การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำลายแบคทีเรียด้วยความร้อนสูงจากแผ่นเซรามิคกับตะเกียงบุนเซนในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

Comparison of Efficacy Bacterial Sterilization between Electronic Ceramic Heater and Bunsen Burner for Medical Laboratory

เฉลิมพล แก้วใจ* และสวรรยา พงศ์ปริตร

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

ธวัช แก้วกัณฑ์

คณะวิศวกรรมชีวการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

Chalermpon Kaewjai* and Sawanya Pongpalit

Faculty of Medical Technology, Rangsit University, Lak hok, Muang, Pathum Thani 12000

Thawat Kaewgun

Faculty of Biomedical Engineering, Rangsit University, Lak hok, Muang, Pathum Thani 12000

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรียด้วยความร้อนสูงจากแผ่นเซรามิคกับเปลวไฟตะเกียงบุนเซน โดยหลักการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนโดยตรง ในการทดลองนี้ได้นำแบคทีเรียมาทดสอบ กลุ่มแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa, Salmonella* Typhimurium, *Enterococcus faecalis, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ คือ *Geobacillus stearothermophilus* โดยเพาะเชื้อใน nutrient medium นาน 24 ชั่วโมง นำมาทดสอบเขี่ยเชื้อจากโคโลนีและทดสอบวัดความขุ่น โดยใช้เชื้อที่เจือจางปรับความขุ่นที่เหมาะสม พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแบคทีเรียหลังจากถูกทำลายด้วยความร้อนโดยวิธี standard loop inoculation ไม่พบจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย โดยกำหนดเวลาทดสอบที่อุณหภูมิต่าง ๆ แบคทีเรียจะถูกฆ่าตายอย่างสมบูรณ์ในเวลาต่าง ๆ ที่กำหนด เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่อง จากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 135 °C สามารถฆ่าแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม ได้ทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ ถ้าทดสอบด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55 °C เวลา 5 นาที พบว่าเชื้อรอดชีวิต ร้อยละ75 เทียบกับแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์จะถูกฆ่าด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55 °C เวลา 5 นาทีอย่างสมบูรณ์ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ พบว่าอุณหภูมิที่มีประสิทธิภาพในการลดลงของจำนวนแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ด้วยความร้อนอย่างน้อยที่อุณหภูมิ 55 °C ยกเว้นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ ผลที่ได้

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** chalermpon.k@rsu.ac.th

จากการทดลองนี้ คือ เครื่องมือทั้งสองสามารถลดจำนวนของแบคทีเรียได้ โดยเครื่องที่พัฒนาจากแผ่นเซรามิคมีประสิทธิภาพและความปลอดภัย สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ได้

คำสำคัญ : *Geobacillus stearothermophilus*; เครื่องเซรามิคความร้อนสูง; ตะเกียงบุนเซน; สเตอริไลเซชันด้วยความร้อน

Abstract

This study was to determine the efficacy bacterial sterilization between ceramic heater and Bunsen burner. For this research was used the direct heat sterilization. Livable non-spore forming bacteria are *Pseudomonas aeruginosa, Salmonella* Typhimurium*, Enterococcus faecalis, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* and spore forming bacteria such as *Geobacillus stearothermophilus* were included and cultured in Nutrient medium for 24 hours. Direct colony inoculation were tested and measured for optimum turbidity. Compared with non-spore forming bacteria and spore forming bacteria were completely reduced by direct heat condition. Percentages of viable bacteria after heat exposure were measured on colony counting plate method. Timing set were recorded with different heating temperatures. All bacteria were completely killed at average temperature of 135 °C. Comparing viability of non-spore forming bacteria were completely killed at 55 °C for 5 mins and spore forming bacteria, only *Geobacillus stearothermophilus* was showed 75 percent of viability, respectively. This result is presented the efficiency of heater device were reduced viability with optimum heat temperature for spore and non-spore forming bacteria. The ceramic heater is safety and can be used in medical laboratory.

