บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ศึกษาปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ในอากาศ โดยเลือกเก็บกลุ่มตัวอย่างจุลินทรีย์ในอากาศ จากห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ จำนวน 6 ห้อง ประกอบด้วย ห้องปฏิบัติการชีวเคมี ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ห้องปฏิบัติการเคมี ห้องปฏิบัติการฟิสิกส์ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร และห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์

3.2 เครื่องมือที่ใช้รวบรวมข้อมูล

เก็บตัวอย่างโดยใช้หลักการ settle plate จากการศึกษาของ Fisher และคณะ (1970) ได้เสนอวิธีมาตรฐานของ settle plate ไว้ดังนี้

3.2.1 ใช้จานอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

3.2.2 โดยเปิดจานอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 1 ชั่วโมงวางจานอาหารเลี้ยงเชื้อบนโต๊ะที่สูงจากพื้นประมาณ 1 เมตร ห่างจากผนังห้องหรือสิ่งกีดขวางอย่างน้อย 1 เมตร

3.2.3 นำมาบ่มเพาะเชื้อที่ 36±1 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.2.4 นับจำนวนโคโลนีโดยอ้างอิงตามดัชนีการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในอากาศ (The index of microbial air contamination, IMA)

PAYAP UNIVERSITY

ดัชนีการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในอากาศ (The index of microbial air contamination, IMA) (Pasquarella, et al, 2000) แบ่งเป็น 5 กลุ่มคือ

1. IMA 0-5 หมายถึง ดีมาก (Very good)
2. IMA 6-25 หมายถึง ดี (Good)
3. IMA 26-50 หมายถึง ปานกลาง (Fair)
4. IMA 51-75 หมายถึง แย่ (Poor)
5. IMA $\geq$ 76 หมายถึง แย่มาก (Very poor)

นอกจากนี้ยังมีการปรับ IMA เป็นโคโลนีของเชื้อต่อตารางเดซิเมตร (CFU/dm^2) อีกด้วยดังแสดงในตารางที่ 3.1

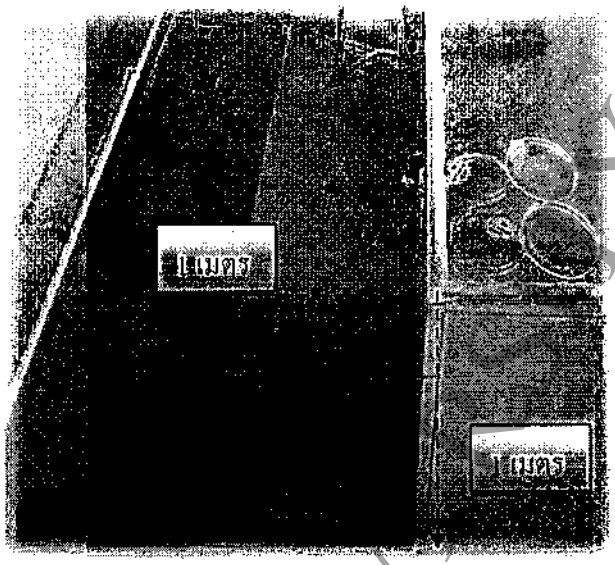
ตารางที่ 3.1 ระดับดัชนีการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในอากาศ

ค่า IMA	CFU/dm^2/h	ระดับเกณฑ์
0-5	0-9	ดีมาก
6-25	10-39	ดี
26-50	40-84	ปานกลาง
51-75	85-124	แย่
$\geq$ 76	$\geq$ 125	แย่มาก

3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล

เปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ทิ้งไว้ ณ จุดที่กำหนดของแต่ละห้องที่ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง ห้องละ 2 จุด แต่ละจุดใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด สูงจากพื้นประมาณ 1 เมตร ห่างจากผนังหรือสิ่งกีดขวาง 1 เมตร ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงจึงปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ตามแผนผังในภาพภาคผนวก ก) ทั้งนี้จะเก็บตัวอย่างทุกวันจันทร์ถึงศุกร์ ช่วงเวลา 9.00 - 10.00 น. และช่วงเวลา 13.00 – 14.00 น. เป็นเวลา 1 เดือน (4 สัปดาห์) ระหว่างปลายเดือนมกราคมถึงกลางเดือนกุมภาพันธ์

PAYAP UNIVERSITY



ภาพที่ 3.1 การวางจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ในอากาศในแต่ละห้องปฏิบัติการ

3.4 การวิเคราะห์และจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์

3.4.1 การวิเคราะห์และจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย

ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone soya agar (TSA) สำหรับเก็บตัวอย่างห้องละ 2 จุด จุดละ 1 plate เมื่อเปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเก็บตัวอย่างเชื้อจากอากาศครบกำหนดเวลา 1 ชั่วโมงแล้ว จึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด คำนวณจำนวนโคโลนีเป็นหน่วย CFU/plate/h และสุ่มเลือกโคโลนีแบคทีเรียที่สงสัยมาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้ง แล้วตรวจจำแนกหาชนิดของแบคทีเรีย (แสดงแผนผังในภาพภาคผนวก ข) ซึ่งได้แก่ *Staphylococcus aureus*, แบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง และ *Bacillus* sp. คิดเป็นร้อยละการตรวจพบสำหรับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

3.4.2 การวิเคราะห์และจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา

ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar สำหรับเก็บตัวอย่างห้องละ 2 จุด จุดละ 1 plate เมื่อเปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเก็บตัวอย่างเชื้อจากอากาศครบกำหนดเวลา 1 ชั่วโมงแล้ว จึง

PAYAP UNIVERSITY

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นตรวจนับจำนวนเชื้อราทั้งหมดคำนวณจำนวนโคโลนีเป็นหน่วย CFU/plate/h และสุ่มเลือกโคโลนีเชื้อราที่สงสัยมาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งแล้วตรวจจำแนกหาชนิดของเชื้อราซึ่งได้แก่ *Aspergillus* sp., *Curvularia* sp. และ *Penicillium* sp. คิดเป็นร้อยละการตรวจพบสำหรับเชื้อราก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

วางแผนวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้สถิติแบบ Non-Parametric ได้แก่ Kruskal-Wallis test ใช้ทดสอบความแตกต่างระหว่างปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในอากาศทั้ง 6 ห้อง แบ่งเป็นทดสอบความแตกต่างระหว่างปริมาณแบคทีเรียที่พบในอากาศทั้ง 6 ห้อง และทดสอบความแตกต่างระหว่างปริมาณเชื้อราที่พบในอากาศทั้ง 6 ห้อง และใช้ Mann–Whitney test ทดสอบความแตกต่างระหว่างปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในอากาศในแต่ละช่วงเวลาคือ ช่วงเช้าและช่วงบ่าย แบ่งเป็น ทดสอบความแตกต่างระหว่างปริมาณแบคทีเรียที่พบในอากาศในแต่ละช่วงเวลาของแต่ละห้อง และทดสอบความแตกต่างระหว่างปริมาณเชื้อราที่พบในอากาศในแต่ละช่วงเวลาของแต่ละห้อง โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติในการวิเคราะห์ข้อมูล

PAYAP UNIVERSITY