เนื้อเยื่อต่างๆ

(4) กล้องจุทรรศน์แบฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence microscope) เป็นกล้องที่ใช้แสงอัลตราไวโอเลตและใช้กับตัวอย่างที่ถูกย้อมสีด้วยสารเรืองแสง ซึ่งเมื่อกระทบกับแสงอัลตราไวโอเลตจะเปลี่ยนเป็นแสงช่วงที่สามารถมองเห็นได้ (Gooijer, 2000)

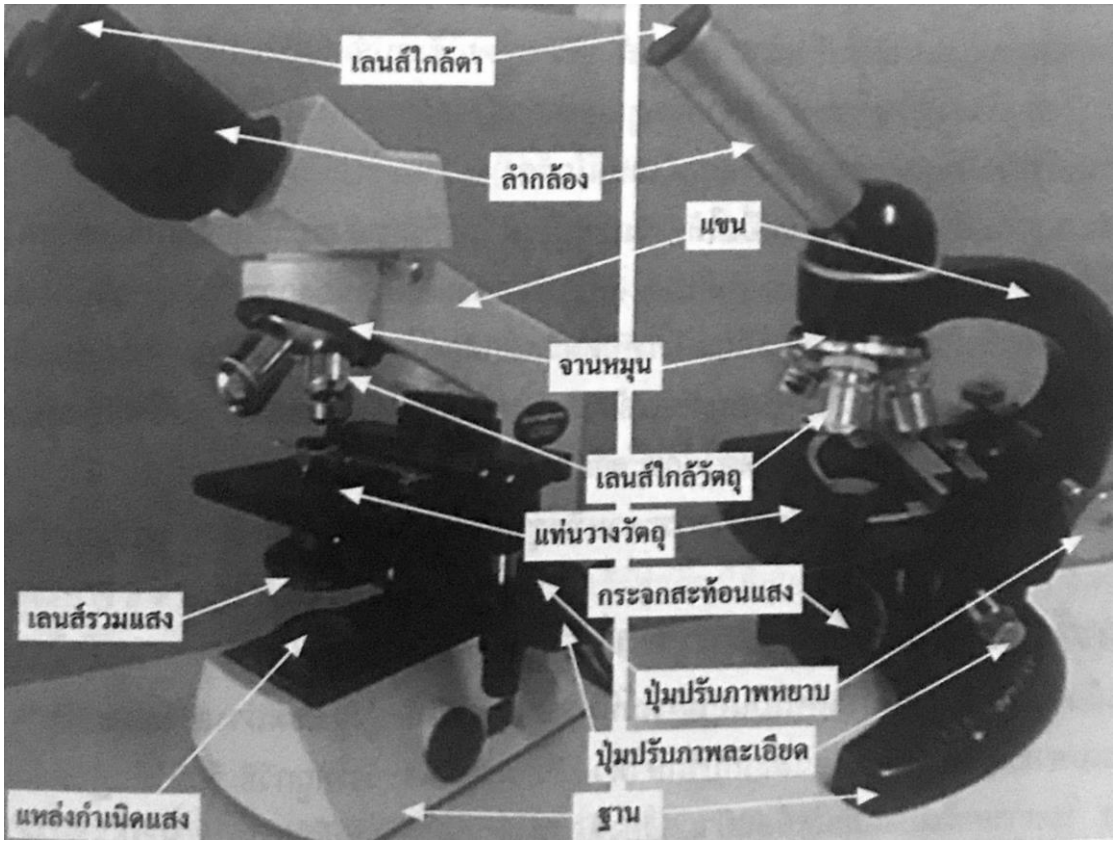
กล้องจุลทรรศน์ ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่ทำหน้าที่ในการกำเนิดแสงและรวมแสงกับส่วนที่ทำหน้าที่ในการขยาย โดยทั้ง 2 ส่วนมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

(1) ส่วนที่ทำหน้าที่ในการกำเนิดแสงและรวมแสง คือ หลอดไฟและเลนส์รวมแสง (condenser) ซึ่งเลนส์รวมแสงเป็นตัวควบคุมปริมาณของแสงที่จะผ่านวัตถุที่จะต้องการดูและทำหน้าที่รวมแสงให้เข้มขึ้นเพื่อส่งไปยังวัตถุที่ต้องการศึกษา