Keywords: *Geobacillus stearothermophilus*; ceramic heater; Bunsen burner; heat sterilization

1. บทนำ

อุปกรณ์สำหรับการทำลายแบคทีเรียทางการแพทย์ที่มีในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ มีหลักการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนสูง เช่น การใช้ก๊าซเปลวไฟ การนึ่งความดันสูง จากความร้อนขดลวดไฟฟ้าแผ่นเซรามิค หลักการฆ่าเชื้อโดยสัมผัสความร้อนโดยตรง [1-3] จึงมีการนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไป และนำความรู้มาประยุกต์กับงานทางด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์ เพื่อการหาอุปกรณ์ทางการแพทย์มาใช้ประโยชน์และช่วยลดการใช้ก๊าซให้น้อยลง รักษาสิ่งแวดล้อม ลดมลภาวะในห้องปฏิบัติการ ซึ่งการเปรียบเทียบด้านความปลอดภัยในการใช้อุปกรณ์ โดยพัฒนาออกแบบการทดลองทางวิทยาศาสตร์และผลิตอุปกรณ์นวัตกรรมทางการแพทย์ สามารถนำอุปกรณ์มาใช้ในการเรียนการสอนในวิชาจุลชีววิทยา เพื่อฆ่าเชื้อจุลชีพได้ โดยใช้ความร้อนในรูปแบบเชิงเปรียบเทียบการฆ่าเชื้อโดยผ่านขดลวดไฟฟ้าความร้อนสูงของแผ่นเซรามิคและการใช้เปลวไฟโดยตรง ซึ่งวิธีเบื้องต้นที่แบคทีเรียชนิดที่สร้างสปอร์ เป็นตัวชี้วัดความสามารถ biological indicator ในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

[4,5] และนำมาเปรียบเทียบความสามารถในการทำฆ่าเชื้อจุลชีพจำนวนความเข้มข้นต่าง ๆ กับความร้อนที่ผลิตได้จากอุปกรณ์ให้ความร้อนจากแผ่นเซรามิคที่ได้รับการออกแบบว่ามีประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้งานในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ และทำให้กระบวนการทางห้องปฏิบัติการมีทางเลือกในการออกแบบเบื้องต้นให้เหมาะสมกับสถานการณ์ปัจจุบัน ไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม เก็บรักษาอย่างปลอดภัยในห้องปฏิบัติการได้

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรียด้วยความร้อนสูงจากเซรามิคที่ออกแบบและตะเกียงบุนเซน

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ขั้นตอนการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองเพื่อทดสอบประสิทธิภาพและเปรียบเทียบความสามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียด้วยเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ โดยใช้หลักการความร้อนของตะเกียงบุนเซนเปรียบเทียบกับขดลวดไฟฟ้าความร้อนสูงประกอบแผ่นเซรามิค ประกอบในเครื่อง RSU incinerator version II ที่ออกแบบและนำมาทดสอบกับแบคทีเรียทางการแพทย์ในห้องปฏิบัติการ

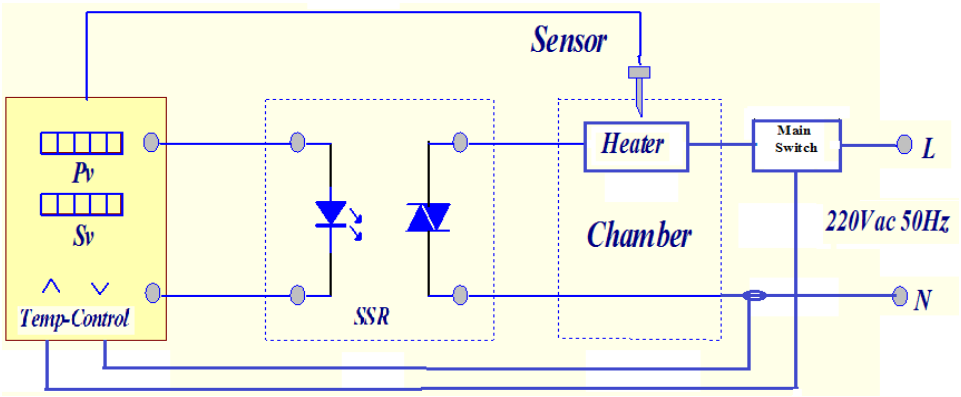
3.2 การออกแบบอุปกรณ์ผลิตความร้อนเพื่อนำมาใช้ในการทดลอง

