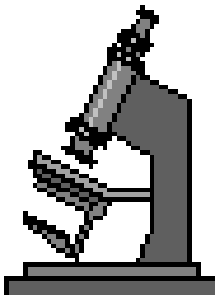
เอกสาร

ประกอบการสอน

วิชาจุลชีววิทยา



จรินทร์ บัวขม

คณะวิชาพื้นฐาน

2546

วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีมหาสารคาม

คำนำ

เอกสารประกอบการสอนวิชาจุลชีววิทยาฉบับนี้ได้จัดทำขึ้นสำหรับใช้เป็นแนวทางในการสอนนักเรียนนักศึกษาในระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง (ปวส.) ประเภทวิชาเกษตรกรรม เนื้อหาประกอบด้วย จุลชีววิทยาเบื้องต้น การจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ศึกษาทางจุลชีววิทยา เทคนิคการศึกษาจุลินทรีย์ อาหารเลี้ยงเชื้อและการกำจัดเชื้อ การควบคุมจุลินทรีย์ โรคและการติดเชื้อ ความต้านทานเชื้อและการสร้างภูมิคุ้มกัน การใช้ประโยชน์จุลินทรีย์ในด้านต่างๆ ในส่วนของผู้สอนสามารถใช้เป็นแนวทางในการสอน และหวังว่าเอกสารประกอบการสอนนี้คงจะเป็นประโยชน์ต่อผู้เกี่ยวข้องและผู้สนใจต่อไป

จรินทร์ บัวขม
วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีมหาสารคาม
ตุลาคม 2546

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	จุลชีววิทยาเบื้องต้น	1
2	การจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์	4
3	กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ศึกษาทางจุลชีววิทยา	12
4	เทคนิคการศึกษาจุลินทรีย์	16
5	อาหารเลี้ยงเชื้อและการกำจัดเชื้อ	22
6	การควบคุมจุลินทรีย์	28
7	โรคและการติดเชื้อ	32
8	ความต้านทานเชื้อและภูมิคุ้มกัน	36
9	การใช้ประโยชน์จุลินทรีย์ในด้านต่างๆ	41

ทฤษฎีบทที่ 1

จุลชีววิทยาเบื้องต้น

บทนำ

จุลชีววิทยา (Microbiology) เป็นวิชาที่ศึกษารูปร่าง การดำรงชีพ และกิจกรรมต่างๆ ของจุลินทรีย์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับโครงสร้าง การสืบพันธุ์ สรีรวิทยา กระบวนการสร้างและสลายหรือเมทาบอลิซึม (metabolism) การจำแนก การแพร่กระจายในธรรมชาติ รวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ

จุลินทรีย์ (Microorganism) หมายถึง สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscope) ส่วนมากมีเซลล์เดียว มีการเรียกจุลินทรีย์ได้หลายชื่อด้วยกัน เช่น จุลชีวัน จุลชีวิน จุลชีพ

จุลชีววิทยาเป็นการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ ซึ่งมีหลายประเภท ได้แก่ แบคทีเรีย (Bacteria) เห็ดรา (Fungi) ยีสต์ (Yeast) สาหร่าย (Algae) โปรโตซัว (Protozoa) ไวรัส (Virus) และริเกตเซีย (Rickettsia) เป็นต้น

ประวัติและการพัฒนาการด้านจุลชีววิทยา

สมัยก่อนมนุษย์มีความเชื่อว่าสิ่งมีชีวิตเกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต เรียกว่า Spontaneous generation หรือ Abiogenesis จากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสลับซับซ้อนมากขึ้น

ต่อมาในต้นศตวรรษที่ 17 วิทยาศาสตร์เจริญก้าวหน้ามากขึ้น ได้มีการคัดค้านทฤษฎี Abiogenesis ดังนี้

Francesco Redi เป็นคนแรกที่ลบล้างทฤษฎี Abiogenesis โดยทดลองให้เห็นว่าหนอนไม่ได้เกิดจากเนื้อเน่า และได้สรุปว่าหนอนเกิดจากไข่ของแมลงวัน เนื้อเน่าเป็นเพียงแต่ช่วยให้แมลงวันมาวางไข่เท่านั้น แต่ไม่มีใครเชื่อผลการทดลองนี้

Anthony Van Leeuwenhock ได้ประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์ขึ้น แล้วตรวจน้ำจากแม่น้ำ หนอง คลอง บึง และได้พบสิ่งมีชีวิตเล็กๆ ดังนั้น Leeuwenhock จึงเป็นคนแรกที่เห็นจุลินทรีย์

Louis Pasteur พบว่าเหล้าองุ่นมักจะเปรี้ยวเสียคุณภาพ เกิดจากปฏิกริยาของจุลินทรีย์บางชนิดในเหล้าองุ่นที่ปนมากับเครื่องมือเครื่องใช้ที่ไม่สะอาดพอ เป็นคนแรกที่รู้จักการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที วิธีการนี้ต่อมาเรียกว่า Pasteurization เขาเป็นคนแรกที่ล้มล้างความคิดเรื่อง Abiogenesis ได้สำเร็จ

การจำแนกหมวดหมู่ของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์บางชนิดมีลักษณะคล้ายพืช บางชนิดคล้ายสัตว์ บางชนิดคล้ายทั้งพืชและสัตว์ ปัจจุบันความเจริญก้าวหน้าทางด้านเซลล์วิทยามีมากขึ้น มีการศึกษาส่วนประกอบของเซลล์จุลินทรีย์ได้ละเอียดยิ่งขึ้น นักวิทยาศาสตร์จึงจัดแบ่งพวกโปรตีสท์หรือจุลินทรีย์ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. **Procaryotic cell** เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสห่อหุ้ม ทำให้ส่วนของสารพันธุกรรมอยู่อย่างกระจัดกระจายในไซโตพลาสซึม ได้แก่ แบคทีเรีย และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
2. **Eucaryotic cell** เป็นจุลินทรีย์ที่นิวเคลียสมีเยื่อห่อหุ้ม ทำให้ส่วนของสารพันธุกรรมอยู่รวมกลุ่มกันในไซโตพลาสซึม ได้แก่ เห็ดรา โปรโตซัว สาหร่ายอื่นๆ ยกเว้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พืชและสัตว์ชั้นสูงอื่นๆ

ทฤษฎีบทที่ 2

การจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เช่น ขนาด รูปร่าง เม็ดสีในเซลล์ การเคลื่อนที่ ซึ่งลักษณะเหล่านี้นำมาใช้ประโยชน์ในการจำแนกจุลินทรีย์ด้วย ปัจจุบันจุลินทรีย์ที่พบมีจำนวนมาก การนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางด้านกล้องจุลทรรศน์มาใช้ศึกษาลักษณะโครงสร้างและความแตกต่างของเซลล์ ทำให้แบ่งจุลินทรีย์ได้หลายพวก ที่สำคัญ ได้แก่ แบคทีเรีย เห็ดรา สาหร่าย สัตว์เซลล์เดียว ไวรัส เป็นต้น

1. แบคทีเรีย (Bacteria)

แบคทีเรียจัดเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็ดมากเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มีโครงสร้างง่ายๆ ลักษณะของเซลล์เป็นแบบ procaryotic cell มีความสำคัญทางด้านการเกษตร อุตสาหกรรม แพทย์ สิ่งแวดล้อม ฯลฯ สามารถแพร่กระจายทั่วไปทั้งในดิน น้ำ อาหาร อากาศ แม้แต่ภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต

รูปร่างของแบคทีเรีย

โดยทั่วไปจำแนกแบคทีเรียตามรูปร่างได้ 3 แบบ

1. ทรงกลม (coccus) เป็นแบคทีเรียที่มีรูปกลมหรือไข่ อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ หรืออยู่กันเป็นกลุ่ม
2. ทรงกระบอก (bacillus) เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อน อาจเป็นท่อนสั้นหรือท่อนยาว
3. แบบเกลียว (spirillum) เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อนโค้งงอ

ขนาดของแบคทีเรีย

แบคทีเรียมีขนาดเล็ดมาก มีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 0.2 – 40 ไมครอน

โครงสร้างของแบคทีเรีย

โครงสร้างพื้นฐานที่แบคทีเรียทุกชนิดจำเป็นต้องมี คือ ผนังเซลล์และไซโตพลาสซึม แบคทีเรียรูปท่อนหลายชนิดจะมีโครงสร้างที่เรียกว่าแส้เซลล์ (flagella) การเคลื่อนที่หรือการหมุนของแส้เซลล์จะทำให้แบคทีเรียเคลื่อนที่ไปด้วย ยังไม่พบแส้เซลล์ในแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม

แบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างสปอร์ได้ เรียกว่า เอนโดสปอร์ (endospore) สามารถทนทานต่อการกระทำทางเคมีและกายภาพได้ นอกจากนี้สปอร์ยังสามารถเติบโตเป็นเซลล์ได้เมื่ออยู่ในอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

การสืบพันธุ์ของแบคทีเรีย

แบคทีเรียทั่วไปมีการสืบพันธุ์โดยการแบ่งเซลล์จากหนึ่งเป็นสอง (Binary fission) จัดเป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ นอกจากนี้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมแบคทีเรียบางชนิดสามารถอยู่**รอดได้ โดยการสร้างสปอร์ และสปอร์สามารถงอกเป็นเซลล์ใหม่ได้เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม**

ตัวอย่างแบคทีเรีย

Bacillus sp.

Streptococcus sp.

Corynebacterium sp.

Mycobacterium sp.

Erwinia sp.

Xanthomonas sp.

Diplococcus sp.

Lactobacillus sp.

Straphylococcus sp.