(2) ส่วนที่ทำหน้าที่ในการขยายภาพ (magnifying system) ประกอบด้วยเลนส์ใกล้ตา (eyepiece lens หรือ ocular lens) ส่วนใหญ่กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมีอยู่ 3 ขนาด คือ 5X 10X และ 15X ขณะที่เลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ซึ่งเป็นเลนส์ที่อยู่ใกล้กับแผ่นสไลด์มี 4 ขนาด คือ 4X 10X 40X และ 100X โดยสามารถใช้ปุ่มปรับภาพหยาบ (coarse adjustment) และปุ่มปรับภาพละเอียด (fine adjustment) ที่อยู่ด้านข้างของกล้องจุลทรรศน์เพื่อปรับภาพให้เห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 1.11)

6.1.2 Electron microscope เป็นกล้องจุลทรรศน์แบบหนึ่งที่ใช้ลำแสงของอิเล็กตรอนวิ่งผ่านวัตถุที่ต้องการศึกษา เกิดการหักเหของลำแสงที่ตกลงบนจอรับภาพเรืองแสงทำให้

เกิดภาพขึ้น (Krivanek et al. 2014) ส่วนประกอบสำคัญของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนคือหลอดสุญญากาศที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้าสูงระหว่างสองขั้ว โดยอิเล็กตรอนจะวิ่งผ่านวัตถุที่ต้องการดูตรงกลางในสุญญากาศ ซึ่งมีสนามแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นตัวควบคุมทิศทางของลำแสงอิเล็กตรอน เมื่ออิเล็กตรอนวิ่งเข้ากระทบจอเรืองแสงจะเป็นภาพขยายให้เห็น ซึ่งแตกต่างจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ใช้คลื่นแสงและเลนส์ขยายวัตถุให้เห็นได้ด้วยตาเปล่า สำหรับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมีกำลังขยายสูงกว่ากล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เนื่องจากอิเล็กตรอนมีความยาวคลื่นสั้นกว่าโฟตอนของแสงที่มนุษย์มองเห็นได้ถึง 100,000 เท่า



ภาพที่ 1.11 ส่วนประกอบต่างๆของกล้องจุลทรรศน์ (bright-field microscope)
ที่มา: กิจจา จิตรภิรมย์ (2557, น. 89).

6.2 เครื่องนึ่งอัดไอ

เครื่องนึ่งอัดไอ (autoclave) เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับนึ่งกำจัดเชื้อต่างๆ โดยใช้ไอน้ำร้อนและแรงดันที่สูง ทำให้ของที่ผ่านการนึ่งอยู่ในสภาพปราศจากเชื้อ รวมทั้งสปอร์ของแบคทีเรียทุกชนิด หลักการของเครื่องนึ่งอัดไอ ก็คือการใช้ความร้อนจากไอน้ำภายใต้ความดันซึ่งมากกว่าความดันของบรรยากาศ

ภายในเครื่องมีขดลวดที่ใช้ทำความร้อนเพื่อต้มน้ำให้เดือดและมีช่องสำหรับวางของที่ต้องการฆ่าเชื้อโรค เมื่อน้ำเดือดจนกลายเป็นไอน้ำ ไอน้ำไม่มีทางออกจึงทำให้เกิดความดันภายในเครื่องเพิ่มขึ้น สำหรับการนึ่งฆ่าเชื้อโดยทั่วไปจะใช้สภาวะที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว โดยใช้ระยะเวลานึ่ง 15 นาที หากใช้อุณหภูมิสูงมากๆ และแรงดันไอน้ำมากกว่า 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (ภาพที่ 1.12)

ภาพที่ 1.12 เครื่องนึ่งอัดไอ

6.3 ตู้อบความร้อนแห้ง

ตู้อบความร้อนแห้ง (hot air oven) เป็นการทำลายเชื้อโดยใช้ความร้อนแห้งที่มีอุณหภูมิสูง เช่น อุณหภูมิ 170°C นาน 2 ชั่วโมง หลักการทำงานคือใช้ความร้อนถ่ายเทให้วัตถุ โดยกระบวนการนำความร้อน (conduction) การพาความร้อน (convection) และการแผ่รังสี (radiation) ซึ่งเครื่องมือนี้เหมาะสำหรับการทำลายเชื้อจากวัตถุสิ่งของที่ทนความร้อน ไม่เสื่อมสลายเมื่อสัมผัสกับความร้อนสูงโดยตรง เช่น เครื่องแก้วต่างๆ เพื่อทำให้ปราศจากเชื้อก่อนที่นำมาใช้ในการทดลองทางจุลชีววิทยา (ภาพที่ 1.13)