3.2.1 สมบัติทางกายภาพ โดยใช้เซรามิคทรงกระบอกกลวง มีขดลวดผลิตความร้อนขนาด 700 วัตต์อยู่ภายในเซรามิคทรงกระบอกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 นิ้วและมีความสูงเท่ากับ 4.5 นิ้วและมีฉนวนกันความร้อนโดยรอบ ติดตั้งอยู่ภายในตัวเครื่องที่ทำจากสแตนเลส มีความสูง 7.5 นิ้ว กว้าง 9 นิ้ว ยาว 7 นิ้ว สามารถเคลื่อนย้ายได้ง่าย น้ำหนักรวม 1.5 กิโลกรัม

3.2.2 สมบัติของเซรามิค heater อุปกรณ์นี้มีส่วนประกอบแผ่นเซรามิคที่ทนความร้อน ใช้กับไฟฟ้ากระแสสลับ 220-240 volts 50 Hz ต่อเข้ากับวงจรไฟฟ้าที่มีความปลอดภัยโดยมีการออกแบบให้สะดวกต่อผู้ใช้งาน มีสวิทช์ในการปิดและเปิดเครื่อง

3.2.3 ชุดอุปกรณ์ระบบควบคุมอุณหภูมิและวงจรไฟฟ้า ชุดอุปกรณ์ผลิตความร้อนในโครงการนี้ได้เลือกใช้ระบบควบคุมอุณหภูมิกึ่งอัตโนมัติในการโปรแกรมระบบใช้สามารถปรับตั้งอุณหภูมิได้ โดยการกำหนดช่วงการควบคุมอุณหภูมิตั้งแต่ 0 ถึง 350 °C การส่งสัญญาณการควบคุมจากระบบอุณหภูมิกึ่งอัตโนมัติผ่าน solid-state relay (SSR) เพื่อควบคุมการจ่ายพลังงานให้กับ heater การออกแบบตัวเครื่องและการประกอบติดตั้งวงจรไฟฟ้าและระบบควบคุมอุณหภูมิ สามารถเขียนเป็นภาพการต่อวงจรไฟฟ้าและระบบควบคุมอุณหภูมิแสดงดังรูปที่ 1 และเครื่องอุปกรณ์ผลิตความร้อนเพื่อนำมาใช้ในการทดลองที่เสร็จสมบูรณ์แสดงดังรูปที่ 2

รูปที่ 2 โครงสร้างของอุปกรณ์ทางการแพทย์ที่ได้รับการออกแบบ RSU incinerator version II



รูปที่ 1 แผ่นภาพแสดงจำลองอุปกรณ์ภายใน

3.2.4 การเตรียมตัวเชื้อมาตรฐานที่นำมาทดสอบ โดยนำแบคทีเรียทางการแพทย์ที่คัดเลือกจากกลุ่มเชื้อก่อโรคที่มีความแตกต่างของชนิดแกรมบวกและแกรมลบ รวม 6 ตัวอย่าง และชนิดที่สร้างสปอร์อีก 1 ตัวอย่าง รวม 7 ตัวอย่าง ได้แก่ (1) *Escherichia coli* ATCC 25922 (2) *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 (3) *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 (4) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (5) *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (6) *Staphylococcus aureus* DMST 8041 และ (7) *Geobacillus sterothermophilus* DMST 4738) โดยเพาะเลี้ยงใน nutrient broth แล้วบ่ม (incubate) ที่ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยง *Geobacillus sterothermophilus* ใน nutrient broth แล้วบ่มที่ 55 °C ตาม ลำดับ นาน 24 ชั่วโมง นำมาวัดความขุ่น (turbidity) แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (wavelength) 540 nm เทียบกับความเข้มข้นของ McFarland standard โดยความเข้มข้นที่ต้องการคือ McFarland No. 0.5

