การพัฒนาซอฟแวร์ช่วยตรวจสอบแบคทีเรียที่สำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร

โดย

รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

RCH
QR
81
ด16ส๓
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....83863
วัน,เดือน,ปี...19 ต.ค. 2551

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

งบประมาณประจำปี 2550

b.11985951
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการวิจัย **การพัฒนาซอฟแวร์ช่วยตรวจสอบแบคทีเรียที่สำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร**

ผู้วิจัย **รศ.ดวงใจ โอชัยกุล**
ผศ.ดร.สาวิตรี วทัญญูไพศาล
รศ. ธีรวัฒน์ ประกอบผล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการรวบรวมและแบ่งหมวดหมู่ข้อมูลของแบคทีเรียลงในฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี (Microsoft Access XP) และใช้โปรแกรมไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 (Microsoft Visual Basic 6.0)ในการเขียนโปรแกรมเพื่อการเข้าถึงข้อมูลในระบบปฏิบัติการ และแสดงผล โปรแกรมช่วยเหลือนี้จะช่วยแก้ปัญหาความยุ่งยากทางด้านเอกสารและข้อมูลที่มีจำนวนมากใน หนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology และหนังสือ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ซึ่งมีการปรับปรุงข้อมูลและจัดพิมพ์ใหม่อยู่เสมอ โดยกลุ่มแบคทีเรียที่ได้ศึกษาและมีในโปรแกรม เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีความสำคัญ และเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งในด้านที่มีประโยชน์และโทษ ได้แก่ *Campylobacter, Helicobacter, Pseudomonas, Alteromonas, Vibrio, Aeromonas, Enterobacter, Citrobacter, Edwardsiella, Erwinia, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Plesiomonas, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Yersinia, Staphylococcus, Pediococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Lactococcus, Clostridium, Bacillus, Listeria, Brochothrix* และ *Lactobacillus* รวมทั้งสิ้น 31 จีนัส (Genus) 340 สปีชีส์ (Species)

ได้มีการนำแบคทีเรียแกรมลบ 14 ชนิดและแบคทีเรียแกรมบวก 9 ชนิด ที่มีอยู่ในโปรแกรมมาทดสอบคุณสมบัติพื้นฐานและคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการ เพื่อศึกษาผลของแบคทีเรียที่มีต่อการทดสอบต่างๆ และนำผลการทดสอบที่ได้เปรียบเทียบกับข้อมูลในโปรแกรมที่สร้างไว้ ภาพที่ได้จากการทดสอบนำไปบันทึกเพิ่มเติมลงในโปรแกรม เพื่อให้โปรแกรมมีความสมบูรณ์มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Project **Development of Software to Facilitate Identification of Foodburne Bacteria**

Researcher **Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul**

Asst. Prof. Dr. Savitri Vatanyoopaisarn

Assoc. Prof. Teerawat Prakobphon

ABSTRACT

The aim of this thesis was to apply Microsoft Access XP and Visual Basic 6.0 in constructing a programme for identification of those 31 genera based on Bergey's Manual of Determinative Bacteriology and Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. This programme, namely FBIdent v.1.0, consisted of bacterial morphology, biochemical characteristics and guides for identification methods as well as selection of appropriated culture media and reagent preparation. To facilitate the identification procedure and make the software free accessible for small labs, 31 genera of bacteria important in food industry, i.e. *Campylobacter, Helicobacter, Pseudomonas, Alteromonas, Vibrio, Aeromonas, Enterobacter, Citrobacter, Edwardsiella, Erwinia, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Plesiomonas, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Yersinia, Staphylococcus, Pediococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Lactococcus, Clostridium, Bacillus, Listeria, Brochothrix* และ *Lactobacillus*, were compiled.

Fourteen strains of gram negative bacteria and nine strains of gram positive bacteria which appears in the program were selected to study morphology and biochemical tests. The results from all test when compared to when suggest in the program were match. Photographs taken from the results were put into this program in order to make program more complete.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2550 ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความร่วมมือของนักศึกษาทั้งระดับปริญญาโท และปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนมาใช้ในการทดลอง

รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

หัวหน้าโครงการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....ก
Abstract.....ข
กิตติกรรมประกาศ.....ค
สารบัญ.....ง
สารบัญตาราง.....จ
สารบัญรูปภาพ.....ช
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4
บทที่ 3 วิธีการทดลอง.....23
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานและการทดลอง.....55
บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงาน.....97
บรรณานุกรม.....102

สารบัญตาราง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ตัวอย่างการทดสอบทางชีวเคมีวิธีแบบต่างๆ และจุดประสงค์ในการทดสอบ 6
3.1 แสดงรายละเอียดของชื่อตารางและรายละเอียดต่างๆในฐานข้อมูลโดยสังเขป..... 26
4.1 ลักษณะรูปร่างและการติดสีแกรมของแบคทีเรียแกรมลบทั้ง 14 สายพันธุ์.....67
4.2 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียแกรมลบ 14 สายพันธุ์.....71
4.3 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Aeromonas caviae* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง.....76
4.4 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Edwardsiella tarda* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง.....77
4.5 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Enterobacter intermedius* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง..... ..78
4.6 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Escherichia coli* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง.....78
4.7 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Hafnia alvei* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง.....79
4.8 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216 ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง.....80
4.9 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Morganella morganii* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง.....80
4.10 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Providencia rettgeri* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง.....81
4.11 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ*Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง.....81
4.12 ผลจากการทดลองคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Salmonella anotum*.....82
4.13 ผลจากการทดลองคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Salmonella enteritidis* DMST 10633.....83
4.14 ผลจากการทดลองคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Salmonella lexington* DMST 4412.....83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

4.15 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Serratia* sp. ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง....84

4.16 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Shigella sonnei* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง....84

4.17 แสดงผลการย้อมแกรมของแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 9 ชนิด.... 85

4.18 แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อของเชื้อทดสอบ 9 ชนิด....88

4.19 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus cereus* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0....91

4.20 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus coagulans* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับโปรแกรม FBI dent V.1.0 91

4.21 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus subtilis* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับโปรแกรม FBI dent V.1.0 92

4.22 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Lactobacillus casei* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0....92

4.23 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Lactobacillus lactis* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับโปรแกรม FBI dent V.1.0....93

4.24 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0....94

4.25 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Listeria monocytogenes* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0 94

4.26 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Pediococcus halophilus* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับโปรแกรม FBI dent V.1.0 95

4.27 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับโปรแกรม FBI dent V.1.0 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 ตัวอย่างการจัดหมวดหมู่แบคทีเรียเบื้องต้น 5
2.2 แสดงรูปแบบหลักในการบันทึกฐานข้อมูลโดยใช้โปรแกรม ไมโครซอฟท์ แอคเซสเอ็กซ์พี 20
3.1 แสดงการสร้างตาราง Primary identification ในมุมมองออกแบบ 25
3.2 แสดงตัวอย่างตารางPrimary identification 26
3.3 แสดงตัวอย่างข้อมูลในตาราง Sec G5 Vibrio 28
3.4 ตัวอย่างการตกแต่งและปรับขนาดรูปด้วยโปรแกรมอะโดบโฟโตชอปซีเอส 29
3.5 ตัวอย่างการเก็บเอกสารเป็นแบบแบบถาวรเวป ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์เวิร์ดเอ็กซ์พี ... 29
3.6 กลุ่มแบคทีเรียที่ไม่มีข้อมูลการทดสอบทางชีวเคมีในหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 30
3.7 รูปแบบเค้าโครงส่วนอนุกรมวิธานของโปรแกรม FBIdent ก่อนสร้างเพื่อใช้งานจริง 31
3.8 รูปแบบเค้าโครงส่วนการตรวจสอบของโปรแกรม FBIdent 31
3.9 รูปแบบเค้าโครงส่วนการทดสอบทางชีวเคมีของโปรแกรม FBIdent 32
3.10 แสดงส่วนประกอบต่างๆของโปรแกรมไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 33
3.11 แสดงตัวอย่างโครงร่างของส่วนอนุกรมวิธาน 34
3.12 แสดงตัวอย่างโครงร่างของส่วนการตรวจสอบ กรณีทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย 35
3.13 แสดงตัวอย่างโครงร่าง ขั้นตอนในการตรวจสอบ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย 37
3.14 แสดงตัวอย่างโครงร่าง 1.1 สังเกตรูปร่างฯ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย 37
3.15 แสดงตัวอย่างโครงร่าง 1.2 ย้อมสีแกรม กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย 38
3.16 แสดงตัวอย่างโครงร่าง 2. การทดสอบทางชีวเคมี กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย 38
3.17 แสดงตัวอย่างโครงร่าง ส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี 39
3.18 แสดงตัวอย่างโครงร่าง ส่วนวิธีการใช้งาน 40
3.19 รูปแบบพิมพ์รายงานในหน้าอนุกรมวิธาน โดยใช้โปรแกรมคริสตัลรีพอร์ท 8.5 41
3.20 รูปแบบพิมพ์รายงานในหน้าการตรวจสอบ โดยใช้โปรแกรมคริสตัลรีพอร์ท 8.5 41
4.1 แสดงหน้าจอหลักเมื่อเริ่มเข้าสู่โปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน1.0 55
4.2 แสดงตัวอย่างการพิมพ์ค้นหา *Bacillus subtilis* 56
4.3 แสดงอนุกรมวิธานและลักษณะเฉพาะของ *Bacillus subtilis* 57
4.4 แสดงวิธีการตรวจสอบกรณีทราบว่าเป็น *Pseudomonas aeruginosa* 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.5 แสดงวิธีการทดสอบการตรวจดูรูปร่าง 60
4.6 แสดงขั้นตอนในการตรวจสอบ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย 61
4.7 แสดงการตรวจสอบรูปร่างและการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย 62
4.8 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ 63
4.9 แสดงตัวอย่างเมื่อเสร็จสิ้นการตรวจสอบ 64
4.10 แสดงตัวอย่างแบบฟอร์มสำหรับพิมพ์รายงานผลการตรวจสอบ 64
4.11 แสดงส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมีของโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 65
4.12 แสดงวิธีการใช้งานส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี 66
5.1 แสดงตัวอย่างรายละเอียดของ *Bacillus Cereus* จากโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ในปัจจุบันวิทยาการความรู้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพได้ก้าวเข้ามามีบทบาทสำคัญต่อมนุษย์ อย่างเต็มตัว ไม่ว่าจะเป็นทางด้านการแพทย์ ด้านสุขภาพ อาหาร เศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม ซึ่งล้วนแต่เป็นปัจจัยสำคัญต่อการดำรงชีวิต การศึกษาค้นคว้าทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพจึงเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ และการศึกษาส่วนใหญ่เป็นการนำเอาสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กๆ หรือที่เรียกว่าจุลินทรีย์ มาใช้ในการทดลอง เพราะสามารถควบคุม และศึกษาได้ง่ายกว่าสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ อีกทั้งการนำมาใช้ยังสร้างประโยชน์ได้อย่างมากมายไม่สิ้นสุด

ประเทศไทย และอีกหลายประเทศในทวีปเอเชียจัดอยู่ในเขตร้อนชื้นที่อุดมด้วยความหลากหลายทางชีวภาพที่มีคุณค่าต่อการศึกษา สำรวจ รวบรวมทรัพยากรจุลินทรีย์ เพื่อการใช้ประโยชน์ในอนาคตอย่างยั่งยืน ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากทรัพยากรพันธุกรรมจุลินทรีย์มีศักยภาพอย่างมีนัยสำคัญ ที่จะถูกนำมาพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์ ทั้งทางวิทยาศาสตร์และเชิงพาณิชย์ การพัฒนาเศรษฐกิจและสังคม เชื้อจุลินทรีย์มีความสำคัญ และเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งในการพัฒนาประเทศ โดยเฉพาะด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และการศึกษา ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพเป็นไปอย่างรวดเร็ว ทำให้มีการค้นพบคุณค่าทางเศรษฐกิจจากเชื้อจุลินทรีย์มากขึ้น ความต้องการสายพันธุ์จุลินทรีย์และข้อมูลจุลินทรีย์ เพื่อใช้ในการศึกษาค้นคว้าวิจัย และใช้ในอุตสาหกรรมเคมี จึงมีจำนวนเพิ่มขึ้น

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองทางด้านวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มากกว่าร้อยละ 70 เป็นการทดลองที่ใช้เชื้อแบคทีเรียในการศึกษาเป็นหลัก เนื่องจากแบคทีเรียมีคุณสมบัติหลากหลาย และควบคุมได้ง่าย สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมาย ดังนั้นข้อมูลคุณสมบัติของแบคทีเรียเหล่านี้จึงมีความสำคัญเป็นอย่างมาก และด้วยจำนวนที่มากมายของแบคทีเรีย ทำให้จำเป็นต้องมีการจัดจำแนกชนิดและแบ่งกลุ่ม เพื่อประโยชน์ในการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ การที่จะทราบว่าแบคทีเรียที่กำลังทดลองนั้นเป็นแบคทีเรียชนิดใด อยู่ในไฟลัม (Phylum) คลาส (Class) ออร์เดอร์ (Order) แฟมิลี (Family) จีนัส (Genus) และ สปีชีส์ (Species)ใด เป็นข้อมูลที่ต้องให้ความสำคัญเพื่อใช้ในการอ้างอิงผลงานทางวิทยาศาสตร์ โดยการทดลองส่วนใหญ่มักจะเป็นการใช้เชื้อแบคทีเรียที่ทราบข้อมูลอยู่แล้ว เนื่องจากเป็นการนำมาจากแหล่งที่เชื่อถือได้ อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องมีการตรวจสอบเพื่อความถูกต้อง อีกทั้งยังมีการทดลองทางวิทยาศาสตร์อีกจำนวนมาก ที่ต้องมีการตรวจสอบหาชนิดของแบคทีเรีย เนื่องจากเป็นการคัดแยกได้จากแหล่งต่างๆตามธรรมชาติ เช่น จากในดิน น้ำ อากาศ วัสดุต่างๆ ผลิตภัณฑ์อาหาร หรือแม้แต่จากสิ่งมีชีวิต เช่น คน พืช และสัตว์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งในทางปฏิบัติเมื่อแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ จากตัวอย่างดังกล่าวข้างต้นมาแล้ว หากต้องการตรวจสอบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดใด จะพิจารณาจากคุณสมบัติทางด้านสัณฐานวิทยา เช่น รูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์ คุณสมบัติการติดสีแกรม ซึ่งเป็นการวินิจฉัยเบื้องต้น หากต้องการทราบรายละเอียดมากขึ้น จำเป็นต้องมีการทดสอบทางชีวเคมี เช่นความสามารถในการใช้น้ำตาลต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน การสร้างเอนไซม์บางชนิด ความต้องการออกซิเจนในการเจริญ หรือแม้แต่การเทียบรหัสพันธุกรรมซึ่งตื่นตัวกันมากในปัจจุบัน เป็นต้น แล้วนำคุณสมบัติที่ทดสอบได้ เปรียบเทียบกับคุณสมบัติของแบคทีเรียที่ทราบข้อมูลอยู่แล้วจากแหล่งอ้างอิงที่เชื่อถือได้ เช่น Bergy's Manual of Determinative Bacteriology หรือหนังสือคู่มืออื่นๆ

อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ยังมีขีดจำกัดด้านบุคลากรที่มีความเชี่ยวชาญ และชำนาญด้านวิทยาการในการตรวจสอบชนิด แบคทีเรีย เนื่องจากมีขั้นตอนที่ค่อนข้างยุ่งยาก และเสียเวลาไม่น้อย ส่วนใหญ่จึงต้องส่งตรวจสอบตามห้องปฏิบัติการใหญ่ๆ หรือศูนย์ปฏิบัติการที่มีความพร้อม ซึ่งยังคงสิ้นเปลืองเวลามาก และการนำเทคโนโลยี อุปกรณ์เครื่องมือที่ทันสมัย ตลอดจนฐานข้อมูลคุณสมบัติของแบคทีเรียที่ใช้เป็นข้อมูลเปรียบเทียบ มาใช้ในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียยังมีราคาสูงมาก จึงมีแต่ห้องปฏิบัติการขนาดใหญ่เท่านั้นที่สามารถมีงบประมาณจัดซื้อมาใช้งานได้

การศึกษานี้จึงได้ทดลองสร้างฐานข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย โดยเน้นเฉพาะแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ และมีความเกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันของมนุษย์มากที่สุด ผนวกเข้ากับการเขียนโปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อผลิตซอฟแวร์ (Software) ที่สามารถตรวจสอบหาชนิดของแบคทีเรียได้ โดยออกแบบการใช้งานให้เรียบง่าย สะดวก และสามารถใช้ได้กับห้องปฏิบัติการขนาดเล็กทั่วไป โดยไม่ต้องพึ่งพาอุปกรณ์ราคาแพงแต่อย่างใด

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการตรวจสอบชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร

1.2.2 ออกแบบ และสร้างฐานข้อมูลเชื้อแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารที่สามารถสืบค้นได้ง่าย และนำมาใช้อ้างอิงได้

1.2.3 สร้างโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อช่วยเหลือในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาวิธีการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร โดยศึกษาในแบคทีเรีย 6 กลุ่มด้วยกัน ได้แก่ กลุ่มที่ 1 แบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนโค้ง (helical/vibrioid) มีการเคลื่อนที่และต้องการอากาศในการเจริญ กลุ่มที่ 2 แบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างกลมและเป็นท่อน (rods and cocci) ต้องการอากาศในการเจริญ กลุ่มที่ 3 แบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างท่อนสั้น ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ และมีกิจกรรมการหมัก กลุ่มที่ 4 แบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างกลม กลุ่มที่ 5 แบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น มีการสร้างเอ็นโดสปอร์ กลุ่มที่ 6 แบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น อาศัยอยู่เดี่ยวๆ ไม่มีการสร้างสปอร์ โดยแบคทีเรียทั้ง 6 กลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 31 จีนัส รวมทั้งหมด 340 สปีชีส์ ซึ่งได้ถูกจัดหมวดหมู่ไว้ในหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 และปรับปรุงการจัดหมวดหมู่ของแบคทีเรียเพิ่มเติมจากหนังสือ Bergey' Manual of Systematic Bacteriology (2001) ซึ่งวิธีการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียเหล่านี้ จะศึกษารูปร่าง ลักษณะ และการเคลื่อนที่ รวมไปถึงคุณสมบัติทางชีวเคมีด้านต่างๆ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสร้างฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์สำหรับแบคทีเรียเหล่านี้ ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี(Microsoft Access XP) และใช้โปรแกรมไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 (Microsoft Visual Basic 6.0) เพื่อสร้างโปรแกรมช่วยเหลือในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียเหล่านี้

1.4 ประโยชน์ที่จะได้รับจากงานวิจัย

1.4.1 สามารถตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารได้อย่างสะดวกรวดเร็วขึ้น มีความเที่ยงตรงสูง และสามารถใช้ในการอ้างอิงได้

1.4.2 ลดค่าใช้จ่ายในการจัดซื้อเครื่องมืออุปกรณ์ และเทคโนโลยีราคาแพง

1.4.3 เป็นแนวทางในการพัฒนา เพื่อสร้างฐานข้อมูลขนาดใหญ่ขึ้นในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 การตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย

แบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กชนิดหนึ่งซึ่งมีเซลล์เดียว (Unicellular) ไม่สามารถมอง เห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จึงจะสามารถสังเกตเห็นได้ เนื่องจากมีจำนวนประชากรมากมาย ทำให้พบเห็นแบคทีเรียได้แทบทุกสภาวะในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำจืด น้ำเค็ม ชั้นบรรยากาศ หรือแม้แต่ในสภาวะที่สิ่งมีชีวิตทั่วไปไม่อาจอาศัยอยู่ได้ เช่น สภาวะหนาวจัดบริเวณขั้วโลกที่มีน้ำแข็งตลอดเวลา หรือบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงอย่างเช่นในบริเวณน้ำพุร้อน หรือภูเขาไฟ ด้วยคุณสมบัติที่หลากหลายเหล่านี้ จึงเป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์เป็นอย่างมาก มีการศึกษาค้นคว้าทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียแขนงต่างๆมากมาย

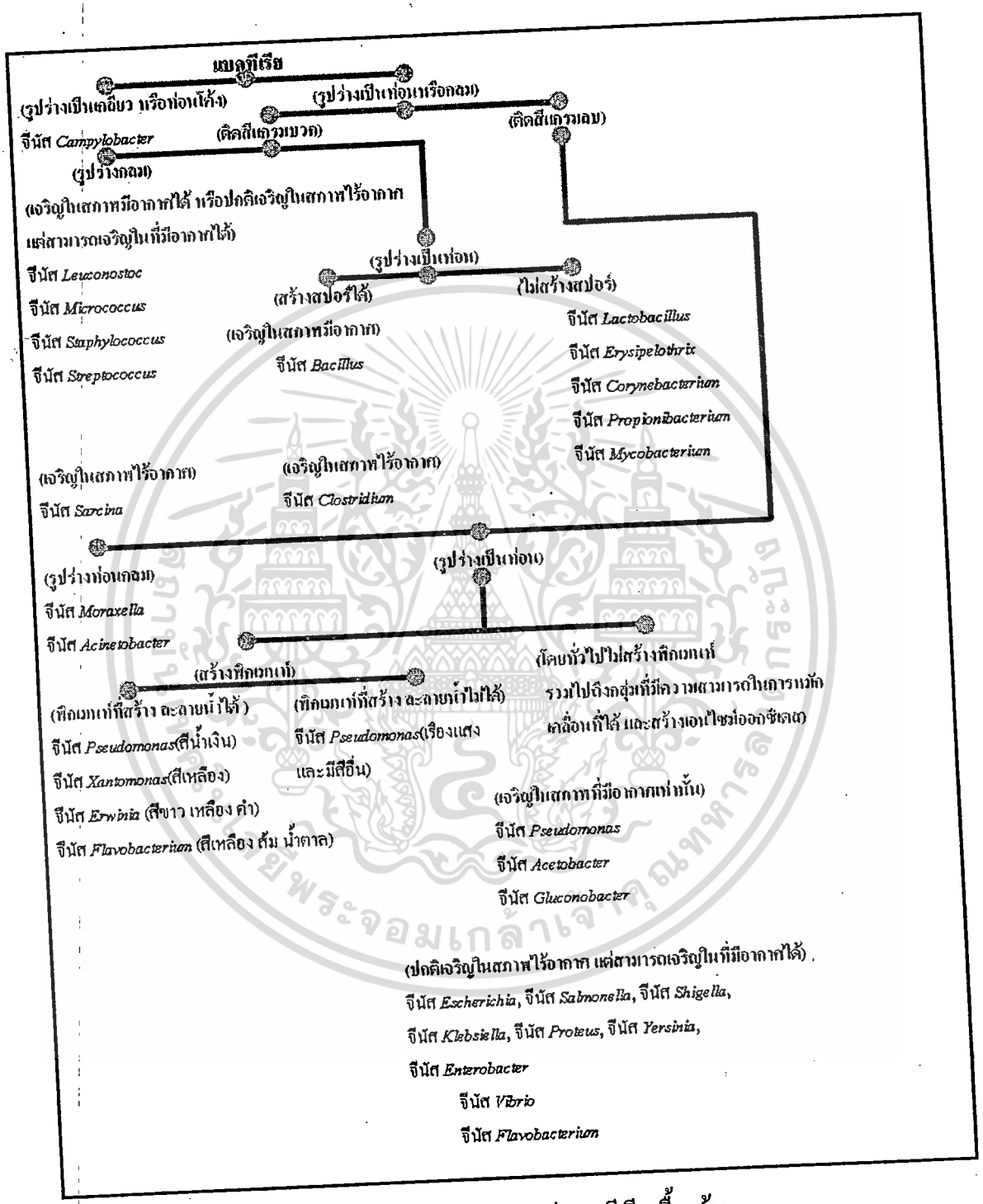
จากวิทยาการที่ก้าวหน้าในปัจจุบัน ทำให้ค้นพบแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่เกิดขึ้นอยู่เสมอ ปัจจุบันพบว่ามีประชากรแบคทีเรียอยู่นับหมื่นสปีชีส์ ที่ได้มีการบันทึกข้อมูลไว้ และยังมีแบคทีเรียอีกจำนวนมากที่รอการตรวจสอบและจัดจำแนกชนิด โดยแบคทีเรียที่ได้รับความสนใจมากที่สุดคือแบคทีเรียที่มีความเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ อีกทั้งยังมีความเกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันของมนุษย์มากที่สุด

การจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย (Classification) คือการจัดหมวดหมู่ของแบคทีเรีย ที่มีลักษณะ และคุณสมบัติเฉพาะคล้ายคลึงกัน รวมเข้าไว้ในกลุ่มเดียวกัน เช่น ลักษณะรูปร่าง การติดสีแกรม ความต้องการอากาศในการเจริญ ความสามารถในการสร้างสปอร์ ฯลฯ ดังแสดงไว้ในรูปที่ 2.1 ส่วนการจัดประเภทเป็นลำดับก่อนหลัง เรียงจากหน่วยเล็กที่สุดขึ้นไป ได้แก่ สปีชีส์ (Species) จีนัส (Genus) แฟมิลี (Family) ออร์เดอร์ (Order) คลาส (Class) ไปจนถึงไฟลัม (Phylum) พร้อมกับตั้งชื่อทางวิทยาศาสตร์ เพื่อประโยชน์ในการศึกษา ขั้นตอนทั้งหมดนี้รวมเรียกว่า อนุกรมวิธาน (Taxonomy)

การตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย (Identification) คือการเปรียบเทียบคุณสมบัติของแบคทีเรีย ที่ต้องการตรวจสอบ อ้างอิงกับแหล่งข้อมูลของแบคทีเรียที่เชื่อถือได้ เพื่อให้ทราบว่าเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในลำดับใดของอนุกรมวิธาน โดยการตรวจสอบชนิดแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ เมื่อแยกเชื้อแบคทีเรียได้จากแหล่งธรรมชาติต่างๆ เช่น ดิน น้ำ อากาศ หรือวัสดุอื่นๆ จำเป็นต้องแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติด้านต่างๆ เช่น สัณฐานวิทยา การติดสีแกรม และการทดสอบทางชีวเคมี เพื่อดูการเปลี่ยนแปลง และความแตกต่างของเมแทบอลิซึมของเชื้อแบคทีเรีย โดยปัจจุบันมีการนำความรู้ทางด้านพันธุกรรมมาใช้ในการตรวจสอบ ซึ่งให้ผลการตรวจสอบที่แม่นยำขึ้นมาก แต่วิธีการและเทคโนโลยีใหม่ๆ ต้องใช้เครื่องมือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และอุปกรณ์ราคาแพง รวมถึงผู้ใช้ต้องมีความเชี่ยวชาญเฉพาะทาง ดังนั้นการตรวจสอบชนิดแบคทีเรียโดยใช้วิธีการทดสอบทางชีวเคมี (แสดงในตารางที่ 2.1) จึงยังเป็นทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ขนาดเล็กจนถึงขนาดกลาง



รูปที่ 2.1 ตัวอย่างการจัดหมวดหมู่แบคทีเรียเบื้องต้น

ที่มา : ดัดแปลงจาก Parry and Pawsey (1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างการทดสอบทางชีวเคมี และจุดประสงค์ในการทดสอบ

การทดสอบทางชีวเคมี	จุดประสงค์
1. การทดสอบคาตาเลส	แยกแบคทีเรีย staphylococci ออกจาก streptococci และแบคทีเรีย ชนิดอื่นๆ
2. การทดสอบออกซิเดส	ใช้ในการจัดจำแนกสกุลต่างๆของแบคทีเรียแกรมลบ
3. การทดสอบโคแอกกูเลส	เป็นการแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus* ออกจาก *Staphylococcus* spp. อื่นๆ
4. การทดสอบเอ็มอาร์	ดูความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างกรดเมื่อหมักน้ำตาลกลูโคส
5. การทดสอบวีพี	แยกแบคทีเรียพวก *Enterobacteriaceae* ซึ่งมีความสามารถในการหมักน้ำตาลกลูโคสได้
6. การทดสอบอินโดล	แยกแบคทีเรียพวก *Echerichia* ออกจาก *Klebsiella*
7. การทดสอบการใช้ซิเตรท	แยกแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นออกจากกัน
8. การทดสอบการใช้แอซีเตท	ดูความแตกต่างของแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae*
9. การทดสอบการใช้มาโลเนท	ดูความแตกต่างของแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae*
10. การทดสอบการย่อยอาร์จินิน	แยก *Pseudomonas, Enterobacter* และ beta hemolytic streptococci ออกจากกัน
11. การทดสอบการย่อยเจลาติน	แยกแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* และแบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonadaceae*
12. การทดสอบการย่อยแป้ง	ดูความแตกต่างของพวก Anaerobic microorganism
13. การทดสอบการย่อยเอ็ซคูลิน	แยก *Streptococcus* กลุ่มดี ออกจากกลุ่มอื่นๆ
14. การทดสอบการย่อยฮิพพูเรต	แยก streptococci และ Anaerobic bacteria
15. การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรท	ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรทของแบคทีเรีย
16. การทดสอบการสร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์	ทดสอบความสามารถในการสร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ของแบคทีเรีย
17. การทดสอบยูรีเอส	แยกชนิดของ *Proteus* spp. รวมถึงแบคทีเรียชนิดอื่นด้วย
18. การทดสอบฟอสฟาเตส	แยก staphylococci ระหว่างพวกที่เป็นเชื้อโรคและไม่เป็นเชื้อโรค
19. การทดสอบการออกซิไดซ์กลูโคเนส	แยกชนิดของ *Pseudomonas* พวก fluorescent, pseudomonad