2. ยีสต์ (Yeast)

ยีสต์จัดอยู่ในพวกเห็ดรา ลักษณะทั่วไปเป็นเซลล์เดียว แต่ละเซลล์อาจต่อกันเป็นสาย มีรูปร่างหลายแบบ เช่น กลม ยาว รี บางชนิดสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยการสร้างสปอร์ที่เรียกว่า แอสโคสปอร์ (Ascospore) อาจมีการแบ่งเซลล์โดยต่อกันเป็นสายยาว บางชนิดมีประโยชน์ เช่น ผลิตเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ ผลิตโปรตีน วิตามิน และอุตสาหกรรมการหมัก บางชนิดก่อให้เกิดโทษ เช่น ทำให้เกิดโรคกับคนและสัตว์

การสร้างสปอร์

ยีสต์สามารถสร้างสปอร์แบบอาศัยเพศ และแบบไม่อาศัยเพศได้ โดยมีการสร้างสปอร์ได้หลายชนิด เช่น คินิเดีย อาร์โทสปอร์ บลาสโทสปอร์ ฯลฯ

3. รา (Mold)

ราจัดอยู่ในพวกเห็ดราเช่นเดียวกับยีสต์ ราไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ต้องอาศัยอาหารจากสิ่งอื่น เช่น ซากพืช ซากสัตว์ พืชหรือสิ่งที่มีชีวิตอยู่ จึงเป็นสาเหตุของโรคต่างๆ ได้ ปกติเซลล์มีลักษณะเป็นเส้นใย ที่เรียกว่า hypha ถ้าอยู่รวมกันมากๆ เรียกว่า mycelium

การสืบพันธุ์

ราสืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ มี 2 แบบ คือ แบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศ

1) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

เป็นการสร้างสปอร์ที่ไม่มีการรวมนิวเคลียส จำนวนนิวเคลียสในสปอร์จะเท่ากับเซลล์ปกติ

สปอร์แบบไม่อาศัยเพศ ได้แก่
- สปอแรงเจียม (Sporangium) เป็นสปอร์ที่มีโครงสร้างห่อหุ้ม
- คอนิเดีย (conidia) เป็นสปอร์ที่ไม่มีโครงสร้างห่อหุ้ม อยู่เป็นอิสระ
- ซูโอสปอร์ (Zoospore) มีแส้เซลล์ สามารถเคลื่อนที่ในน้ำได้
- อะพลาโนสปอร์ (Aplanospore) ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้
- บลาสโตสปอร์ (Blastospore) เป็นสปอร์ผนังบางเกิดจากแตกหน่อบนเส้นใย
- คลามัยโดสปอร์ (Chlamydospore) เป็นสปอร์ผนังหนา
- อาร์โทสปอร์ หรือออยเดียร์ (Arthospore, oidia) เกิดจากเส้นใยแบ่งเป็นท่อนๆ

2) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

เป็นการสร้างสปอร์โดยมีการรวมนิวเคลียส ได้แก่
- โอโอสปอร์ (oospore) เกิดจากการปฏิสนธิระหว่างตัวอสุจิกับไข่ของรา
- ไซโกสปอร์ (Zygospore) มีผนังหนา เกิดจากปลายเส้นใยของเชื้อราเพศผู้มาพบกับปลายเส้นใยของเชื้อราเพศเมีย ทำให้เกิดการรวมกันของนิวเคลียส
- แอสโคสปอร์ (Ascospore) เกิดภายในถุงหุ้มที่เรียกว่า แอสคัส (Ascus)
- เบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore) เป็นสปอร์ที่พบในเห็ดชนิดต่างๆ

ตัวอย่างรา

Aspergillus sp.

Penicillium sp.

Phizopus sp.

Fusarium sp.

Candida sp.

4. โปรโตซัว (Protozoa)

โปรโตซัวเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กมาก บางชนิดให้โทษ เป็นปรสิต บางชนิดเป็นประโยชน์ ใช้เป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตอื่นในห่วงโซ่อาหาร บางชนิดอยู่เป็นอิสระ เช่น ยูกลีนา Volvox เป็นต้น บางชนิดอยู่ร่วมกันแบบภาวะพึ่งพากัน

สัณฐานวิทยา

มีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันไป ตั้งแต่ 1-600 ไมโครเมตร บางชนิดมีรูปร่างทรงกลม รี หรือยาว

มีอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่ เช่น เท้าเทียมพบในอมีบา แส้เซลล์ (flagella) ขนเซลล์ (cilia)

การสืบพันธุ์

1) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ
   - Binary fission เป็นการแบ่งเซลล์ออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆ กัน เช่น อมีบา
   - การแตกหน่อ หน่อที่ได้มีขนาดเล็กกว่าเซลล์แม่
   - Sporulation เป็นการแบ่งนิวเคลียสหลายครั้ง ต่อมาไซโตพลาสซึมล้อมรอบนิวเคลียสแต่ละอันกลายเป็นสปอร์ เช่น Plasmodium
2) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ
   - คอนจูเกชั่น (Conjugation) เกิดจากเซลล์ 2 เซลล์เข้าคู่กัน มีการแลกเปลี่ยนนิวเคลียส พบในพารามีเซียม (Paramecium)
   - การผสมกันของเซลล์เพศผู้และเพศเมีย ได้แก่ hologamate isogamate และ anisogamate

การจำแนกหมวดหมู่โปรโตซัว

1) พวกที่ใช้แส้เซลล์ (Flagella) เคลื่อนที่ ได้แก่ ยูกลีนา Volvox Dinoflagellate เป็นต้น

2) พวกที่ใช้เท้าเทียมในการเคลื่อนที่ ได้แก่ อมีบา Difflugia เป็นต้น

3) พวกที่ใช้ขนเซลล์ (Celia) ในการเคลื่อนที่ มี Contractile vacuole ในการขับถ่ายของเสีย ได้แก่ พารามีเซียม Vorticella เป็นต้น

4) พวกที่ไม่มีอวัยวะในการเคลื่อนที่ ไม่มี Contractile vacuole เป็นปรสิตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ได้แก่ Plasmodium สาเหตุโรคมาเลเรีย เป็นต้น

5. สาหร่าย (Algae)

สาหร่ายเป็นพืชชั้นต่ำที่มีโครงสร้างแบบง่ายๆ ไม่มีรูปร่างที่แน่นอนว่าส่วนใดเป็นราก ลำต้น ใบ ดอก เรียกลักษณะนี้ว่า ทัลลัส (Thallus)

พบทั่วไปในทะเล แม่น้ำ ดิน หิน ต้นไม้ ลำตัวสัตว์ บางชนิดพบในน้ำพุร้อนอุณหภูมิสูงถึง 90 องศาเซลเซียส ใช้ประโยชน์นำมาทำอาหาร มีโปรตีนสูง ช่วยในการปรับปรุงอนุรักษ์ดินและรักษาสภาวะแวดล้อมสมดุลธรรมชาติ

สัญฐานวิทยาของสาหร่าย

สาหร่ายมีรูปร่างหลายแบบอาจเป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างกลม ท่อน สาย หรือหลายเซลล์ต่อกันเป็นกลุ่ม ขนาดของเซลล์เล็ก 0.5-2.5 ไมครอน บางชนิดเซลล์ต่อกันยาวกว่า 100 ฟุต บางชนิดมีผนังเซลล์แข็งแรง เช่น ไดอะตอม

อวัยวะในการเคลื่อนที่

สามารถบางชนิดสามารถเคลื่อนที่แบบอมีบา บางชนิดใช้แส้เซลล์ หรือ แฟลกเจลลา

การสืบพันธุ์

1) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ
   - Binary fission แบ่งเซลล์จาก 1 เป็น 2 เช่น Ceratium
   - Fragmentation เกิดจากการหักหรือขาดเป็นท่อนๆ ของทัลลัส เช่น Oscillatoria , Ulotrix
   - Sporulation เป็นการสร้างสปอร์ภายในเซลล์ เช่น Anabaena , Nostoc
2) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ
   เป็นการรวมกันของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย ปฏิสนธิเป็นไซโกต เรียกว่า Zygospore

ตัวอย่างสาหร่าย

1) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) เช่น Anabaena, Nostoc, Oscillatoria

2) สาหร่ายสีเขียว (Green algae) เช่น Volvox, Spirogyra, Chlorella, Scenedesmus, Chlamydomonas

3) ยูกลีนอยด์ (Euglenoids) เช่น Phacus, Euglena , Astasia

4) สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง (Golden-brown algae) เช่น Dinobryon, Chrysocapsa, Chrysamoeba

5) ไดอะตอม (Diatom) ส่วนมากเป็นแพลงค์ตอนพืช

6) สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง (Yellow-green algae) ส่วนมากเป็นแพลงค์ตอนพืช เป็นเซลล์เดียวหรือเป็นสาย

7) สาหร่ายสีน้ำตาล (Brown algae) เช่น Fucus, Sagassum

8) สาหร่ายสีแดง (Red algae) เช่น Porphyra

6. ไวรัส (Virus)

เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กที่สุด มีลักษณะเป็นอนุภาค มีสารพันธุกรรมเป็น DNA หรือ RNA อย่างใดอย่างหนึ่ง เป็นสาเหตุของโรคคน สัตว์ และพืช

สัณฐานวิทยา

มีรูปร่างหรือแบบ ได้แก่ เป็นท่อนตรง โค้งงอ สี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปลูกบาศก์

การสืบพันธุ์

ไวรัสไม่สามารถสืบพันธุ์หรือทวีจำนวนเป็นอิสระได้ด้วยตัวเอง จะต้องอาศัยขบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ที่ให้อาศัย ทำให้เกิดโรคกับคน สัตว์ และพืช

ไวรัสเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อมนุษย์ เพราะมนุษย์เป็นผู้ให้อาศัยที่ดีของไวรัสต่างๆ ปัจจุบันวงการแพทย์กำลังค้นคว้าอย่างรีบเร่งเพื่อหาวิธีควบคุมไวรัสให้ได้ เนื่องจากเป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญร้ายแรง ได้แก่โรคเอดส์ ซึ่งเป็นโรคที่แพร่ระบาดอย่างรวดเร็วและยังไม่มียาใดๆ รักษาให้หายได้

ทฤษฎีบทที่ 3

กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ศึกษาทางจุลชีววิทยา

กล้องจุลทรรศน์เป็นเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่สำคัญมาก ในวิชาจุลชีววิทยาและวิชาอื่นๆ เพื่อขยายจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กจนมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า

Anthony Van Leenwenhook ประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (Simple Microscore) .ใช้ดูแบคทีเรีย ตัวอสุจิ และสิ่งอื่นๆ