3.2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของการทำลายเชื้อ โดยใช้ 1 µl standard loop สำหรับ positive control, negative control และ control loop มาทดสอบ นำ control loop จุ่มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth ที่ปรับความเข้มข้นเชื้อ นำ control loop ที่มีเชื้อและที่ไม่มีเชื้อมา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar นำไป incubate นาน 24 ชั่วโมง ในการทดสอบประสิทธิภาพ นำcontrol loop ทดสอบจุ่มในอาหารที่มีเชื้อ นำมาทดสอบการเผาฆ่าเชื้อโดยแยกแต่ละ loop ผ่านความร้อนที่เวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 วินาที ตามลำดับ จากนั้นนำแต่ละ control loop มา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar แล้วนำไป incubate นาน 24 ชั่วโมง บันทึกผลของเชื้อแต่ละชนิด นับจำนวน colony ของแต่ละเวลาที่ผ่าน heater แล้วบันทึกผลลงในตาราง โดยบันทึกร้อยละการรอดชีวิตของเชื้อและนำจำนวนเชื้อที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ ในการคำนวณการรอดชีวิตของเชื้อ (viability rate) โดยเปรียบเทียบหาค่าประสิทธิภาพการทำลายแบคทีเรียและข้อมูลที่ได้จากรายงานเป็นรูปร้อยละ

4. ผลการวิจัย

4.1 ผลการเปรียบเทียบ

การเปรียบเทียบความสามารถในการฆ่าแบคทีเรียโดยเครื่องผลิตความร้อนสูงจากแผ่นเซรามิค

จากเครื่อง RSU incinerator v. II ตะเกียงบุนเซน และเครื่อง BactiCinerator® III ที่ความร้อนช่วงการทำงานทั่วไปที่มีอุณหภูมิที่แน่นอนของเครื่อง พบว่าการทดสอบใช้งานโดยตรงจากเครื่องทั้งสาม สามารถฆ่าเชื้อได้ดี โดยใช้ตัวเชื้อที่ศึกษาในครั้งนี้ มีเชื้อทั้งหมด 7 ตัวเชื้อ พบว่าการทดสอบการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง BactiCinerator® III เครื่อง RSU incinerator v. II และตะเกียงบุนเซน จากทั้ง 3 เครื่อง งให้ผลการทดลองสามารถทำลายการเจริญของเชื้อข้างต้นทั้งหมดได้ ดังตารางที่ 1

เมื่อทดสอบด้วยเครื่อง water bath ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในช่วงที่กำหนด คือ 55, 65, 75, 85, และ 95 °C สำหรับเชื้อที่ไม่มีสปอร์และมีสปอร์ การทดสอบให้ผลการทดสอบเชื้อชนิดต่าง ๆ และสามารถเปรียบเทียบที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้

ตารางที่ 1 การทดสอบแบคทีเรียโดยวิธี loop test ด้วยตะเกียงบุนเซน BactiCinerator® III และเครื่อง RSU incinerator v. II ความเข้มข้นที่ 0.5 McFarland

เชื้อ	OD (540 nm)	Control (CFU/ml)	จำนวนแบคทีเรียหลังการทดสอบ (วินาที)					
			5	10	15	20	25	30
E. coli	0.10	>300	0	0	0	0	0	0
E. feacalis	0.08	>300	0	0	0	0	0	0
E. aerogenes	0.10	>300	0	0	0	0	0	0
S. aureus	0.10	>300	0	0	0	0	0	0
S. Typhimurium	0.10	>300	0	0	0	0	0	0
P. aeruginosa	0.10	>300	0	0	0	0	0	0
G. stearothermophilus	0.09	>300	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 2 การทดสอบแบคทีเรีย *Geobacillus stearothermophilus* ด้วยเครื่อง water bath โดยวิธี loop test ที่เวลาต่าง ๆ กำหนด turbidity OD 0.05 อุณหภูมิ 65-95 °C

อุณหภูมิ (°C)	Control (CFU/ml)	จำนวนแบคทีเรียหลังการทดสอบ (วินาที)				
		1	2	3	4	5
65	253	208	198	156	105	96
70	253	195	15	8	5	2
85	253	3	1	0	0	0
95	253	0	0	0	0	0