ภาพที่ 1.13 ตู้อบความร้อน

6.4 ตู้บ่มเชื้อ

ตู้บ่มเชื้อ (incubator) เป็นเครื่องมือที่ใช้รักษาความเสถียรของอุณหภูมิที่ต้องการ มีแหล่งทำความร้อนอยู่ภายในตัวเครื่องโดยมีแผงควบคุมการทำงานและแสดงอุณหภูมิภายในอยู่ด้านหน้าของเครื่อง มีการติดตั้งประตู 2 ชั้น ซึ่งประตูชั้นในทำด้วยวัสดุใสสามารถมองเห็นภายในตู้ได้โดยไม่ทำให้อุณหภูมิภายในตู้เกิดการแปรผันโดยปกติจะตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 37°C ซึ่งเท่ากับอุณหภูมิของร่างกายคนและเป็นอุณหภูมิที่พอเหมาะในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (ภาพที่ 1.14)

ภาพที่ 1.14 ตู้บ่มเชื้อ

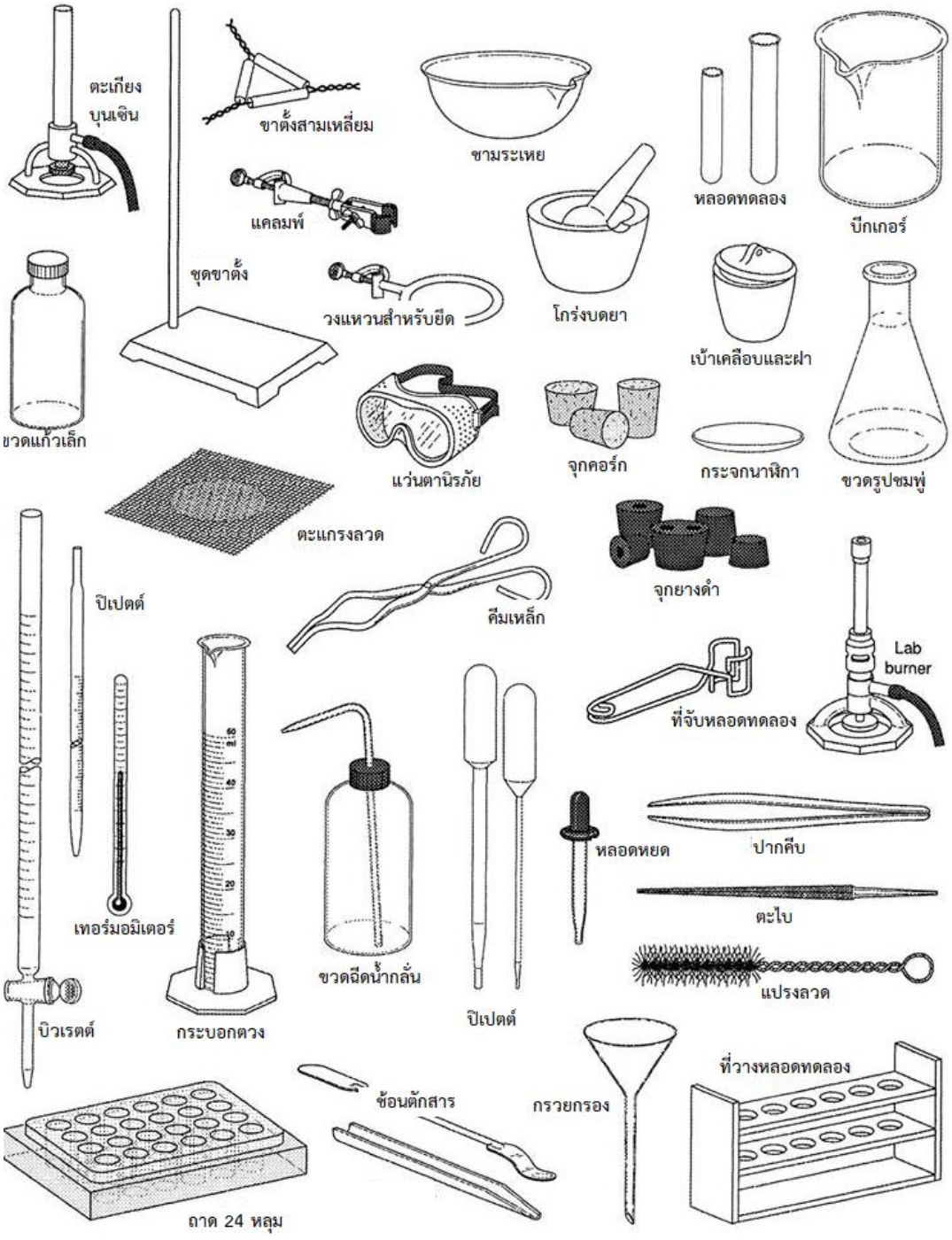
6.5 ตู้ปลอดเชื้อ

ตู้ปลอดเชื้อ (biological safety cabinet: BSC) เป็นตู้ที่ใช้ป้องกันจากงานทางวิทยาศาสตร์ที่ใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่างๆ หลักการทำงานของตู้ปลอดเชื้อ คือดูดอากาศจากภายนอกเข้าไปในเครื่องผ่านรูตระแกรงด้านหน้า โดยไม่ผ่านพื้นที่ใช้ทำงานภายในตู้และกรองโดย HEPA Filter (high efficiency particulate air filter) เพื่อกรองเชื้อก่อโรคและสิ่งปนเปื้อน รวมทั้งฝุ่นละอองต่างๆ ให้เป็นอากาศที่สะอาด (Bergman, 1994) แล้วไหลลงมาภายในพื้นที่ทำงาน การหมุนเวียนของอากาศลักษณะนี้ทำให้ตัวอย่างหรืองานที่กำลังทำอยู่ปลอดจากสิ่งปนเปื้อนภายนอก ขณะที่อากาศที่วิ่งผ่านพื้นที่ทำงานจะกระจายออกเป็นสองส่วนวิ่งตรงไปที่รูตระแกรงด้านหน้าและหลังเครื่อง (ภาพที่ 1.15)

ภาพที่ 1.15 ตู้ปลอดเชื้อ (biological safety cabinet: BSC)
ที่มา: พจนพร ไกรดิษฐ์ (2560, น.42)

6.6 อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์พื้นฐานอื่นๆ

อุปกรณ์เครื่องแก้วและวัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ (glassware and laboratory equipment) ที่เป็นอุปกรณ์พื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ที่พบได้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการ มีหน้าที่แตกต่างๆกันไปตัวอย่างเช่น ตวง วัดปริมาตรสาร บรรจุสารเคมี โดยรายชื่ออุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์พื้นฐาน แสดงในภาพที่ 1.16