John Marshall ประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์แบบ Compound Microscope ต่อมามีการดัดแปลงกล้องจุลทรรศน์ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น จนถึงปัจจุบันมีการพัฒนาการประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์แบบต่างๆ มากมาย รวมทั้งกล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็คตรอน (Electron Microscope) ซึ่งสามารถเพิ่มกำลังขยายได้สูงถึง 400,000 เท่า และมีความสามารถเห็นรายละเอียดของวัตถุได้มากกว่ากล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงประมาณ 100 เท่า

1. ประเภทของกล้องจุลทรรศน์

1) Simple Microscope

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงธรรมดา มีกำลังขยายสูงประมาณ 200 เท่า มีเลนส์เพียงอันเดียว

2) Compound Microscope

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงธรรมดา ประกอบด้วยเลนส์ 2 ชนิด คือ เลนส์ใกล้วัตถุและเลนส์ใกล้ตา คุณภาพของกล้องจุลทรรศน์จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับกำลังขยายของเลนส์ทั้งสองนี้

กำลังขยายภาพทั้งหมด = กำลังขยายของเลนส์ใกล้ตา X กำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุ

3) Ultraviolet Microscope

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงอุลตราไวโอเลต จึงมีกำลังขยายสูงกว่ากล้องจุลทรรศน์ชนิดธรรมดา (Compound Microscope)

4) Dark-field Microscope

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ทำให้เกิดภาพเรืองแสงในพื้นสีดำ

5) Fluorescence Microscope

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้สำหรับดูวัตถุสว่างในที่มืด วัตถุที่จะนำมาศึกษานั้นต้องย้อมด้วยสีที่ทำให้เกิดการเรืองแสงได้เมื่อสัมผัสกับแสงอุลตราไวโอเลต ทำให้ภาพที่ปรากฏเป็นภาพเรืองแสงในฉากสีดำ

6) Phase Contrast Microscope

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่สามารถศึกษาลักษณะของเซลล์จุลินทรีย์และเซลล์สิ่งมีชีวิตเล็กอื่นๆ ที่ยังมีชีวิต เพราะมีโครงสร้างหลายอย่างที่มีการหักเหแสงต่างกัน

7) Electron Microscope

เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูงมาก ทั้งนี้เพราะใช้ลำแสงของอิเลคตรอน กำลังขยายของกล้องประมาณ 25,000-100,000 เท่า การเตรียมตัวอย่างที่จะใช้ศึกษานั้นต้องเป็นวัตถุแห้งและมีขนาดบาง เพื่อจะได้เห็นรายละเอียดต่างๆ ชัดเจน กล้องจุลทรรศน์ชนิดนี้มีความสำคัญในวิชาจุลชีววิทยาและวิชาอื่นๆ เป็นอย่างมาก เพราะช่วยให้สามารถศึกษารายละเอียดจากลักษณะโครงสร้างของจุลินทรีย์ได้มากขึ้น

2. ส่วนประกอบของกล้องจุลทรรศน์

1) เลนส์ใกล้ตา (ocular, eyepiece) เป็นเลนส์ที่อยู่ส่วนบนของตัวกล้องและอยู่ใกล้ตา มักมีกำลังขยาย 10X กล้องรุ่นใหม่มักมีกระบอกเลนส์ที่ตา 2 อัน เรียกว่า กล้องสองตา (Binocular Microscope)

2) Body tube เป็นส่วนตัวกล้อง ประกอบด้วยกระจกและปริซึมซึ่งจะส่งภาพจากเลนส์วัตถุไปสู่เลนส์ตา

3) Revolving nosepiece เป็นที่หมุนเพื่อเปลี่ยนเลนส์ใกล้วัตถุ

4) เลนส์ใกล้วัตถุ (objective) กล้องทั่วไปจะมีเลนส์ใกล้วัตถุ 3-4 อัน มีกำลังขยายต่างกัน คือ เลนส์วัตถุกำลังขยายต่ำ (Low power objective) มีกำลังขยาย 4 X, 10 X, 20 X

เลนส์วัตถุกำลังขยายสูง (High power objective) มีกำลังขยาย 40 X

เลนส์วัตถุใช้น้ำมัน เรียกว่า Oil immersion objective มีกำลังขยาย 100 X

เวลาใช้เลนส์น้ำมันจะต้องให้ปลายเลนส์จุ่มในน้ำมัน ซึ่งหยดบนตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ต้องการส่องดูบนสไลด์ จึงจะเห็นภาพชัดเจน

เลนส์ใกล้วัตถุจะอยู่ติดกับ Revolving nosepiece ซึ่งเป็นแกนสำหรับใช้จับหมุนเวลาเปลี่ยนเลนส์

5) เลนส์รวมแสง (Condensor) ทำหน้าที่รวมลำแสง เพื่อให้ลำแสงจากวัตถุผ่านเข้ากล้องได้ดีขึ้น ประกอบด้วยเลนส์ 2 อัน ปรับเลื่อนขึ้นลงได้

6) ม่านปรับแสง (Iris diaphragm) ใช้ปรับแสงให้เข้าสู่ Condensor lens ได้มากน้อยตามต้องการ
7) Stage เป็นแท่นสี่เหลี่ยมสำหรับวางสไลด์ มักเป็นส่วนที่ปรับให้เลื่อนขึ้นลงได้
8) Mechanical stage ช่วยยึดสไลด์และช่วยเลื่อนสไลด์ไปมาในระนาบขนานกับพื้นได้ มีสเกลตัวเลขที่ใช้บอกตำแหน่งของภาพบนสไลด์ได้ทั้งแนวราบและแนวยืน
9) ปุ่มปรับภาพหยาบ (Coarse adjustment knob) ปุ่มปรับภาพหยาบ ทำหน้าที่ปรับระยะให้เห็นภาพได้รางๆ ใช้ปรับโฟกัสได้รวดเร็ว
10) ปุ่มปรับภาพละเอียด (Fine adjustment knob) ใช้ปรับโฟกัสให้ภาพชัดเจนยิ่งขึ้นหลังจากที่เห็นภาพรางๆ จากการปรับด้วยปุ่มโฟกัสหยาบแล้ว
11) กระจกเงา (Mirror) ทำหน้าที่สะท้อนแสงเข้าสู่ condensor กระจกมี 2 ด้าน คือ ด้านเว้าและด้านเรียบ ด้านเว้าจะรวมแสงเข้ากล้องได้ดีกว่าด้านเรียบ ควรปรับให้กระจกรวมแสงเข้าสู่กล้องได้เต็มที่ กล้องรุ่นใหม่จะมีแหล่งกำเนิดแสงของตัวเองที่ปรับความเข้มได้ทดแทนกระจกเงา
12) Arm เป็นส่วนที่ใช้จับถือกล้อง
13) Base ฐานกล้อง เป็นส่วนที่เป็นแท่นรับน้ำหนัก และยึดส่วนประกอบต่างๆ ของกล้องให้มั่นคง

ทฤษฎีบทที่ 4

เทคนิคการศึกษาจุลินทรีย์

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถเจริญปะปนกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ โดยปกติแบคทีเรียจะเจริญเป็นกลุ่ม (colony) ซึ่งมักจะเห็นชัดเจนเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ การที่จะเห็นเซลล์ของแบคทีเรียว่ามีลักษณะรูปร่างอย่างไรนั้น ต้องมีวิธีการและเทคนิคในการศึกษาหลายอย่างประกอบกัน ซึ่งเทคนิคและวิธีการที่สำคัญ คือ การแยกเชื้อบริสุทธิ์ และการย้อมสี

1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์

ในธรรมชาติแบคทีเรียจะเจริญปะปนกันหลายชนิด ในการศึกษาสมบัติของเซลล์แบคทีเรียจำเป็นต้องแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งหมายถึง เชื้อชนิดเดียว ซึ่งมีคุณสมบัติของทุกๆ เซลล์เหมือนกันทุกประการ เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วจึงจะสามารถศึกษาสมบัติและรายละเอียดต่างๆ ซึ่งจะนำไปสู่การจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้

เทคนิคการแยกเชื้อแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ มีหลายวิธี แต่ที่ปฏิบัติกันโดยทั่วไปมี 2 วิธี คือ

1) Streak Plate Method
2) Loop Dilution Technique หรือ Pour Plate

<u>การแยกเชื้อโดย Streak Plate Method</u>

วิธีการในการแยกเชื้อวิธีนี้ คือ ใช้ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop) ที่สะอาดปราศจากเชื้อ นำไปแตะเชื้อแบคทีเรียจากโคโลนีซึ่งมีเชื้อหลายชนิดผสมกันอยู่ แล้วนำมาขีด (Streak) บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ลากวนไปมาให้ยาวที่สุดเท่าที่ทำได้จนเต็มผิวหน้าอาหาร แล้วนำจานเพาะเชื้อ (Petridish) ไปบ่มเชื้อ (Incubate) โดยการวางคว่ำจานที่อุณหภูมิห้อง หรือในที่ที่อุณหภูมิเหมาะสมสำหรับการเจริญของแบคทีเรียแต่ละชนิด ทิ้งไว้ประมาณ 1-2 วัน จะเห็นโคโลนีเดี่ยวๆ ของแบคทีเรียเจริญขึ้นจนมีขนาดใหญ่พอที่จะถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารอื่นๆ เพื่อเก็บไว้ศึกษาคุณสมบัติอื่นๆ ต่อไป