ตารางการทดสอบการฆ่าเชื้อด้วย water bath นี้ พบว่าประสิทธิภาพในการฆ่าแบคทีเรีย โดยมีจำนวนเชื้อที่รอดเหลืออยู่ ร้อยละ 0.7 สำหรับ *P. aeruginosa* ร้อยละ 12 สำหรับ *S.* Typhimurium ร้อยละ 9 สำหรับ *E. faecalis* ร้อยละ 0 สำหรับ *E. aerogenes* ร้อยละ 1 สำหรับ *E. coli* ร้อยละ 20 สำหรับ *S. aureus* และร้อยละ 75 สำหรับ *G. stearothermophilus* และเมื่อนำมาทดสอบโดยให้ความร้อนเพิ่มขึ้น สำหรับเชื้อที่สร้างสปอร์ พบว่า *G. stearothermophilus* มีจำนวนที่เหลืออยู่ ร้อยละ 0

ที่อุณหภูมิ 95 ºC ขึ้นไป ดังตารางที่ 2

4.2 การสำรวจความพึงพอใจต่อการใช้เครื่องฆ่าเชื้อ RSU incinerator

การสำรวจความพึงพอใจจากนักศึกษาชั้นปีที่ 4 คณะเทคนิคการแพทย์ จำนวน 31 คน ได้ระดับความพึงพอใจ 4.27 คือ ได้ระดับมาก โดยมีข้อเสนอแนะ เช่น มันยอดเยี่ยมมาก ช่องเผา loop น่าจะร้อนกว่านี้ และช่องเล็กกว่านี้ ด้านความร้อนอยากให้ร้อนมากขึ้น เครื่องควรมีขนาดเล็กลงอีก ออกแบบรูปทรงให้ดูน่าสนใจ รู้สึกความร้อนไม่มากพอไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ ควรออกแบบอุปกรณ์ให้ทันสมัยมากขึ้น และใช้งานเชิงอัตโนมัติได้ดีขึ้น ซึ่งคณะผู้วิจัยจะนำข้อเสนอแนะไปปรับปรุงในการวิจัยต่อไป

5. สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพเครื่องมือทำลายแบคทีเรียข้างต้นกับแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ โดยผู้วิจัยพบว่าหลักการของเครื่องทำลายแบคทีเรียที่ทดสอบเป็นข้อมูลเชิงทดลองเบื้องต้น ได้ทดสอบการฆ่าเชื้อเฉพาะแบคทีเรียทางการแพทย์ที่กำหนดเท่านั้น โดยใช้หลักการความร้อนกับการฆ่าเชื้อโดยตรง ความร้อนที่ได้จากเครื่องแผ่นความร้อนสูงจากเซรามิค โดยนำมาเปรียบเทียบทดสอบกับแบคทีเรียในกลุ่มที่สามารถสร้างสปอร์จะมีสมบัติในการทนต่อความร้อน dry heat และ moist heat ได้ดี [4,6,7] มีผนังภายนอกและภายในของสปอร์สามารถทนต่อความร้อน มีเอนไซม์ในการต้านสารอันตรายต่อเซลล์ ป้องกันการทำลายดีเอ็นเอภายในเซลล์ จึงมีสมบัติที่นำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ biological indicator ในการทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อได้ [8-10] และในการศึกษาเปรียบเทียบครั้งนี้พบว่าประสิทธิภาพของเครื่องผลิตความร้อนสูงจากเซรามิคในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ตามมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการกำหนดการทำลายเชื้อที่สร้างสปอร์อย่างมีประสิทธิภาพ จากวิธีการทดลองเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงแบคทีเรียทั้งชนิดของแบคทีเรียทั้งแกรมบวก แกรมลบ และแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ เมื่อเทียบกับแบคทีเรียที่สำคัญทางการแพทย์ [11] และเมื่อนำมาคำนวณหาร้อยละของการทำลายเชื้อพบว่าอัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่ทดสอบเท่ากับศูนย์ เมื่อใช้เวลาในการทำลายเชื้อมากกว่า 5 วินาทีขึ้นไป ที่อุณหภูมิช่วงทำงานตั้งแต่ 135 ºC ขึ้นไป [1,2,6,7,12] ดังนั้นจึงเป็นสนับสนุนหลักการทำลายเชื้อด้วยความร้อนสูง สามารถควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงเวลาที่กำหนดจะสามารถทำลายแบคทีเรียทางการแพทย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งได้ผ่านการทดสอบกับเชื้อที่สร้างสปอร์ ซึ่งเป็นการทดลองที่ประยุกต์ในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือทำลายเชื้อมาตรฐานที่ใช้กันทั่วไป ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน HA ต่อไป