ภาพที่ 1.16 อุปกรณ์เครื่องแก้วและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์พื้นฐานอื่นๆ

ดัดแปลงจาก: https://www.mediamatic.net/en/page/228313/lab-equipment

บทสรุป

จุลชีววิทยาเป็นวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า สามารถแบ่งออกเป็นหลายด้านตามความเฉพาะ ขณะที่ปรสิตวิทยาเป็นวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตหนึ่งที่อาศัยการอยู่ร่วมกับโดยฝ่ายหนึ่งได้ประโยชน์และอีกฝ่ายหนึ่งเสียประโยชน์

นักวิทยาศาสตร์ทางด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาในยุคเริ่มต้นที่สำคัญ ได้แก่ โรเบิร์ต ฮุค เป็นผู้ค้นพบเซลล์ ซึ่งเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิต แอนโทนี แวน ลีเวนฮุค เป็นคนแรกที่พบจุลินทรีย์ โดยกล้องจุลทรรศน์ที่ผลิตขึ้นเอง ฟรานเซสโก เรดิ, ลาซซาโร สปาลแลนซานี และ หลุยส์ ปาสเตอร์ เป็นบุคคลสำคัญในการทดลองทางวิทยาศาสตร์เพื่อหักล้างความเชื่อที่ว่าสิ่งมีชีวิตเกิดขึ้นได้เองจากสิ่งที่ไม่มีชีวิต และเป็นจุดเริ่มต้นสำคัญในการวิจัยทางด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา

ความสำคัญของจุลินทรีย์มีหลายประการ เช่น สามารถช่วยย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ ผลิตยารักษาโรคและใช้ในอุตสาหกรรมหลายๆชนิด แต่ก็มีจุลินทรีย์อีกจำนวนหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคในคน

การควบคุมจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม มี 2 คือ วิธีทางกายภาพ และวิธีทางเคมี ซึ่งวิธีทางกายภาพ ได้แก่ การใช้ความร้อน การกรอง การใช้รังสี ส่วนวิธีทางเคมี ได้แก่ การใช้สารเคมีชนิดต่างๆ การเลือกใช้สารเคมีในการควบคุมจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับวัตถุสิ่งของหรือสารที่ต้องการทำลายเชื้อ