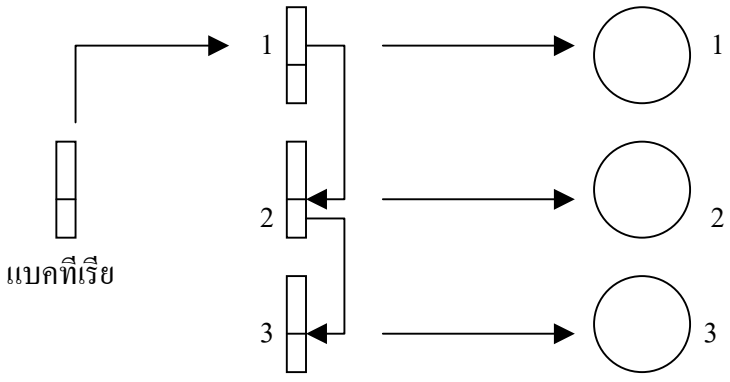
การแยกเชื้อโดย Loop Dilution Technique

วิธีการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์วิธีนี้ ทำได้ดังนี้

1. นำหลอดอาหารที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 3 หลอด ไปหลอมให้ละลาย และแช่ใน Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส
2. นำลวดเขี่ยเชื้อ (Loop) ที่สะอาดปราศจากเชื้อจุ่มลงในหลอดที่มีเชื้อผสม แล้วนำไปใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลอดที่ 1 เขย่าหลอดเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วหลอด
3. นำ Loop ที่สะอาดปราศจากเชื้อจุ่มลงในเชื้อผสมหลอดที่ 1 ถ่ายลงในหลอดอาหารที่ 2 เขย่าเพื่อให้เชื้อแพร่กระจายทั่วหลอด
4. นำ Loop ที่สะอาดปราศจากเชื้อจุ่มลงในเชื้อผสมหลอดที่ 2 ถ่ายลงในหลอดอาหารที่ 3 เขย่าเพื่อให้เชื้อแพร่กระจายทั่วหลอด
5. นำอาหารในหลอดที่ 1 เทใส่จานเพาะเชื้อจานที่ 1 หมุนจานเบาๆ เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียกระจายโดยทั่วจาน ปล่อยทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว
6. นำอาหารในหลอดที่ 2 และ 3 เทใส่จานเพาะเชื้อจานที่ 2 และ 3 ตามลำดับ หมุนจานเบาๆ เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียกระจายโดยทั่วจาน ปล่อยทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว
7. นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิที่เหมาะสม ทิ้งไว้ประมาณ 24-48 ชม. จะเห็นโคโลนีเดี่ยวๆ ของแบคทีเรียเจริญขึ้นจนมีขนาดใหญ่พอที่จะเขี่ยเชื้อ หรือนำไปศึกษาคุณสมบัติอื่นๆ ต่อไป

ผลจากการแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีนี้ จะพบว่าในจานเพาะเชื้อที่ 1 จะมีเชื้อเจริญหนาแน่นมากที่สุด สำหรับจานเพาะเชื้อที่ 2 และ 3 มีเชื้อเจริญหนาแน่นน้อยลงมาตามลำดับ

นอกจากวิธีการแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีนี้ ยังสามารถศึกษาการเจริญของแบคทีเรียในที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศได้ด้วย ถ้าเชื้อมีการเจริญเฉพาะบนผิวหน้าอาหาร แสดงว่าเชื้อนั้นเจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน ถ้าเชื้อใดเจริญบนก้นจานเพาะเชื้อ แสดงว่าเชื้อนั้นเจริญได้ดีในสภาพไม่มีออกซิเจน



2. การเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

หลังจากการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของจุลินทรีย์ได้แล้ว ก่อนที่จะนำไปศึกษาคุณสมบัติด้านต่างๆ นั้น ต้องนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณให้มากพอ และมีการเก็บรักษาให้ถูกวิธี เพื่อไม่ให้เชื้อเกิดการปนเปื้อนกับเชื้ออื่นๆ และสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่สูญพันธุ์หรือกลายพันธุ์ หรือสูญเสียคุณสมบัติไป ในปัจจุบันหลายประเทศมีสถาบันเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อบริการแก่หน่วยงานที่ต้องการนำเชื้อจุลินทรีย์ไปศึกษาวิจัย หรือปฏิบัติทางพันธุวิศวกรรม ในประเทศไทยมีหน่วยงานเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

วิธีการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์มีหลายวิธี ดังนี้

1) Subculture

เป็นการเก็บรักษาจุลินทรีย์ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายที่สุด และมักใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป โดยการนำเชื้อมาเลี้ยงในหลอดอาหาร เมื่อเชื้อเจริญสูงสุดและเข้าสู่ระยะที่จะตายลง ต้องทำการถ่ายเชื้อไปสู่หลอดอาหารใหม่ ซึ่งระยะเวลาในการถ่ายเชื้อแต่ละครั้งจะแตกต่างกันไป แล้วแต่ชนิดของจุลินทรีย์ อาหารที่ใช้ และสภาพในการเก็บรักษา การเก็บหลอดเลี้ยงเชื้อในที่มีอากาศเย็น เช่น ในตู้เย็น จะทำให้เชื้อเจริญได้ช้าลง การใช้ฝาเกลียวปิดหลอดอาหารแทนการใช้จุกสำลี จะทำให้อากาศไม่ผ่านเข้าออก ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อแห้งช้าลง เชื้อเจริญอยู่ได้นาน นอกจากนี้การปิดทับผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยพาราฟินเหลว (Liquid parafin) เป็นการยืดอายุการเก็บเชื้อให้ยาวนานออกไปได้อีก

วิธีการเก็บรักษาเชื้อโดยการถ่ายเชื้อบ่อยๆ อาจทำให้เกิดผลเสียหายหลายประการ เช่น เกิดการปนเปื้อนกับเชื้ออื่น (Contamination)

2) Drying

เป็นการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ในสภาพแห้ง เป็นการทำให้จุลินทรีย์มีอัตรา Metabolism ต่ำลง วิธีนี้ไม่ค่อยนิยมใช้ เพราะจุลินทรีย์บางชนิดเก็บรักษาโดยวิธีนี้จะไม่ได้ผล เพราะจะตายในสภาพแห้งและขาดน้ำ วิธีนี้จะใช้กับจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถทนทานต่อสภาพเย็นจัดได้ และใช้กับจุลินทรีย์ที่มีสปอร์

3) Freezing

เป็นการเก็บรักษาจุลินทรีย์ในสภาพเย็นจัด ใช้ได้กับจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด และมีอายุการเก็บรักษายาวนาน วิธีการ คือ เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารวุ้นจนเชื้อเจริญดีแล้วก็ผสมสารป้องกันไม่ให้เซลล์ถูกทำลายในขณะแช่แข็ง เช่น glycerol ผสมให้เข้ากันดี แล้วถ่ายใส่หลอดขนาดเล็กปิดฝาให้แน่น ใส่ในเครื่องลดอุณหภูมิ แล้วนำไปเก็บในถังบรรจุไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ –196 องศาเซลเซียส วิธีการนี้จะเก็บรักษาจุลินทรีย์ได้นาน

4) Lyophillization หรือ Freeze-clrying เป็นวิธีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำมากๆ ในชั่วระยะเวลาหนึ่ง จะทำให้กิจกรรมของจุลินทรีย์หยุดชะงัก เป็นวิธีการที่นิยมในห้องปฏิบัติการขนาดใหญ่ และมีเชื้อบริสุทธิ์จำนวนมาก วิธีการเก็บรักษาทำโดยเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารวุ้น จนเชื้อเจริญดีจึงผสมของเหลว เช่น horse serum ลงไป แล้วถ่ายเชื้อลงในหลอดแก้ว นำไปเข้าเครื่อง lyophillizer ซึ่งทำให้เชื้ออยู่ในสภาพเย็นจัดและแข็งตัวในสภาพสูญญากาศ วิธีการนี้ทำให้จุลินทรีย์คงสภาพรูปร่างและมีชีวิตอยู่ได้นานเป็นสิบปี

การเก็บรักษาจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีวิธีการที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิด จำนวนของจุลินทรีย์ และความเหมาะสมในการปฏิบัติงาน นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นๆ อีก เช่น การเก็บรักษาแบคทีเรียบนอาหารวุ้นภายใต้พาราฟินเหลว ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่ยุ่งยาก และยังสามารถเก็บรักษาจุลินทรีย์ได้นาน

ยีสต์สามารถเก็บรักษาโดยการทำให้แห้งบนกระดาษกรอง

เชื้อราบางชนิด เช่น Aspergillus sp. , Penicillium sp. สามารถเก็บรักษาได้หลายวิธี แต่มีวิธีหนึ่งที่นิยมและเก็บรักษาได้ดี คือ การเก็บรักษาในดิน ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้นานถึง 10 ปี และเชื้อรายังคงมีสภาพทางพันธุกรรมไม่เปลี่ยนแปลง

3. การย้อมสีจุลินทรีย์

แบคทีเรียมีขนาดเล็กมาก ในการศึกษาแบคทีเรียโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ อาจจะเห็นรูปร่าง ขนาด โครงสร้างไม่ชัดเจน การย้อมสีเป็นวิธีการที่ช่วยให้เห็นลักษณะต่างๆ ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น และยังช่วยในการศึกษาการจำแนกกลุ่มแบคทีเรียได้ด้วย เนื่องจากส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรียต่างชนิดกันจะมีปฏิกริยาต่อสีแตกต่างกัน

วิธีการย้อมสีแบคทีเรีย โดยทั่วไปแบ่งเป็น 2 วิธี คือ

1. **การย้อมสีแบบเนกาทีฟ (Negative stain) เซลล์ของแบคทีเรียจะไม่ติดสี แต่จะติดสีในส่วนที่เป็นพื้นที่รอบๆ เซลล์ ทำให้เห็นโครงสร้างของเซลล์เด่นชัดขึ้นมา สีที่ใช้ เช่น India ink หรือ Nigrosin**

2. **การย้อมสีแบบโพสทีฟ (Positive) สีจะติดที่เซลล์ของแบคทีเรีย แต่พื้นที่รอบๆ เซลล์จะไม่ติดสี แบ่งเป็น 2 วิธี คือ**

1) Simple stain เป็นการย้อมสีแบบธรรมดา โดยใช้สีเพียงสีเดียวในการย้อม เซลล์แบคทีเรียจะติดสีย้อมสม่ำเสมอ ใช้สำหรับศึกษารูปร่าง ขนาด และการจัดเรียงตัวของแบคทีเรีย สีที่นิยมใช้ เช่น crystal violet , methylene blue และ cabol fuchsin