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

การทดสอบทางชีวเคมี	จุดประสงค์
20. การทดสอบลีซิทิเนส	แยกชนิดของ *Clostridium* spp.
21. การทดสอบดีเอมิเนส	แยก *Proteus* spp. และ *Providence* spp. ออกจาก *Enterobacteriaceae*
22. การทดสอบดีคาร์บอกซิเลส	ทดสอบความสามารถในการสร้างดีคาร์บอกซิเลสในกรดอะมิโน

ที่มา: ดัดแปลงจาก ดวงพร คันธโชติ (2537)

2.1.1 ลักษณะ และคุณสมบัติต่างๆ ที่ช่วยในการจัดจำแนกแบคทีเรีย

ลักษณะรูปร่าง (Shape)

รูปร่างของแบคทีเรียมี 4 ลักษณะใหญ่ๆ คือ รูปร่างเป็นท่อน (Rods) รูปร่างกลม (Cocci) รูปร่างเป็นเกลียว (Spiral) และรูปร่างแบบโค้งงอ (Vibrioid) แบคทีเรียที่มีรูปร่างแบบโค้งงอ สังเกตได้ยากเนื่องจากมีลักษณะใกล้เคียงกับรูปร่างเป็นแบบท่อน และเป็นเกลียว ซึ่งอาจเกิดการสับสนได้ การสังเกตจึงจำเป็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงๆ หรืออาจใช้เทคนิคอื่นๆ เข้าช่วย หรือบางกรณีเมื่อแบคทีเรียมีอายุมากขึ้นรูปร่างอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปได้เช่นเดียวกัน การตรวจดูรูปร่างจึงควรสังเกตขณะเชื้ออายุน้อยๆ

การย้อมสีแกรม (Gram stain) (บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534)

แบคทีเรียชนิดแกรมบวก และแบคทีเรียชนิดแกรมลบ มีความแตกต่างกันที่องค์ประกอบของผนังเซลล์ และเซลล์เมมเบรน โดยแบคทีเรียชนิดแกรมลบจะมีลิปิดที่ผนังเซลล์มากกว่าแบคทีเรียชนิดแกรมบวก ดังนั้นเมื่อย้อมด้วยสีคริสตัลไวโอเลต เซลล์จะติดสีม่วง เมื่อล้างออกด้วยเอทธิลแอลกอฮอล ลิปิดที่ผนังเซลล์ จึงละลายออกพร้อมกับคริสตัลไวโอเลต เมื่อย้อมสีอีกครั้งด้วยซาฟรานิน เซลล์จึงติดสีแดง ในขณะที่แบคทีเรียชนิดแกรมบวกที่ผนังเซลล์มีลิปิดน้อยกว่า เมื่อล้างด้วยเอทธิลแอลกอฮอล์ เซลล์จะเกิดการเหี่ยวจากพลาสโมไลซิส (Plasmolysis) สีคริสตัล-ไวโอเลตไม่สามารถละลายออกมาได้ เมื่อย้อมสีด้วยซาฟรานิน (สีแดง) สีจึงไม่ติด (มีสีม่วงหรือน้ำเงินเหมือนเดิม)

ลักษณะการเคลื่อนที่ (Motility) (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2539)

การเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย มีทั้งที่เคลื่อนที่ได้ และเคลื่อนที่ไม่ได้ กลุ่มที่เคลื่อนที่ได้มักจะใช้แฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ เพื่อหาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญ หรือเพื่อหลีกเลี่ยงสภาพที่ไม่เหมาะสม แบคทีเรียที่ไม่มีแฟลกเจลลาส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่ไม่ได้ แต่กลุ่มที่ไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีแฟลกเจลลาบางกลุ่ม สามารถเคลื่อนที่ได้โดยการหดและขยายตัวของโปรตีนภายในเซลล์ทำให้เคลื่อนที่เป็นลูกคลื่นได้ หรืออาจเคลื่อนโดยการลื่นไถล (Slipping) และการสะบัดตัว (Snapping) โดยที่เซลล์ลูกหักโน้มลงแตะอีกเซลล์หนึ่งหลังจากการแบ่งตัว เป็นต้น

ลักษณะโคโลนี (Colony)

โคโลนี คือลักษณะการเจริญของแบคทีเรียที่อยู่รวมกันตรงบริเวณที่เพาะเลี้ยงเป็นหลายร้อยล้านเซลล์ จนทำให้สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแตกต่างกัน เช่น ขนาด สี ความเหนียว ความหยาบ ความนูน และลักษณะของขอบโคโลนี เป็นต้น ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของอาหาร และสภาวะที่ใช้เพาะเลี้ยง

การทดสอบคาตาเลส (Catalase test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

การทดสอบเอนไซม์คาตาเลส มีการใช้มานานในการแยกแบคทีเรีย staphylococci ออกจาก streptococci และใช้ในการแยกแบคทีเรียอื่นๆ ด้วย แบคทีเรียพวกที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์คาตาเลสมีแนวโน้มไม่เจริญในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ หรือเป็นเพราะมันสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หรือสะสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการที่เชื้อถูกแสงและอากาศ ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีความเป็นพิษต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต จึงควรจะเก็บสต๊อคเชื้อไว้ในที่อากาศจำกัดและมืด ในการทดสอบต้องใช้เชื้อที่มีอายุไม่เกิน 24 ชั่วโมง เพราะเอนไซม์คาตาเลสพบได้ในเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น ดังนั้นเมื่อเชื้ออายุมากขึ้นอาจอ่านผลผิดผลาดได้

การทดสอบออกซิเดส (Oxidase test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

การทดสอบออกซิเดส ใช้ในการจำแนกสกุลต่างๆ ของแบคทีเรียแกรมลบ การพบเอนไซม์ออกซิเดส เกิดจากการละลายของอัลฟ่าแนปโทล (α- naphthol) และพารา-ฟีนิลีนไดเอมีน (p-phenylene diamine) เกิดสีน้ำเงินขึ้น ซึ่งเป็นสีของอินโดลฟีนอลบลู (Indophenol blue) ปฏิกิริยานี้เรียกว่า Nadi reaction สำหรับแบคทีเรียที่มีไซโตโครมซีเล็กน้อย จะมีผลการทดสอบเป็นบวกไม่ชัดเจน

การทดสอบโคแอกกูเลส (Coagulase test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

การทดสอบการสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลส เป็นลักษณะสำคัญที่จะแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus* ออกจาก *Staphylococcus* spp. อื่น เพราะ *S. aureus* ส่วนมากจะสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลสที่ทำให้พลาสมาของคนหรือกระต่ายแข็งตัว

การทดสอบเอ็มอาร์ (MR test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

การทดสอบเอ็มอาร์ สามารถดูความแตกต่างระหว่างกลุ่ม *coli* และกลุ่ม *aerogenes* ของแบคทีเรียในลำไส้ (Enteric bacteria) แบคทีเรีย 2 กลุ่มนี้เมื่ออยู่ในอาหารที่มีน้ำตาลเด็กส์โตรส (Dextrose) จะมีอัตราส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อไฮโดรเจนต่างกัน พวกอัตราส่วนต่ำได้แก่กลุ่ม *coli* ($CO_2/H_2 = 1.06$) ทำให้อาหารมีฤทธิ์เป็นกรด (พีเอช 4 และ 5) เชื้อจะหยุดกิจกรรมเพราะไม่สามารถใช้กรดที่เกิดขึ้นได้ และสามารถคงค่าพีเอชนี้ไว้ได้อย่างน้อย 4 วัน ส่วนพวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

aerogenes จะมีอัตราส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อไฮโดรเจนสูง (CO_2/H_2 = 1.9 – 3.0) สามารถจะสร้างกรดได้มากพอ แต่หลังจากนั้นจะใช้กรดต่อไป ทำให้อาหารมีฤทธิ์เป็นด่างมากขึ้น (พีเอช 6 และ 7) เพราะสร้างอะซีโตอิน (Acetoin)

การทดสอบวีพี (VP test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

การทดสอบวีพี นิยมใช้ในการแยกแบคทีเรียพวก *Enterobacteriaceae* ซึ่งมีความสามารถในการหมักน้ำตาลกลูโคสได้ สำหรับพวกที่หมักบิวทิลีนไกลคอล (Butylene glycol fermentation) จะเกิดกรดปริมาณเล็กน้อย แต่จะเกิดบิวทิลีนไกลคอล และแอลกอฮอล์มาก ซึ่งมีฤทธิ์เป็นกลาง โดยสารอะซีโตอินเป็นสารตัวกลางในการสร้างบิวทิลีนไกลคอล การทดสอบวีพีเป็นการตรวจสอบหาอะซีโตอิน ในอาหารที่เชื้อเจริญ

การทดสอบอินโดล (Indole test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

การทดสอบความสามารถในการสร้างอินโดลใช้แยกแบคทีเรีย *Escherichia* ออกจาก *Klebsiella* และ *Enterobacter* สิ่งมีชีวิตจะสร้างสารอินโดล จากกรดอะมิโนทริพโตเฟน (Tryptophan) โดยเอนไซม์ทริพโตฟาเนส (Tryptophanase) ในอาหารทดสอบจะต้องมีทริพโตเฟน ซึ่งกรดอะมิโนชนิดนี้อาจจะไม่มีในอาหารเปปโตน (Peptone) ทั่วๆไป ดังนั้นจึงนิยมใช้เคซีน (Casein) หรือทริพโตน (Tryptone) อาหารที่ใช้ควรจะมีส่วนผสมของเคซีนหรือทริพโตนร้อยละ 1 และไม่จำเป็นจะต้องใส่อาหารอื่นๆ ลงไปอีกถ้าแบคทีเรียที่ทดสอบเจริญได้ ถ้าไม่สามารถเจริญได้ก็จำเป็นต้องใส่อาหารที่ช่วยให้แบคทีเรียนั้นเจริญได้ แต่ข้อควรระวังคือในอาหารทดสอบจะต้องไม่มีน้ำตาลกลูโคส เพราะจะไปยับยั้งการสร้างอินโดล ออกซิเจนก็มีผลต่อการสร้างอินโดล เช่นพวกกลุ่มแบคทีเรียที่มีกิจกรรมการหมัก จะสร้างอินโดลมากขึ้นเมื่อบ่มในที่มีอากาศ

การทดสอบความสามารถในการใช้ซิเตรท (Citrate utilization test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

การทดสอบการใช้ซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน นิยมใช้ในการแยกแบคทีเรียพวกแกรมลบที่มีรูปร่างท่อนสั้น ออกจากกัน เช่น พวกกลุ่ม *aerogenes* สามารถใช้ซิเตรทสำหรับการเจริญได้ แต่พวกกลุ่ม *coli* ไม่สามารถใช้ซิเตรทได้

การทดสอบความสามารถในการใช้อะซีเตท (Acetate utilization test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

แบคทีเรียบางพวกสามารถที่จะใช้กรดอินทรีย์หรือเกลือของกรดเหล่านี้ เป็นแหล่งคาร์บอน การใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน เป็นประโยชน์มากในการดูความแตกต่างของแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ระหว่างเชื้อ *E. coli* กับ *Shigella* spp. เพราะ *Shigella* ไม่สามารถใช้อะซีเตทเป็นแหล่งคาร์บอน ขณะที่ *E. coli* ส่วนใหญ่สามารถใช้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความสามารถในการใช้มาโลเนต (Malonate utilization test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

การทดสอบความสามารถในการใช้โซเดียมมาโลเนต ใช้แยกสมาชิกของพวก *Enterobacteriaceae* ออกจากกัน โดยพบว่าแบคทีเรีย *aerogenes* จะเจริญได้ดีกว่าแบคทีเรีย *coli* ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวคือโซเดียมมาโลเนต และคุณสมบัตินี้ Liefson ได้นำมาใช้ และมีตัวบ่งชี้คือ บรอมไทมอลบลู โดยจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงินถ้ามีการใช้โซเดียมมาโลเนต สาเหตุที่อาหารเปลี่ยนสีเพราะเมื่อแบคทีเรียใช้มาโลเนต แล้วสร้างอะซีทิลเมททิลคาร์ไบนอล (acetyl methylcarbinol) ต่อมามีการดัดแปลงสูตรอาหารโดยเติมเด็กซ์โตรส และยีสต์เอ็กซ์แทรกต์เล็กน้อย เรียกว่าอาหารเหลวมาโลเนทดัดแปลง (Modified malonate broth) จากสูตรนี้แบคทีเรียทุกชนิดสามารถเจริญได้ และหมักน้ำตาลเด็กโตรส สร้างกรดพีเอชน้อยกว่า 6 อาหารจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แต่ถ้าสามารถใช้มาโลเนต จะสร้างสารมีฤทธิ์เป็นด่าง พีเอชมากกว่า 7.6 อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม

การทดสอบความสามารถในการย่อยเจลาติน (Gelatin hydrolysis test) (ดวงพร คันธโชติ. 2537)

เจลาตินเป็นโปรตีนที่ได้จากคอลลาเจน ซึ่งคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Connective tissue) และเป็นโปรตีนที่ไม่ละลาย (Insoluble protein) แต่สามารถเปลี่ยนเป็นโปรตีนที่ละลายได้ (Soluble protein) โดยการต้ม ความสามารถในการย่อยหรือทำให้เจลาตินเหลว มีประโยชน์มากในการดูความแตกต่างของสกุล และชนิดของแบคทีเรีย เช่น *Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae* และพวก anaerobic bacteria โดยเฉพาะพวก *Clostridium*

นอกจากนี้ยังมีวิธีการทดสอบทางชีวเคมีแบบอื่นๆ ที่ใช้ในการจัดจำแนกแบคทีเรีย ซึ่งรวมไปถึงเทคโนโลยีใหม่ๆที่ใช้การตรวจสอบในระดับพันธุกรรม ทำให้สามารถจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียได้อย่างแม่นยำขึ้น

คู่มือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology เป็นแหล่งข้อมูลแบคทีเรียที่ได้รับการยอมรับจากวงการวิทยาศาสตร์ทั่วโลก โดยมีการรวบรวมข้อมูลของแบคทีเรียไว้มากที่สุด ทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยา คุณสมบัติทางชีวเคมี และข้อมูลระดับพันธุกรรม โดยมีการปรับปรุงข้อมูลอย่างสม่ำเสมอเมื่อมีความรู้ใหม่ๆ เกิดขึ้น ปัจจุบันผ่านการปรับปรุงมาแล้ว 9 ครั้ง และมีการจัดระบบใหม่ล่าสุดเมื่อปี ค.ศ. 2001 ในชื่อหนังสือ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

ในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นเชื้อแบคทีเรียที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร โดยอ้างอิงฐานข้อมูลจากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 เป็นฐานข้อมูลหลัก ซึ่งคัดเลือกเฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญ 31 จีนัส ได้แก่ *Campylobacter, Helicobacter, Pseudomonas, Alteromonas, Vibrio, Aeromonas, Enterobacter, Citrobacter,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Edwardsiella, Erwinia, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Plesiomonas, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Yersinia, Staphylococcus, Pediococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Lactococcus, Clostridium, Bacillus, Listeria, Brochothrix และ *Lactobacillus* โดยเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้สามารถตรวจพบได้จากผลิตภัณฑ์อาหาร และแหล่งธรรมชาติได้ทั่วไปเช่น ในดิน ในน้ำ ในอากาศ และตามร่างกายของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งมีทั้งกลุ่มที่เป็นประโยชน์และโทษ

2.1.2 คุณสมบัติเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละจีนัสที่นำมาใช้เพื่อพัฒนาฐานข้อมูลตามหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9

จีนัส *Campylobacter*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเซลล์บอบบาง มีรูปร่างแบบโค้งงอ (Vibrioid) หรือรูปร่างเป็นตัวเอส (S) ไม่สร้างสปอร์ กว้าง 0.2–0.5 ไมโครเมตร เซลล์เมื่ออายุมากขึ้นจะเป็นรูปทรงกลม การเคลื่อนที่มีลักษณะแบบควงสว่าน มีแฟลกเจลลาอยู่ที่ปลายข้างใดข้างหนึ่ง หรือทั้งสองข้าง โดยแฟลกเจลลามีความยาวเป็น 2-3 เท่าของตัวเซลล์ การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์-แกโนโทรฟ (Chemoorganotroph) เมแทบอลิซึมเป็นแบบหายใจ (Respiration) ไม่มีการหมักและไม่ออกซิไดซ์คาร์โบไฮเดรต ได้พลังงานจากกรดอะมิโน หรือสารตัวกลางจากวัฏจักรทีซีเอ (Tricarboxylic acid cycle) และไม่สร้างรงค์วัตถุ บางชนิดเป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์และสัตว์ พบในระบบอวัยวะสืบพันธุ์ ลำไส้ และในปากของมนุษย์และสัตว์

จีนัส *Helicobacter*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นเกลียว หรือท่อนโค้ง มีความกว้างประมาณ 0.5-1.0 ไมโครเมตร ยาว 2.5-5.0 ไมโครเมตร สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อยในการเจริญ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 30-42 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส และไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้ผลการทดสอบคาตาเลส และออกซิเดสเป็นบวก ดื้อต่อยาแวนโคมัยซิน (Vancomycin) ซัลโฟนามายด์ (Sulfonamides) และไตรเมโตพริม (Trimethoprim) แต่สามารถยับยั้งได้ด้วยเพนนิซิลลิน (Penicillin) แอมพิซิลลิน (Ampicillin) แอมมอกซิลลิน (Amoxicillin) อีริโทรมัยซิน (Erythromycin) เจนทามัยซิน (Gentamicin) กานามัยซิน (Kanamycin) ริฟามพิม (Rifampin) และ เตตระซัยคลิน (Tetracycline) จัดเป็นเชื้อก่อโรคชนิดหนึ่ง

จีนัส *Pseudomonas*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรงหรือโค้งเล็กน้อย แต่ไม่เป็นเกลียว เซลล์มีขนาดกว้าง 0.5-10 ไมโครเมตร ยาว 1.5-4.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ Polar flagella แบบ Monotrichous และ Multitrichous ไม่สร้างปลอกหรือก้าน ไม่มีระยะพักตัว ติดสีแกรมลบ มีค่า G+C content ร้อยละ 58-70 โมล สมาชิกของสกุลนี้พบได้ทั่วไปในดิน น้ำจืด น้ำทะเล ที่มีการย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สลายสารอนินทรีย์ บางชนิดเป็นสาเหตุของโรคพืช บางชนิดเป็นสาเหตุของโรคในมนุษย์และสัตว์ ส่วนใหญ่ต้องการอาหารอย่างง่ายๆ ทุกชนิดสามารถใช้อะซีเตทเป็นแหล่งอาหารหลักได้ ส่วนใหญ่สะสมอาหารไว้ในรูปโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรท (Polyhydroxy butyrate ; PHB) มีส่วนน้อยที่สะสมไว้ในรูปโพลีแซคคาไรด์ สามารถเจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 4-43 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพพีเอชเป็นกลางหรือด่าง (7.0-8.5)

จีนัส *Alteromonas*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนโค้ง ขนาดเซลล์กว้างประมาณ0.7-1.5 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 1.8-3.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา (มีทั้งชนิดที่มีปลอกหุ้มและไม่มีปลอกหุ้ม) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมเป็นแบบหายใจ ส่วนใหญ่ต้องการสารส่งเสริมการเจริญ (Growth factor) ในการเจริญ เป็นแบคทีเรียที่พบในน้ำทะเล

จีนัส *Vibrio*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ขนาดกว้างประมาณ 0.5-0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.4-2.6 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ Polar flagella ซึ่งมีอยู่ 1 เส้น บางชนิดอาจมีมากกว่า 1 เส้น ไม่สร้างแคปซูล เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบการหมักและหายใจ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 18-37 องศาเซลเซียส พีเอช 6-9 ความเข้มข้นที่พอเหมาะของโซเดียมคลอไรด์คือร้อยละ 3 ค่า G+C content ร้อยละ40-50 โมล พบในน้ำจืด และน้ำทะเล ทางเดินอาหารของคนและสัตว์ บางชนิดเป็นเชื้อโรคของคน และสัตว์มีกระดูกสันหลัง มักพบปนเปื้อนในสัตว์น้ำ เช่น ปลา หอย กุ้ง ปู ทำให้อาหารเป็นพิษ

จีนัส *Aeromonas*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนปลายมน ขนาดกว้างประมาณ 0.3-1.0 ไมโครเมตร อาจต่อกันเป็นเส้นยาวๆ หรืออยู่เป็นคู่ เคลื่อนที่โดยใช้ Polar flagella โดยทั่วไปมี 1 เส้น มีบางชนิดไม่เคลื่อนที่ เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบการหมักและหายใจ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 22-28 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบออกซิเดสและคาตาเลสเป็นบวก สามารถรีดิวซ์ไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ และย่อยเจลาตินได้ ค่า G+C content ร้อยละ 56-63 โมล พบในน้ำหรือท่อน้ำทิ้ง บางชนิดเป็นเชื้อก่อโรคในกบ ปลา และมนุษย์

จีนัส *Enterobacter*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ขนาดกว้างประมาณ 0.6-1.0 ไมโครเมตร ยาว 1.2-3.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella บางสายพันธุ์สามารถสร้างแคปซูลได้ สามารถใช้ซิเตรท และอะซีเตรตเป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสหมักกลูโคสเกิดกรดและแก๊ส แต่ที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียสจะไม่สร้างแก๊สจากกลูโคส ค่า G+C content

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 52-59 โมล พบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในน้ำ ดิน น้ำทิ้ง พืช ผัก คน และสัตว์ เป็นสาเหตุของโรคแผลพุพอง และท่อปัสสาวะอักเสบ

จีนัส *Citrobater*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรง กว้างประมาณ 1.0 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 2.0-6.0 ไมโครเมตร พบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆและเป็นคู่ มักจะเคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบการหมักและหายใจ การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ พบทั่วไปตามผิวหน้าของมนุษย์และสัตว์ ในดิน น้ำ น้ำทิ้ง และผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ จัดเป็นเชื้อก่อโรค

จีนัส *Edwardsiella*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรงขนาดเล็ก ขนาดกว้างประมาณ 1.0 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 2.0-3.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบ การหมักและหายใจ การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส พบในช่องลำไส้ของสัตว์เลือดเย็นรวมไปถึงสัตว์เลือดอุ่น ในน้ำ จัดเป็นเชื้อก่อโรคในสัตว์เช่น ปลาไหล ปลาดุก และสัตว์อื่น พบน้อยที่ก่อโรคกับมนุษย์

จีนัส *Erwinia*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนตรง กว้างประมาณ 0.5-1.0 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 1.0-3.0 ไมโครเมตร อาศัยอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นคู่ บางครั้งอาจพบอยู่เป็นสายสั้น เคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella (ยกเว้น *E. stewartii*) การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบการหมักและหายใจ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 27-30 องศาเซลเซียส อยู่ร่วมอาศัยกับพืชแบบซาโปรไฟต์ (Saprophyte) ไม่ค่อยพบในมนุษย์

จีนัส *Escherichia*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรง ขนาดกว้างประมาณ 1.1-1.5 ไมโครเมตร ยาว 2.0-6.0 ไมโครเมตร อาศัยอยู่เดี่ยวๆหรือเป็นคู่ เคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella แต่บางชนิดอาจไม่เคลื่อนที่ สามารถเจริญได้บนอาหารง่ายๆ ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็งนิวเตรียนท์ (Nutrient agar) จะมีผิวเรียบมัน สีเทา สามารถใช้อะซีเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน แต่ใช้ซิเตรทไม่ได้ สามารถหมักกลูโคส และคาร์โบไฮเดรตอื่นๆได้กรดแลกติก อะซีติก และฟอร์มิก ส่วนใหญ่หมักแลกโตสได้แต่อาจจะช้า ค่า G+C content ร้อยละ 50-51 โมล พบในช่องลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น รวมไปถึงระบบขับถ่ายต่างๆ จัดเป็นเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

จีนัส *Hafnia*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรง ขนาดกว้างประมาณ 1.0 ไมโครเมตร ยาว 2.0-5.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella หรือไม่เคลื่อนที่แล้วแต่ชนิด การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบการหมักและหายใจ อุณหภูมิที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหมาะสมในการเจริญคือ 30-37 องศาเซลเซียส พบตามผิวหน้าของมนุษย์ และสัตว์ชนิดอื่นรวมไปถึงนก ในน้ำ น้ำทิ้ง ดิน และผลิตภัณฑ์นม จัดเป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์ ในเลือด ท่อปัสสาวะหรือแผลติดเชื้อ

จีนัส *Klebsiella*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ขนาดความกว้างประมาณ 0.3-1.0 ไมโครเมตร ยาว 0.6-6.0 ไมโครเมตร ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ สร้างแคปซูล ไม่ต้องการอาหารเฉพาะในการเจริญ ส่วนใหญ่สามารถใช้ซิเตรทและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจน หมักกลูโคสได้กรดและแก๊ส (มี CO_2 มากกว่า H_2) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พวกที่พบในดินและน้ำจะสามารถตรึงแก๊สไนโตรเจนได้ภายใต้สภาพที่ไม่มีอากาศ และมีบางชนิดเป็นเชื้อโรค พบได้ทั่วไปในน้ำ เมล็ดพืช ผลไม้ ผัก และแม้แต่บนผิวหนังของมนุษย์

จีนัส *Plesiomonas*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรงปลายโค้งมน มีขนาดกว้างประมาณ 0.8-1.0 ไมโครเมตร ยาว 3.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ Lophotrichous flagella การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบการหมักและหายใจ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส พบในปลา และสัตว์น้ำชนิดอื่น จัดเป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์

จีนัส *Proteus*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ปกติรูปร่างเป็นท่อนตรง กว้าง 0.4- 0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.0-3.0 ไมโครเมตร แต่อาจมีรูปร่างเปลี่ยนไปในบางสภาวะอาจอยู่เป็นคู่หรือเป็นลูกโซ่ มักจะเคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella แต่พบบ่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างรงควัตถุ หมักกลูโคสเกิดกรดเร็วมาก แต่แก๊สเกิดในปริมาณเล็กน้อยหรือไม่เกิดเลย พบในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้ยังอาจพบในดิน และน้ำเสีย

จีนัส *Providencia*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรง ขนาดกว้างประมาณ 0.6-0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.5-2.5 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบการหมักและหายใจ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ยกเว้น *P. heimbachae* คัดแยกได้จากอุจจาระของผู้ป่วยด้วยโรคท้องร่วง ท่อปัสสาวะอักเสบ แผลไหม้พุพอง จัดเป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์

จีนัส *Salmonella*

ติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ขนาดกว้างประมาณ 0.7-1.5 ไมโครเมตร ยาว 2-5 ไมโครเมตร ปกติเคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella อาจเกิดพวกผ่าเหล่าที่ไม่เคลื่อนที่ สามารถใช้ซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่า G+C content ใกล้เคียง *Escherichia coli* คือ ร้อยละ 50-53 โมล พบได้ทั่วไปในคนและสัตว์ ปนเปื้อนใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารและสิ่งแวดล้อม เป็นสาเหตุเกี่ยวกับโรคทางเดินอาหารในคนและสัตว์ ไข้ไทฟอยด์ ลำไส้อักเสบ และโลหิตเป็นพิษ

จีนัส *Serratia*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ขนาดกว้างประมาณ 0.5- 0.8 ไมโครเมตร ยาว 0.9-2.0 ไมโครเมตร มักจะเคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียสบางสายพันธุ์สามารถสร้างแคปซูลได้ สามารถใช้ซิเตรท และอะซีเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน มีหลายสายพันธุ์ที่สร้างสีชมพูแดงเป็นรงค์วัตถุที่เรียกว่าโพรดิจิโอซิน (Prodigiosin) การสร้างรงค์วัตถุขึ้นกับสภาพการเพาะเลี้ยงและอาหาร บางสายพันธุ์ก็ไม่สร้าง หมักกลูโคสไม่เกิดแก๊ส หรือถ้าเกิดก็น้อยมาก ค่า G+C content ร้อยละ 53-59 โมล พบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในน้ำ ดิน น้ำทิ้ง พืช ผัก คน และสัตว์ หรือช่องระบบทางเดินอาหารของหนู และแมลง เป็นสาเหตุของท่อปัสสาวะอักเสบ ต่อมน้ำนมอักเสบในวัว และโรคติดเชื้อจากสัตว์อื่น

จีนัส *Shigella*

ติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างแคปซูล เจริญได้ดีบนอาหารที่ไม่ซับซ้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ไม่ต้องการ Growth factor สามารถหมักกลูโคสและคาร์โบไฮเดรตบางชนิดได้กรด แต่ไม่เกิดแก๊ส (มียกเว้นบางชนิด) ให้ผลการทดสอบออกซิเดสเป็นลบ และคาตาเลสเป็นบวก ไม่สามารถใช้ซิเตรทหรือมาโลเนทเป็นแหล่งคาร์บอน มักเป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหาร เช่น โรคบิดไม่มีตัว

จีนัส *Yersinia*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ขนาดกว้างประมาณ 0.5- 0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.0-3.0 ไมโครเมตร ไม่เคลื่อนที่ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ Peritrichous flagella ไม่สร้างแคปซูล ไม่หมักแลกโตส เจริญได้ดีบนอาหารวุ้น Meat extract agar ภายใน 1-2 วัน ไม่สามารถใช้ซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน เจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง -2 – 45 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-30 องศาเซลเซียส พบในร่างกายมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะในหนูและนก นอกจากนี้ยังพบได้ทั่วไปในดิน น้ำ ผลิตภัณฑ์นม และอาหารอื่นๆ