อุปกรณ์และเครื่องมือพื้นฐานที่ใช้ในด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาที่สำคัญ ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ช่วยในการขยายภาพของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กเพื่อใช้ในงานจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา เครื่องนึ่งอัดไอและตู้อบความร้อนแห้งใช้สำหรับทำลายเชื้อ ตู้บ่มเชื้อใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อโดยสามารถปรับอุณหภูมิให้เหมาะสมกับเชื้อชนิดนั้นๆ

แบบฝึกหัด

1. จุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาคืออะไร มีความแตกต่างกันอย่างไร
2. ความสำคัญในการศึกษาวิชาจุลชีววิทยา ปรสิตวิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยาคืออะไร
3. นักวิทยาศาสตร์ท่านใดบ้างที่มีความสำคัญทางด้านจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา
4. แบคทีเรียจัดอยู่ในอาณาจักรใดของสิ่งมีชีวิตเพราะเหตุใด
5. ไวรัสแตกต่างจากสิ่งมีชีวิตอื่นและมีความสำคัญทางการแพทย์อย่างไร
6. โปรโตซัวแตกต่างจากสิ่งมีชีวิตอื่นและมีความสำคัญทางการแพทย์อย่างไร
7. การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ มีหลักการอย่างไร จงยกตัวอย่างประกอบ
8. การควบคุมจุลินทรีย์มีหลักการใดและมีวิธีใดบ้าง
9. กล้องจุลทรรศน์มีความสำคัญในการศึกษาทางจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาอย่างไร
10. ตู้เพาะเชื้อมีหลักในการทำงานอย่างไร

ปฏิบัติการประจำบทที่ 1
การใช้กล้องจุลทรรศน์

วัตถุประสงค์

1. นักศึกษาสามารถใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) ได้
2. นักศึกษาสามารถใช้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope) ได้
3. นักศึกษาสามารถคำนวณกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงได้

วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา
2. กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ
3. สไลด์ถาวรแบคทีเรีย
4. ใบไม้และแมลง
5. จานเพาะเชื้อ
6. เข็มเขี่ยเชื้อ

วิธีการ

การใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

1. อาจารย์ผู้ควบคุมแนะนำส่วนประกอบต่างๆและวิธีการใช้งานกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง
2. นักศึกษาฝึกปฏิบัติการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยเริ่มจากการเปิดและการวางกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง
3. นักศึกษานำสไลด์ถาวรแบคทีเรียที่ได้เตรียมไว้ มาศึกษาโดยวางบนแท่นวาง แล้วหมุนปุ่มปรับ ฝึกการใช้ปุ่มปรับภาพหยาบและปุ่มปรับภาพละเอียดโดยระวังอย่าให้เลนส์ใกล้วัตถุสัมผัสกับกระจกปิดสไลด์
4. ปรับขนาดภาพให้เหมาะสมกับขนาดของวัตถุ โดยหมุนเลนส์ใกล้วัตถุที่มีกำลังขยายสูงขึ้นโดยเลนส์ใกล้วัตถุมีจำนวน 4 ได้แก่ กำลังขยายต่ำสุด ×4 กำลังขยายขนาดกลาง ×10 กำลังขยายสูง ×40 หรือกำลังขยายสูงมาก ×100
5. คำนวณกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยใช้สูตร กำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ x กำลังขยายของเลนส์ใกล้ตา
6. บันทึกและรายงานผลการทดลอง

กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ

1. อาจารย์ผู้ควบคุมแนะนำส่วนประกอบต่างๆและวิธีการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ
2. นักศึกษาฝึกปฏิบัติการใช้กล้องโดยเริ่มจากการเปิดและการวางกล้องจุลทรรศน์
3. นำใบไม้หรือแมลงที่ได้เตรียมไว้ มาศึกษาวางในจานเลี้ยง และนำไปวางใต้เลนส์แล้วหมุนปุ่มปรับ ฝึกการใช้ปรับโฟกัสฝึกการใช้เข็มเขี่ยเชื้อพลิกส่วนต่างๆของตัวอย่างให้ชำนาญ
4. บันทึกผลการทดลอง

รายงานผลการทดลอง

1. ให้นักศึกษาวาดภาพที่เห็นจากการมองกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดาและคำนวณกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ได้ใช้ฝึกปฏิบัติ

---

2. ให้นักศึกษาวาดภาพที่เห็นจากการมองกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอและอธิบายลักษณะตัวอย่างจากภาพที่ได้เห็น

เอกสารอ้างอิง

กิจจา จิตรภิรมย์. (2557). *การตรวจทางห้องปฏิบัติการในงานสาธารณสุข.* พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

คณะอนุกรรมการข่ายงานเพื่อพัฒนาและประสานงานในด้านการเรียนการสอนและการวิจัยในสาขาแบคทีเรีย. (2540). *แบคทีเรียพื้นฐาน.* พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ศิริยอด.