2) **Differential stain** เป็นการย้อมสีแบคทีเรียโดยใช้สีมากกว่า 1 ชนิด สีจะติดที่ส่วนต่างๆ ของเซลล์ เช่น capsule , endospore และ granule บางอย่าง ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการจำแนกกลุ่มของแบคทีเรียได้ การย้อมสีแบบนี้มีหลายวิธี คือ

2.1 การย้อมสีแบบแกรม (Gram stain) สีที่ใช้ย้อม คือ crystal violet และ safranin สารอื่นๆ ที่ใช้ร่วมในการย้อม คือ สารละลายไแโอดีน จะช่วยให้เซลล์ติดสีดีขึ้น การย้อมโดยวิธีนี้จะจำแนกแบคทีเรียได้เป็น 2 พวก คือ

- **แกรมบวก (Gram positive) จะติดสีม่วงของ crystal violet**
- **แกรมลบ (Gram negative) จะติดสีแดงของ safranin**

2.2 การย้อมสีแบบแอซิด-ฟาสต์ (Acid-fast stain) .ใช้ในการจำแนกแบคทีเรียที่อยู่ในตระกูล Mycobacterium และตระกูล Norcardiaceae

สีที่ใช้ย้อมแบบ acid-fast ได้แก่ carbol fuchsin และ methylene blue

- **แบคทีเรียที่ทนกรด (acid-fast) จะติดสีแดงของ carbol fuchsin**
- **แบคทีเรียที่ไม่เป็นพวก acid-fast จะติดสีน้ำเงินของ methylene blue**

ทฤษฎีบทที่ 5

อาหารเลี้ยงเชื้อและการกำจัดเชื้อ

การนำเชื้อจุลินทรีย์มาศึกษา จะต้องนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารอาหารเหมาะสมตามความต้องการของจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ

1. สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์

1) **แหล่งธาตุไนโตรเจน** โดยทั่วไปอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียมักใช้ peptone , tryptones เป็นแหล่งของไนโตรเจน

2) แหล่งคาร์บอน ในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มักใช้แป้งหรือน้ำตาล เช่น น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งของคาร์บอน

3) **แหล่งเกลือแร่** อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มักจะมีเกลือแร่เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เกลือแร่ที่จุลินทรีย์ต้องการในปริมาณมาก เช่น โปตัสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แคลเซียม และเหล็ก สำหรับเกลือแร่ที่จุลินทรีย์ต้องการในปริมาณน้อย เช่น โคบอลท์ ทองแดง สังกะสี โมลิบดินัม และแมงกานีส

4) แหล่งวิตามินและสารที่ส่งเสริมการเจริญ เป็นสารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์นำไปใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อนำไปสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการเจริญและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ เช่น ไทอะมีน ไรโบฟลาวิน ไพริดอกซิน เป็นต้น

2. ปัจจัยทางกายภาพที่จำเป็นสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์

1) อุณหภูมิ

1.1 Psychrophile เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 15-20 องศาเซลเซียส

1.2 Mesophile เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดีในอุณหภูมิปานกลาง ในช่วง 20-40 องศาเซลเซียส

1.3 Thermophile เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดีในอุณหภูมิสูง ในช่วง 40-60 องศาเซลณวียส

2) อากาศ

2.1 aerobic bacteria เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีในที่มีออกซิเจน

2.2 anaerobic bacteric เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีในที่ไม่มีออกซิเจน

2.3 facultative anaerobic bacteria เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพมีและไม่มีออกซิเจน แต่เจริญได้ดีในที่มีออกซิเจนมากกว่า

2.4 microaerophillic bacteria เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ดีในที่มีออกซิเจนน้อย

3) ความเป็นกรดเป็นเบส แบคทีเรียทั่วไปเจริญได้ดีในที่มีความเป็นกรด-เบส 6.5-7.5

4) ปัจจัยอื่นๆ แบคทีเรียบางชนิดต้องการความเค็ม บางชนิดต้องการแสง

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture medium)

คุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ดี ควรมีลักษณะดังนี้

1. มีธาตุอาหารและความเข้มข้นเหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์
2. มีความเป็นกรด-ด่าง เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์
3. ปราศจากสารพิษ ที่มีผลต่อการเจริญ
4. ไม่มีจุลินทรีย์หรือสิ่งอื่นๆ อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น

ประโยชน์จากการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. เพื่อเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณจำนวนเซลล์และผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์
2. เพื่อแยกเชื้อจุลินทรีย์
3. เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเพื่อการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์
4. เพื่อเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์

4. การแบ่งประเภทของอาหารเลี้ยงเชื้อ

1) อาหารเลี้ยงเชื้อจำแนกตามส่วนประกอบของอาหาร

2) อาหารเลี้ยงเชื้อจำแนกตามประโยชน์หรือลักษณะการใช้งาน

การจำแนกตามส่วนประกอบของอาหาร

1. Synthetic media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทราบส่วนประกอบทางเคมีที่แน่นอน เช่น สูตรอาหาร mineral agar

Glucose	2.0 กรัม
$(NH_4)_2SO_4$	1.0 กรัม
K_2HPO_4	7.0 กรัม
$MgSO_4$	0.5 กรัม
Agar	15 กรัม
Water	1 กรัม

2. **Non synthetic media** เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ทราบส่วนประกอบทางเคมีที่แน่นอน ว่าประกอบด้วยสารใด ปริมาณเท่าใด เป็นอาหารที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ nutrient broth , nutrient agar, potato dextrose agar

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth

beef extract	3 กรัม
peptone	5 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar

beef extract	3 กรัม
peptone	5 กรัม
agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

สูตรอาหาร potato dextrose agar

มันฝรั่ง	200 กรัม
dextrose	20 กรัม
agar	15 กรัม
น้ำกลั่นเติมครบ	1 ลิตร

การจำแนกตามประโยชน์หรือลักษณะการใช้งาน

1. **Enriched medium** เช่น อาหาร selenite broth เป็นอาหารที่เหมาะสำหรับเชื้อ Salmonella sp. สามารถกระตุ้นให้เชื้อนี้เจริญได้ดี แต่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียลำไส้ชนิดอื่นๆ

2. Selective medium เช่น Sabourand's glucose เป็นอาหารที่เหมาะสำหรับการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าแบคทีเรีย จึงใช้เป็นอาหารสำหรับการแยกเชื้อราออกจากแบคทีเรีย

3. Differential medium เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ Mac Conkey's agar ถ้าจุลินทรีย์ชนิดใดสามารถหมักน้ำตาลแลคโตสได้ก็จะทำให้ได้กรดออกมา โคโลนีของจุลินทรีย์จะมีสีแดง ส่วนจุลินทรีย์ใดไม่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตส จะให้โคโลนีที่ไม่มีสี จึงสามารถแยกจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดออกมาศึกษาได้

5. การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์

วิธีการควบคุม หมายถึง การฆ่า การยับยั้งการเจริญ และการกำจัดจุลินทรีย์ออกไป มีวิธีการดังนี้

1. วิธีการทางฟิสิกส์ เช่น การใช้ความร้อน รังสี การกรอง
2. วิธีการทางเคมี เช่น การใช้สารเคมีบางชนิด
3. วิธีการใช้สารปฏิชีวนะ เช่น Streptomycin เป็นต้น

วิธีการกำจัดเชื้อโดยใช้ความร้อนที่ปฏิบัติกัน มีอยู่ 3 วิธี คือ

1. การฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อนชื้น โดยใช้หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
2. การฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อนแห้ง โดยใช้ตู้อบแห้ง (Hot air oven) วิธีนี้เหมาะสำหรับเชื้อที่ติดมากับอุปกรณ์ เครื่องแก้ว และอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานเลี้ยงเชื้อ (petri-dish) หลอดทดสอบ (test tube) ปิเปต (pipet) ขวดรูปชมพู่ (flask)
3. การฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อนจากเปลวไฟโดยตรง เหมาะสำหรับฆ่าเชื้อที่ติดมากับอุปกรณ์หรือเครื่องมือขนาดเล็ก เช่น เข็มเขี่ย ลวดเขี่ยเชื้อ (loop) ปากคีบ (forsep) เป็นต้น

6. การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้หม้อนึ่งความดัน

เป็นการฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อนชื้น สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทุกอย่างได้หมด เหมาะสำหรับใช้นึ่งฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดจนอุปกรณ์ เครื่องแก้ว หรือภาชนะต่างๆ ที่ห่อกระดาษ หรืออุดจุกสำลีไว้ ความร้อนภายในหม้อนึ่งความดันสูงถึง 121 องศาเซลเซียส ใช้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ใช้เวลานาน 15 นาที

ทฤษฎีบทที่ 6

การควบคุมจุลินทรีย์

1. ความสำคัญของการควบคุมจุลินทรีย์

มีจุดมุ่งหมายดังนี้ คือ

1. ป้องกันการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคต่างๆ
2. ป้องกันการปนเปื้อนและการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ
3. ป้องกันการทำลายสิ่งต่างๆ โดยจุลินทรีย์

2. ปัจจัยในการควบคุมจุลินทรีย์

1. ชนิดของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความทนทานในการถูกทำลายต่างกัน เช่น แบคทีเรียที่สร้างเมือก สร้างสปอร์ มีปลอกหุ้ม จะทนต่อความร้อนและสารเคมีได้ดี และสปอร์ของเชื้อราจะถูกทำลายได้ง่ายกว่าสปอร์ของแบคทีเรีย

- germicide เป็นสารเคมีที่ทำลายจุลินทรีย์ได้รวดเร็ว แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ได้
- bactericide เป็นสารเคมีที่ทำลายเฉพาะเซลล์ปกติของแบคทีเรีย
- fungicide เป็นสารเคมีที่ทำลายฟังไจ
- amoebicide เป็นสารเคมีที่ทำลายอมีบา
- sporicide เป็นสารเคมีที่ทำลายสปอร์

2. จำนวนของจุลินทรีย์ ถ้าจุลินทรีย์ในระยะเริ่มต้นมีจำนวนมากจะถูกทำลายได้น้อยกว่าจุลินทรีย์ระยะเริ่มต้นที่มีน้อย เพราะจุลินทรีย์จำนวนมากๆ จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ทำให้สารเคมีเข้าทำลายเซลล์ที่อยู่ภายในได้น้อย บางเซลล์อาจเกิดความต้านทานขึ้นได้

3. อายุของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่มีอายุน้อยจะถูกทำลายได้ง่ายกว่าจุลินทรีย์ที่มีอายุมาก

4. เวลา ระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นกับความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ และวิธีในการควบคุม

5. วิธีการที่ใช้ วิธีการที่ใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์นั้นจะทำลายจุลินทรีย์ได้ช้าหรือเร็วแตกต่างกันไป เช่น อุณหภูมิต่ำจะทำลายจุลินทรีย์พวก thermophile ได้ดีกว่า psychrophile

6. สภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ pH ฯลฯ จะมีส่วนสำคัญในการเพิ่มหรือลดประสิทธิภาพในการควบคุมจุลินทรีย์ได้ดี เช่น แบคทีเรียจะถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนในสภาพ pH ที่เป็นกรดได้ดีกว่าสภาพ pH ที่เป็นเบส เป็นต้น

3. วิธีการควบคุมจุลินทรีย์

1. การควบคุมทางกายภาพ

1.1) การใช้ความร้อน

1.1.1) ความร้อนสูง

- ความร้อนชื้น

: การต้ม ในน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 5-10 นาที

: การพาสเจอร์ไรส์ (Pasteurization) ใช้อุณหภูมิ 62.8 องศาเซลเซียส 30 นาที หรือ 71.6 องศาเซลเซียส 15 วินาที

: Tyndallization ใช้อุณหภูมิ 80-100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที รวม 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง

: การใช้ไอน้ำภายใต้ความดัน โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

1.1.2) ความร้อนต่ำ

วิธีนี้สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้เพียง 50-80 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการทำให้ปราศจากเชื้อจึงไม่นิยมใช้กัน แต่จะใช้มากในการถนอมอาหาร

ถ้านำแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ –35 องศาเซลเซียสอย่างรวดเร็ว จะทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งในเซลล์ จึงทำลายแบคทีเรียได้

1.2) การใช้คลื่นเสียง

คลื่นเสียงสามารถใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ได้ ประสิทธิภาพของคลื่นเสียงขึ้นกับความยาวคลื่น การที่คลื่นเสียงทำลายจุลินทรีย์ได้ เกิดจากเสียงทำให้เกิดช่องว่างในของเหลวภายในเซลล์ ช่องว่างจะขยายขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ จนภายในช่องว่างมีความดันมาก ทำให้เซลล์ฉีกขาดในที่สุด

1.3) การกรอง

การกรองเป็นวิธีการแยกจุลินทรีย์ออกจากของเหลวหรืออากาศโดยใช้เครื่องกรอง แผ่นกรองที่มีขนาดของรู 0.2 ไมโครเมตร ใช้ในกรองแบคทีเรีย ขนาด 0.01-0.002 ไมครอน ใช้กรองไวรัส

1.4) รังสี

รังสีที่มีความยาวคลื่นสั้นจะมีพลังงานสูง และมีอำนาจการทะลุทะลวงสูง จึงทำลายจุลินทรีย์ได้ดี รังสีที่ใช้ควบคุมจุลินทรีย์มี 2 ชนิด คือ

1. Ionizing radiation ใช้ฆ่าเชื้อในวัตถุที่ไม่ทนความร้อน เช่น จานเพาะเชื้อพลาสติก รวมทั้งใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในวัตถุที่มีความหนาค่อนข้างมากหรือในอาหารกระป๋อง ได้แก่ รังสีแกมม่า รังสีเอกซ์ แต่ไม่นิยมใช้รังสีเอกซ์ในการควบคุมจุลินทรีย์ เพราะเสียค่าใช้จ่ายสูงและการใช้ค่อนข้างยุ่งยาก แต่ในทางจุลชีววิทยาได้นำรังสีเอกซ์มาใช้ทำให้จุลินทรีย์เกิดการผ่าเหล่าเพื่อศึกษาด้านพันธุศาสตร์

2. รังสีอุลตราไวโอเลต เป็นรังสีที่ใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์กันมาก โดยมีผลต่อโครงสร้างของเซลล์ เช่น DNA RNA โปรตีนและสารอินทรีย์อื่นๆ

2. การควบคุมทางเคมี

2.1) สบู่

สบู่มีคุณสมบัติในการยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ โยเฉพาะมีผลต่อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคปอดบวม โรคหนองใน และโรคซิฟิลิส

2.2) ผงซักฟอก

ผงซักฟอกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสบู่ ผงซักฟอก

ที่มีประจุบวกทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่าผงซักฟอกที่มีประจุลบ โดยทำลายได้ดีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ส่วนผงซักฟอกที่เป็นกลางไม่มีผลต่อจุลินทรีย์

2.3) แอลกอฮอล์

นิยมใช้ ethyl alcohol ฆ่าเชื้อบริเวณผิวหนัง ในทางการแพทย์ใช้ ethanol เข้มข้น 50-70 เปอร์เซ็นต์ในการฆ่าเชื้อ

ทฤษฎีบทที่ 7

โรคและการติดเชื้อ

โรค มาจากคำว่า “Disease” หมายถึงสภาวะที่ไม่ปกติของร่างกาย

การติดเชื้อ

การที่ร่างกายจะเป็นโรคจะต้องได้รับการติดเชื้อเสียก่อน เชื้อจะแพร่เข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง ดังนี้

1. ปาก เชื้อโรคหรือสารพิษของเชื้อโรคจะเข้าไปพร้อมกับอาหารหรือน้ำ
2. จมูก เกิดจากการหายใจเอาอากาศที่มีเชื้อโรคปะปนเข้าไป
3. ผิวหนัง เชื้อโรคจะเข้าสู่ผิวหนังบริเวณที่มีบาดแผลหรือรอยฉีกขาด
4. ระบบสืบพันธุ์ เชื้อโรคจะติดต่อได้ง่ายโดยการร่วมประเวณี
5. รก ในระหว่างการตั้งครรภ์ เชื้อโรคบางชนิดจะถ่ายทอดไปสู่ทารกในครรภ์ได้โดยทางรก
6. การถ่ายเลือด การให้เลือดผู้ป่วยบางครั้ง อาจทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคได้ ถ้าหากเลือดนั้นมีเชื้อโรคหรือสารพิษของเชื้อโรคปนเปื้อนอยู่

การแพร่ระบาดของเชื้อโรค

จุลินทรีย์จะแพร่ระบาดจากบริเวณหนึ่งไปยังอีกบริเวณหนึ่ง โดยอาศัยพาหะดังนี้

1. มนุษย์ เป็นพาหะสำคัญในการแพร่ระบาดของโรค อาจติดไปกับเลือด น้ำลาย หนอง อุจจาระ ปัสสาวะ หรือสิ่งขับถ่ายของร่างกาย เช่นโรคอีสุกอีใส ปอดบวม กามโรค
2. สัตว์ เชื้อโรคจากสัตว์อาจแพร่กระจายมาสู่มนุษย์ด้วยการสัมผัสทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น โรคพิษสุนัขบ้า กามโรค นอกจากนี้แมลงยังเป็นพาหะในการระบาดของโรค เช่น มาเลเรีย ไข้เหลือง อหิวาต์ตกโรค
3. อาหาร อาจมีเชื้อโรคหรือสารพิษปนเปื้อน เช่น โรคบิด อหิวาต์ตกโรค ไทฟอยด์
4. น้ำ เป็นแหล่งสำคัญในการแพร่ระบาดของเชื้อโรค โดยเฉพาะโรคในระบบทางเดินอาหาร เช่น ไทฟอยด์ บิด อหิวาต์ตกโรค
5. อากาศ เชื้อโรคบางชนิดอาจแพร่ระบาดไปกับอากาศ โดยจะต้องทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้นานพอสมควร เช่น ไข้หวัดใหญ่ ปอดบวม วัณโรค

3. ปัจจัยในการทำให้เกิดโรค

ปัจจัยสำคัญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคกับมนุษย์และสัตว์ มีหลายชนิด ดังนี้

1. **สารพิษ** สารพิษจากจุลินทรีย์มีผลในการเนื้อเยื่อโดยตรง หรือกระตุ้นให้เนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงจนเกิดอาการของโรคขึ้น

1) exotoxin เป็นสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้นและขับออกมานอกเซลล์ในขณะยังมีชีวิต

2) endotoxin เป็นสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้นแล้วเก็บไว้ในเซลล์ จะปล่อยออกมาเมื่อเซลล์แตกหรือถูกย่อยสลาย endotoxin เป็นสารพิษที่พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบเท่านั้น

2. เอนไซม์ มีเอนไซม์หลายชนิดที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นเพื่อทำลายเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต ทำให้เกิดโรคขึ้นได้

3. แคปซูล เป็นโครงสร้างที่พบในแบคทีเรียบางชนิด ความสามารถของแบคทีเรียบางชนิดขึ้นอยู่กับการมีหรือไม่มีแคปซูล เช่น แบคทีเรียบางสายพันธุ์ที่สร้างแคปซูลได้จะทำให้เกิดโรค แต่สายพันธุ์ที่ไม่สร้างแคปซูลก็จะไม่ทำให้เกิดโรค

4. Pili เป็นระยางค์ที่พบในแบคทีเรียบางชนิด เช่น แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคหนองใน pili จะช่วยให้เซลล์แบคทีเรียสามารถยึดเกาะกับเซลล์ของเนื้อเยื่อร่างกายได้ดี จึงมีความสามารถในการทำให้เกิดโรคได้

5. ระยะของโรคติดต่อ

เมื่อร่างกายได้รับการติดเชื้อ จะทำให้เกิดโรค และมีการเจริญเปลี่ยนแปลงต่างๆ เกิดขึ้นภายในร่างกาย จำแนกได้ 3 ระยะ ดังนี้

1. ระยะฟักตัว เป็นช่วงเวลาตั้งแต่เชื้อโรคเข้าสู่ร่างกายจนกระทั่งปรากฏอาการของโรค เชื้อโรคจะมีการปรับตัวให้เหมาะสมกับสภาพของร่างกาย เพื่อการเจริญและทวีจำนวนอย่างรวดเร็ว เชื้อโรคแต่ละชนิดจะมีระยะเวลาในการฟักตัวแตกต่างกันไป