จีนัส *Staphylococcus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นทรงกลม พบอาศัยอยู่เดี่ยวๆหรือเป็นคู่ และเนื่องจากมีการแบ่งตัวมากกว่าหนึ่งระนาบ ทำให้พบอยู่กันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น เซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 ไมโครเมตร ไม่เคลื่อนที่ ไม่มีระยะฟักตัว ไม่สร้างสปอร์ เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบการหมักและหายใจ มีการสร้างเอนไซม์และสารพิษ (toxin) ขับออกมานอกเซลล์ เจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 6.5-46 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-37 องศาเซลเซียส พีเอชที่เจริญได้คือ 4.2-9.3 แต่พีเอชที่เหมาะสมคือ 7.0-7.5 โดยใช้ออกซิเจนเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวรับอิเล็คตรอน อาจใช้คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิดโดย เฉพาะในสภาพที่มีอากาศ ซึ่งจะสร้างกรดแต่ไม่สร้างแก๊ส ภายใต้สภาพที่ไม่มีอากาศเมื่อใช้กลูโคสจะได้กรดแลกติกเป็นส่วนใหญ่ ขณะที่สภาพที่มีอากาศจะได้กรดอะซีติกเป็นส่วนใหญ่ ค่า G+C content ร้อยละ 30-40 โมล ส่วนใหญ่พบตามผิวหนัง และตามเยื่อเมือกของสัตว์เลือดอุ่น นอกจากนี้ยังพบปน เปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด และมีหลายสายพันธุ์ที่เป็นเชื้อก่อโรค

จีนัส *Pediococcus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม อยู่เป็นคู่หรือเรียงตัวเป็นสี่เซลล์คล้ายลูกบาศก์ (tetrad) เนื่องจากมีการแบ่งตัวแบบ 2 ระนาบ เซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.0-2.0 ไมโครเมตร ไม่มีการเคลื่อนที่ ไม่สร้างเอ็นโดสปอร์ ดำรงชีวิตแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมเป็นแบบการหมัก ผลที่ได้คือกรดแลกติกเพียงอย่างเดียว ต้องการอาหารที่ซับซ้อน ให้ผลคาตาเลสเป็นลบ อยู่กับสิ่งมีชีวิตอื่นแบบซาโปรไฟต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 25-40 องศาเซลเซียส ค่า G+C content ร้อยละ 34-44 โมล พบในผักดอง เบียร์ที่เสีย ผลิตภัณฑ์นม และผลิตภัณฑ์อาหาร ไม่ก่อโรคต่อพืชและสัตว์

จีนัส *Enterococcus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมรี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.6-2.5 ไมโครเมตร พบอยู่เป็นคู่หรือสายสั้นๆในอาหารเหลว สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 10-45 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 37 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 9.6 ดำรงชีวิตแบบเคโมออร์-แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมเป็นแบบการหมัก และหมักคาร์โบไฮเดรตได้กรดแลกติก แต่ไม่เกิดแก๊ส จัดอยู่ในกลุ่ม D ตามระบบแลนซ์ฟิลด์ (Lancefield) พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในแผลหนอง

จีนัส *Leuconostoc*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมรี ขนาดประมาณ 0.5-0.7 x 0.7-1.2 ไมโครเมตร เรียงเป็นคู่ เป็นสาย ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เจริญค่อนข้างช้า มีโคโลนีขนาดเล็กและเป็นเมือกบนอาหารที่มีซูโครสเป็นส่วนประกอบ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 30 องศาเซลเซียส หมักกลูโคสได้ทั้งกรดและแก๊ส โดยผลิตภัณฑ์หลักคือเอธานอล และกรดแลกติก หรืออาจจะมีกรดอะซีติกปนมาด้วย เป็นซาโปรไฟต์ ไม่มีอันตราย แยกได้จากแหล่งต่างๆ เช่น หญ้า ฟางข้าว กะหล่ำปลีดอง เป็นกล้าเชื้อในการทำเนยเหลว เนยแข็ง เพราะให้กลิ่นหอมของไดอะซีทิล (Diacetyl; 2-3-butanedione) จากซิเตรท

จีนัส *Streptococcus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม หรือป้อม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5-2.0ไมโครเมตร พบอยู่เป็นคู่ๆ หรือลูกโซ่ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวมีบางพวกที่เคลื่อนที่ได้ แต่ส่วนใหญ่ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ ดำรงชีวิตแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมเป็นแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมัก โดยหมักน้ำตาลกลูโคสเกิดกรดแลกติก ไม่สร้างแก๊ส บางชนิดในสกุลนี้เป็นเบตาฮีโมไลติก คือย่อยเม็ดเลือดแดงได้สมบูรณ์ ทำให้เกิดบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 25-45 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส แบ่งเป็นกลุ่มตามแลนซ์ฟิลด์ โดยอาศัยความแตกต่างของซีรัมและโพลีแซคคาไรด์ที่ผนังเซลล์ ค่า G+C content ร้อยละ 33-42 โมล เป็นเชื้อปรสิต พบในช่องปาก ช่องระบบทางเดินหายใจ บางชนิดเป็นเชื้อก่อโรคในคนและสัตว์

จีนัส *Lactococcus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมรี มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.6-1.2 x 0.5-1.5 ไมโครเมตร พบอยู่เป็นคู่หรือสายสั้นในอาหารเหลว ไม่สร้างเอนโดสปอร์ ไม่มีแคปซูล ไม่เคลื่อนที่ ดำรงชีวิตแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมเป็นแบบการหมัก หมักคาร์โบไฮเดรตได้กรดแลกติกแต่ไม่เกิดแก๊ส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำสุด 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จัดอยู่ในกลุ่ม N ตามระบบแลนซ์ฟิลด์ พบปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์พืชและนม

จีนัส *Clostridium*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ขนาดกว้างประมาณ 0.3-2.0 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 1.5-20 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella สปอร์มีรูปร่างป้อมแบบรูปไข่ สร้างเอ็นโดสปอร์ 1 อันต่อ 1 เซลล์ ดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 10-65 องศาเซลเซียส บางชนิดเป็นพวกที่ย่อยโปรตีน (Proteolytic) บางชนิดย่อยแป้ง(Saccharolytic)บางชนิดอาจเป็นทั้ง 2 อย่าง หรือไม่เป็นเลย ค่า G+C content ร้อยละ 23-43 โมล จัดเป็นเชื้อก่อโรค พบทั่วไปในดินตะกอน น้ำจืดและน้ำทะเล และในทางเดินอาหารของคนและสัตว์

จีนัส *Bacillus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเซลล์เป็นท่อนตรงหรือเกือบตรง ขนาดกว้างประมาณ 0.5-2.5 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 1.2-10 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่มีการเคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella สร้างเอ็นโดสปอร์ 1 อันต่อ 1 เซลล์ ดำรงชีวิตแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ เมแทบอลิซึมมีทั้งแบบ การหมักและหายใจ แล้วแต่ชนิดของเชื้อ ใช้ไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานได้ มีความต้องการอาหารแตกต่างกัน อุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้อยู่ระหว่าง 25-75 องศาเซลเซียส ต่ำสุดที่เจริญได้อยู่ระหว่าง -5 ถึง-45 องศาเซลเซียส ทนเกลือได้อยู่ในช่วงน้อยกว่าร้อยละ 2-25 ค่า G+C content ร้อยละ 36-62 โมล ถ้าเปรียบกับสกุลอื่น แบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันมาก เนื่องจากมีสมาชิกจำนวนมาก การจัดจำแนกจึงค่อนข้างยุ่งยาก และใช้หลายวิธีในการตรวจสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
83863

จีนัส *Listeria*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน ขนาดกว้างประมาณ 0.4-0.5 ไมโครเมตร ยาว 0.5-2.0 ไมโครเมตร ที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส เคลื่อนที่โดยใช้ Peritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ ผลการทดสอบคาตาเลสเป็นบวก และออกซิเดสเป็นลบ การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโนโทรฟ หมักน้ำตาลกลูโคสได้กรดแลกติก อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30-37 องศาเซลเซียส (แต่จะไม่เคลื่อนที่) พบได้ในธรรมชาติทั่วไป เป็นเชื้อก่อโรคทั้งในมนุษย์และสัตว์

จีนัส *Brochothrix*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน ขนาดกว้างประมาณ 0.6-0.7ไมโครเมตร ยาว 1.0-2.0 ไมโครเมตร พบอยู่เป็นเดี่ยวๆหรือต่อเป็นลูกโซ่ อาจจะเปลี่ยนเป็นรูปร่างกลมเมื่ออายุมากขึ้น ไม่สร้างแคปซูล ไม่มีการเคลื่อนที่ และไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 0-30 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 20-25 องศาเซลเซียส หมักกลูโคสได้กรดแลกติก สามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ และในสภาพธรรมชาติทั่วไป

จีนัส *Lactobacillus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก แต่อาจจะย้อมติดสีแกรมลบเมื่ออายุมากขึ้นและอยู่ในสภาพที่เป็นกรด รูปร่างเป็นท่อนยาว ขนาดกว้างประมาณ 0.5-1.2 ไมโครเมตร ยาว 1.0-10 ไมโครเมตร โดยทั่วไปพบเรียงเป็นลูกโซ่ ไม่เคลื่อนที่ ถ้าเคลื่อนที่จะใช้ Peritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ เมแทบอลิซึมเป็นแบบการหมัก สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสได้กรดแลกติกอย่างน้อยร้อยละ 50 ที่เหลือจะเป็นกรดอะซีติก ฟอร์มิก ซักซินิก คาร์บอนไดออกไซด์ หรือเอธานอล ต้องการอาหารที่ซับซ้อน เช่น กรดอะมิโน เปปไทด์ อนุพันธ์ของกรดนิวคลีอิก วิตามิน เกลือ กรดไขมัน และคาร์โบไฮเดรต สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 5-53 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-40 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมคือ 5.5-5.8 หรือต่ำกว่า พบได้ทั่วไปในผลิตภัณฑ์เนื้อ น้ำ น้ำทิ้ง เบียร์ ไวน์ ผลไม้และน้ำผลไม้ ผักดอง แป้งหมัก เป็นปรสิตในปาก อาจพบในระบบทางเดินอาหาร และช่องคลอดของสัตว์เลือดอุ่น ปกติไม่เป็นเชื้อก่อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียมีความยุ่งยาก เนื่องจากจำนวนข้อมูลของเชื้อแบคทีเรียมีมาก และกระจัดกระจาย ถึงแม้มีการรวบรวมข้อมูลไว้ในหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ไว้แล้ว แต่การนำมาใช้งานค่อนข้างยุ่งยาก ดังนั้นจึงมีแนวคิดในการพัฒนาฐานข้อมูลแบคทีเรีย โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อช่วยเหลือในการวิเคราะห์ และประมวลผล ทำให้สามารถดึงข้อมูลที่ต้องการออกมาได้อย่างรวดเร็ว โดยจัดเก็บรายละเอียดของกลุ่มแบคทีเรียที่กล่าวมาข้างต้น ทั้งหมด 31 จีนัส รวม 340 สปีชีส์ ไว้ในฐานข้อมูล พร้อมกับสร้างโปรแกรมคอมพิวเตอร์ให้ทำงานร่วมกับฐานข้อมูลอย่างมีประสิทธิภาพ

2.2 การออกแบบฐานข้อมูลด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี (Microsoft Access XP) (นันทนี แขวงโสภา. 2544)

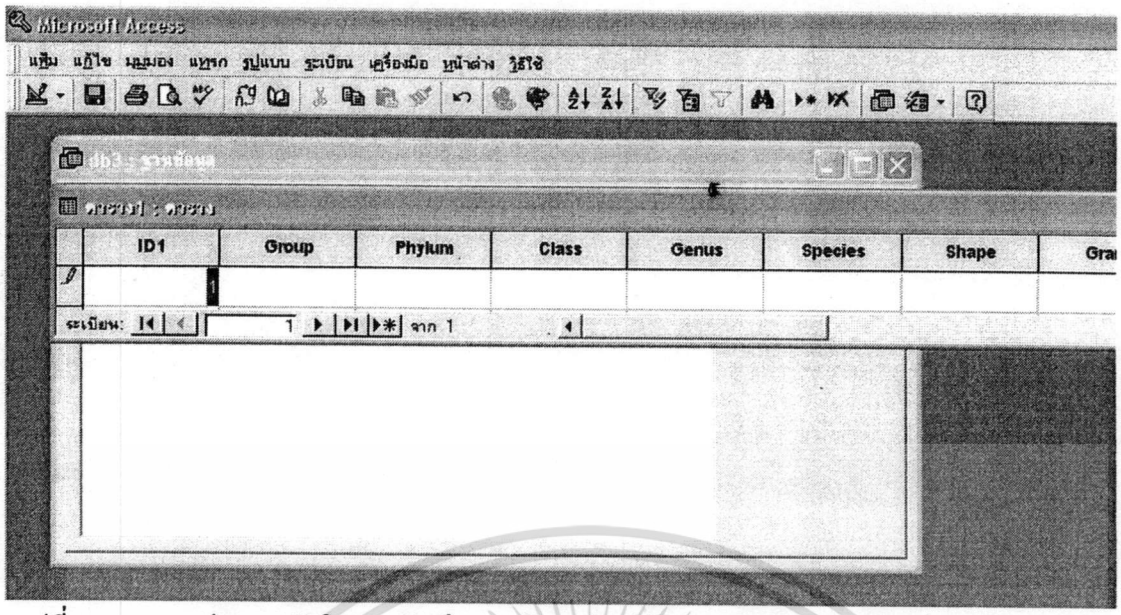
โปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี เป็นโปรแกรมฐานข้อมูลในชุดโปรแกรมไมโครซอฟท์ออฟฟิต (Microsoft Office) ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยโปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี ได้รับการพัฒนาเป็นฐานข้อมูลเชิงสัมพันธ์ (Relational database) ในระดับคอมพิวเตอร์ตั้งโต๊ะ (Desktop computer) ซึ่งมีสมรรถนะที่ดี การบำรุงรักษาทำได้ง่าย และสะดวก โปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี มีการติดต่อภายในแบบ GUI (Graphical user interface) โดยมีอ๊อบเจกต์ (Object) ต่างๆ ซึ่งทำงานสัมพันธ์กัน ทำให้เกิดความสะดวก และประหยัดเวลาในการพัฒนาฐานข้อมูล

การพิจารณาความเหมาะสมในการสร้างฐานข้อมูล

1. รูปแบบและขั้นตอนการทำงาน ควรมีความถูกต้อง เป็นระเบียบแบบแผน
2. ปริมาณข้อมูลที่ต้องการจัดเก็บควรมีมากเพียงพอ
3. ข้อมูลควรมีความสัมพันธ์กัน

เนื่องจากการเขียนโปรแกรมฐานข้อมูล มีความซับซ้อน ต้องการใช้เวลาในการพัฒนา ดังนั้น ถ้าข้อมูลมีปริมาณน้อยและรูปแบบของข้อมูลเปลี่ยนแปลงเสมอ จะทำให้การตอบสนองการใช้งานไม่ทันกาล แต่เมื่อข้อมูลถูกเก็บในระบบฐานข้อมูลแล้ว จะมีประโยชน์อย่างมากในการวิเคราะห์ การสืบค้นย้อนหลัง รวมถึงการประเมินแนวโน้มต่างๆระบบฐานข้อมูล โดยลักษณะของฐานข้อมูลเป็นการจัดเก็บแบบแถว-คอลัมน์ ในแนวแถวเป็นเก็บข้อมูลแต่ละข้อมูล รายละเอียดหรือฟิลด์จะเก็บในแนวคอลัมน์ ส่วนการอ้างอิงข้อมูลของโปรแกรมไมโครซอฟท์ เอคเซส เอ็กซ์พี ใช้ชื่อฟิลด์ ดังแสดงในรูปที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 แสดงรูปแบบหลักในการบันทึกฐานข้อมูลโดยใช้โปรแกรม ไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี

2.2.1 แนวคิดในการออกแบบ

จุดมุ่งหมายและหน้าที่ของโปรแกรมคอมพิวเตอร์คือ จัดขั้นตอน และกระบวนการประมวลผล จากข้อมูลเบื้องต้น (Input) ให้ออกมาเป็นผลลัพธ์ (Output)

ในระบบฐานข้อมูล (Database) มีข้อพิจารณามากขึ้นคือ ต้องคำนึงว่าจะนำข้อมูลเบื้องต้น เข้าไปเก็บใน ลักษณะใด ที่ทำให้ขั้นตอนการประมวลผล และแสดงผลลัพธ์สามารถทำได้ตรงตามต้องการ ของวัตถุประสงค์ การติดต่อกับผู้ใช้ (User interface) ต้องมีความระมัดระวังลักษณะ และขั้นตอนการทำงาน สมควรที่จะมีการออกแบบ ให้เข้าใจได้ง่าย ไม่มีความยุ่งยาก ใช้งานได้สะดวก

2.2.2 การวางแบบโครงสร้าง

ขั้นที่ 1 กำหนดจุดมุ่งหมายและขอบเขต ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนพื้นฐานที่สำคัญที่ทำให้การพัฒนาโปรแกรมสอดคล้องกับการใช้งาน ครอบคลุมสารสนเทศ และมีขั้นตอนการทำงานที่ถูกต้อง เช่น การกำหนดจุดมุ่งหมายของโปรแกรมเพื่อการเก็บข้อมูล และการค้นหา ซึ่งสามารถเขียนเป็นผังการไหลของข้อมูล และขั้นตอนการทำงาน

ขั้นที่ 2 การวางแบบตารางและความสัมพันธ์ ให้ทำการวิเคราะห์ข้อมูล และจัดแบ่งตาราง ที่ใช้เก็บข้อมูลต่างๆ เนื่องจากตารางเป็นโครงสร้างพื้นฐานที่สำคัญของโปรแกรมฐานข้อมูล ถ้าโครงสร้างตารางไม่ดีจะทำให้การสนับสนุนการประมวลผลไม่ดีไปด้วย เช่น ทำให้ออกแบบฟอร์มซับซ้อน การทำงานและการประมวลผลล่าช้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การเขียนโปรแกรมด้วยไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 (Microsoft Visual Basic 6.0)

(สัจจะ จรัสรุ่งรวีวร. 2542)

ไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 เป็นภาษาโปรแกรมภาษาหนึ่ง ที่ได้รับความนิยมอย่างสูง เนื่องมาจากความง่าย และสะดวกรวดเร็วในการพัฒนาแอปพลิเคชั่น (Application) บนระบบปฏิบัติการวินโดวส์ ทำให้ผู้พัฒนาสามารถเห็นรูปแบบของโปรแกรมที่พัฒนา ขณะออกแบบหรือพัฒนาโปรแกรมได้โดยไม่ต้องทำการรัน (Run) โปรแกรมเพื่อดูผลลัพธ์ โดยการทำงานของโปรแกรมจะเป็นลักษณะการรวบรวมออบเจ็กต์ หลายๆชิ้น วางรวมกันบนพื้นที่ที่เรียกว่าฟอร์ม โดยแต่ละแอพคลิเชชั่นอาจจะมีหลายฟอร์มก็ได้ แต่ละออบเจ็กต์ก็จะมีคุณสมบัติ และหน้าที่ในการทำงานแตกต่างกันออกไปด้วยโค๊ด (Code) หรือชุดคำสั่งใดๆ เพื่อให้โปรแกรมทำงานตามจุดประสงค์การใช้งาน

2.4 ตัวอย่างงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรีย

Miller and Alachi (1996) ใช้ซอฟแวร์คอมพิวเตอร์ฐานชีววิทยา (Biobase) ช่วยในการจำแนกเชื้อแบคทีเรีย กลุ่ม enteric bacilli ได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเทียบกับการทดสอบทางชีวเคมีแบบเดิม โดยเปรียบเทียบการทดสอบกับศูนย์ควบคุมโรคติดต่อ ในการทดสอบกับเชื้อ *Enterobacteriaceae* 293 สายพันธุ์ ซึ่งมีทั้งเชื้อธรรมดา และเชื้อที่พบได้ยาก ในจำนวนนี้ 278 สายพันธุ์ (ร้อยละ 94.9) สามารถจำแนกได้ถึงระดับสปีชีส์ อย่างแม่นยำ อีก 13 สายพันธุ์ (ร้อยละ 4.4) ไม่ได้รับการยอมรับเพราะมีข้อมูลน้อย และอีก 10 สายพันธุ์ (ร้อยละ 3.4)ไม่สามารถจำแนกได้เนื่องจากมีข้อมูลทางชีวเคมีไม่เพียงพอ

York *et al.* (2000) ได้ทำการทดลองเพื่อจัดจำแนกเชื้อ *E. coli* โดยใช้วิธีทดสอบทางชีวเคมี 5 วิธีได้แก่ การทดสอบอินโดล การทดสอบออกซิเดส การเจริญบนอาหารที่มีส่วนประกอบของเลือดแกะ (Sheep blood agar) ลักษณะสัณฐานวิทยา และการเจริญบนอาหารคัดเลือก (Selective media) กับเชื้อ *E. coli* จำนวน 1,064 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับชุดทดสอบสำเร็จรูป (Test Kit) พบว่า 1,000 สายพันธุ์ เป็น *E. coli* และอีก 64 สายพันธุ์ไม่ใช่ *E. Coli* ซึ่งจากการทดสอบทางชีวเคมี มีเพียง 13 สายพันธุ์เท่านั้นที่ยังต้องใช้ชุดทดสอบในการจำแนก และมีอัตราความผิดพลาดเพียงร้อยละ 0.3โดยที่การใช้ชุดทดสอบต้องเสียค่าใช้จ่ายไปถึง 6,810 ดอลล่าร์ ในขณะที่การทดสอบทางชีวเคมีทั้ง 5 การทดสอบเสียค่าใช้จ่ายเพียง 1,673 ดอลล่าร์ แม้จะเสียเวลามากกว่า แต่สามารถลดค่าใช้จ่ายลงได้กว่า 4 เท่า

O'Hara and Miller (2000) คิดวิธีการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Microscan Rapid Neg ID3 Panel ร่วมกับโปรแกรมคอมพิวเตอร์ Walk/Away รุ่น 22.01 ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 511 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับการทดสอบทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชีวเคมี พบว่าได้ผลถูกต้องถึงระดับสปีชีส์ ร้อยละ 88.8 จำแนกผิดพลาดร้อยละ 5.1 และสามารถจำแนกได้ถึงระดับสกุล ร้อยละ 4.3

Patel *et al.* (2000) ใช้เครื่องมือ Microseq 500 16S rDNA ในการจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium* 113 สายพันธุ์ โดยเปรียบเทียบลำดับเบสกับฐานข้อมูลลำดับเบส Microseq พบว่าสามารถ จำแนกได้ถูกต้อง 92 สายพันธุ์ (ร้อยละ 82) อีก 18 สายพันธุ์ (ร้อยละ 16) ให้ผลไม่สอดคล้องกับฐานข้อมูล และอีก 6 สายพันธุ์ (ร้อยละ 2) ไม่สามารถจำแนกได้

Cantón *et al.* (2000) ได้นำเอาระบบ Wider system ซึ่งเป็นระบบที่พัฒนาการประมวลภาพ (Image-processing) โดยใช้คอมพิวเตอร์มาประยุกต์ใช้กับการจำแนก และการทดสอบผลยับยั้งของสารปฏิชีวนะ (Antimicrobial susceptibility testing) ซึ่งได้ทดลองกับกลุ่มจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับวงการแพทย์ 244 ตัวอย่าง โดยแยกออกเป็นตระกูล *Enterobacteriaceae* 138 ตัวอย่าง กลุ่มแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างท่อนสั้น (NFGNRs) 25 ตัวอย่าง และกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลม 81 ตัวอย่าง จากการทดลองสามารถจัดจำแนกได้ถูกต้องถึง ร้อยละ 97.5

Reva *et al.* (2001) ได้ใช้การทดสอบทางด้านกายภาพ และสันฐานวิทยา 115 แบบ ในการจัดจำแนกจุลินทรีย์กลุ่ม *bacillus* ทั้งแบบที่ต้องการอากาศ และสร้างสปอร์ เช่น *Paenibacillus, Brevibacillus, Aneurinibacillus, Geobacillus* และ *Virgibacillus* สามารถแบ่งออกได้ 81 สปีชีส์ โดยหลักการนี้สามารถทำให้จัดจำแนกแบคทีเรียกลุ่ม *bacillus* ที่แยกได้จากแหล่งธรรมชาติอย่างรวดเร็ว

Oliveir *et al.* (2002) ใช้วิธี Fluorescence in situ hybridization (FISH) ร่วมกับ Peptide nucleic acid (PNA) probes ในการจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* โดยทดสอบกับเชื้อ 48 ตัวอย่าง 17 สายพันธุ์ พบว่าได้ผลแม่นยำถึง ร้อยละ 97

Ogier *et al.* (2002) ใช้วิธี PCR-temporal temperature (TTGE) ในการจำแนกเชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Enterococcus, Pediococcus, Streptococcus* และ *Staphylococcus* จากตัวอย่างผลิตภัณฑ์นม ได้ 48 ชนิด

Cocolin *et al.* (2002) ได้พัฒนาการทำโพลีเมอเรสเชนรีแอคชัน (PCR) กับ *iap* gene ในการจำแนกเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Listeria* spp. ซึ่งได้แก่ *L. monocytogenes, L. innocua, L. welshimeri, L. seeligeri* และ *L. ivanovii* โดยการทำ PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) พบว่าจากการแยกเชื้อ *Listeria* spp. 48 ตัวอย่างจากอาหาร 73 ชนิด การทำ PCR-DGGE ร้อยละ20-40 สามารถดูความแตกต่างของเชื้อ *Listeria* spp. ทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ชัดเจนที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1 แหล่งข้อมูล และโปรแกรมหลักที่ใช้ในการดำเนินงาน

3.1.1 ฐานข้อมูล และแหล่งความรู้ทางวิชาการ

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 8

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2001) เล่ม 1

หนังสือคู่มือการสร้างแอพพลิเคชั่นด้วยวิชวลเบสิค 6 ฉบับสมบูรณ์ (สัจจะ จรัสรุ่งรวีวร. 2542)

หนังสือสร้างระบบงานฐานข้อมูลด้วยวิชวลเบสิคฉบับโปรแกรมเมอร์ (ศุภชัย สมพานิช. 2545)

หนังสืออินไซต์แอคเซสเอ็กซ์พี (นันทนี แขวงโสภา. 2544)

3.1.2 โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่เกี่ยวข้อง

ไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี (Microsoft Access XP)

ไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 (Microsoft Visual Basic 6.0)

คริสตัลรีพอร์ท 8.5 (Crystall Report 8.5)

อินสตอลชีลด์เอ็กซ์เพรส 2.11 (InstallShield Express 2.11)

อะโดบโฟโตชอปซีเอส (Adobe Photoshop CS)

3.2 การจัดการฐานข้อมูล

3.2.1 การคัดเลือกกลุ่มแบคทีเรีย

ทำการคัดเลือกกลุ่มแบคทีเรียที่มีความเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งที่เป็นประโยชน์และมีโทษ จากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 โดยสามารถรวบรวมรายชื่อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 31 จีนัส ซึ่งได้แก่ *Campylobacter, Helicobacter, Pseudomonas, Alteromonas, Vibrio, Aeromonas, Enterobacter, Citrobacter, Edwardsiella, Erwinia, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Plesiomonas, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Yersinia, Staphylococcus, Pediococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Lactococcus, Clostridium, Bacillus, Listeria, Brochothrix* และ *Lactobacillus* รวมทั้งสิ้น 340 สปีชีส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย *Campylobacter* และ *Helicobacter* จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างโค้งงอ มีการเคลื่อนที่และต้องการอากาศในการเจริญ *Pseudomonas* และ *Alteromonas* จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อน และต้องการอากาศในการเจริญ *Vibrio, Aeromonas, Enterobacter, Citrobacter, Edwardsiella, Erwinia, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Plesiomonas, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia* และ*Yersinia* จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างท่อนสั้น ไม่ต้องการอากาศในการเจริญและมีกิจกรรมการหมัก *Staphylococcus, Pediococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Streptococcus* และ *Lactococcus* จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างกลม *Clostridium* และ *Bacillus* จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างท่อนสั้น มีการสร้างเอ็นโดสปอร์ ในขณะที่ *Listeria, Brochothrix* และ *Lactobacillus* จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างท่อนสั้น อาศัยอยู่เดี่ยวๆ ไม่มีการสร้างสปอร์

3.2.2 การออกแบบ และสร้างฐานข้อมูลด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี

เนื่องจากฐานข้อมูลมีจำนวนมาก จึงจำเป็นต้องแบ่งย่อยออกเป็นหลายตาราง เพื่อความสะดวกในการบันทึก การสืบค้นข้อมูล และการประมวลผลของโปรแกรม การแบ่งย่อยตารางใช้หลักการการจัดกลุ่มตามหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ส่วนการจัดกลุ่มแบคทีเรียเข้าไว้ในตารางเดียวกัน หรือแยกตารางกัน จะพิจารณาจาก คุณสมบัติพื้นฐานและคุณสมบัติการทดสอบทางชีวเคมี จากหลักการดังกล่าวสามารถแบ่งตารางฐานข้อมูลออกได้เป็น 27 ตารางได้แก่ ตารางปฐมภูมิ (Primary identification) ดังรูปที่ 3.1 ตารางการทดสอบทางชีวเคมี (Biochem test table) ตารางอาหารเลี้ยงเชื้อ(Media table) ตารางสารทดสอบ (Reagent table) และตารางผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียกลุ่มที่ 2, 4, 5, 17, 18, และ 19 จากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ดังตารางที่ 3.1