6. ข้อเสนอแนะงานวิจัย

การประยุกต์ใช้หลักการทางวิทยาศาสตร์เพื่อประดิษฐ์ออกแบบนวัตกรรมทางวิทยาศาสตร์กับการนำมาใช้ประโยชน์ พบว่าการทดสอบแบคทีเรียยังคงต้องทำการทดสอบเพิ่มเติมสำหรับกลุ่มเชื้อที่จะนำมาทดสอบในครั้งต่อไป เพื่อใช้ในการคำนวณหาเวลาเฉลี่ย D value ในการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของเชื้อแต่ละชนิดในอุณหภูมิต่าง ๆ ครบตามกลุ่มของเชื้อ และข้อจำกัดของการทดสอบที่ต้องเปรียบเทียบในหลักการทาง chemical และหลักการวิธีอื่นร่วมด้วยในการฆ่าแบคทีเรีย [1,3,9] ในการตรวจหาระดับความเข้มข้นของอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรียเป็นอีกปัจจัยทางกายภาพ และทางชีวภาพเพิ่มเติม เพื่อกำหนดปัจจัยสำคัญในการทนทานของแบคทีเรียอย่างแท้จริง และด้วยข้อจำกัดข้างต้น

งานวิจัยครั้งนี้จึงควรมีการพัฒนาต่อไป และวางแผนการออกแบบผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมในอนาคต

7. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยแห่งมหาวิทยาลัยรังสิตที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย และขอขอบคุณผู้ร่วมโครงการวิจัย นักศึกษา และบุคลากรของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ให้ความร่วมมือทั้งตอบแบบสอบถามและร่วมดำเนินงานวิจัยครั้งในนี้

8. รายการอ้างอิง

[1] Clinical Microbiology Procedures Handbook, Available Source: https://iloveto eatmicrobes.files.wordpress.com/2013/10/mcfarland.pdf.

[2] CDC - Sterilization - Monitoring - FAQs - Infection Control in Dental Settings-Oral Health, Available Source: http://www.cdc.gov/oralhealth/Infectioncontrol/faq/sterilization_monitoring.htm.

[3] Arthur, M.U., 2000, Drying In: Kirk-Othmer Encyclopedia of Clinical Chemistry, John Wiley & Sons, Inc. publisher, USA.

[4] Sella, S.R., Guizelini, B.P., Zanello, P.H., Vandenberghe, L.P., Ribeiro, C.A., Minozzo, J.C. and Soccol, C.R., 2012, Development of a low-cost sterilization biological indicator using *Bacillus atrophaeus* by solid-state fermentation, Appl. Microbiol. Biotechnol. 93: 151-158.

[5] Autoclave: KTT, Technology Outsource Co., Ltd., Available Source: http://www.kttlab.com/subcategory.php?cid=22&sid=44.

[6] Robert Wilhelm Bunsen - MyFirstBrain.Com, Available Source: http://www.myfirstbrain.com/student_view.aspx?ID=23197.

[7] Bacti-Cinerator IV, 1/box : www.greenlabb.com, Available Source: http://www.greenlabb.com/product-BactiCinerator IV,1box-157030-1.html.

[8] Head, D.S., Cenkowski, S., Holley, R., Blank, G., 2008, Effects of superheated steam on *Geobacillus stearothermo-philus* spore viability, J. Appl. Microbiol. 104: 1213-1220.

[9] Mirel, D.B., Estacio, W.F., Mathieu, M., Olmsted, E., Ramirez, J., Márquez-Magaña, L.M., 2000, Environmental regulation of *Bacillus subtilis* σ^D-dependent gene expression, J. Bacteriol. 182: 3055-3062.

[10] Setlow, P., 2014, Spore resistance properties, Microbiol. Spectr. 2: 1-14.

[11] สวรรยา พงศ์ปริตร, 2557, คู่มือปฏิบัติการแบคทีเรียทางการแพทย์ (Medical Bacteriology Laboratory Manual), มหาวิทยาลัยรังสิต, ปทุมธานี.

[12] การทำให้ปราศจากเชื้อ Sterilization: CSSD-go to know, Available Source: http://cssd-gotoknow.blogspot.com/2014/10/sterilization.html?m=1.