2. ระยะติดต่อ เป็นระยะที่ปรากฏอาการของโรค ในร่างกายผู้ป่วยจะมีเชื้อโรคเป็นจำนวนมาก จึงเป็นระยะที่แพร่ระบาดได้

3. ระยะพักฟื้น เป็นระยะที่หายจากการเป็นโรค แต่สามารถเป็นพาหะของโรคได้ดี เนื่องจากยังมีเชื้อโรคอยู่ในร่างกาย โดยทั่วไปร่างกายจะอ่อนแอต่อโรค

6. ชนิดของเชื้อโรค

1. แบคทีเรีย โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย ได้แก่ อหิวาตกโรค กาฬโรค วัณโรค ปอดบวม ซิฟิลิส บาดทะยัก

2. ฟังไจ โรคที่เกิดจากฟังไจ ได้แก่ กลาก เกลื้อน

3. โปรโตซัว โรคที่เกิดจากโปรโตซัว ได้แก่ มาเลเรีย บิด

4. ริคเกตเซีย โรคที่เกิดจากริคเกตเซีย ได้แก่ ไข้รากสาดใหญ่

ไวรัส โรคที่เกิดจากไวรัส ได้แก่ โรคพิษสุนัขบ้า โปลิโอ ไข้หวัดใหญ่ หัดเยอรมัน เอดส์

ทฤษฎีบทที่ 8

ความต้านทานเชื้อและภูมิคุ้มกัน

เมื่อจุลินทรีย์เข้าสู่ร่างกายคนหรือสัตว์ ถือว่าจุลินทรีย์เป็นสิ่งแปลกปลอม เรียกจุลินทรีย์ที่เป็นสิ่งแปลกปลอมว่า แอนติเจน (antigen) หรืออิมมูโนเจน (immunogen) โดยธรรมชาติแล้วร่างกายจะมีการตอบสนองหรือปรับตัว เพื่อต่อต้านสิ่งแปลกปลอมนั้นๆ โดยการสร้างสารแอนติบอดี (antibody) เป็นการสร้างความต้านทานหรือภูมิคุ้มกัน ในการป้องกันของร่างกายต่อสิ่งแปลกปลอมนั้นจะดีหรือไม่ ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม และสภาพความแข็งแรงของร่างกายด้วย

ความต้านทานโรคของร่างกาย แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1) ความต้านทานตามธรรมชาติ เป็นภูมิต้านทานที่มีมาแต่กำเนิด

2) ความต้านทานที่ร่างกายสร้างขึ้น

ความต้านทานตามธรรมชาติ

เป็นความต้านทานที่มีลักษณะเฉพาะตัว และสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ เป็นการป้องกันไม่ให้ร่างกายเกิดสภาพการติดเชื้อ ในมนุษย์มีวิธีการหรือกลไกในการสร้างความต้านทานตามปกติ ดังนี้

1. ผิวหนัง ถ้าผิวหนังเกิดบาดแผล จุลินทรีย์จะเข้าสู่ร่างกายได้ง่าย ปกติผิวหนังจะมีการขับสารบางอย่างออกมา บางชนิดเป็นสารที่แบคทีเรียสามารถเจริญได้ แต่บางชนิดเป็นสารที่ทำลายแบคทีเรียได้เช่นกัน

1. **น้ำตา** มีส่วนช่วยในการป้องกันการติดเชื้อ โดยการชะล้างจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการอักเสบของนัยน์ตาได้ และยังมีเอนไซม์บางชนิดที่สามารถทำลายแบคทีเรียแกรมบวกได้
2. **น้ำลาย** มีเอนไซม์บางชนิดช่วยป้องกันและทำลายแบคทีเรียหลายชนิด จึงช่วยป้องกันการเกิดโรคบางอย่างในช่องปากได้
3. **น้ำมูกและขนจมูก ทำหน้าที่กรองฝุ่นละอองและจุลินทรีย์ต่างๆ**
4. **อวัยวะและเนื้อเยื่อ** ช่วยป้องกันการติดเชื้อโดยการสร้างสารบางอย่างซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญหรือขบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย เช่น ตับจะสร้างสารพวก sterol ซึ่งมีผลต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

5. **ความเป็นกรด-เบส** การป้องกันการติดเชื้อขึ้นอยู่กับสภาพความเป็นกรด-เบสของร่างกาย เช่น ในกระเพาะอาหารที่มีกรดไฮโดรคลอริกที่มี pH ประมาณ 1-3 จะสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ติดมากับอาหารและน้ำได้
6. **phagocytosis** เป็นกลไกการป้องกันเชื้อโรค ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดขาว ซึ่งจะสามารถโอบล้อมอนุภาคของจุลินทรีย์ และปล่อยเอนไซม์เข้าทำลายจุลินทรีย์ได้

ปัจจัยที่มีผลต่อความต้านทานชาติพันธุ์ของมนุษย์

1. **ชาติพันธุ์** ความต้านทานโรคของมนุษย์จะมีความแตกต่างกันตามชาติพันธุ์ อาจเนื่องจากบรรพบุรุษเคยเป็นโรคนี้มาก่อน และสามารถถ่ายทอดความต้านทานไปสู่รุ่นต่างๆ ได้
2. **อายุ** การเกิดโรคบางชนิดขึ้นกับอายุของมนุษย์ โดยปกติความต้านทานโรคจะเพิ่มมากขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น มีโรคหลายชนิดเกิดกับคนในวัยเด็ก เนื่องจากมีความต้านทานต่อโรคน้อย
3. **เพศ** มีส่วนเกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค เนื่องจากอิทธิพลของฮอร์โมนเพศที่ต่างกัน
4. **อาหาร** ถ้าได้รับสารอาหารต่างกันจะทำให้เกิดความต้านทานโรคต่างกัน คนที่เป็นโรคขาดสารอาหาร จะทำให้เกิดการติดเชื้อได้ง่าย
5. **อาชีพ** การประกอบอาชีพที่ต้องเกี่ยวข้องกับเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ จะมีโอกาสติดเชื้อโรคได้มากกว่า

ความต้านทานที่ร่างกายสร้างขึ้น หรือภูมิคุ้มกัน (Immunity)

เป็นภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นเนื่องจากร่างกายสร้างสาร antibody มาต่อต้านสิ่งแปลกปลอมนั้นๆ ได้แก่

- ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นหลังจากหายป่วย เช่น โรคหวัด อหิวาตกโรค หัด
- ภูมิคุ้มกันที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังจากได้รับ immunogen เข้าไปในร่างกาย เช่น การฉีดวัคซีน
- ภูมิคุ้มกันที่ได้รับการถ่ายทอดจากแม่ไปลูก ผ่านทางน้ำนมในระยะทารก
- ภูมิต้านทานที่ร่างกายได้รับ antibody เพื่อต่อต้าน immunogen ต่างๆ เช่น การฉีดเซรุ่มป้องกันพิษงู

หมายเหตุ

Antigen หรือ Immunogen หมายถึง สิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย เช่น เชื้อจุลินทรีย์

Immunity หมายถึง ความต้านทานโรค หรือภูมิคุ้มกัน

Antibody หรือ Immunoglobutin หมายถึง สารประกอบโปรตีนที่ร่างกายสร้างขึ้นมา **เมื่อมีสิ่งแปลกปลอม (Immunogen หรือ Antigen) เข้าสู่ร่างกาย เพื่อเป็นการป้องกันอันตรายของร่างกาย**

การสร้างภูมิต้านทานของร่างกาย

ร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีการสร้างภูมิคุ้มกันหลังจากได้รับ Immunogen โดยจะมีกลุ่มเซลล์ที่มีหน้าที่สร้างภูมิคุ้มกันดังกล่าว กลุ่มเซลล์เหล่านี้เป็นกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาว (Lymphocytes) ซึ่งมีอยู่ 2 ชนิด คือ

1. **กลุ่มเซลล์ที่อยู่ในต่อมน้ำเหลือง**
2. **กลุ่มเซลล์ที่สร้างจากต่อมไทมัส**

Interferon

เป็นสารโปรตีนที่พบจากเซลล์ของสัตว์ที่ติดเชื้อไวรัส แต่สัตว์นั้นไม่เกิดโรค ต่อมาพบว่า Interferon เป็นสารที่พบในเนื้อเยื่อสัตว์ มีคุณสมบัติในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส และสามารถยับยั้งการเจริญของไวรัสได้หลายชนิด

โรคภูมิแพ้

เป็นสภาวะที่ผิดปกติของร่างกายแต่ละบุคคล ที่มีปฏิกริยาต่อต้านสาร immunogen ปกติร่างกายจะแสดงอาการของโรคภูมิแพ้เมื่อได้รับ immunogen ชนิดเดียวกันหลายครั้ง เมื่อ immunogen เข้าสู่ร่างกายแล้วจะแพร่ไปตามกระแสโลหิต โดยธรรมชาติร่างกายจะกำจัด immunogen นี้โดยขบวนการ phacgocytosis และต่อมาจะมีการสร้าง immunoglobulin เพื่อทำลาย immunogen ให้หมดไป

ชนิดของสารก่อภูมิแพ้

1. อาหารและผลไม้บางชนิด โดยเฉพาะอาหารทะเล เช่น หอย กุ้ง แมงดาทะเล เป็นต้น อาหารทั่วไป เช่น เนื้อหมู ไก่ เห็ด ฯลฯ สำหรับผักและผลไม้ เช่น แตงกวา มันฝรั่ง ผักโขม ฯลฯ สิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดอาการภูมิแพ้ในแต่ละคนได้
2. ละอองเกสรดอกไม้ เช่น ละอองเกสรของหญ้าแพรก ผักโขม อ้อย ข้าวโพด ทานตะวัน ฯลฯ
3. เชื้อรา เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอาการภูมิแพ้ได้มาก เช่น Alternaria sp.
4. ขนสัตว์ ทำให้เกิดอาการแพ้ได้ เช่น ขนแมว ขนสุนัข เป็นต้น

5. แมลง สารพิษ และสิ่งขับถ่ายจากแมลง ทำให้เกิดอาการแพ้ได้อย่างรุนแรง เช่น แมลงสาบ ชีปะขาว ต่อ แตน

2) .....