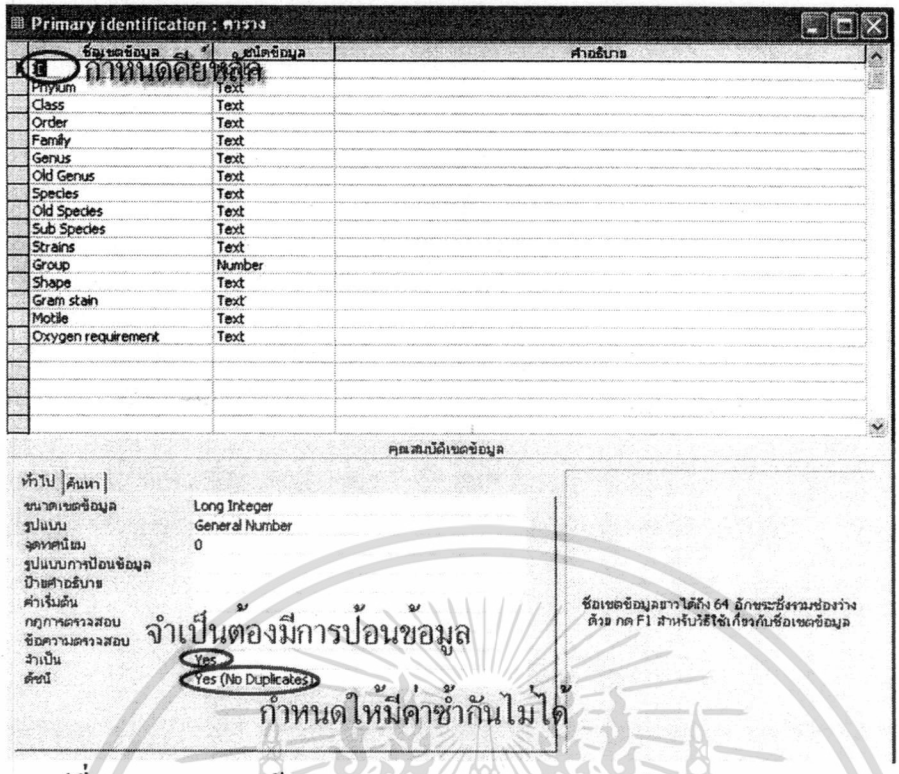
3.2.3 การบันทึกข้อมูลลงในโปรแกรมไมโครซอฟแอคเซสเอ็กซ์พี

เข้าสู่โปรแกรมไมโครซอฟแอคเซสเอ็กซ์พี ทำการสร้างแฟ้มใหม่ซึ่งเป็นฐานข้อมูลเปล่าขึ้นใหม่ โดยใช้ชื่อแฟ้มข้อมูลเป็น FBIdent_Database.mdb จากนั้นสร้างตารางที่ได้คิดและออกแบบไว้แล้ว ในมุมมองออกแบบ โดยการกำหนดเขตข้อมูล ชนิดข้อมูล และคุณสมบัติของเขตข้อมูลอย่างคร่าวๆ ซึ่งแต่ละตารางจะมีเขตข้อมูล และชนิดข้อมูลแตกต่างกันออกไป

3.2.4 รายชื่อตารางฐานข้อมูลพร้อมรายละเอียด

ตาราง Primary identification เป็นตารางรายชื่อทั้งหมดของแบคทีเรียที่มีความเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหารที่รวบรวมได้ ประกอบไปด้วยข้อมูลทางอนุกรมวิธานของแบคทีเรียแต่ละชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

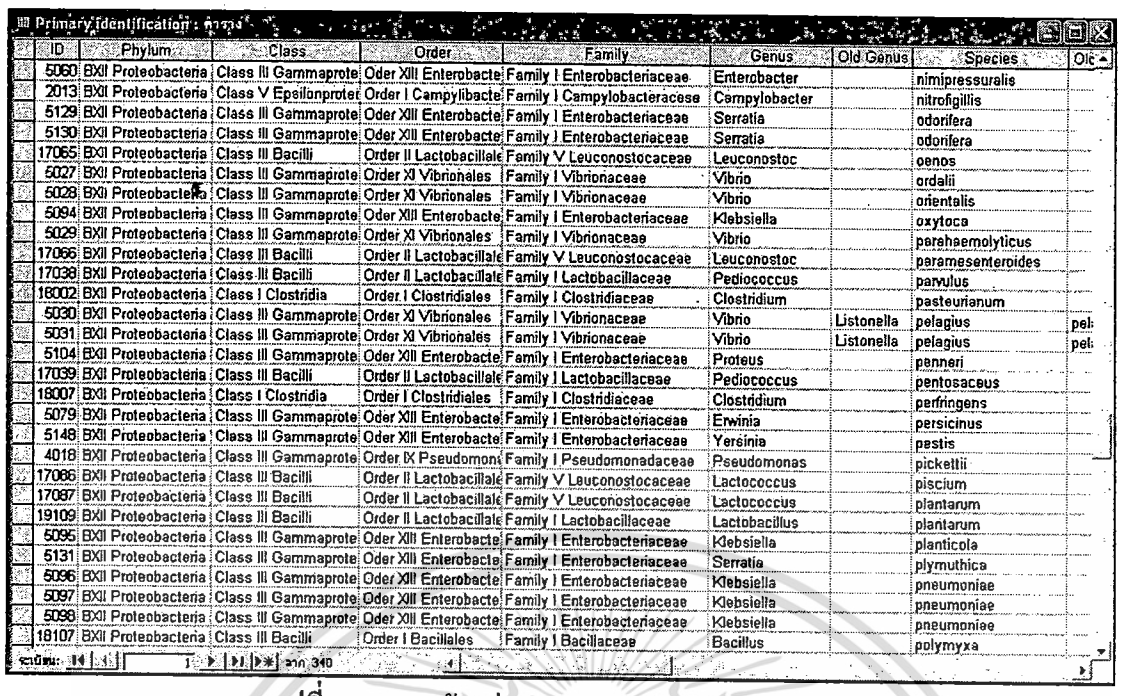


รูปที่ 3.1 แสดงการสร้างตาราง Primary identification ในมุมมองออกแบบ

ซึ่งได้แก่ ไฟลัม (phylum) คลาส (class) ออร์เดอร์ (order) แฟมิลี (family) จีนัส (genus) สปีชีส์ (species) สับสปีชีส์ (sub species) และสายพันธุ์ (strain) รวมไปถึงคุณสมบัติพื้นฐานด้านต่างๆ เช่น ลักษณะรูปร่าง ลักษณะการเคลื่อนที่ ลักษณะการติดสีย้อม และความต้องการออกซิเจนในการเจริญ ตัวอย่างการสร้างตาราง Primary identification ดังแสดงในรูปที่ 3.1ซึ่งเป็นมุมมองออกแบบ และ รูปที่ 3.2 แสดงการบันทึกข้อมูล โดยกำหนดให้รหัสของแบคทีเรีย(ID) เป็นคีย์หลัก ซึ่งไม่ให้มีค่าซ้ำกันในเขตข้อมูล และจำเป็นต้องมีการป้อนข้อมูล เพื่อป้องกันข้อผิดพลาดขณะบันทึกฐานข้อมูล ส่วนเขตข้อมูลชนิดอื่นๆ สามารถกำหนด ให้มีค่าซ้ำกันได้

ส่วนตารางข้อมูลผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียแต่ละชนิด ใช้ชื่อตารางว่า "Sec G" ต่อท้ายด้วยหมายเลขกลุ่ม ตามหลักการการจัดกลุ่มอนุกรมวิธานของหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 และชื่อจีนัสของแบคทีเรียที่อยู่ในตาราง ตัวอย่างเช่น ตาราง "Sec G5 Vibrio" อธิบายได้ว่าเป็นตารางผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียจีนัส *Vibrio* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม 5 ตามหลักการจัดกลุ่มของหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 เป็นต้น ดังตัวอย่างในรูปที่ 3.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Primary identification : ตาราง

ID	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Old Genus	Species	Old
5060	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Enterobacter		nimipressuralis	
2013	BXII Proteobacteria	Class V Epsilonprotet	Order I Campylobacte	Family I Campylobacteracese	Campylobacter		nitrofigillis	
5129	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Serratia		odorifera	
5130	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Serratia		odorifera	
17065	BXII Proteobacteria	Class III Bacilli	Order II Lactobacillale	Family V Leuconostocaceae	Leuconostoc		oenos	
5027	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Order XI Vibrionales	Family I Vibrionaceae	Vibrio		ordalii	
5028	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Order XI Vibrionales	Family I Vibrionaceae	Vibrio		orientalis	
5094	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Klebsiella		oxytoca	
5029	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Order XI Vibrionales	Family I Vibrionaceae	Vibrio		parahaemolyticus	
17066	BXII Proteobacteria	Class III Bacilli	Order II Lactobacillale	Family V Leuconostocaceae	Leuconostoc		paramesenteroides	
17038	BXII Proteobacteria	Class III Bacilli	Order II Lactobacillale	Family I Lactobacillaceae	Pediococcus		parvulus	
18002	BXII Proteobacteria	Class I Clostridia	Order I Clostridiales	Family I Clostridiaceae	Clostridium		pasteurianum	
5030	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Order XI Vibrionales	Family I Vibrionaceae	Vibrio	Listonella	pelagius	pel
5031	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Order XI Vibrionales	Family I Vibrionaceae	Vibrio	Listonella	pelagius	pel
5104	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Proteus		penneri	
17039	BXII Proteobacteria	Class III Bacilli	Order II Lactobacillale	Family I Lactobacillaceae	Pediococcus		pentosaceus	
18007	BXII Proteobacteria	Class I Clostridia	Order I Clostridiales	Family I Clostridiaceae	Clostridium		perfringens	
5079	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Erwinia		persicinus	
5148	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Yersinia		pestis	
4018	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Order IX Pseudomon	Family I Pseudomonadaceae	Pseudomonas		pickettii	
17086	BXII Proteobacteria	Class III Bacilli	Order II Lactobacillale	Family V Leuconostocaceae	Lactococcus		piscium	
17087	BXII Proteobacteria	Class III Bacilli	Order II Lactobacillale	Family V Leuconostocaceae	Lactococcus		plantarum	
19109	BXII Proteobacteria	Class III Bacilli	Order II Lactobacillale	Family I Lactobacillaceae	Lactobacillus		plantarum	
5095	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Klebsiella		planticola	
5131	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Serratia		plymuthica	
5096	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Klebsiella		pneumoniae	
5097	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Klebsiella		pneumoniae	
5098	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Klebsiella		pneumoniae	
18107	BXII Proteobacteria	Class III Bacilli	Order I Bacillales	Family I Bacillaceae	Bacillus		polymyxa	

ระเบียน: 14 1 จาก 340

รูปที่ 3.2 แสดงตัวอย่างตาราง Primary identification

ตารางที่ 3.1 แสดงรายละเอียดของชื่อตารางและรายละเอียดต่างๆในฐานข้อมูลโดยสังเขป

ชื่อตาราง	รายละเอียดข้อมูลในตาราง
Primary identification	รายชื่อแบคทีเรียทั้งหมด และข้อมูลการวินิจฉัยเบื้องต้น
Biochem test table	รายชื่อวิธีการทดสอบทางชีวเคมี
Media table	รายชื่ออาหารเลี้ยงเชื้อ
Reagent table	รายชื่อสารทดสอบ
Sec G2 Campylobacter Helicobacter	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Campylobacter* และ *Helicobacter*
Sec G4 Alteromonas	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Alteromonas*
Sec G4 Pseudomonas	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Pseudomonas*
Sec G5 Aeromonas Plesiomanas	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Aeromonas* และ *Plesiomanas*
Sec G5 Edwardsiella	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Edwardsiella*
Sec G5 Enterobacter Hafnia Klebsiella Citrobacter	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Enterobacter, Hafnia, Klebsiella* และ *Citrobacter*
Sec G5 Erwinia Escherichia Shigella	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Erwinia, Escherichia* และ *Shigella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

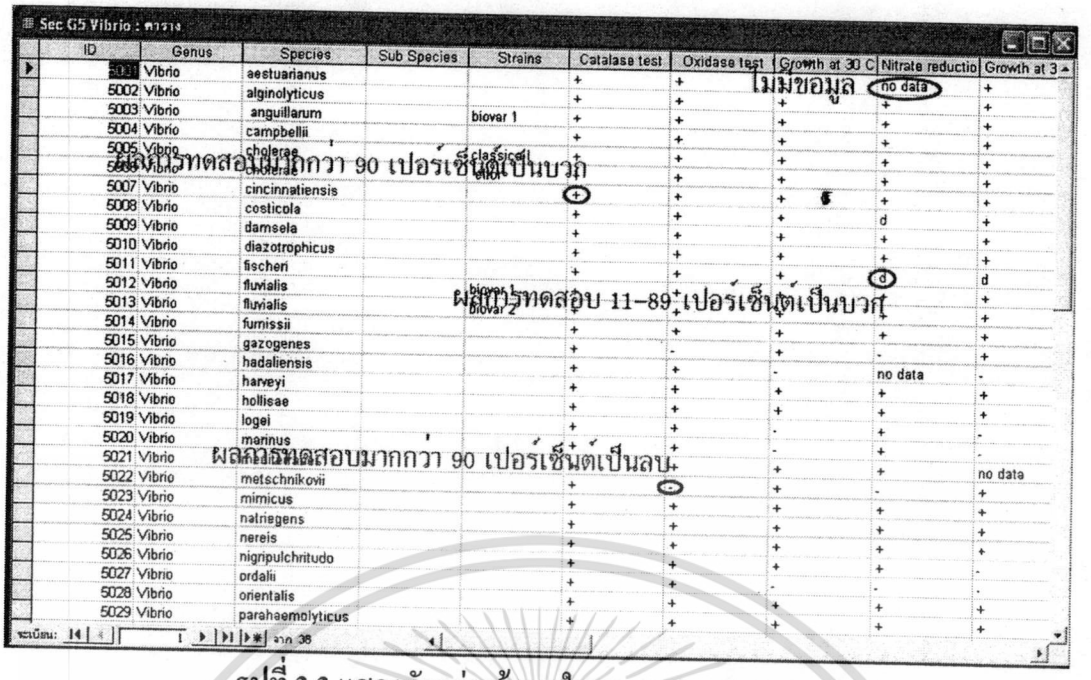
ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ชื่อตาราง	รายละเอียดข้อมูลในตาราง
Sec G5 Morganella Proteus Providencia	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Morganella, Proteus* และ *Providencia*
Sec G5 Salmonella	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Salmonella*
Sec G5 Serratia	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Serratia*
Sec G5 Vibrio	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Vibrio*
Sec G5 Yersinia	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Yersinia*
Sec G17 Enterococcus	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Enterococcus*
Sec G17 Lactococcus	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Lactococcus*
Sec G17 Leuconostoc	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Leuconostoc*
Sec G17 Pediococcus	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Pediococcus*
Sec G17 Staphylococcus	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Staphylococcus*
Sec G17 Streptococcus	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Streptococcus*
Sec G18 Bacillus	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Bacillus*
Sec G18 Clostridium	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Clostridium*
Sec G19 Brochothrix	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Brochothrix*
Sec G19 Lactobacillus	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Lactobacillus*
Sec G19 Listeria	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของ *Listeria*

สำหรับตารางผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียแต่ละชนิด จะกำหนดให้รหัสของแบคทีเรีย(ID) เป็นคีย์หลักในทุกตาราง และกำหนดความหมายของสัญลักษณ์ต่างๆ ไว้ในตารางดังนี้

(+)	ผลการทดสอบมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์เป็นบวก
(-)	ผลการทดสอบมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์เป็นลบ
(d)	ผลการทดสอบ 11- 89 เปอร์เซ็นต์เป็นบวก
(W)	ปฏิกิริยาสังเกตผลได้ค่อนข้างยาก
(+w)	ผลการทดสอบเป็นบวก แต่สังเกตได้ค่อนข้างยาก
(-w)	ผลการทดสอบเป็นลบ แต่สังเกตได้ค่อนข้างยาก
(V)	ผลการทดสอบไม่แน่นอน
(no data), (ND)	ไม่มีข้อมูล

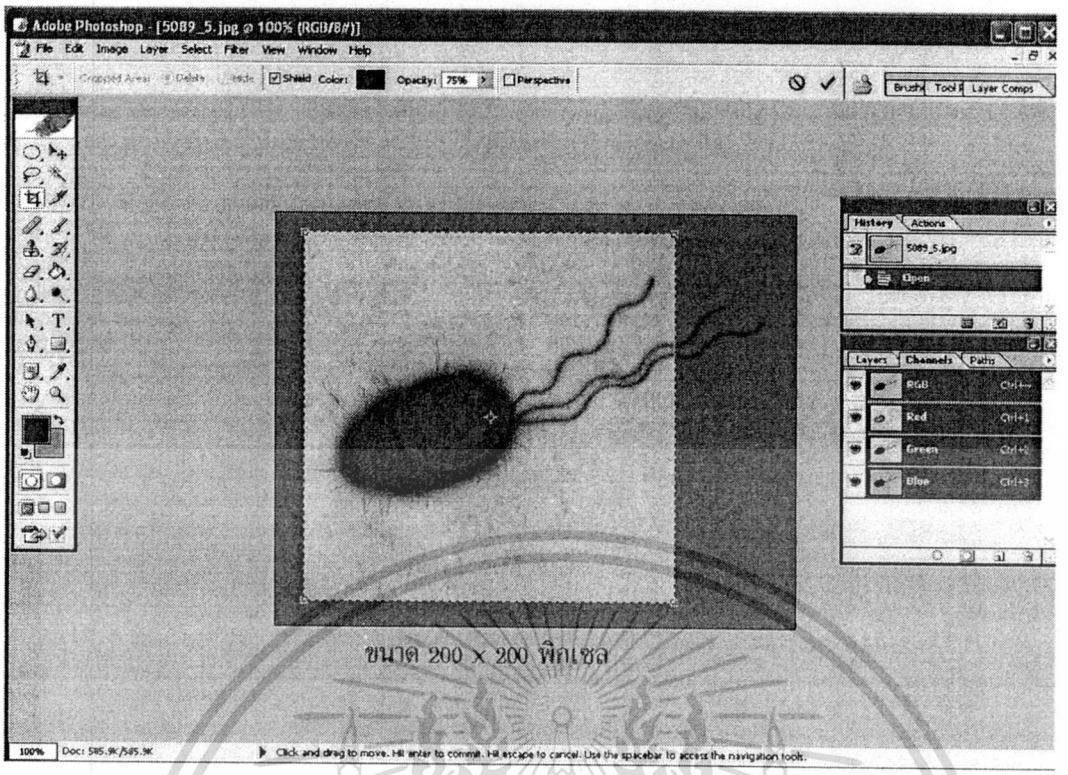
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



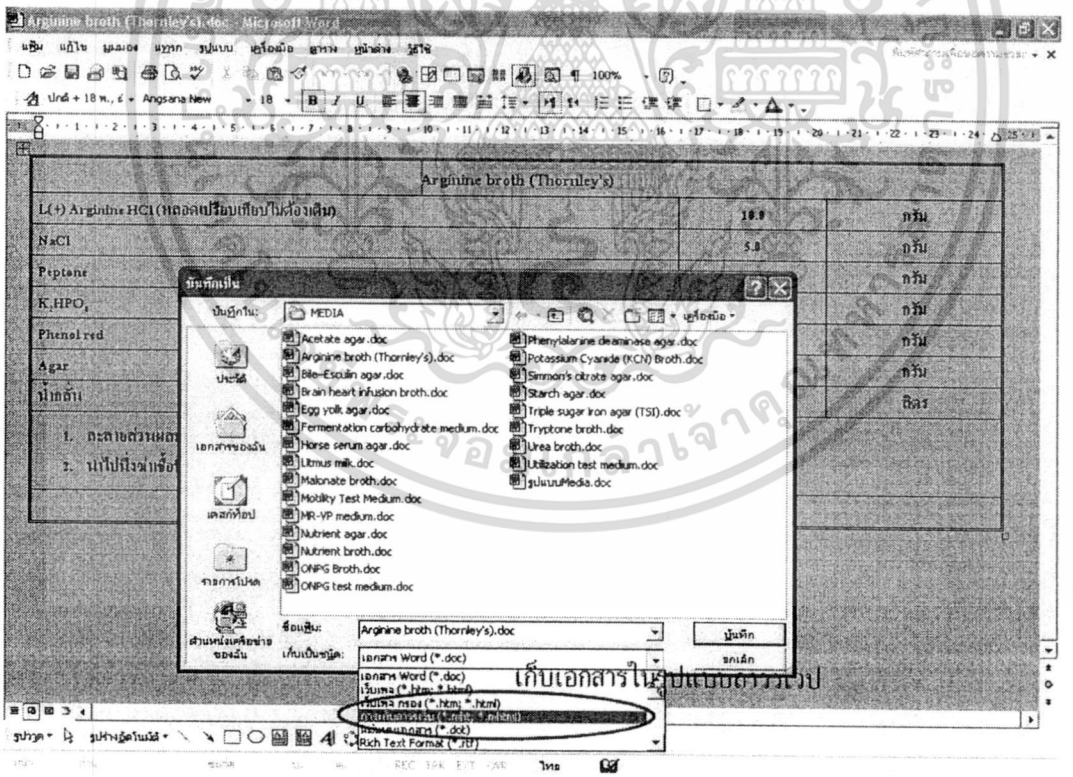
รูปที่ 3.3 แสดงตัวอย่างข้อมูลในตาราง Sec G5 Vibrio

ส่วนตารางที่เหลือได้แก่ ตาราง Biochem test table, Media table และReagent table เป็นตารางที่รวบรวมรายชื่อของวิธีการทดสอบทางชีวเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารทดสอบ ที่ใช้ในโปรแกรมตามลำดับ ส่วนรายละเอียดวิธีการทดสอบทางชีวเคมี วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารทดสอบ บันทึกด้วยโปรแกรมไมโครซอฟเวิร์ดเอ็กซ์พี แล้วบันทึกเป็นแฟ้ม (File) ชนิดถาวรเวป (*.mht) เก็บไว้ในโฟลเดอร์ BIOCHEM_TEST, MEDIA และ REAGENT ตามลำดับ ส่วนรูปของแบคทีเรีย ตั้งชื่อตามรหัสของแบคทีเรีย ต่อท้ายด้วย _1 และ _2 เป็นรูปที่ 1 และรูปที่ 2 ของแบคทีเรียแต่ละชนิด ตามลำดับ ตกแต่งภาพและปรับขนาดด้วยโปรแกรมอะโดบโฟโตชอปซีเอส ให้มีขนาด 200 x 200 พิกเซล (pixel) เก็บไว้ในโฟลเดอร์ PICTURE ดังตัวอย่างการตกแต่งรูป และปรับขนาดในรูปที่ 3.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.4 ตัวอย่างการตกแต่งและปรับขนาดรูปด้วยโปรแกรมอะโดบโฟโตชอปซีเอส

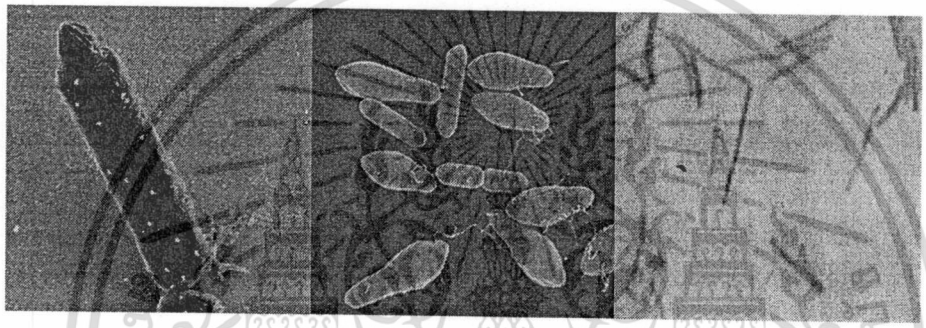


รูปที่ 3.5 ตัวอย่างการเก็บเอกสารเป็นแบบแบบถาวรเวป ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์เวิร์ดเอ็กซ์พี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 การแก้ไขฐานข้อมูลเพิ่มเติม

เนื่องจากมีการจัดย้ายกลุ่มอนุกรมวิธานของแบคทีเรียบางชนิดจากการศึกษาใหม่ๆ เช่น *Campylobacter pylori* ถูกจัดกลุ่มใหม่ให้อยู่ในจีนัส *Helicobacter* และเรียกชื่อทางวิทยาศาสตร์ใหม่เป็น *Helicobacter pylori* ซึ่งยังไม่ได้มีการเก็บข้อมูลไว้ในหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 รวมไปถึงแบคทีเรียในจีนัส *Clostridium, Bacillus* และ *Lactobacillus* (แสดงในรูปที่ 3.6) ที่ไม่มีข้อมูลการทดสอบทางชีวเคมี เนื่องจากมีงานค้นคว้าทางวิทยาศาสตร์ในระดับสายพันธุ์เป็นจำนวนมาก และมีการพัฒนาวิธีการจัดจำแนกโดยใช้เทคโนโลยีทางพันธุกรรมเข้ามาใช้แทน จึงไม่มีข้อมูลการทดสอบทางชีวเคมีในฉบับปรับ ปรุงใหม่ ข้อมูลที่นำมาใช้จึงอ้างอิงจากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 8



Bacillus ***Clostridium*** ***Lactobacillus***

รูปที่ 3.6 กลุ่มแบคทีเรียที่ไม่มีข้อมูลการทดสอบทางชีวเคมีในหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9

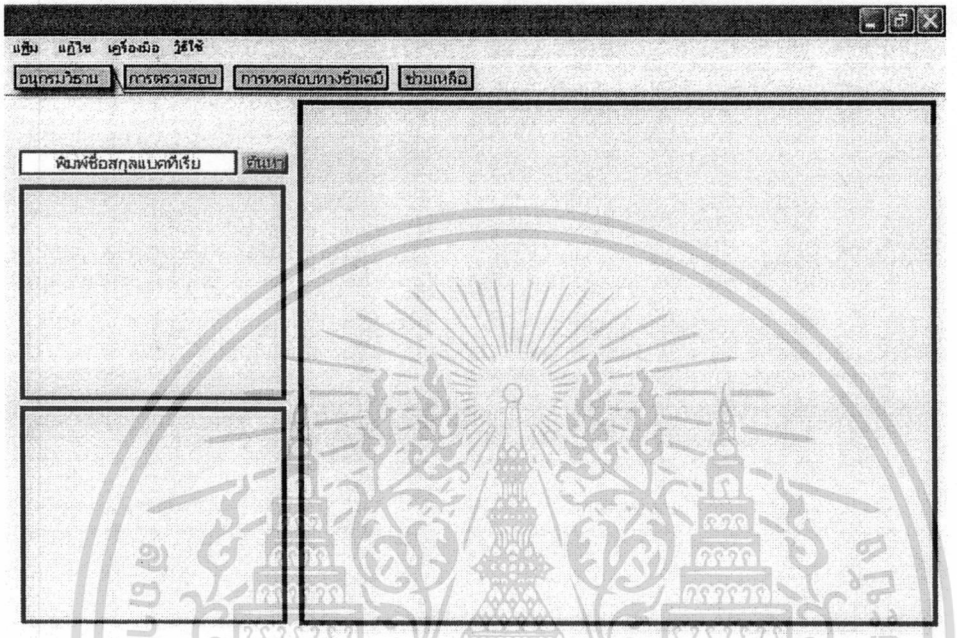
3.3 การเขียนโปรแกรมด้วยไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 (Microsoft Visual Basic 6.0)

วิชวลเบสิคเป็นภาษาโปรแกรมภาษาหนึ่งที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องมาจากการใช้งานง่าย และมีความสะดวกรวดเร็วในการสร้างและพัฒนางานแอพพลิเคชัน (Application) บนระบบปฏิบัติการวินโดวส์ ซึ่งเป็นผลมาจากวิชวลเบสิคสนับสนุนการพัฒนาแอพพลิเคชันแบบคอมโพเนนท์ (Component) ซึ่งก็คือการนำส่วนประกอบด้านซอฟแวร์ ที่ได้สร้างและทดสอบเป็นอย่างดีแล้ว ที่รู้จักกันในนามของ แอคทีฟเอ็กซ์คอนโทรล (ActiveX Control) นำมาประกอบกัน และเขียนชุดคำสั่งกำกับการทำงานให้เป็นแอพพลิเคชันที่ทำงานได้จริง