ธวัชชัย เอกสันติ, ยุพิณ ศาลางาม, วนิดา แสงทอง, อุไรวรรณ สวัสดิ์, และกมลวรรณ ดีเลิศ. (ม.ป.ป.). *จุลชีววิทยาในทางสาธารณสุข.* กรุงเทพฯ: ภาควิชาสุขศึกษา คณะพลศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ธารารัตน์ ชือตอฟ. (2558). *จุลชีววิทยาทางอาหาร.* พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิมิต มรกต, และเกตุรัตน์ สุขวัจน์. (2546). *ปรสิตวิทยาทางการแพทย์.* พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่: โครงการตำรา คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นิมิตร มรกต และ คม สุคนธสรรพ์. (2554). *ปรสิตวิทยาทางการแพทย์ I. โปรโตซัว.* พิมพ์ครั้งที่ 3. เชียงใหม่: โครงการตำรา คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ,และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2553). *จุลชีววิทยาทั่วไป.* พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พจนพร ไกรดิษฐ์. (2560). *เซลล์และชีววิทยาโมเลกุล.* กรุงเทพฯ: สหมิตรพัฒนาการพิมพ์.

สนธยา เตียวศิริทรัพย์. (2554). *ปรสิตภายนอกในสัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์.* พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สามลดา.

Alan, F. C., Drew, B. & Jake, B. (2012). The cellular and molecular basis for malaria parasite invasion of the human red blood cell. *Journal of Cell Biology*, *198*(6), 961–971.

Ariatti, A., & Mandrioli, P. (1993). Lazzaro spallanzani: A blow against spontaneous generation. *Aerobiologia*, *9*(2–3), 101–107.

Bergman, W. (1994). HEPA filter. *Filtration*, *31*(2), 160.

Bogitsh, B. B., Carter, C. E., & Oeltmann, T. T. (2013). Human Parasitology. *Human Parasitology*. *15*(2002), 595–612.

Bordenave, G. (2003). Louis Pasteur (1822-1895). *Microbes and Infection/Institut Pasteur*, *5*(6), 553–560.

Brooks, G. F., Butel, J. S., Morse, S. A. (2004). *Medical Microbiology*, New York: Lange

Medical Books/McGraw-Hill.

Chan, T. Y. K., & Critchley, J. (1994). Is chloroxylenol nephrotoxic like phenol - a study of patients with dettol poisoning. *Veterinary and Human Toxicology*, *36*(3), 250–251.

Clifford, D. P., & Repine, J. E. (1982). Hydrogen peroxide mediated killing of bacteria. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *49*(3), 143–149.

Climo, M. W., Yokoe, D. S., Warren, D. K., Perl, T. M., Bolon, M., Herwaldt, L. A., & Wong, E. S. (2013). Effect of Daily Chlorhexidine Bathing on Hospital-Acquired Infection. *New England Journal of Medicine*, *368*(6), 533–542.

Gest, H. (2004). The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni van Leeuwenhoek, Fellows of The Royal Society. *Notes and Records of the Royal Society*, *58*(2), 187–201.

Gooijer, C. (2000). Introduction to Fluorescence Spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, *419*(1), 116–117.

Hawgood, B. J. (2003). Francesco Redi (1626–1697): Tuscan philosopher, physician and poet. *Journal of Medical Biography*, *11*(1), 28–34.

Heipieper, H. J., Keweloh, H., & Rehm, H. J. (1991). Influence of phenols on growth and membrane permeability of free and immobilized *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, *57*(4), 1213–1217.

Jansen, W. T. M., Bolm, M., Balling, R., Chhatwal, G. S., & Schnabel, R. (2002). Hydrogen peroxide-mediated killing of *Caenorhabditis elegans* by *Streptococcus pyogenes*. *Infection and Immunity*, *70*(9), 5202–5207.

Karamanou, M., Poulakou-Rebelakou, E., Tzetis, M., & Androutsos, G. (2010). Anton van Leeuwenhoek (1632-1723): Father of micromorphology and discoverer of spermatozoa. *Revista Argentina de Microbiologia*, *42*, 311–314.