ทฤษฎีบทที่ 9

การใช้ประโยชน์จุลินทรีย์ในด้านต่างๆ

ความสำคัญของจุลินทรีย์

1. ด้านการเกษตร

ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ในดิน มีประโยชน์คือ ช่วยย่อยซากพืช ซากสัตว์ ให้เน่าเปื่อยผุพัง กลายเป็นอาหารของจุลินทรีย์ ดังนั้นทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์จึงต้องพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน จุลินทรีย์ในดินที่ให้โทษ ได้แก่ แบคทีเรีย รา สาหร่าย สัตว์เซลล์เดียว และไวรัส ทำให้เกิดโรคกับคนและสัตว์ นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังเกี่ยวข้องกับการหมุนเวียนเปลี่ยนแปลงของสารในดิน ได้แก่ วัฏจักรไนโตรเจน วัฏจักรคาร์บอน ฯลฯ ดังนั้นจุลินทรีย์ในดินจึงมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมสภาพแวดล้อม ดังนี้

1) เกี่ยวข้องกับวัฏจักรไนโตรเจน

2) เกี่ยวข้องกับวัฏจักรคาร์บอน

3) ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยไม่เป็นอันตรายต่อคน สัตว์มีกระดูกสันหลัง และสิ่งแวดล้อม ได้แก่ Bacillus thruringiensis และ B. popilliae

4) การทำปุ๋ยหมัก โดยการนำเศษพืชจากไร่นามากองผสมกับปุ๋ยคอก ให้ความชื้นและหมั่นกลับกอง เพื่อให้เชื้อราและแบคทีเรียช่วยย่อยสลายเศษซากพืชนี้ให้อยู่ในสภาพที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ส่วนปุ๋ยหมักที่ได้จากสัตว์ เช่น เลือดหมัก ปลาหมัก ส่วนใหญ่การย่อยสลายเกิดจากจุลินทรีย์พวกแบคทีเรีย และปุ๋ยหมักที่ได้จะมีคุณค่าทางอาหารสูงกว่าปุ๋ยหมักที่ได้จากพืช

5) การทำพืชหมักอาหารสัตว์ (Silage) เพื่อแก้ปัญหาการขาดแคลนหญ้าสดในฤดูแล้ง โดยนำพืชสดมากองเป็นชั้นๆ แล้วอัดให้แน่นเพื่อไม่ให้เกิดการเน่าสลายเร็ว บางครั้งอาจมีการปรุงแต่งสารอาหารบางชนิด เช่น กากน้ำตาล เพื่อให้จุลินทรีย์ใช้เป็นพลังงานในขบวนการหมัก ทำให้พืชหมักอาหารสัตว์มีกลิ่นหอม รสชาติดีขึ้น ทำให้สัตว์ชอบกิน

2. ด้านอุตสาหกรรม

จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมที่สำคัญ ได้แก่ แบคทีเรีย รา ยีสต์ และสาหร่าย

1) ใช้จุลินทรีย์เป็นอาหาร

- สาหร่าย ได้แก่ สาหร่ายแดงที่เรียกว่า จีฉ่าย เทาน้ำ สาหร่ายหลายชนิดนอกจากให้โปรตีนสูงแล้วยังให้ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เกลือแร่ และวิตามินอีกด้วย
- ฟังไจ ได้แก่ เห็ด และยีสต์ สำหรับยีสต์นิยมใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนในสัตว์เลี้ยง และใช้บริโภค นอกจากนี้ยังนำไปผสมเป็นอาหารเสริมโปรตีนในอาหารหลายๆ ชนิด เช่น ซุป ซอส สลัด น้ำสลัด ผลไม้กวน เป็นต้น
- แบคทีเรีย นำมาใช้เป็นอาหารน้อยกว่าฟังไจและสาหร่าย สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนได้เช่นกัน

2) การผลิตกรดอะมิโน

จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนได้จากอาหารต่างๆ ได้มากเกินความต้องการ จึงขับกรดอะมิโนออกมาปะปนกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสามารถนำไปแยกให้เป็นกรดอะมิโนบริสุทธิ์นำมาใช้ประโยชน์ได้ กกรดอะมิโนที่ได้ที่สำคัญ คือ L-Lysine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของมนุษย์ นำไปใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับคนที่ขาดโปรตีน และ L-Glutamic acid ซึ่งนำไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตผงชูรส

3) การผลิตเอนไซม์

ราและแบคทีเรียจะสร้างเอนไซม์เป็นจำนวนมากออกมาย่อยอาหาร จึงมีเอนไซม์เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อมากมาย สามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป เอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์มีดังนี้ คือ amylase, maltase, invertase , oxidase, pectinase ฯลฯ

4) การผลิตแอลกอฮอล์

- butanol ผลิตโดย Clostridium felsinum , Cl. Acetobutylicum และ Cl. amylosaccharobutylpropylicum นำไปใช้ในอุตสาหกรรมยางสังเคราะห์ สี และพลาสติก
- ethanol หรือเอธิลแอลกอฮอล์ ผลิตโดย Saccaromyces cerevisiae และ *S. carlbergensis* นำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มที่เป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย เช่น เบียร์ ไวน์ หรือนำเอธิลแอลกอฮอล์มากลั่นให้บริสุทธิ์ทำเป็นวิสกี้

S. cerevisiae หรือ S. carlbergensis ใช้ผลิตเบียร์

S. cerevisiae ใช้ผลิตวิสกี้

S. ellipsoideus ใช้ผลิตไวน์

5) การผลิตน้ำส้มสายชู

เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี 2 ระยะ ระยะแรกเป็นการหมักน้ำตาลให้เป็นเอธิลแอลกอฮอล์โดยยีสต์ ระยะที่สองเป็นการเปลี่ยนเอธิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกหรือน้ำส้มสายชูโดยแบคทีเรียในสกุล Acetobacter ความเข้มข้นของกรดอะซีติกที่ได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอธิลแอลกอออล์ โดยทั่วไปเอธิลแอลกอฮอล์ที่ใช้จะมีความเข้มข้นประมาณ 10-13 %

6) การผลิตกรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์จากการผลิตของจุลินทรีย์ที่นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า และอุตสาหกรรมต่างๆ มีดังนี้

lactic acid ผลิตโดยเชื้อรา *Rhizopus oryzae*

gluconic acid ผลิตโดยแบคทีเรีย *Gluconobacter , Acetobacter*

citric acid ผลิตโดย *Aspergillus niger , A. clavatus*

itaconic acid ผลิตโดย *Aspergillus terreus* และ *A. itaconicus*

นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมการผลิตขนมปังโดยใช้ยีสต์ การผลิตฮอร์โมน โดยใช้เชื้อรา *Gibberelin*

3. ด้านการแพทย์

1) การผลิตวัคซีน ทอกซอยด์ และเซรุ่ม

- polio vaccine ใช้ป้องกันโปลิโอ
- small pox vaccine ใช้ป้องกันไข้ทรพิษ
- rabies vaccine ใช้ป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า

2) การผลิตยาปฏิชีวนะ

ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ ได้แก่ penicillin ผลิตจากเชื้อรา *Penicillin notatum , p. chrysogenum*

3) การผลิตสตีรอยด์

สตีรอยด์เป็นสารเคมีที่มีความสำคัญต่อร่างกาย นำไปใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆ เช่น โรคข้ออักเสบ โรคปวดตามข้อและกล้ามเนื้อ โรคเม็ดเลือดขาวมาก จุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์สตีรอยด์ได้ เช่น *Clostridium , Streptomyces , Rhizopus , Aspergillus*

4) การผลิตวิตามิน

เชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดสามารถใช้ในการผลิตวิตามินบีสอง

4. ด้านสิ่งแวดล้อม

จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางด้านสิ่งแวดล้อม เช่น จุลินทรีย์ที่ใช้ในการกำจัดน้ำเน่าเสีย โดยใช้แบคทีเรียซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดในน้ำทิ้ง การกำจัดน้ำเสียโดยใช้จุลินทรีย์มีหลักการดังนี้ คือ นำน้ำมาเพิ่มปริมาณออกซิเจนโดยการกวน ทำให้แบคทีเรียในน้ำเสียสามารถย่อยอินทรีย์สารได้มากยิ่งขึ้น จนกระทั่งสารอินทรีย์ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงต่อไปได้ ก็จะรวมตัวกันตกตะกอน ซึ่งกำจัดทิ้งได้ง่าย น้ำที่เหลือบางส่วนจะปล่อยลงสู่แม่น้ำลำคลอง บางส่วนจะนำกลับคืนมาสู่ถังกวนอีกครั้ง เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่จะย่อยสารอินทรีย์ใหม่

นอกจากนี้มีสาหร่ายบางชนิด เช่น *Nostoc muscorum* , *Nostoc paludosum* สามารถดึงไนโตรเจนและดึงสารประกอบพวกปูนออกจากน้ำ เป็นการช่วยลดความกระด้างของน้ำ ทำให้พืชเจริญได้ดี เมื่อสาหร่ายตายก็จะกลายเป็นปุ๋ยทำให้ดินสามารถอุ้มน้ำได้ดีขึ้น และช่วยป้องกันการกัดเซาะของผิวดินอีกด้วย

จุลินทรีย์บางชนิดอยู่ร่วมกันแบบยับยั้งกัน (Antagonism) เช่น การเจริญของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* มีผลต่อต้านการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus terreus* โดยแบคทีเรียสร้างสารยับยั้งการเจริญของสปอร์เชื้อรา

เอกสารอ้างอิง

คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา. 2527. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุลชีววิทยาปฏิบัติการ. 2536. ภาควิชาจุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2520. เทคนิคบางประการทางจุลชีววิทยา. ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2525. จุลชีววิทยาทั่วไป. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2536. จุลชีววิทยา. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

อโณทัย คมเศวต. 2535. จุลชีววิทยา. สถาบันเทคโนโลยีการเกษตร แม่โจ้.