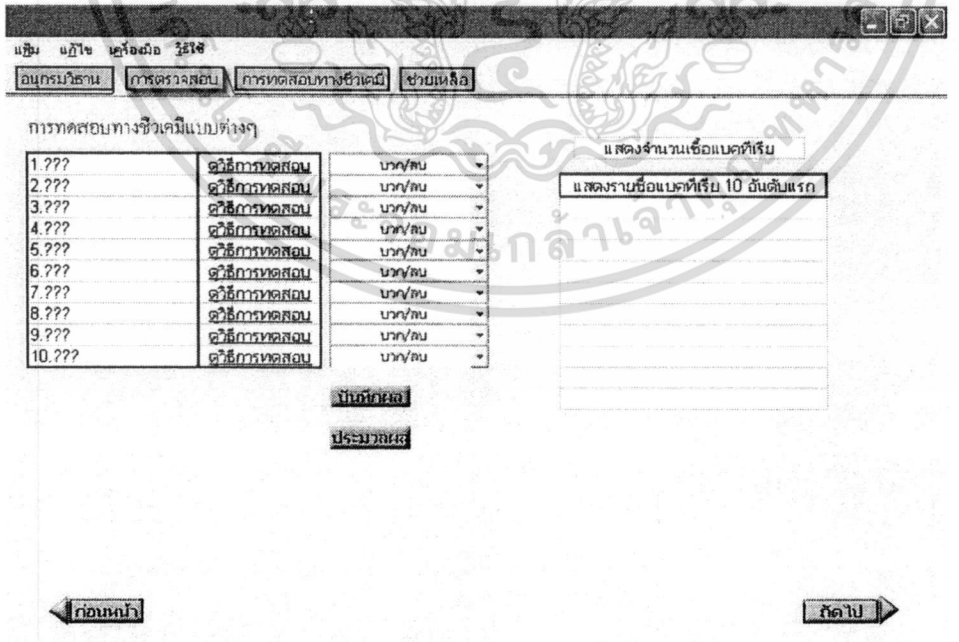
จุดมุ่งหมายหลักของการดำเนินงานนี้คือ การสร้างแอพพลิเคชัน หรือโปรแกรมช่วยเหลือในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร โดยการทำงานร่วมกับฐานข้อมูล ที่อ้างอิงจากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 ซึ่งเป็นแหล่งอ้างอิงฐานข้อมูลแบคทีเรียที่มีความน่าเชื่อถือ และได้รับการยอมรับจากวงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพทั่วโลก และเพื่อให้เหมาะสมต่อการใช้งานในระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ขนาดเล็ก จนถึงขนาดกลาง ดังนั้นการออกแบบลักษณะและการทำงานของโปรแกรม จึงเน้นที่ความง่าย และสะดวกต่อการใช้งาน โดยแบ่งการทำงานของโปรแกรม ออกเป็น 4 ส่วนหลัก ได้แก่ อนุกรมวิธาน การตรวจสอบ วิธีการทดสอบทางชีวเคมี และวิธีการใช้งาน ดังตัวอย่างในรูปที่ 3.7 3.8 และ 3.9 ซึ่งเป็นเค้าโครงที่ออกแบบไว้ก่อนจะเริ่มสร้างแอพพลิเคชันจริงด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0

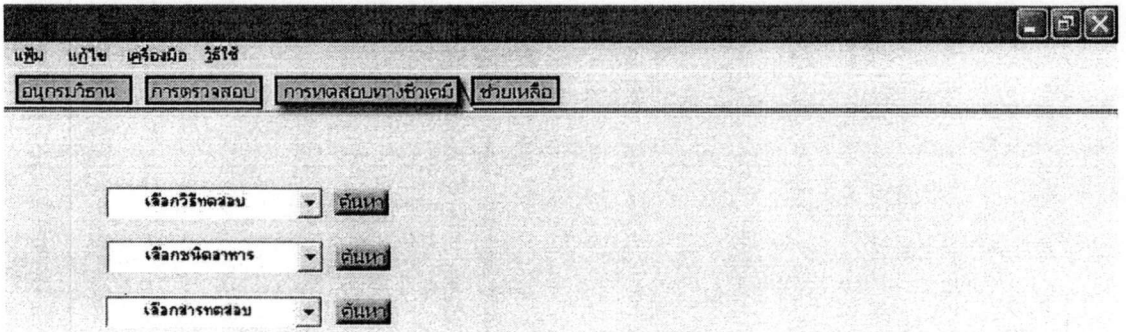


รูปที่ 3.7 รูปแบบเค้าโครงส่วนอนุกรมวิธานของโปรแกรม FBIdent ก่อนสร้างเพื่อใช้งานจริง



รูปที่ 3.8 รูปแบบเค้าโครงส่วนการตรวจสอบของโปรแกรม FBIdent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



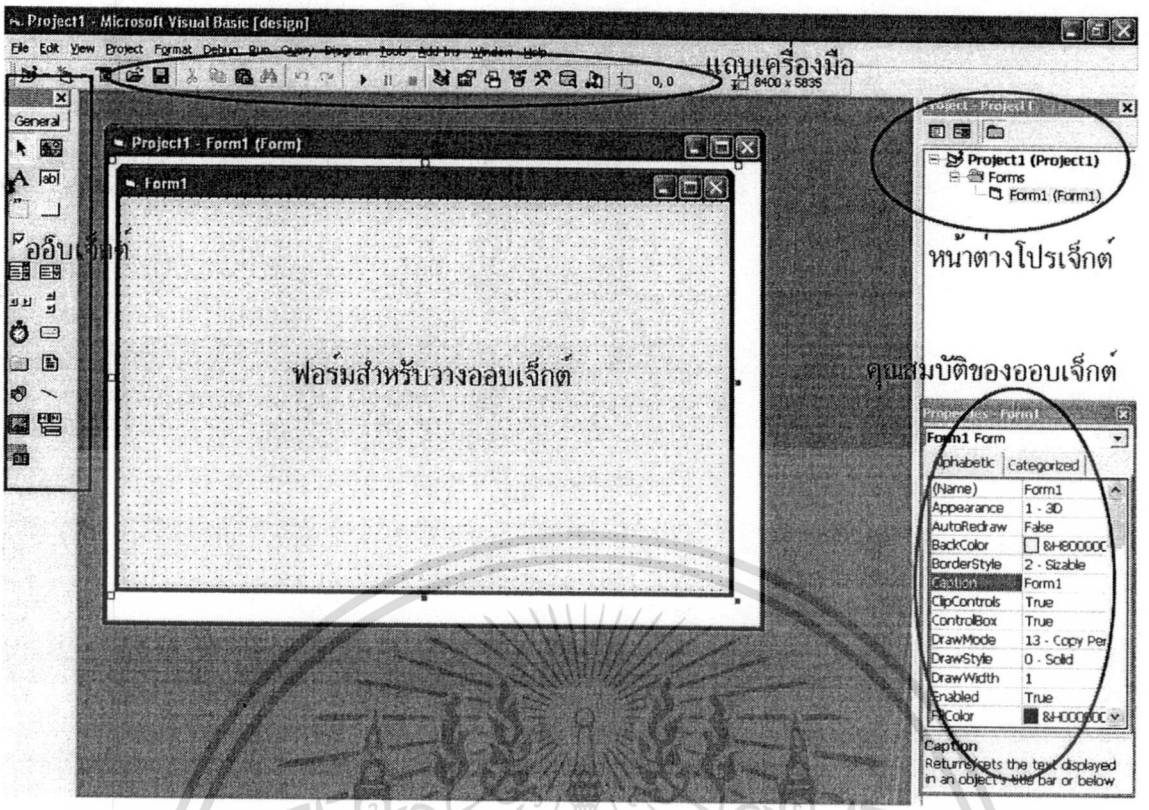
รูปที่ 3.9 รูปแบบเค้าโครงส่วนการทดสอบทางชีวเคมีของโปรแกรม FBIdent

3.3.1 ดำเนินการสร้างแอพพลิเคชันด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0

หลักการทำงานของโปรแกรมนี้ คือการทำงานกับออบเจ็กต์(Object) หรือ แอคทีฟเอ็กซ์คอนโทรล (ActiveX Control) ต่างๆ ที่ประกอบกันขึ้นบนฟอร์ม ดังแสดงในรูปที่ 3.10 โดยการทำงานนั้นจะเป็นลักษณะเหตุการณ์พาไป (Event-Driven) กล่าวคือ "ถ้าเหตุการณ์นี้เกิดขึ้น จะดำเนินการอย่างไรต่อไป" คำว่าเหตุการณ์คือสถานการณ์ที่กำลังจะเกิดขึ้น เช่น การคลิกเม้าส์ (mouse) การวางเมาส์ค้างไว้เหนือออบเจ็กต์ หรือการเลื่อนสกอร์ลบาร์(scrollbar) เป็นต้น ซึ่งออบเจ็กต์แต่ละชนิด จะมีคุณสมบัติและหน้าที่แตกต่างกันออกไป แล้วแต่ลักษณะวัตถุประสงค์ของงานที่ต้องการนำมาใช้ เช่น ออบเจ็กต์ PictureBox ใช้เมื่อต้องการแสดงผลเป็นรูปภาพ ออบเจ็กต์ VScrollBar ใช้เมื่อต้องการสร้างแถบเลื่อนในแนวดิ่งเมื่อข้อมูลที่ต้องการแสดงผลมีเนื้อหามากกว่าที่จะแสดงได้ใน 1 หน้าต่าง และออบเจ็กต์ StatusBar ใช้เมื่อต้องการแสดงสถานะทำงานของโปรแกรมในขณะนั้น เป็นต้น

มีออบเจ็กต์หรือแอคทีฟเอ็กซ์คอนโทรลอีกจำนวนมาก ที่ไม่ได้บรรจุไว้ในกล่องเครื่องมือ (ToolBox) มาตรฐาน หากต้องการเรียกใช้เพิ่มเติม สามารถทำได้โดยการไปที่ Project บนแถบรายการ (MenuBar) แล้วเลือกคอมโพเนนท์ (Component) หรือกดปุ่ม Ctrl+T บนคีย์บอร์ด หรือคลิกขวาที่กล่องเครื่องมือ แล้วเลือกคอมโพเนนท์ จากนั้นสามารถเลือกชุดคอนโทรลได้จากตัวเลือกคอนโทรล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.10 แสดงส่วนประกอบต่างๆของโปรแกรมไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0

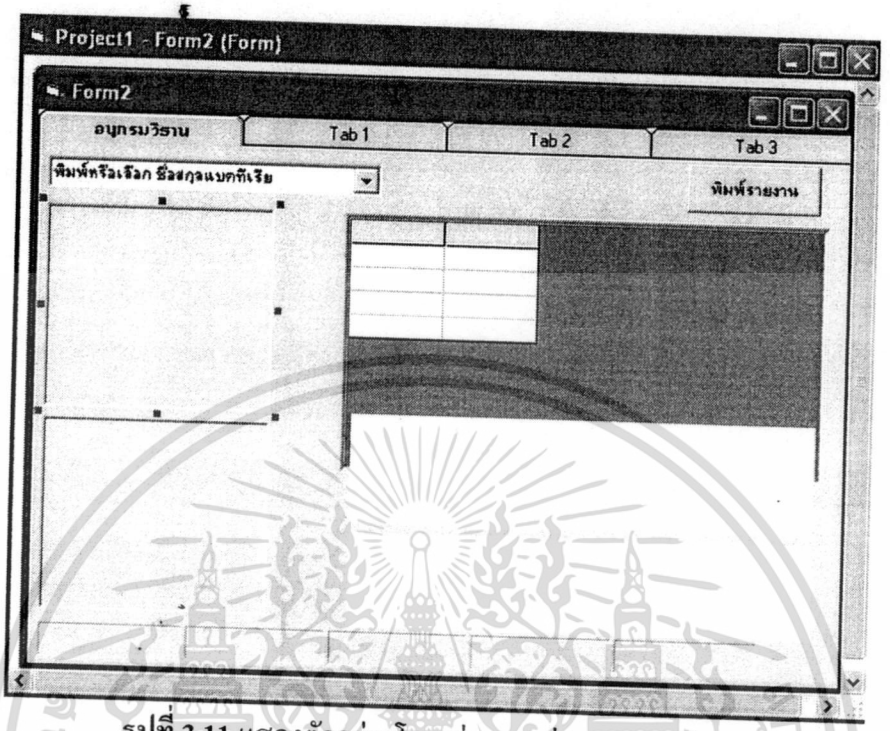
3.3.1.1 ดำเนินการสร้างส่วนอนุกรมวิธาน

เนื่องจากต้องการแบ่งโปรแกรมออกเป็น 4 ส่วนหลัก ดังนั้นจึงเลือกใช้ออบเจ็กต์ SSTab เพื่อจะแสดงข้อมูลหลายหน้าในพื้นที่เดียวกัน ซึ่งหากในกล่องเครื่องมือไม่มีออบเจ็กต์ SSTab สามารถเพิ่มได้โดยคลิกขวาที่กล่องเครื่องมือ เลือกคอมโพเนนท์ หรือกด Ctrl+T ที่คีย์บอร์ด แล้วเพิ่มตัวเลือก Microsoft Tabbed Dialog Control 6.0 (SP3) บนกล่องเครื่องมือ จะปรากฏออบเจ็กต์ SSTab เพิ่มขึ้นมาให้เลือกใช้งาน จากนั้นเพิ่มออบเจ็กต์ต่อไปนี้ ตามลำดับ

- คลิกที่ SSTab แล้วลากเมาส์ (mouse) วางลงบนฟอร์ม กำหนดคุณสมบัติให้ Tab Count และ TabPerRow เป็น 4 ตั้งชื่อ TabCaption เป็น “อนุกรมวิธาน”
- เพิ่ม ComboBox เพื่อใช้เป็นช่องสำหรับพิมพ์ค้นหาแบคทีเรีย โดยพิมพ์คุณสมบัติที่ช่อง Text ว่า “พิมพ์หรือเลือก ชื่อสกุลแบคทีเรีย”
- เพิ่ม PictureBox 2 ช่อง เพื่อใช้แสดงรูปของแบคทีเรียแต่ละชนิด
- เพิ่ม MSFlexGrid เพื่อใช้แสดงอนุกรมวิธานของแบคทีเรีย โดยกำหนดคุณสมบัติให้มี 5 แถว 2 คอลัมน์ ตั้งค่า Fixed Rows เป็น 1 ค่า Fixed Cols เป็น 0
- เพิ่ม WebBrowser 2 ช่อง เพื่อใช้แสดงคุณสมบัติทั่วไปในระดับจีนัสและสปีชีส์
- เพิ่ม CommandButton เพื่อใช้เป็นปุ่มสำหรับพิมพ์รายงาน โดยตั้งชื่อปุ่มที่ Caption ว่า “พิมพ์รายงาน”

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เพิ่ม StatusBar เพื่อใช้แสดงสถานะของโปรแกรม
- เมื่อทำการเพิ่มออบเจ็กต์ต่างๆจนครบ ลักษณะรูปแบบโครงร่างของส่วนอนุกรม-วิธาน จะเป็นดังรูปที่ 3.11



รูปที่ 3.11 แสดงตัวอย่างโครงร่างของส่วนอนุกรมวิธาน

3.3.1.2 ดำเนินการสร้างส่วนการตรวจสอบ

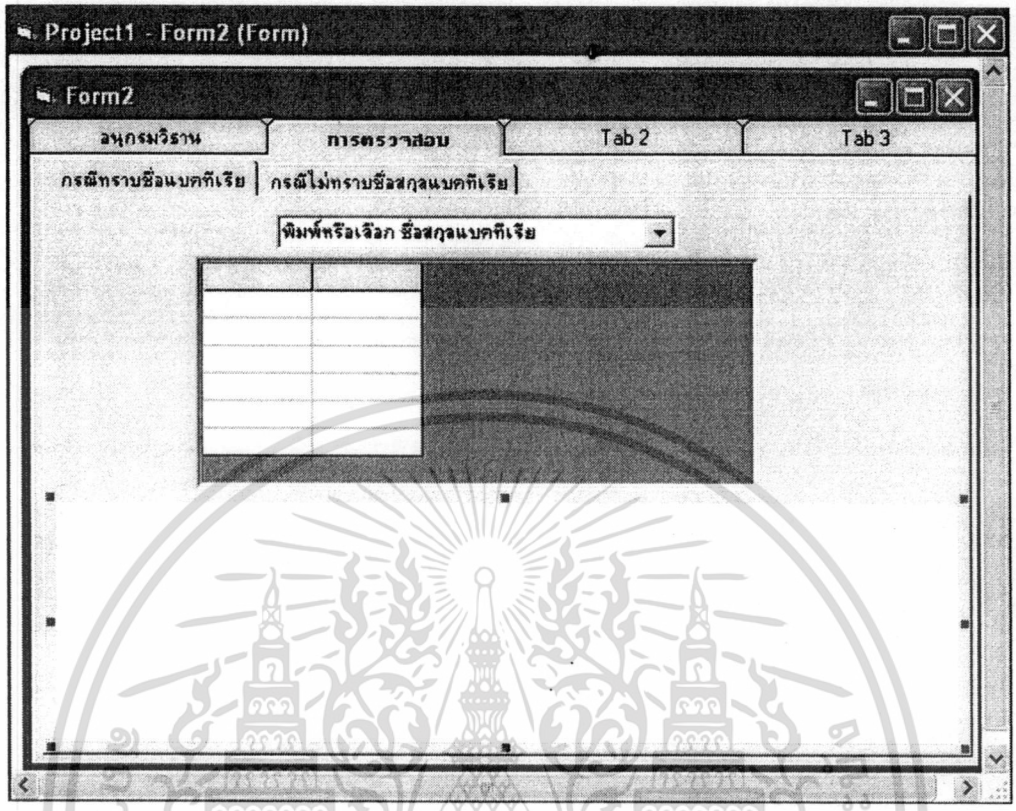
โครงสร้างของโปรแกรมส่วนนี้ นับเป็นส่วนสำคัญที่สุดของโปรแกรม เนื่องจากใช้ในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นจุดมุ่งหมายหลักของโปรแกรม โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนย่อย คือ กรณีทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย และกรณีที่ไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

กรณีทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย ทำการเพิ่มออบเจ็กต์ดังต่อไปนี้

- ตั้งชื่อ Tab ที่ Caption เป็น “การตรวจสอบ”
- คลิกที่ SSTab แล้วลากเมาส์วางลงบนฟอร์มการตรวจสอบ โดยกำหนดคุณสมบัติให้ Tab Count และ TabPerRow เป็น 2 ตั้งชื่อ Current Tab 0 เป็น “กรณีทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย” และตั้งชื่อ Current Tab 1 เป็น “กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย”
- เพิ่ม ComboBox เพื่อใช้เป็นช่องสำหรับพิมพ์ค้นหาแบคทีเรีย โดยพิมพ์คุณสมบัติที่ช่อง Text ว่า “พิมพ์หรือเลือก ชื่อสกุลแบคทีเรีย”
- เพิ่ม MSFlexGrid เพื่อใช้แสดงอนุกรมวิธานของแบคทีเรีย โดยกำหนดคุณสมบัติให้มี 7 แถว 2 คอลัมน์ ตั้งค่า Fixed Rows เป็น 1 ค่า Fixed Cols เป็น 0
- เพิ่ม WebBrowser 1 ช่อง เพื่อใช้แสดงวิธีการตรวจสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เมื่อทำการเพิ่มออบเจ็กต์ต่างๆจนครบ ลักษณะรูปแบบโครงร่างของส่วนการตรวจสอบ จะเป็นดังรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.12 แสดงตัวอย่างโครงร่างของส่วนการตรวจสอบ กรณีทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

กรณีที่ไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย ทำการเพิ่มออบเจ็กต์ดังต่อไปนี้

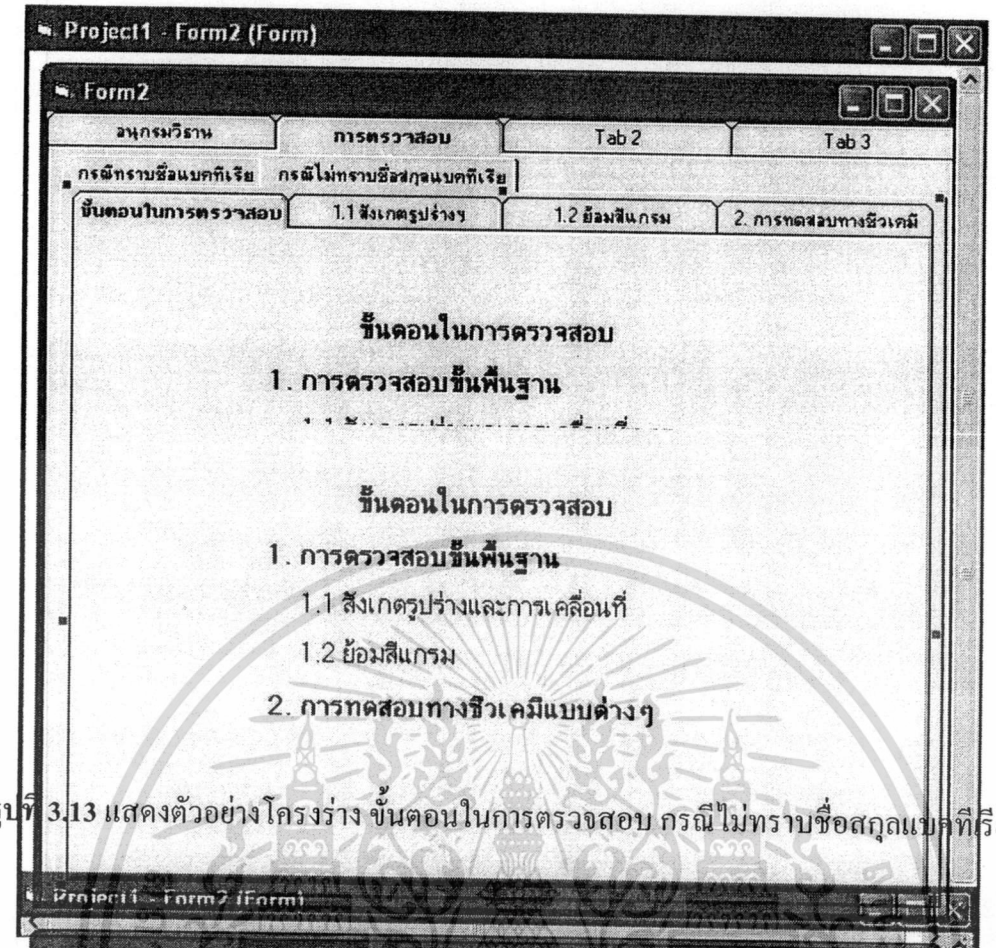
- คลิกที่ SSTab แล้วลากเมาส์วางลงบนฟอร์มการตรวจสอบ กำหนดคุณสมบัติให้ Tab Count และ TabPerRow เป็น 4 ตั้งชื่อ Current Tab 0 เป็น “ขั้นตอนในการตรวจสอบ” โดยตั้งชื่อ Current Tab 1 เป็น “1.1 สังเกตรูปร่างฯ” ตั้งชื่อ Current Tab 2 เป็น “1.2 ย้อมสีแกรม” ตั้งชื่อ Current Tab 3 เป็น “2. การทดสอบทางชีวเคมี ”
- เพิ่ม CommandButton และ TextBox เพื่อใช้อธิบายแสดงขั้นตอนในการตรวจสอบทีละขั้นตอน จนเสร็จสิ้นกระบวนการ
- ที่หน้า 1.1 สังเกตรูปร่างฯ เพิ่ม Label 1 ช่อง โดยพิมพ์ที่ Caption ว่า “1.1 สังเกตรูปร่างฯ”
- ที่หน้า 1.1 สังเกตรูปร่างฯ เพิ่ม ComboBox 2 ช่อง เพื่อใช้สำหรับเลือกผลการทดสอบดูรูปร่าง และการเคลื่อนที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

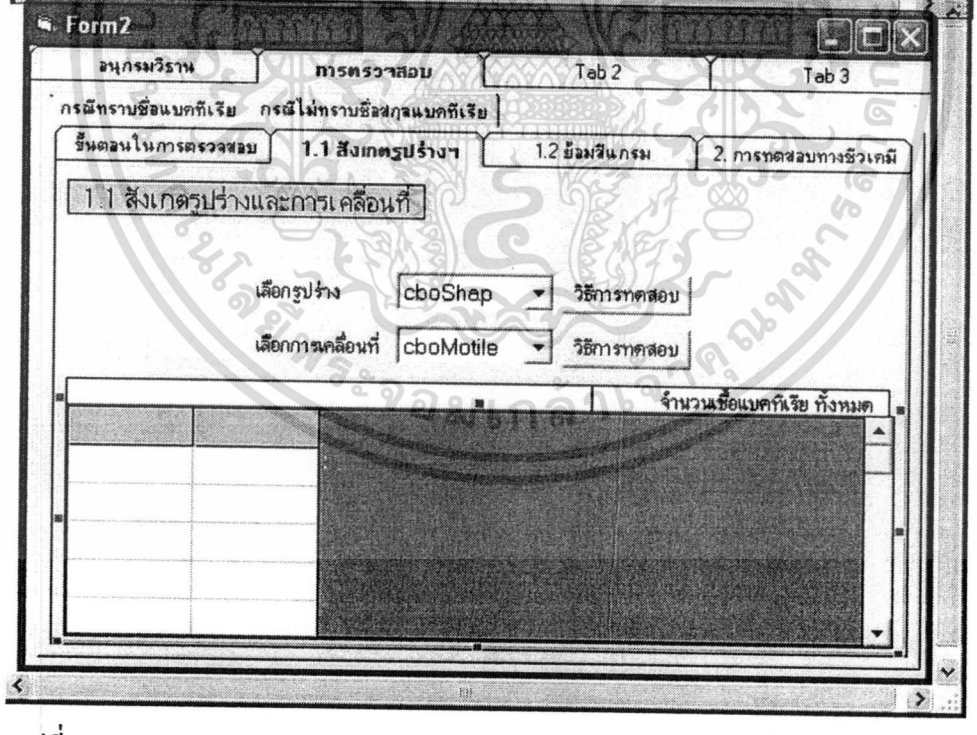
- ที่หน้า 1.1 สังเกตรูปร่างฯ เพิ่ม CommandButton 2 ปุ่ม เพื่อใช้คลิกดูวิธีการทดสอบ โดยตั้ง Caption เป็น "วิธีการทดสอบ"
- ที่หน้า 1.1 สังเกตรูปร่างฯ เพิ่ม Label 2 ช่อง เพื่อระบุหน้าที่ของ ComboBox โดยตั้ง Caption เป็น "เลือกรูปร่าง" และ "เลือกการเคลื่อนที่"
- ที่หน้า 1.1 สังเกตรูปร่างฯ เพิ่ม Label อีก 2 ช่อง เพื่อใช้เป็นหัวตาราง และแสดงผลการทดสอบ รวมไปถึงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ที่เหลืออยู่จากการทดสอบ
- ที่หน้า 1.1 สังเกตรูปร่างฯ เพิ่ม MSFlexGrid เพื่อใช้แสดงชื่อสกุลจนถึงระดับสายพันธุ์ของแบคทีเรียทั้งหมดที่เหลืออยู่จากการทดสอบ โดยกำหนดคุณสมบัติให้มี 9 แถว 2 คอลัมน์ ตั้งค่า Fixed Rows เป็น 1 ค่า Fixed Cols เป็น 0
- ที่หน้า 1.2 ย้อมสีแกรม เพิ่ม Label 1 ช่อง โดยพิมพ์ที่ Caption ว่า "1.2 ย้อมสีแกรม"
- ที่หน้า 1.2 ย้อมสีแกรม เพิ่ม ComboBox 1 ช่อง เพื่อใช้สำหรับเลือกผลการทดสอบดูการย้อมสีแกรมของแบคทีเรีย
- ที่หน้า 1.2 ย้อมสีแกรม เพิ่ม CommandButton 1 ปุ่ม เพื่อใช้คลิกดูวิธีการทดสอบ โดยตั้ง Caption เป็น "วิธีการทดสอบ"
- ที่หน้า 2. การทดสอบทางชีวเคมี เพิ่ม Label 1 ช่อง โดยพิมพ์ที่ Caption ว่า "2. การทดสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ"
- ที่หน้า 2. การทดสอบทางชีวเคมี เพิ่ม MSFlexGrid เพื่อใช้แสดงรายชื่อวิธีการทดสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ รวมไปถึงผลการทดสอบ โดยกำหนดคุณสมบัติให้มี 18 แถว 2 คอลัมน์ ตั้งค่า Fixed Rows เป็น 1 ค่า Fixed Cols เป็น 0
- ที่หน้า 2. การทดสอบทางชีวเคมี เพิ่ม CommandButton เพื่อใช้เป็นปุ่มสำหรับพิมพ์รายงาน โดยตั้งชื่อปุ่มที่ Caption ว่า "พิมพ์รายงาน"
- เมื่อทำการเพิ่มออบเจ็กต์ต่างๆจนครบสมบูรณ์ จะได้ลักษณะรูปแบบโครงร่างของส่วนการตรวจสอบกรณีไม่ทราบชื่อแบคทีเรีย ดังรูปที่ 3.13 3.14 3.15 และ 3.16 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คพ พพ คข

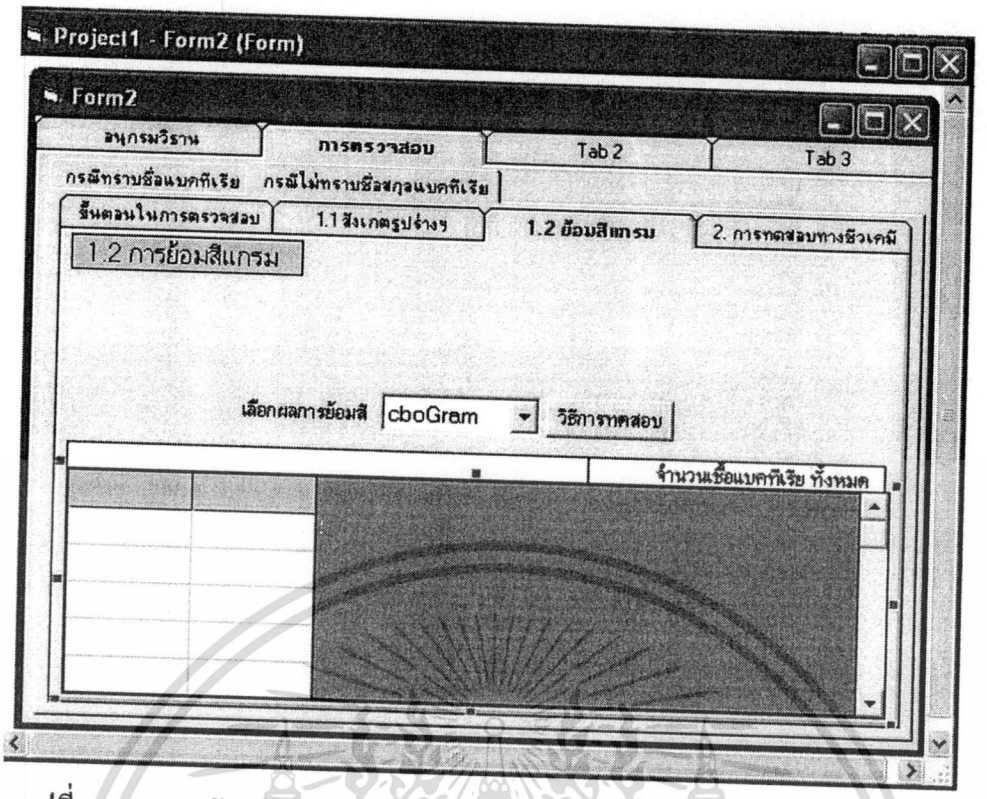


รูปที่ 3.13 แสดงตัวอย่างโครงร่าง ขั้นตอนในการตรวจสอบ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

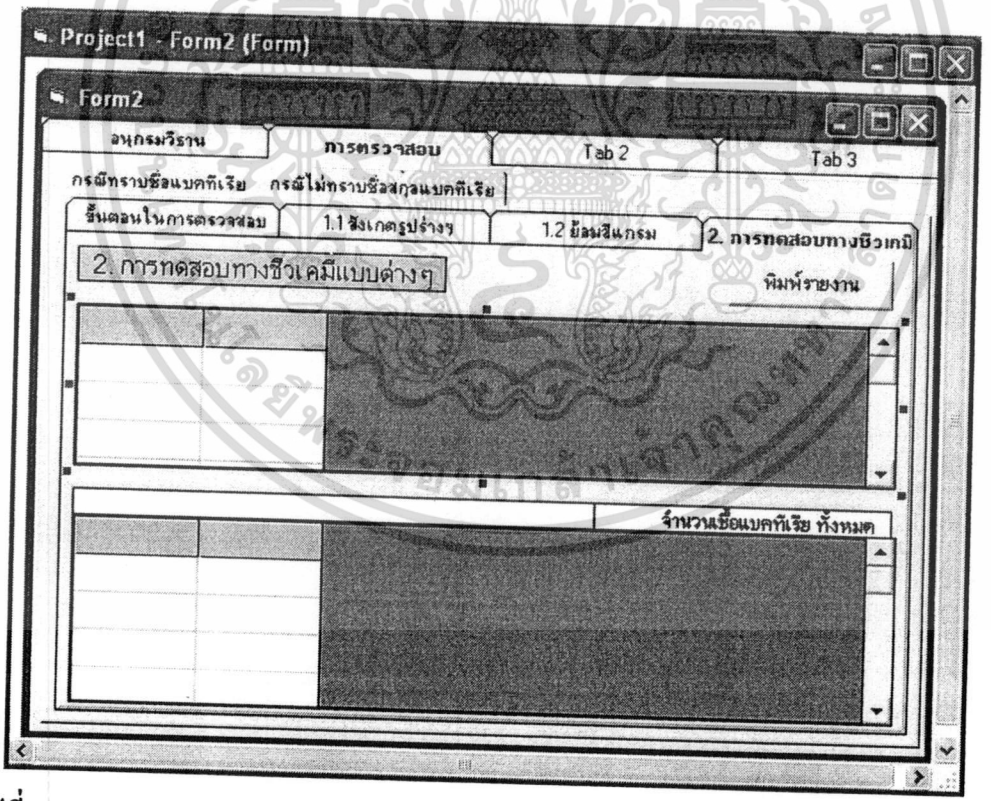


รูปที่ 3.14 แสดงตัวอย่างโครงร่าง 1.1 สังเกตรูปร่างฯ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.15 แสดงตัวอย่างโครงร่าง 1.2 ย้อมสีแกรม กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย



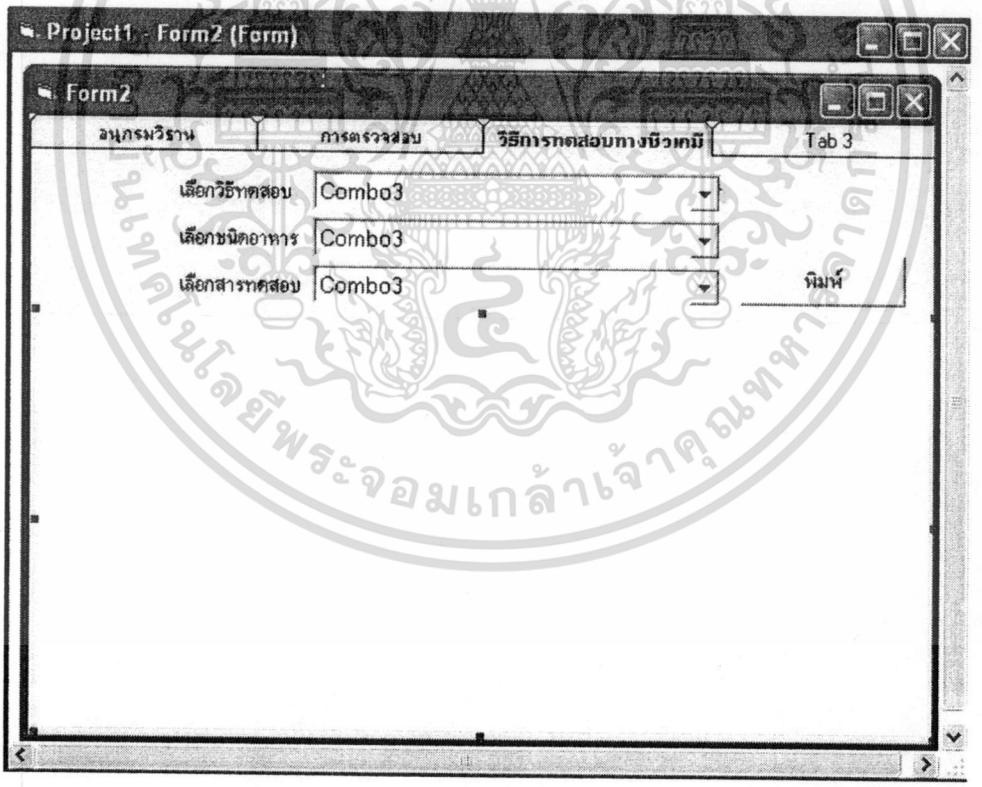
รูปที่ 3.16 แสดงตัวอย่างโครงร่าง 2. การทดสอบทางชีวเคมี กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.3 ดำเนินการสร้างส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี

โปรแกรมส่วนนี้ จะทำหน้าที่ช่วยเหลือเรื่องวิธีการทดสอบทางชีวเคมี วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธีการเตรียมสารทดสอบ ซึ่งต้องมีการเพิ่มออบเจ็กต์ดังต่อไปนี้

- ตั้งชื่อ Tab ที่ Caption เป็น "วิธีการทดสอบทางชีวเคมี"
- เพิ่ม ComboBox 3 ช่อง เพื่อใช้สำหรับเลือกวิธีการทดสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธีการเตรียมสารทดสอบ
- เพิ่ม CommandButton 3 ปุ่ม เพื่อใช้คลิกดูวิธีการทดสอบ โดยตั้ง Caption เป็น "วิธีการทดสอบ"
- เพิ่ม CommandButton เพื่อใช้เป็นปุ่มสำหรับพิมพ์รายงาน โดยตั้งชื่อปุ่มที่ Caption ว่า "พิมพ์"
- เพิ่ม WebBrowser 1 ช่อง เพื่อใช้แสดงวิธีการทดสอบทางชีวเคมี วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือวิธีการทดสอบ ตามที่เลือกไว้ใน ComboBox
- เมื่อทำการเพิ่มออบเจ็กต์จนครบ ลักษณะรูปแบบโครงร่างของส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี จะเป็นดังรูปที่ 3.17

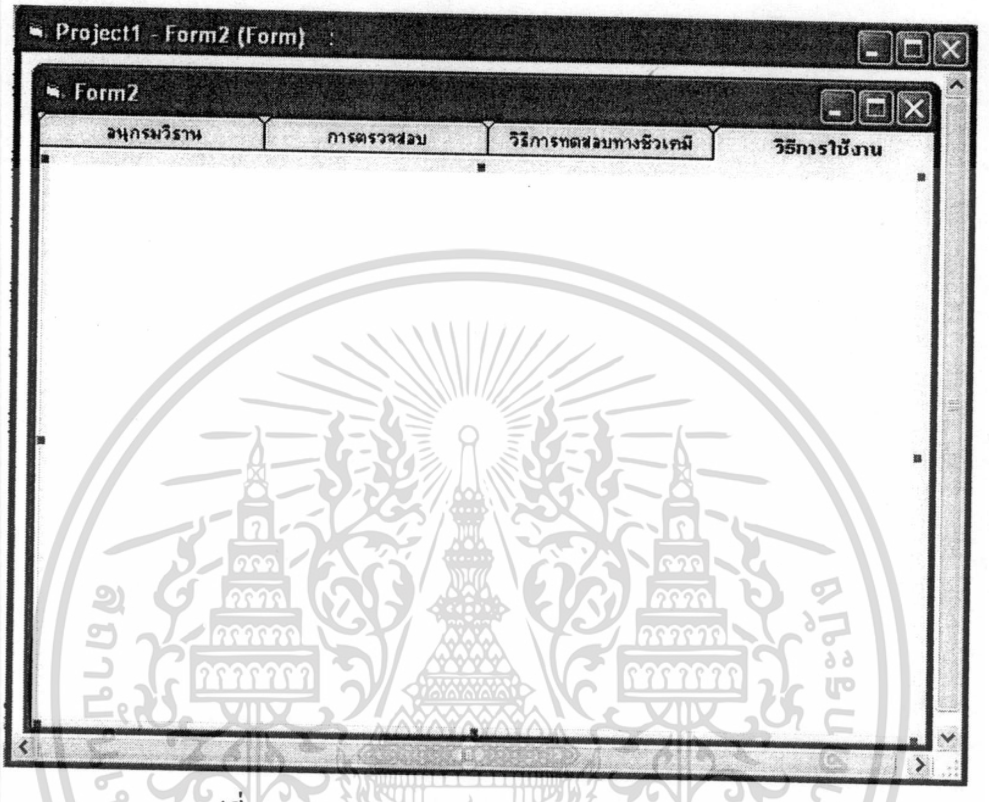


รูปที่ 3.17 แสดงตัวอย่างโครงร่าง ส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี

3.3.1.4 ดำเนินการสร้างส่วนวิธีการใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนนี้จะทำหน้าที่อธิบายวิธีการใช้งานโปรแกรม เพื่อการใช้งานอย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีการเพิ่มออบเจ็กต์เพียงตัวเดียวคือ WebBrowser เพื่อใช้ในการแสดงผลเอกสารที่เป็นถาวรเวป ใช้ชื่อว่า Help.mht ซึ่งเก็บอยู่ในโฟลเดอร์ชื่อ HELP ทำการตั้งชื่อ Tab ที่ Caption เป็น "วิธีการใช้งาน" ซึ่งจะมีลักษณะโครงร่างดังรูปที่ 3.18



รูปที่ 3.18 แสดงตัวอย่างโครงร่าง ส่วนวิธีการใช้งาน

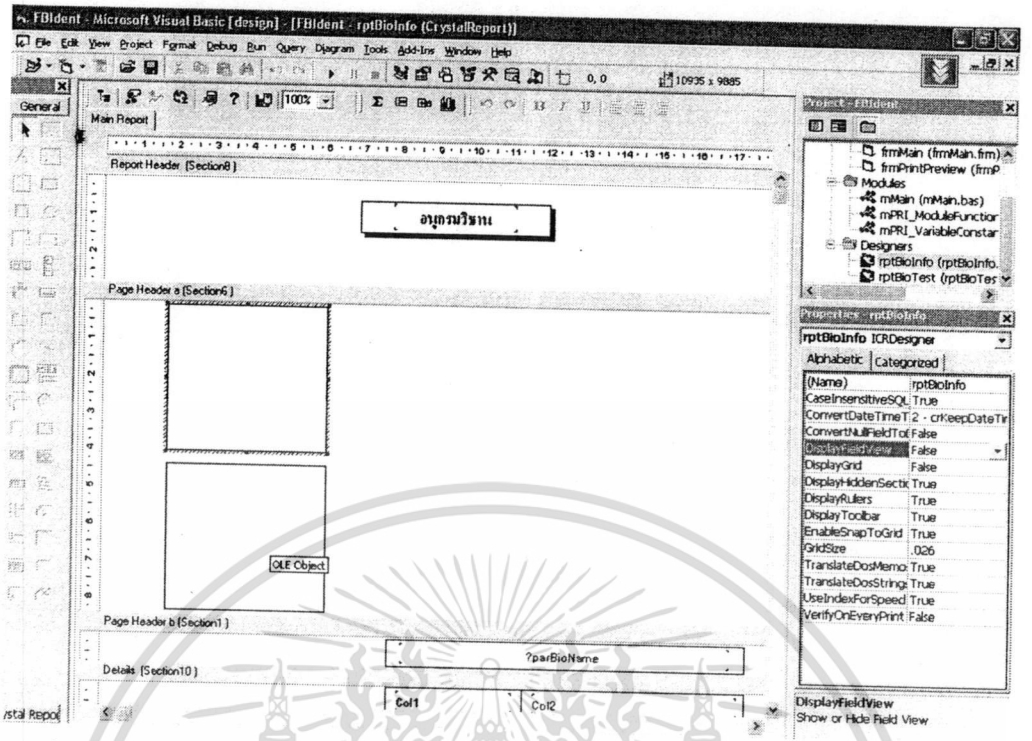
3.3.2 องค์ประกอบเพิ่มเติม

ในการแสดงผลวิธีการทดสอบทางชีวเคมี ในส่วนของการตรวจสอบนั้น มีปัญหาเนื่องมาจากเนื้อที่ในการวางออบเจ็กต์ไม่เพียงพอ ดังนั้นจึงสร้างฟอร์มขึ้นมาใหม่อีก 1 ฟอร์ม ตั้งชื่อฟอร์มเป็น "frmBioTestHelp" โดยเพิ่มออบเจ็กต์ WebBrowser อีก 1 ช่อง เพื่อให้ส่วนนี้ทำหน้าที่แสดงวิธีการทดสอบทางชีวเคมี ตั้งค่า Caption เป็น "วิธีการทดสอบ"

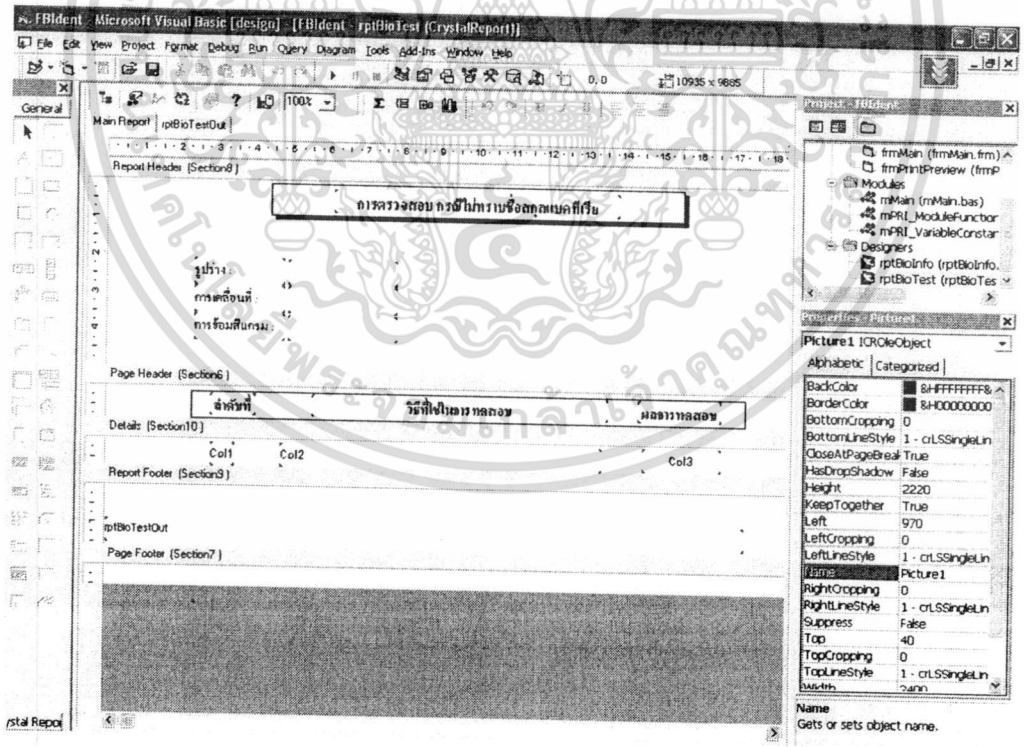
สร้างฟอร์มขึ้นอีก 1 ฟอร์ม ตั้งชื่อเป็น "frmPrintPreview" และกำหนด Caption เป็น "ดูก่อนพิมพ์" เพื่อใช้ในการพิมพ์รายงานผล โดยการเพิ่มออบเจ็กต์ CRViewer 1 ช่อง

สร้างแบบฟอร์มดีไซเนอร์ในการพิมพ์รายงานขึ้นอีก 2 หน้า เพื่อทำงานร่วมกับปุ่ม "พิมพ์รายงาน" ในส่วนของอนุกรมวิธาน และปุ่ม "พิมพ์" ในส่วนของวิธีการทดสอบทางชีวเคมี โดยเลือก Project ที่แถบเมนูบาร์ เพิ่ม Crystal Report 8.5 แล้วเลือกใช้ Blank Report จากนั้นทำการออกแบบฟอร์มดีไซเนอร์จนได้ดังรูปที่ 13.19 และ 13.20 ตั้งชื่อฟอร์มดีไซเนอร์เป็น "rptBioInfo" และ "rptBioTest" ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.19 รูปแบบพิมพ์รายงานในหน้าอนุกรมวิธาน โดยใช้โปรแกรมคริสตัลรีพอร์ท 8.5



รูปที่ 3.20 รูปแบบพิมพ์รายงานในหน้าการตรวจสอบ โดยใช้โปรแกรมคริสตัลรีพอร์ท 8.5

3.3.3 การเรียกใช้เมธอด (Method) ของออบเจ็กต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อออกแบบการวางออบเจ็กต์บนฟอร์มทั้งหมด และกำหนดคุณสมบัติแต่ละคอนโทรลเสร็จสิ้น ขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่ง คือ การเรียกใช้เมธอด (Method) ของออบเจ็กต์ เป็นการเขียนโค๊ด (Code) เพื่อจัดการกับเหตุการณ์ต่างๆที่จะเกิดขึ้นกับออบเจ็กต์ เช่น เมื่อคลิกปุ่มวิธีการทดสอบ ก็จะมีโค๊ดจำนวนหนึ่งที่ทำหน้าที่แปลผลจากเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นกับออบเจ็กต์ และเริ่มทำงานตามคำสั่งด้วยการเข้าสู่ฐานข้อมูล เพื่อดึงรายละเอียดของวิธีการทดสอบทางชีวเคมีออกมาแสดงผลบนโปรแกรม เป็นต้น และเนื่องจากมีฟอร์มมากกว่า 1 ฟอร์ม จึงมีการเพิ่มโมดูล (Modules) เพื่อประกาศค่าตัวแปร (Variable Declaration) ซึ่งจะช่วยให้เกิดความสะดวกต่อการเรียกใช้งานมากยิ่งขึ้น โดยจะประกอบไปด้วย 3 โมดูล ได้แก่ mMain, mPRI_ModuleFunction และ mPRI_VariableConstant

3.3.4 ตัวอย่างเหตุการณ์และโค๊ดคำสั่งที่สำคัญในโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0

เนื่องจากการเขียนโค๊ด หรือชุดคำสั่งเพื่อจัดการกับเหตุการณ์ที่จะเกิดขึ้นกับออบเจ็กต์ต่างๆ มีเป็นจำนวนมาก ในที่นี้จะยกตัวอย่างบางเหตุการณ์ที่สำคัญ หรือการทำงานหลักของโปรแกรมบางขั้นตอนเท่านั้น

```
Public Sub gSetConnection()
    Set gcnnMain = New ADODB.Connection
    gcnnMain.Mode = adModeReadWrite
    gcnnMain.CursorLocation = adUseClient
    gcnnMain.Open "Provider=Microsoft.Jet.OLEDB.4.0;Data Source=" & App.Path &
"\" & "FBIdent_Database.mdb;Persist Security Info=False;Jet OLEDB:Database
Password=Password"
End Sub
```

เป็นชุดคำสั่ง เพื่อให้โปรแกรมติดต่อกับฐานข้อมูลชื่อ FBIdent_Database.mdb ซึ่งถูกจัดเก็บอยู่ในโฟลเดอร์ของแอพพลิเคชัน โดยใช้รูปแบบการติดต่อแบบ ADO (ActiveX Data Object)

```
' Define Global Constant
Public Const gconBacteriaPictureLocation = "\PICTURE\"
Public Const gconBacteriaDescLocation = "\DESCRIPTION\"
Public Const gconBacteriaBiochemTestLocation = "\BIOCHEM_TEST\"
Public Const gconBacteriaMediaLocation = "\MEDIA\"
Public Const gconBacteriaReagentLocation = "\REAGENT\"
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Public Const gconColorData = &H404080
Public Const gconShapeVibrioid = "โค้งงอ(Vibrioid)"
Public Const gconShapeRod = "ท่อน (Rods)"
Public Const gconShapeCocci = "กลม (Cocci)"
Public Const gconShapeUnknow = "ไม่มีข้อมูล"
Public Const gconMotile = "เคลื่อนที่"
Public Const gconMotileNo = "ไม่เคลื่อนที่"
Public Const gconMotileUnknow = "ไม่เคลื่อนที่"
Public Const gconGramPositive = "บวก"
Public Const gconGramNegative = "ลบ"
Public Const gconGramUnknow = "ไม่มีข้อมูล"
```

เป็นชุดคำสั่งที่ใช้ประกาศค่าตัวแปรที่ใช้ในฟอร์มและโมดูล โดยระบุที่อยู่ของไฟล์เอกสารต่างๆ รวมไปถึง การแสดงผลตัวแปรบนโปรแกรม อย่างเช่น gconBacteriaPictureLocation หมายถึงโฟลเดอร์ PICTURE ซึ่งใช้เก็บไฟล์รูปภาพของแบคทีเรีย เป็นต้น

```
Private Sub cboBiochemTest_Click()
    Dim strFileName As String
    'แสดงข้อมูลวิธีทดสอบ
    If cboBiochemTest.ListIndex = -1 Then Exit Sub
    cboMedia.ListIndex = -1
    cboReagent.ListIndex = -1
    strFileName = App.Path & gconBacteriaBiochemTestLocation & cboBiochemTest &
        ".MHT"
    gShowHTML WebBrowser1(4), strFileName
    Label3 = strFileName
End Sub
```

เป็นชุดคำสั่งที่กำหนดให้ เมื่อผู้ใช้งานคลิกปุ่มวิธีการทดสอบ (cboBiochemTest) โปรแกรมจะแสดงรายการวิธีการทดสอบทางชีวเคมีทั้งหมดในโฟลเดอร์ BIOCHEM_TEST ที่มีนามสกุลMHT ซึ่งถูกจัดเก็บตามที่ได้ระบุไว้ในการประกาศค่าตัวแปร โดยจะแสดงผลออกมาเป็นแบบเอกสารเวป

```
Private Sub mShowBacteriaInfo(ByVal plngID As Long)
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
        On Error Resume Next
        Dim rstTemp As ADODB.Recordset
        Dim lngJ As Long
        Set rstTemp = gOpenRecordSetReadOnly(gcnnMain, "Select * From [Primary
identification] Where ID = " & plngID)
        Image1 = LoadPicture()
        Image2 = LoadPicture()
        gShowHTML WebBrowser1(0), ""
        gShowHTML WebBrowser1(1), ""
        cboBacteria(0).Tag = cboBacteria(0)
        With msgMain
          If rstTemp.RecordCount = 0 Then
            .TextMatrix(0, 0) = " "
            .TextMatrix(0, 1) = " "
            For lngJ = 1 To .Rows
              .TextMatrix(lngJ, 1) = ""
            Next
          Else
            .TextMatrix(0, 0) = frmMain.cboBacteria(0)
            .TextMatrix(0, 1) = frmMain.cboBacteria(0)
            .TextMatrix(1, 1) = gMoveDatabaseToString(rstTemp.Fields("PHYLUM"))
            .TextMatrix(2, 1) = gMoveDatabaseToString(rstTemp.Fields("CLASS"))
            .TextMatrix(3, 1) = gMoveDatabaseToString(rstTemp.Fields("ORDER"))
            .TextMatrix(4, 1) = gMoveDatabaseToString(rstTemp.Fields("FAMILY"))
            .TextMatrix(5, 1) = gMoveDatabaseToString(rstTemp.Fields("GENUS"))
            .TextMatrix(6, 1) = gMoveDatabaseToString(rstTemp.Fields("SPECIES"))
            .TextMatrix(7, 1) = gMoveDatabaseToString(rstTemp.Fields("SUB SPECIES"))
            .TextMatrix(8, 1) = gMoveDatabaseToString(rstTemp.Fields("STRAINS"))
'           .TextMatrix(9, 1) = gGetTextFile(gconBacteriaDescLocation &
rstTemp.Fields("ID") & ".doc")
'           .TextMatrix(10, 1) = gGetTextFile(gconBacteriaDescLocation &
rstTemp.Fields("ID") & "_SPC.doc")
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
            gShowHTML WebBrowser1(0), App.Path & gconBacteriaDescLocation &
rstTemp.Fields("ID") & ".MHT"
            gShowHTML WebBrowser1(1), App.Path & gconBacteriaDescLocation &
rstTemp.Fields("ID") & "_SPC.MHT"
            Image1 = LoadPicture(App.Path & gconBacteriaPictureLocation &
rstTemp.Fields("ID") & "_1.jpg")
            Image2 = LoadPicture(App.Path & gconBacteriaPictureLocation &
rstTemp.Fields("ID") & "_2.jpg")
          End If
        End With
        mEnabledScreenField
        Set rstTemp = Nothing
    End Sub
```

เป็นชุดคำสั่งที่ใช้แสดงผลในหน้าอนุกรมวิธานของโปรแกรม เมื่อมีคำสั่งให้แสดงข้อมูลของแบคทีเรีย โปรแกรมจะค้นหาแบคทีเรียที่มีรหัสตรงกับชื่อแบคทีเรียที่พิมพ์ลงไปจากตาราง Primary identification ในฐานข้อมูล จากนั้นจะทำการดึงข้อมูลในฟิลด์ (field) เดียวกันกับรหัสแบคทีเรีย ซึ่งประกอบไปด้วย ไฟลัม คลาส ออร์เดอร์ แฟมิลี จีนัส สปีชีส์ สับสปีชีส์ และสายพันธุ์ และดึงภาพของแบคทีเรียออกมาชนิดละ 2 ภาพ ซึ่งเป็นไฟล์ชื่อ (รหัสของแบคทีเรีย)_1.jpg และ (รหัสของแบคทีเรีย)_2.jpg รวมไปถึงข้อมูลคุณสมบัติเฉพาะในระดับจีนัสและสปีชีส์ ซึ่งไม่ได้ทำการเก็บไว้ในฐานข้อมูล โดยแสดงผลออกมาเป็นเอกสารเวป

3.4 การนำโปรแกรมไปใช้งาน

หลังจากทำการเขียนโค๊ดชุดคำสั่ง เพื่อกำหนดหน้าที่ในการทำงานของออบเจ็กต์จนครบทุกออบเจ็กต์ สามารถทดสอบดูการทำงานของโปรแกรมได้โดยการคลิกที่ปุ่มเริ่ม (statrt) บนแถบเครื่องมือ (Toolbar) หากพบข้อผิดพลาดระหว่างการทำงานของโปรแกรม สามารถตรวจสอบแก้ไขความผิดปกติของโปรแกรม ด้วยการใช้คำสั่งดีบั๊ก (Debug) แบบ “Step Into” หรือกด F8 ที่คีย์บอร์ดได้ โดยหลังจากตรวจสอบการทำงานของโปรแกรมแล้ว อาจจะมีการปรับแต่งรูปแบบโปรแกรมบางอย่าง เพื่อความสวยงาม และสะดวกต่อการใช้งานยิ่งขึ้น ต่อจากนั้นจึงจะเข้าสู่ขั้นตอนสุดท้ายคือการสร้างไฟล์เอ็กซ์คิวต์ (.EXE) เพื่อนำโปรแกรมที่สร้างขึ้นไปใช้งานได้โดยไม่ต้องเรียกผ่านโปรแกรมไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 วิธีการคือเลือกแฟ้ม (File) ที่แถบรายการ แล้วเลือก Make FBIdent.exe จากนั้นนำไฟล์ FBIdent.exe ที่ได้ ไปสร้างไฟล์สำหรับติดตั้งโปรแกรม โดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรแกรมอินสตอลชิลด์เอ็กซ์เพรส 2.11 ซึ่งต้องกำหนดค่าในการติดตั้งอย่างถูกต้อง จึงจะนำโปรแกรมไปใช้งานได้อย่างสมบูรณ์

3.5 การนำจุลินทรีย์มาทดสอบความถูกต้องของโปรแกรม FBI dentเวอร์ชัน 1.0

3.5.1 แบคทีเรียแกรมลบ

3.5.1.1 เก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์

รวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์แกรมลบที่มีในโปรแกรม FBIdent เวอร์ชั่น 1.0 จากแหล่งเก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ ดังนี้

- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)
  1. *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข
  1. *Aeromonas caviae*
  2. *Enterobacter intermedius*
  3. *Edwardsiella tarda*
  4. *Hafnia alvei*
  5. *Morganella morganii*
  6. *Providencia rettgeri*
  7. *Shigella sonnei*
- ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
  1. *Salmonella anotum*
  2. *Salmonella enteritidis* DMST 10633
  3. *Salmonella lexington* DMST 4412
  4. *Serratia* sp.
  5. *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216
  6. *Escherichia coli*

นำจุลินทรีย์มาทำการแยกให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์ โดยลาก (Streak) บนอาหารแข็งนิวเตรียนท์ (Nutrient agar) นำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้มาใช้ในการศึกษาต่อ

3.5.1.2 การเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรีย

ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop) เขี่ยเชื้อจำนวน 1 ลูป แล้วลาก (Streak) ลงบนอาหารแข็งที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียในหลอดทดลอง นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญของแบคทีเรีย เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นใช้พาราฟิล์มพันทับปิดปากหลอดทดลองให้สนิท เก็บหลอดทดลองดังกล่าวไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารใหม่ (Subculture) ทุกๆ 2 สัปดาห์ และทุกครั้งก่อนทำการทดสอบ

3.5.1.3 การตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ขั้นพื้นฐาน

3.5.1.3.1 ศึกษารูปร่างของจุลินทรีย์และการติดสีแกรม

นำแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารแข็งนิวเตรียนท์ (Nutrient agar) อายุ 24 ชั่วโมง มาย้อมแกรมโดยใช้สไลด์ และกระจกปิดสไลด์ที่สะอาด หยดน้ำกลั่นลงบนแผ่นสไลด์ 1 หยด ในปริมาณเล็กน้อย ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อจากหลอดทดลองในปริมาณเล็กน้อย นำเชื้อที่ติดมากับปลายลวดลงผสมกับหยดน้ำกลั่นบนแผ่นสไลด์ เกลี่ยเชื้อที่ต้องการย้อมบนสไลด์ ทิ้งให้แห้งแล้วจึงนำไปลนผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง เพื่อให้เซลล์เชื้อติดกับสไลด์ เตรียมสไลด์แบบนี้เชื้อละแผ่น หยดสารละลายคริสตัลไวโอเล็ต (Crystal violet solution) ลงบนเชื้อที่เกลี่ย 1-2 นาที ระวังอย่าให้สีแห้ง เทสีที่เหลือค้างบนสไลด์ทิ้งลงอ่างน้ำ แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดโดยปล่อยให้น้ำผ่านเบาๆ แล้วหยดสารละลายแกรมไอโอดีนให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้นาน 1 นาที เทสารละลายแกรมไอโอดีนทิ้ง ล้างผ่านน้ำ ชะสีออกด้วยสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (95% Ethyl Alcohol) นานประมาณ 30 วินาที แล้วล้างผ่านด้วยน้ำสะอาดทันที จากนั้นซับด้วยกระดาษซับ แล้วย้อมทับด้วยสารละลายซาฟรานิน (Safranin Solution) (ภาคผนวก ข) ให้ท่วมรอยสเมียร์นาน 1 นาที เทสีทิ้ง ล้างผ่านน้ำเบาๆ ซับด้วยกระดาษซับ วางทิ้งให้แห้ง แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้ Oil Immersion Objective ให้แสงจ้ามากๆ ถ่ายบันทึกรูปแบคทีเรียที่เห็นบนสไลด์แต่ละแผ่น ดูรูปร่าง การจัดเรียงตัวของเซลล์ และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย การติดสีแตกต่างกันมีประโยชน์ในการแยกพวกแบคทีเรีย เพราะการที่มีปฏิกิริยาต่อสีไม่เหมือนกัน ย่อมแสดงว่าส่วนประกอบทางเคมีของแบคทีเรียชนิดนั้นแตกต่างกัน

ผลบวก เซลล์ติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเล็ตจัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก

ผลลบ เซลล์ติดสีแดงของซาฟานินจัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

3.5.1.3.2 การทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility Test)

ปลูกเชื้อลงบนอาหารทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility medium) โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อปลายตรงที่ฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อแต่ละชนิดแทงลงในอาหารตรงๆ ลึกประมาณ 3/4 ของอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง ถ้าเชื้อสามารถเคลื่อนที่ได้จะมีรอยการเจริญออกจากรอยที่แทงไว้ ถ้าต้องการทดสอบเพื่อให้เห็นลักษณะการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อได้อย่างชัดเจน จะต้องเติม 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อแบคทีเรียเจริญทวีจำนวน จะนำ TTC ซึ่งไม่มีสีเข้าสู่เซลล์ แล้วรีดิวส์ TTC เป็นตะกอนของเม็ดสีแดง (Formazan pigment) ให้เห็นตรงบริเวณที่มีการเจริญของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลบวก เชื้อเจริญไปจากแนวที่แทงกระจายไปทั่วหลอด

ผลลบ เชื้อเจริญเฉพาะบริเวณแนวที่แทง

3.5.1.4 การทดสอบทางชีวเคมี

3.5.1.4.1 การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส (Catalase Test)

ปลูกเชื้อลงในอาหารแข็งนิวเตรียนท์ (Nutrient agar) บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเกลี่ยลงบนสไลด์ที่สะอาด แล้วหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3 % H_2O_2) ถ้ามีฟองแก๊สเกิดขึ้นแสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสได้ให้ผลเป็นบวกแต่ถ้าไม่มีฟองแก๊สเกิดขึ้นแสดงว่าเชื้อไม่สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสได้ให้ผลเป็นลบ การทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลสต้องใช้เชื้อที่มีอายุ 18-24 ชั่วโมง เพราะเอนไซม์แคตาเลสจะมีอยู่เฉพาะในเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น ดังนั้น ผลลบปลอม (false negative reaction) อาจเกิดขึ้นได้หากใช้เชื้อที่มีอายุเกิน 24 ชั่วโมง และไม่ควรใช้เชื้อที่เลี้ยงจากอาหารที่มีเลือดผสม เพราะในเม็ดเลือดแดงมีเอนไซม์แคตาเลส จึงอาจให้ผลบวกปลอม (false negative reaction)

ผลบวก เกิดฟองแก๊ส

ผลลบ ไม่เกิดฟองแก๊ส

3.5.1.4.2 การทดสอบความสามารถในการสร้างอินโดล (Indole Test)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลวทริปโตน (Tryptone broth) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทดสอบการสร้างอินโดลโดยหยดสารละลายโคแวคส์ (Kovac's reagent) (ภาคผนวก ข) 1-2 หยด ถ้ามีวงแหวนสีชมพูอมม่วงหรือสีแดงเกิดที่ผิวหน้าแสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ Tryptophanase ย่อยทริปโตเฟนในอาหารได้อินโดล

ผลบวก เกิดสีแดงที่ผิวชั้นบน

ผลลบ ไม่เกิดสี

3.5.1.4.3 การทดสอบเมทิลเรด (Methyl Red Test)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเอ็มอาร์-วีพี (MR-VP medium) บ่มที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยหยดสารละลายเมทิลเรด (Methyl red reagent) 5-6 หยดลงไปต่อปริมาตรอาหาร 5 มิลลิลิตรที่มีเชื้อ ถ้าเกิดสีแดงขึ้นแสดงว่าแบคทีเรียสร้างกรดออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลบวก เกิดสีแดงสด

ผลลบ เกิดเหลืองหรือส้ม

3.5.1.4.4 การทดสอบเมทิลคาร์บินอล (Voges Proskauer Test)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเอ็มอาร์-วีพี (MR-VP medium) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทดสอบโดยถ่ายเชื้อมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่สะอาดเติมสารละลายแอลฟาแนฟทอล ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (5% α-naphthol solution) ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ (40% KOH) ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน ถ้ามีสีแดงเกิดขึ้นภายใน 5 นาที แสดงว่าแบคทีเรียมีการผลิตอะซิโตอิน

ผลบวก สีแดงภายใน 5 นาที

ผลลบ สีเหลือง

3.5.1.4.5 การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยูรีเอส (Urease Test)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารแข็งยูเรีย (Urea agar) (ภาคผนวก ก) ในหลอดอาหารเอียง (Slant) โดยใช้เชื้อที่มีอายุน้อย เพื่อป้องกันมิให้มีการปะปนของเซลล์ที่ตายแล้ว หรือสิ่งเจือปนอื่นๆ ที่เกิดจากการเจริญของเซลล์ ซึ่งจะไปรบกวนผลการทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ตรวจผลการทดสอบทุกวัน เป็นเวลา 2-3 วัน ถ้าอาหารเปลี่ยนเป็นสีบานเย็นแสดงว่าเชื้อสามารถสร้างยูรีเอสย่อยสลายยูเรียได้

ผลบวก อาหารเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีบานเย็น

ผลลบ อาหารไม่เปลี่ยนสี

3.5.1.4.6 การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท (Nitrate Reduction Test)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเหลวไนเตรท (Nitrate broth) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบโดยการหยด Salfanilic acid solution และ α-napthylamine solution อย่างละ 5 หยด หากมีสีแดงเกิดขึ้นแสดงว่าไนเตรทถูกรีดิวซ์กลายเป็นไนไตรท์ ถ้าไม่มีสีแดงเกิดขึ้นให้เติมผงสังกะสีลงไป ถ้าไม่มีสีแดงเกิดขึ้นแสดงว่าแบคทีเรียสามารถรีดิวซ์ไนไตรท์เป็นแอมโมเนีย หรือก๊าซไนโตรเจน

ผลบวก เกิดสีแดงปนตะกอน แต่ไม่เปลี่ยนสียังให้ทดสอบต่อโดยเติมผงสังกะสี

หลังจากเติมผงสังกะสีแล้วไม่เปลี่ยนสี

ผลลบ หลังจากเติมผงสังกะสีแล้วเปลี่ยนเป็นสีแดงให้ลงผลเป็นลบ

3.5.1.4.7 การทดสอบความสามารถในการย่อยอาร์จินิน (Arginine Dihydrolase Test)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลวอาร์จินิน (Thornley's) ที่เติมอาร์จินิน และไม่เติมอาร์จินินซึ่งใช้เป็นหลอดควบคุม เทพาราฟินเหลวทับให้หนาประมาณ 4-5 มิลลิเมตร ลงในแต่ละหลอด นำไปบ่มที่ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนสีของอาหารกับหลอดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลบวก อาหารเป็นสีม่วงหรือม่วงแดง(หลอดควบคุมเป็นสีเหลือง)

ผลลบ อาหารเป็นสีเหลือง (ทั้งสองหลอด)

3.5.1.4.8 การทดสอบดีอะมิเนส (Deaminase Test)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการลงในอาหารแข็งฟีนิลอะลานินดีอะมิเนส (Phenylalanine Deaminase Agar) บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมหรืออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และทำหลอดควบคุมโดยไม่เติมเชื้อ ทดสอบโดยเติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride) ลงไปหลอดละ 5 หยด เขย่าหลอดเบาๆ เพื่อให้เชื้อหลุดจากอาหาร สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหาร และสารตรวจสอบที่หยดลงไปภายในเวลา 5 นาที เปรียบเทียบกับหลอดควบคุม

ผลบวก อาหารเปลี่ยนเป็นสีเขียวทันที

ผลลบ อาหารไม่เปลี่ยนสี ยังคงเป็นสีเหลืองของเฟอร์ริกคลอไรด์

3.5.1.4.9 การทดสอบความสามารถในการย่อยเจลาติน (Gelatin Hydrolysis Test)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลวเจลาติน (Nutrient gelatin broth) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (หรืออุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยนำหลอดที่มีเชื้อ และ อาหารเหลวเจลาตินที่ยังไม่ได้เพาะเชื้อ (ควบคุม) ใส่ในตู้เย็นหรือแช่ในน้ำเย็น ประมาณ 5-10 นาที หรือจนกว่าหลอดควบคุมเกิดการแข็งตัว

ผลบวก อาหารยังเป็นของเหลวเหมือนเดิม ไม่เกิดการแข็งตัวเหมือนหลอดที่ยังไม่มีเชื้อ

ผลลบ อาหารเกิดการแข็งตัวเช่นเดียวกับหลอดที่ยังไม่มีเชื้อ

3.5.1.4.10 การทดสอบความสามารถในการใช้ซิเตรท (Citrate Utilization Test)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการลงในอาหารซิมมอนส์ซิเตรต (Simmon's citrate agar) ในหลอดอาหารเอียง (Slant) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อที่สามารถใช้ซิเตรทได้จะเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์ในอาหารจากสีเขียวกลายเป็นสีน้ำเงิน

ผลบวก มีการเจริญ อาหารเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน

ผลลบ ไม่มีการเจริญ อาหารเป็นสีเขียวเหมือนเดิม

3.5.1.4.11 การทดสอบความสามารถในการใช้ดี-กลูโคส (Utilization of Glucose)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลว Utilization Test medium โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และใส่หลอดดักแก๊สที่ผ่านการฆ่าเชื้อไว้ในหลอดทดสอบด้วย บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจผลโดยดูการเปลี่ยนสีของอาหารและการเกิดแก๊สในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลบวก เกิดการเปลี่ยนสีของอาหารเป็นสีเหลือง และมีแก๊สเกิดขึ้น หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างใดอย่างหนึ่ง ให้ถือเป็นผลบวก

ผลลบ อาหารไม่เปลี่ยนสี และไม่เกิดแก๊ส

3.5.1.5 บันทึกภาพถ่ายของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์ และผลการทดสอบทางชีวเคมีต่างๆ จากนั้นนำภาพถ่ายและผลการทดสอบไปบันทึกลงในโปรแกรม FBIdent เวอร์ชั่น 1.0 เพื่อให้โปรแกรมที่สร้างขึ้นมีความสมบรูณ์มากขึ้น

3.5.1.6 ประเมินผลการทดสอบต่างๆ ของโปรแกรมที่ช่วยในการจัดจำแนกแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรีย เพื่อดูว่าโปรแกรมที่สร้างขึ้นมามีความถูกต้อง น่าเชื่อถือมากน้อยเพียงใด

3.5.2 แบคทีเรียแกรมบวก

3.5.2.1 การทำเชื้อให้บริสุทธิ์

จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการทดลองมี 9 สปีชีส์ 6 จีนัส ดังนี้

- *Bacillus cereus* DMST 5040
- *Bacillus coagulans* TISTR 17163
- *Bacillus subtilis* TISTR 6633
- *Lactobacillus casei* TISTR 390
- *Lactobacillus lactis* TISTR 1401
- *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 053
- *Listeria monocytogenes* DMST 11256
- *Pediococcus halophilus* TISTR 429
- *Staphylococcus aureus* TISTR 25923

ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยและกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

นำจุลินทรีย์เหล่านี้มา cross streak ให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกันดังนี้

Bacillus coagulans TISTR 17163	ใช้อาหาร NA
Bacillus cereus DMST 5040	ใช้อาหาร NA
Bacillus subtilis TISTR 6633	ใช้อาหาร NA
Staphylococcus aureus TISTR 25923	ใช้อาหาร NA

เอกสารนี้เป็นเอกสาร[illegible]เทานั้น ห้ามมิให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pediococcus halophilus TISTR 429 ใช้อาหาร MRS

Leuconostoc mesenteroides TISTR 053 ใช้อาหาร MRS

Lactobacillus lactis TISTR 1401 ใช้อาหาร MRS

Lactobacillus casei TISTR 390 ใช้อาหาร MRS

Listeria monocytogenes DMST 11256 ใช้อาหาร NA

จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้มาใช้ในการจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์โดยดูลักษณะสัณฐานวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมีบางประการตามที่โปรแกรม FBI dent เวอร์ชัน 1.0 ระบุไว้ (ในกรณีทราบชื่อสกุลของแบคทีเรีย)

3.5.2.2 การจัดจำแนกจุลินทรีย์

การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียแกรมบวก (Sharpe and Fryer , 1966 ., Krieg and Hott , 1986)

นำเชื้ออายุ 18-24 ชั่วโมงจากอาหารเลี้ยงเชื้อมาทดสอบคุณสมบัติต่างๆ ดังนี้

3.5.2.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

โดยการตรวจสอบการติดสีแกรม รูปร่าง และการจัดเรียงตัวของเซลล์จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

3.5.2.2.2 การเคลื่อนที่ (Motility test)

ปลูกเชื้อลงบนอาหารทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility test medium) โดยแทงเข็มเขี่ยเชื้อลงไปจนสุดหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ถ้าเชื้อสามารถเคลื่อนที่ได้จะมีรอยการเจริญออกจากรอยที่แทงไว้

3.5.2.2.3 การทดสอบเอนไซม์แคตาเลส (Catalase test)

นำแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารอายุ 24 ชั่วโมง มาเกลี่ยลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด หยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ลงบนเชื้อ ถ้ามีฟองแก๊สแสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสให้ผลเป็นบวก แต่ถ้าไม่เกิดฟองแก๊สแสดงว่าเชื้อไม่สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสได้ผลเป็นลบ

3.5.2.2.4 การทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดส (Oxidase test)

หยดสารละลายเตตระเมทิลพาราไดเอมีนไดไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ลงบนกระดาษจนชุ่มแล้วใช้ลวดเขี่ยเชื้อจากอาหารแข็งป้ายบนกระดาษกรอง ถ้าเกิดสีม่วงขึ้นภายใน 10 วินาที แสดงว่าให้ผลเป็นบวก สีที่เกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียมีการสร้าง Cytochrome oxidase โดยเตตระเมทิลพาราฟีนิลลีนไดเอมีนไดไฮโดรคลอไรด์ ถูกออกซิไดส์โดย Oxidase cytochrome c จะเกิดสีม่วงของ Nurster's blue ถ้าไม่เกิดสีม่วงแสดงว่าแบคทีเรียไม่สร้างเอนไซม์ Cytochrome oxidase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2.2.5 การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรท (Nitrate reduction test)

ปลูกเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง ลงในอาหาร NB บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หยด salfanilic acid solution และ α-napthylamine solution ถ้าเกิดสีแดงปนตะกอน แสดงว่าให้ผลเป็นบวก แต่การไม่เปลี่ยนสียังไม่ถือว่าผลเป็นลบ ให้ทดสอบโดยเติมผงสังกะสี หลังจากเติมผงสังกะสีแล้ว หากไม่เปลี่ยนสีให้ลงเป็นผลบวก แต่ถ้าเปลี่ยนเป็นสีแดงให้ลงเป็นผลลบ

3.5.2.2.6 การทดสอบการใช้อาร์จีนีน (Arginine dihydrolase test)

ปลูกเชื้อลงใน arginine broth (Thornley's) ที่เติม arginine และไม่เติม arginine (หลอดควบคุม) จากนั้นเทน้ำมันทับให้หนา 4-5 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจผลภายใน 4 วัน ถ้าเกิดสีม่วงหรือม่วงแดงให้ผลเป็นบวก ถ้าเป็นสีเหลืองให้เป็นผลลบ

3.5.2.2.7 การทดสอบการสร้างอินโดล (Indole test)

ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหาร Tryptophane Broth บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทดสอบการสร้างอินโดลโดยหยดสารละลายโคแวคส์ (kovac's reagent) 1-2 หยด ถ้ามีสีแดงบนผิวอาหารเกิดขึ้นแสดงว่าเชื้อสร้างเอนไซม์ Tryptophanase ย่อยสลายทริปโตเฟนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้อินโดล ถ้าไม่เกิดสีให้ผลเป็นลบ

3.5.2.2.8 การทดสอบความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส

ถ่ายเชื้อที่ต้องการลงในอาหาร Fermentation carbohydrate medium โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นส่วนประกอบ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สังเกตการสร้างกรด ถ้าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้จะสร้างกรดขึ้น ทำให้อินดิเคเตอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสีจากสีเขียวปนสีเหลืองให้ผลเป็นบวก ถ้าไม่เปลี่ยนสีให้ผลเป็นลบ

3.5.2.2.9 การทดสอบการสร้างแก๊สจากน้ำตาลกลูโคส

ถ่ายเชื้อที่ต้องการลงในอาหาร Fermentation carbohydrate medium โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นส่วนประกอบ โดยใส่หลอดดักแก๊สไว้ในหลอดทดสอบด้วย บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สังเกตการสร้างแก๊สในหลอดดักแก๊ส ถ้าเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส โดยอาหารจะเปลี่ยนสีหรือไม่เปลี่ยนสีก็ได้ ให้ผลเป็นบวก แต่ถ้าไม่เกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส ให้ผลเป็นลบ

3.5.2.2.10 การทดสอบความสามารถในการใช้เซลโลไบโอส

ถ่ายเชื้อที่ต้องการลงในอาหาร Utilization test medium โดยใช้เซลโลไบโอสเป็นแหล่งคาร์บอน ใส่หลอดดักแก๊สที่ผ่านการฆ่าเชื้อไว้ในหลอดทดสอบด้วย บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีและการเกิดแก๊สในอาหาร โดยถ้าเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนสีของอาหารเป็นสีเหลือง และมีแก๊สเกิดขึ้น หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างใดอย่างหนึ่ง ให้ถือว่าผลเป็นบวก ถ้าอาหารไม่เปลี่ยนสีและไม่เกิดแก๊สให้ผลเป็นลบ

3.5.2.2.11 การทดสอบความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาลดีไซโลส

ถ่ายเชื้อที่ต้องการลงในอาหาร Fermentation carbohydrate medium โดยใช้น้ำตาล ดีไซโลส เป็นส่วนประกอบ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สังเกตการสร้างกรด ถ้าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลดีไซโลสได้จะสร้างกรดขึ้น ทำให้อินดิเคเตอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ให้ผลเป็นบวก ถ้าไม่เปลี่ยนสีให้ผลเป็นลบ

3.5.2.2.12 การทดสอบความสามารถในการสร้างกรดจากแมนนิทอล

ถ่ายเชื้อที่ต้องการลงในอาหาร Fermentation carbohydrate medium โดยใช้น้ำตาลแมนนิ-ทอลเป็นส่วนประกอบ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สังเกตการสร้างกรด ถ้าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลแมนนิทอลได้จะสร้างกรดขึ้น ทำให้อินดิเคเตอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ให้ผลเป็นบวก ถ้าไม่เปลี่ยนสีให้ผลเป็นลบ

3.5.2.3 การประเมินผลการทดสอบการใช้โปรแกรม

การประเมินผลของโปรแกรมที่ช่วยในการจัดจำแนกแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาห-กรรมอาหารในส่วนของแบคทีเรียแกรมบวก(กรณีทราบชื่อสกุลของแบคทีเรีย)จะทำการประเมินผลความถูกต้องและน่าเชื่อถือของผลการทดสอบทางชีวเคมีต่างๆ ดังที่กล่าวไว้

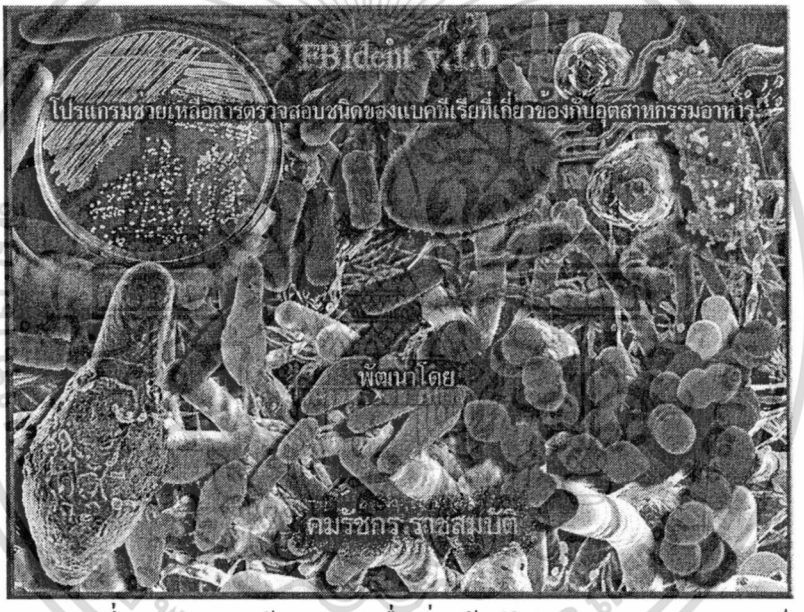
ในส่วนที่ได้ผลการทดสอบที่แตกต่างกัน จะทำการตรวจสอบซ้ำและหาข้อมูลเพิ่มเติมจากแหล่งต่างๆ เพื่อดูผลการทดสอบที่ถูกต้อง เพื่อที่จะนำมาแก้ไขและปรับปรุงให้โปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ และมีประสิทธิภาพมากที่สุด นอกจากนี้ จะทำการถ่ายภาพเพื่อที่จะนำมาใช้ประกอบผลการทดสอบในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานและการทดลอง

การดำเนินงานสร้างโปรแกรมคอมพิวเตอร์ FBIdent เวอร์ชัน 1.0 (FBIdent v.1.0; Food Bacterial Identification version 1.0) เพื่อช่วยเหลือในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียที่มีความเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร ใช้โปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พีในการบันทึกข้อมูล ใช้โปรแกรมไมโครซอฟต์วิชวลเบสิค 6.0 ในการสร้าง และแสดงผลการทำงานด้วยโปรแกรม คริสตัล รีพอร์ท 8.5 ร่วมกับโปรแกรมบิซิเนสพีดีเอฟไรท์เตอร์ 1.02 และสุดท้ายใช้โปรแกรมอินสตอลชีลด์ เอ็กซ์เพรส 2.11 เพื่อทำการสร้างตัวติดตั้งโปรแกรมลงในแผ่นซีดี



รูปที่ 4.1 แสดงหน้าจอหลักเมื่อเริ่มเข้าสู่โปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0

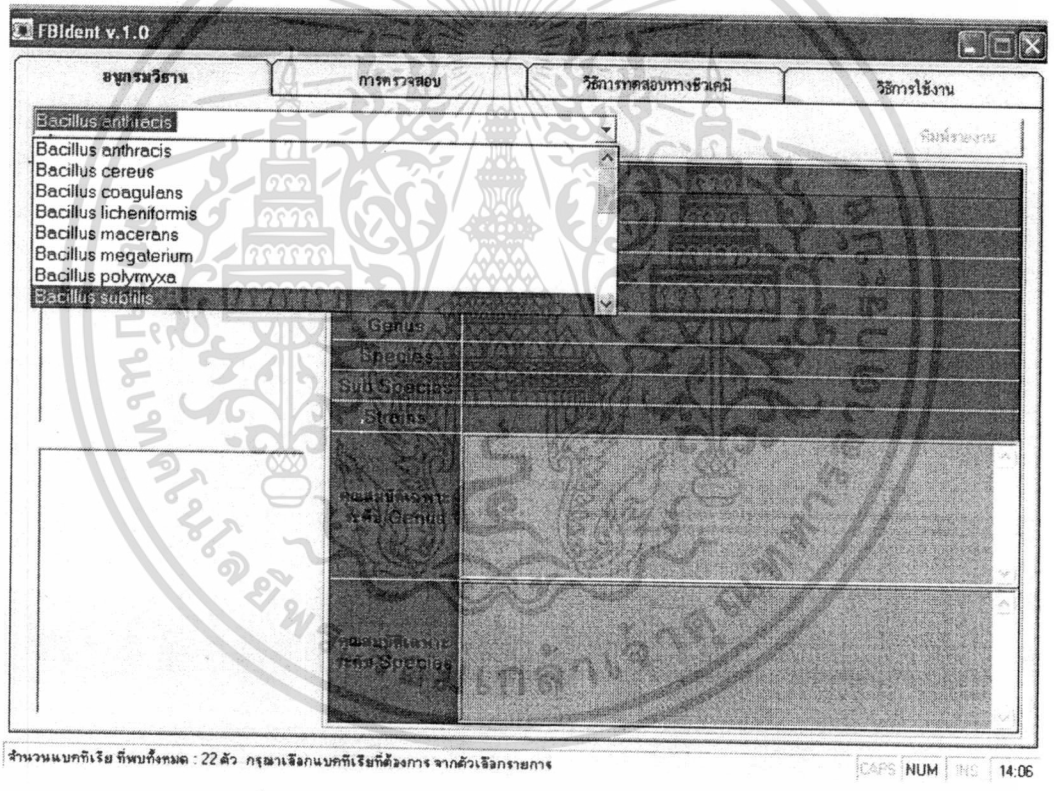
ตัวโปรแกรมถูกแบ่งออกเป็นทั้งหมด 4 ส่วนหลัก ได้แก่

- ส่วนที่ 1 อนุกรมวิธาน
- ส่วนที่ 2 การตรวจสอบ
- ส่วนที่ 3 วิธีการตรวจสอบทางชีวเคมี
- ส่วนที่ 4 วิธีการใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1 ส่วนที่ 1 อนุกรมวิธาน

ส่วนนี้ทำหน้าที่เปรียบเสมือนพจนานุกรมของแบคทีเรีย ที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร ทำหน้าที่แสดงข้อมูลเกี่ยวกับอนุกรมวิธานในการจัดหมวดหมู่ของแบคทีเรียแต่ละชนิด ได้แก่ ไฟลัม (Phylum) คลาส (Class) ออร์เดอร์ (Order) แฟมิลี(Family) จีนัส (Genus) สปีชีส์ (Species) บางชนิดยังสามารถแบ่งย่อยลงเป็นสับสปีชีส์ (Sub Species) ได้อีก และแบคทีเรียบางชนิดในฐานข้อมูล สามารถระบุรายละเอียดได้ถึงระดับสายพันธุ์ (Strain) นอกจากนี้ยังแสดงคุณสมบัติเฉพาะของแบคทีเรียทั้งในระดับจีนัส และสปีชีส์ โดยกล่าวถึงลักษณะรูปร่าง ขนาด การระบุชนิดแกรมของบวกทีเรีย การเคลื่อนที่ ลักษณะการดำรงชีวิต ความต้องการอาหารชนิดต่างๆ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ ความสามารถพิเศษและคุณสมบัติทางชีวเคมีแบบต่างๆ ค่า G+C content รวมไปถึงแหล่งที่อยู่ทั่วไปที่สามารถตรวจพบได้



รูปที่ 4.2 แสดงตัวอย่างการพิมพ์ค้นหา *Bacillus subtilis*

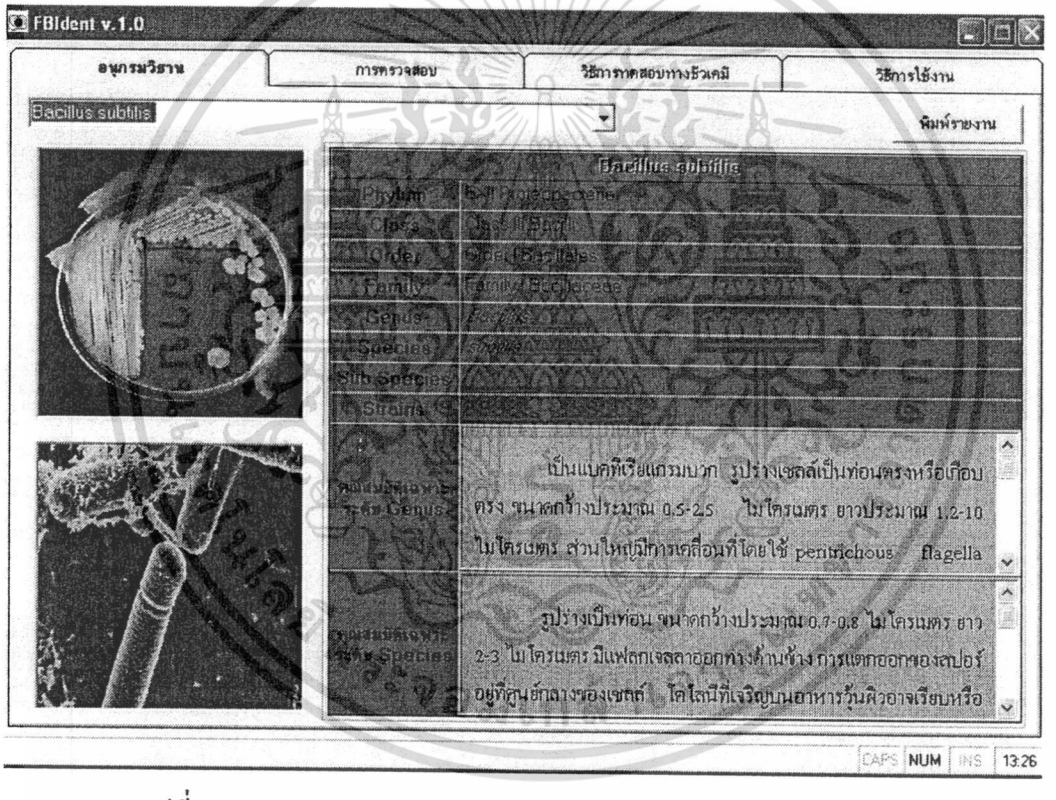
4.1.1 วิธีการใช้งานส่วนอนุกรมวิธาน

พิมพ์ชื่อจีนัส หรือสปีชีส์ ของแบคทีเรียที่ต้องการทราบข้อมูล โดยอาจจะพิมพ์ทั้งหมด หรือบางส่วนของคำก็ได้ เช่น หากต้องการดูข้อมูลของ *Bacillus subtillis* อาจจะเลือกพิมพ์เฉพาะคำว่า bacillus หรือ subtillis หรือบางส่วนของคำเช่น bacill หรือ subt แล้วกดเอ็นเทอร์ (enter) ที่คีย์บอร์ด (Keybord) โปรแกรมจะแสดงรายชื่อแบคทีเรียที่มีส่วนของชื่อตรงกับคำที่พิมพ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งหมดออกมา หากมีเพียงชนิดเดียวโปรแกรมจะแสดงผลทันที แต่หากคำที่พิมพ์นั้นไปพ้องกับชื่อแบคทีเรียอื่นอีกหลายชนิด สามารถเลือกดูได้ โดยกดที่แถบเมนูตัวเลือกทางขวามือของช่องที่พิมพ์ หรือกดปุ่มลูกศรขึ้นลงที่คีย์บอร์ดเพื่อเลือกแบคทีเรียที่ต้องการได้

ตัวอย่างดังรูปที่ 4.2 แสดงการพิมพ์คำค้นหาแบคทีเรีย โดยใช้คำว่า "Bacillus" โปรแกรมจะแสดงรายชื่อแบคทีเรียทั้งหมดที่มีคำว่า Bacillus เป็นส่วนประกอบของคำ ที่แถบสถานะด้านล่างของโปรแกรมจะขึ้นข้อความว่า "จำนวนแบคทีเรีย ที่พบทั้งหมด 22 ตัว: กรุณาเลือกแบคทีเรียที่ต้องการจากตัวเลือกรายการ" หมายความว่ามีแบคทีเรียที่มีคำว่า Bacillus เป็นส่วนประกอบในชื่อทั้งหมด 22 ตัว สามารถเลือกตัวที่ต้องการได้โดยกดที่ชื่อแบคทีเรียจากตัวเลือกรายการ จากตัวอย่างเลือก *Bacillus subtillis* โปรแกรมจะแสดงผลข้อมูลของ *Bacillus subtillis* ออกมาดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 แสดงอนุกรมวิธานและลักษณะเฉพาะของ *Bacillus subtilis*

ในส่วนของคุณสมบัติเฉพาะระดับจีนัสและสปีชีส์ หากรายละเอียดมีความยาวมากเกินกว่าที่จะแสดงผลในหน้าต่างที่กำหนดไว้ สามารถเลื่อนอ่านได้ โดยกดเลื่อนขึ้นหรือเลื่อนลงที่สกอล์บาร์ (Scoll bar) ทางขวามือ หรือกดที่ช่องคุณสมบัติที่ต้องการอ่าน 1 ครั้ง แล้วเลื่อนอ่านโดยใช้ปุ่มลูกศรขึ้นลงที่คีย์บอร์ดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ส่วนที่ 2 การตรวจสอบ

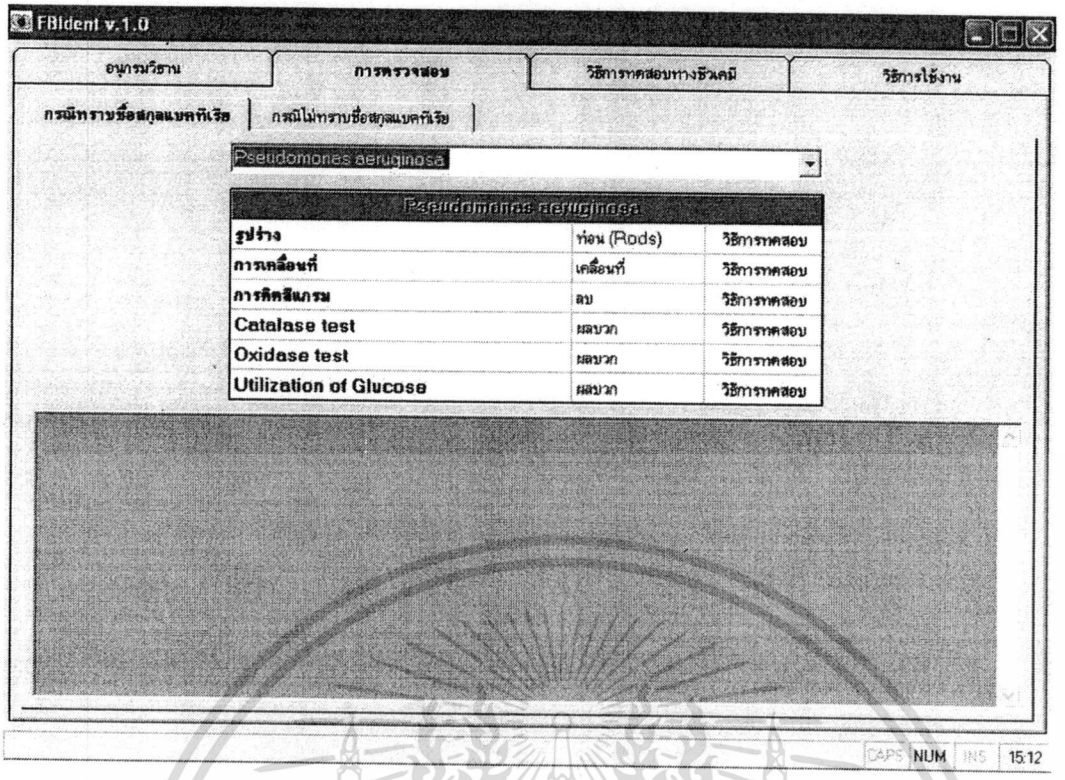
ส่วนนี้จะทำหน้าที่ในการช่วยเหลือเพื่อตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย โดยจะแบ่งออกเป็นอีก 2 ส่วนย่อย คือกรณีทราบชื่อสกุลของแบคทีเรีย และกรณีที่ไม่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรีย อันสืบเนื่องมาจาก แบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยทางวิทยาศาตร์ มีแหล่งที่มา 2 แบบ แบบแรกได้มาจากภาครัฐหรือภาคเอกชนซึ่งทราบชื่อสกุลแบคทีเรียเป็นที่แน่นอนแล้ว แบบที่สองเป็นการคัดแยกได้มาจากแหล่งธรรมชาติ ซึ่งยังไม่สามารถระบุได้ว่า แบคทีเรียที่ได้มานั้นเป็นแบคทีเรียชนิดใด

4.2.1 วิธีการใช้งานส่วนการตรวจสอบ กรณีทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

เนื่องจากกรณีนี้เป็นกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย การตรวจสอบเพียงต้องการเพิ่มระดับความเชื่อมั่น และยืนยันความถูกต้องของชนิดแบคทีเรีย ซึ่งน่าจะเป็นแบคทีเรียชนิดที่ต้องการใช้ในงานวิจัยจริงๆเท่านั้น การตรวจสอบจึงไม่จำเป็น ต้องตรวจสอบทุกวิธี โดยโปรแกรมจะระบุวิธีการตรวจสอบมาทั้งหมด 6 วิธี ซึ่งแบ่งออกเป็นการตรวจสอบขั้นพื้นฐาน 3 วิธี (ประกอบด้วยการตรวจดูลักษณะรูปร่าง การเคลื่อนที่และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย) และการตรวจสอบทางชีวเคมีอีก 3 วิธี

การใช้งานในส่วนนี้ โดยการพิมพ์ชื่อสกุลแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ ลงในช่องสำหรับพิมพ์ข้อมูล แล้วกดเอ็นเทอร์ (Enter) ที่คีย์บอร์ด โปรแกรมจะแสดงข้อมูลวิธีการตรวจสอบแบคทีเรียออกมา 6 วิธี ตัวอย่างเช่น ต้องการตรวจสอบ *Pseudomonas aeruginosa* ให้พิมพ์คำว่า pseudomonas aeruginosa ลงไปทั้งหมดแล้วกดตกลงที่คีย์บอร์ด หรือพิมพ์บางส่วนของคำ เช่น pseudo (ไม่จำเป็นต้องเป็นอักษรตัวใหญ่หรือเล็ก) แล้วกดเอนเทอร์ที่คีย์บอร์ดเพื่อไปเลือก *Pseudomonas aeruginosa* จากแถบตัวเลือกได้ ดังตัวอย่างจากรูปที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

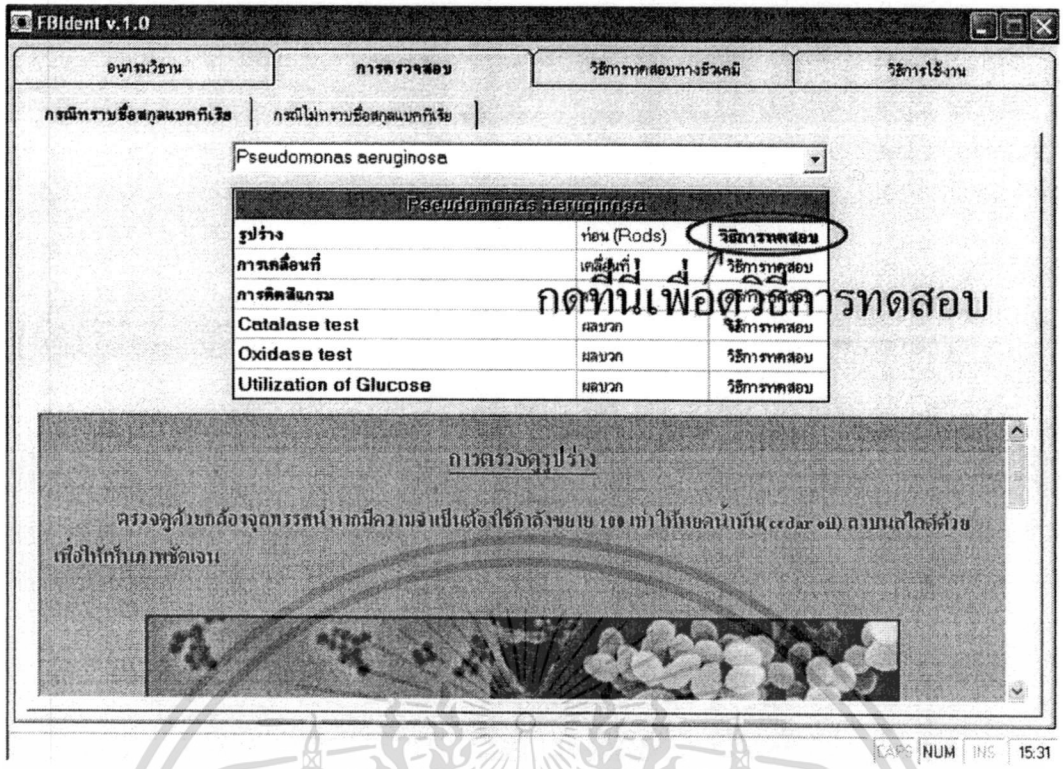


รูปที่ 4.4 แสดงวิธีการตรวจสอบกรณีทราบว่าเป็น *Pseudomonas aeruginosa*

จากรูปที่ 4.4 จะเห็นว่ามีวิธีการตรวจสอบ *Pseudomonas aeruginosa* 6 วิธี ได้แก่ การตรวจดูรูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบคาตาเลส (Catalase test) การทดสอบออกซิเดส (Oxidase test) และความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคส (Utilization of glucose) ซึ่งสามารถอธิบายคุณสมบัติทั่วไปของ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ว่า มีรูปร่างเป็นท่อน (Rods) สามารถเคลื่อนที่ได้ ย้อมติดสีแกรมลบ ผลการทดสอบออกซิเดสและคาตาเลสเป็นบวก และสามารถใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ เป็นต้น นอกจากนี้ที่ปุ่มวิธีการทดสอบทางขวามือยังมีไว้กรณีที่ผู้ทำการตรวจสอบต้องการดูวิธีในการทดสอบ สามารถกดดูวิธีการทดสอบได้ดังรูปที่ 4.5

ในส่วนของวิธีการทดสอบ หากรายละเอียดมีความยาวมากเกินกว่าที่จะแสดงผลในหน้าต่างที่กำหนดไว้ สามารถเลื่อนอ่านได้ โดยกดเลื่อนขึ้นหรือเลื่อนลงที่สกอล์บาร์ทางขวามือ หรือกดที่ช่องวิธีการทดสอบที่ต้องการอ่าน 1 ครั้ง แล้วเลื่อนอ่านโดยใช้ปุ่มลูกศรขึ้นลงที่คีย์บอร์ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



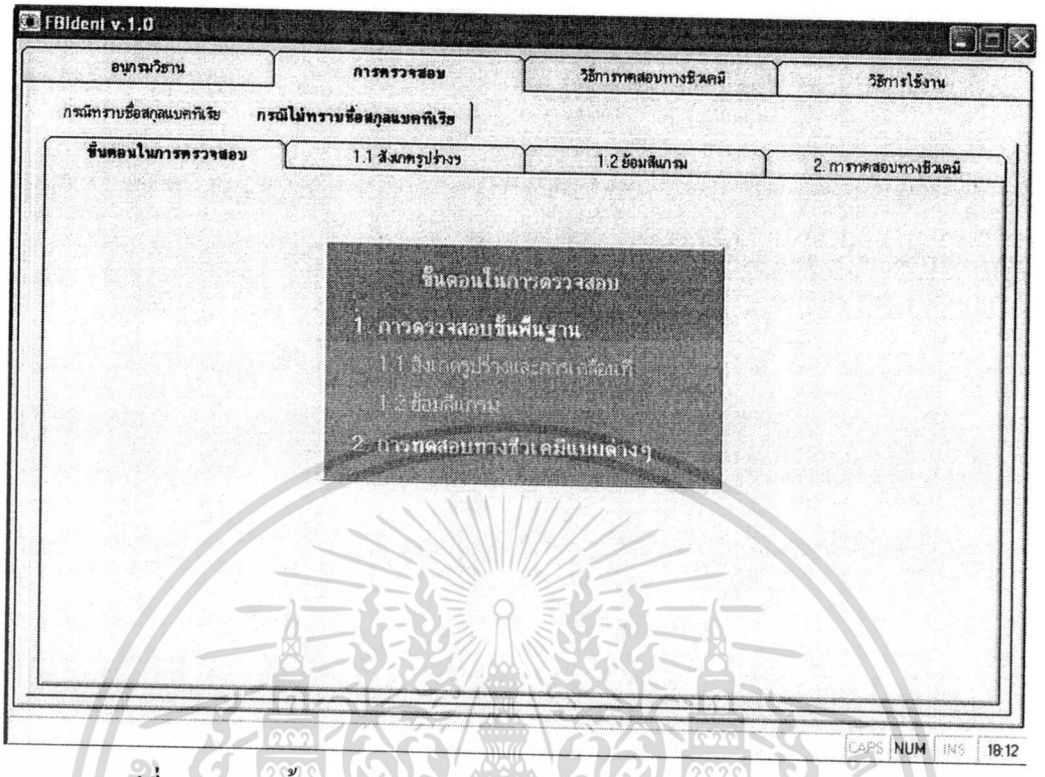
รูปที่ 4.5 แสดงวิธีการทดสอบการตรวจดูรูปร่าง

4.2.2 วิธีการใช้งานส่วนการตรวจสอบ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

ในกรณีนี้ แบคทีเรียที่นำมาใช้ในงานวิจัย คัดแยกได้มาจากแหล่งธรรมชาติ เช่นในดิน น้ำ วัสดุต่างๆ ผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม เช่น ผลิตภัณฑ์นม โยเกิร์ต อาหารกระป๋อง เนื้อสด ผักและผลไม้ เป็นต้น ซึ่งยังไม่สามารถระบุได้ว่าแบคทีเรียตัวนี้มีชื่อสกุลว่าอะไร มีคุณสมบัติแบบไหน และจัดอยู่ในหมวดหมู่ใดตามหลักอนุกรมวิธาน ความรู้พื้นฐานนี้มีความสำคัญ และจำเป็นอย่างยิ่งในการนำมาใช้เพื่ออ้างอิงในงานวิจัย ดังนั้นการตรวจสอบจึงค่อนข้างละเอียด และยุ่งยากกว่ากรณีที่ทราบชื่อแบคทีเรียแล้ว โดยการตรวจสอบจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนหลักๆดังรูปที่ 4.6 ได้แก่ การตรวจสอบขั้นพื้นฐาน และการตรวจสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ โดยการตรวจสอบขั้นพื้นฐานจะประกอบด้วยการสังเกตรูปร่าง การเคลื่อนที่ และการย้อมสีแกรม ซึ่งเป็นการตรวจดูทางกายภาพ สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ส่วนการตรวจสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆเป็นการตรวจดูคุณสมบัติทางเคมีของแบคทีเรีย

ในการสังเกตรูปร่างและการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย สามารถดูวิธีการทดสอบได้โดยการกดปุ่มวิธีการทดสอบ จากนั้นเลือกผลการทดสอบว่าเป็นแบบใด โดยรูปร่างของแบคทีเรียแบ่งออกเป็น 3 แบบคือ แบบโค้งงอ (Vibrioid) แบบท่อน (Rods) และแบบกลม (Cocci) ซึ่งหากส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้วดูไม่ชัด หรือไม่แน่ใจว่ามีรูปร่างแบบใด สามารถข้ามขั้นตอนนี้ หรือระบุว่า “ไม่มีข้อมูล” ได้ ส่วนการเคลื่อนที่ของแบคทีเรียก็มี 2 แบบ คือแบบเคลื่อนที่ และไม่เคลื่อนที่ หากไม่แน่ใจก็สามารถข้ามขั้นตอนนี้ หรือระบุว่า “ไม่มีข้อมูล” ได้เช่นเดียวกัน

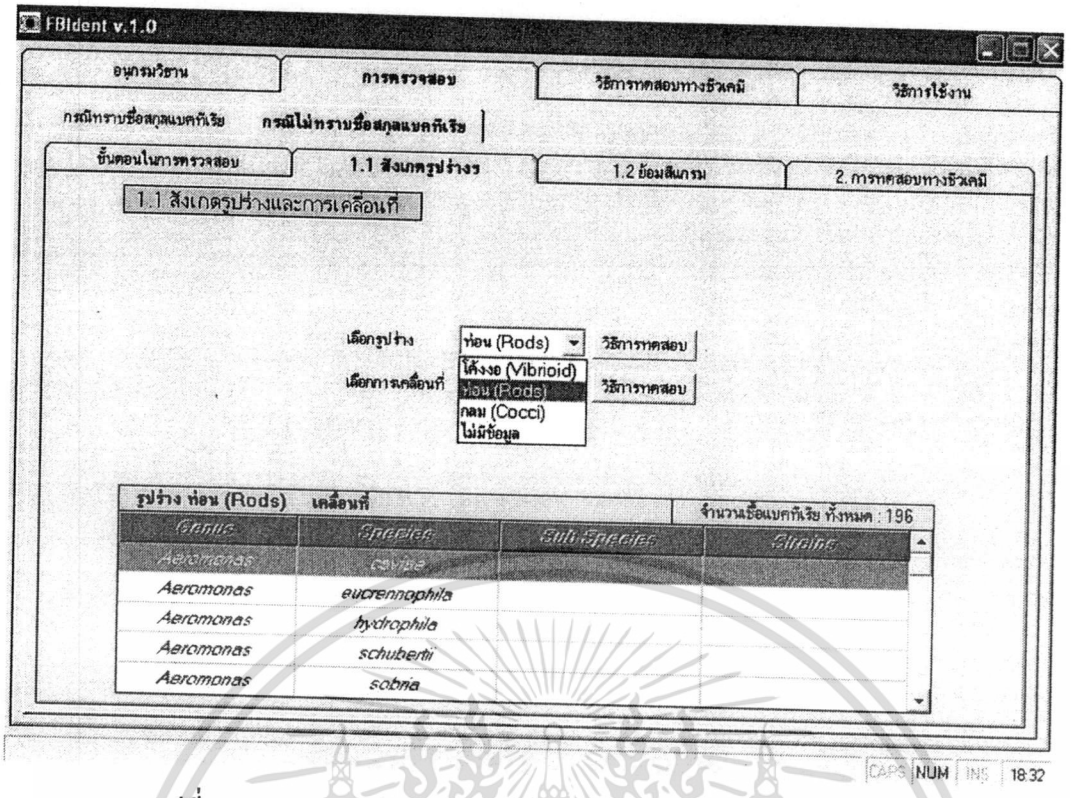
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงขั้นตอนในการตรวจสอบ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

การใส่ข้อมูลผลการทดสอบแต่ละครั้ง โปรแกรมจะทำการคำนวณและประมวลผลเพื่อค้นหาว่ามีแบคทีเรียชนิดใดบ้าง ที่มีคุณสมบัติตรงกับข้อมูลที่กรอกลงไป จากนั้นจะแสดงผลออกมาในตาราง โดยจะแสดงสถานะ คุณสมบัติ รูปร่าง การเคลื่อนที่ และจำนวนของแบคทีเรีย รวมไปถึงรายชื่อทั้งหมดของแบคทีเรียที่ค้นพบจากฐานข้อมูล ดังตัวอย่างในรูปที่ 4.7 แบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อนและสามารถเคลื่อนที่ได้ มีทั้งหมด 196 ตัว เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถ ดับเบิลคลิกที่ชื่อของแบคทีเรียในตาราง เพื่อดูรายละเอียดข้อมูลทางอนุกรมวิธาน คุณสมบัติเฉพาะในระดับจีนัสและสปีชีส์ พร้อมรูปตัวอย่างได้ทันที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

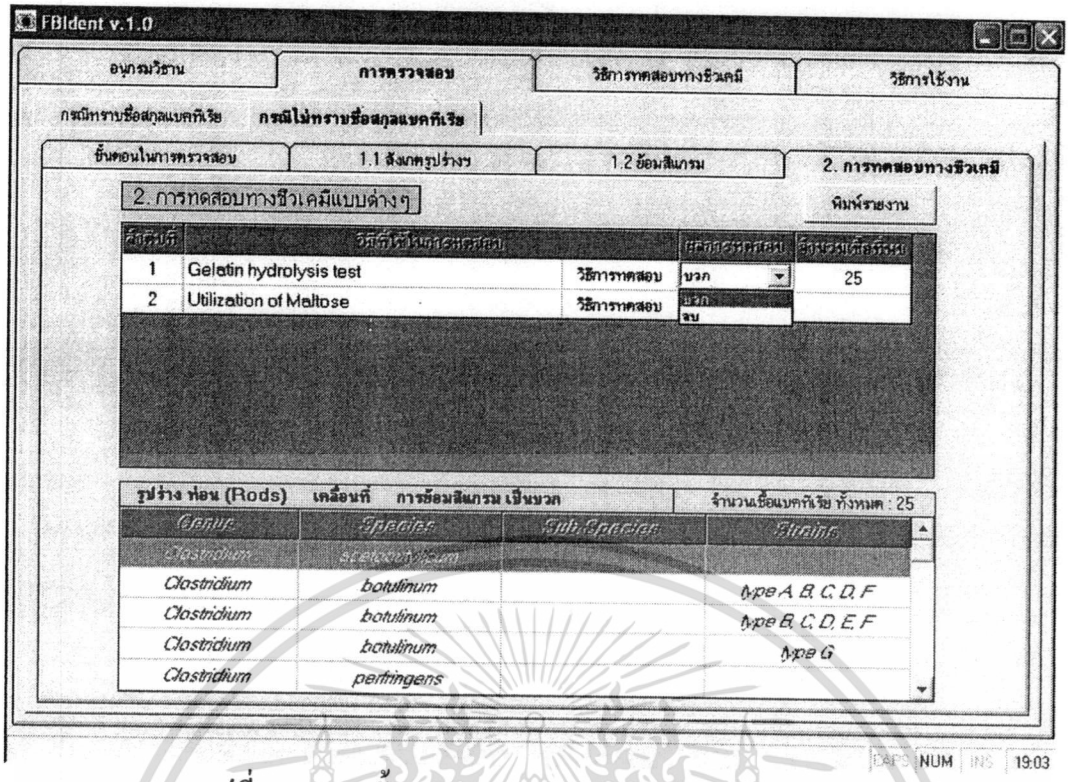


รูปที่ 4.7 แสดงการตรวจสอบรูปร่างและการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย

ขั้นตอนต่อไป เป็นการตรวจดูการติดสีย้อมของแบคทีเรีย โดยการติดสีย้อมของแบคทีเรียจะมี 2 แบบ คือการติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต แสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวก หากติดสีแดงของซาฟรานิน แสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ เมื่อใส่ผลการทดสอบในโปรแกรม โปรแกรมจะทำการประมวลผลอีกครั้ง และรายงานผลออกมาในตารางเช่นเดียวกับการตรวจดูรูปร่างและการเคลื่อนที่

หลังจากผ่านการตรวจสอบขั้นพื้นฐานมาแล้ว ขั้นตอนต่อไปเป็นการตรวจสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ โปรแกรมจะทำการคำนวณ และประมวลผลเฉพาะจากจำนวนแบคทีเรียที่ค้นพบจากขั้นตอนการตรวจสอบขั้นพื้นฐาน เพื่อค้นหาวิธีการตรวจสอบที่ดีที่สุดในการจำแนกแบคทีเรียกลุ่มที่เหลืออยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



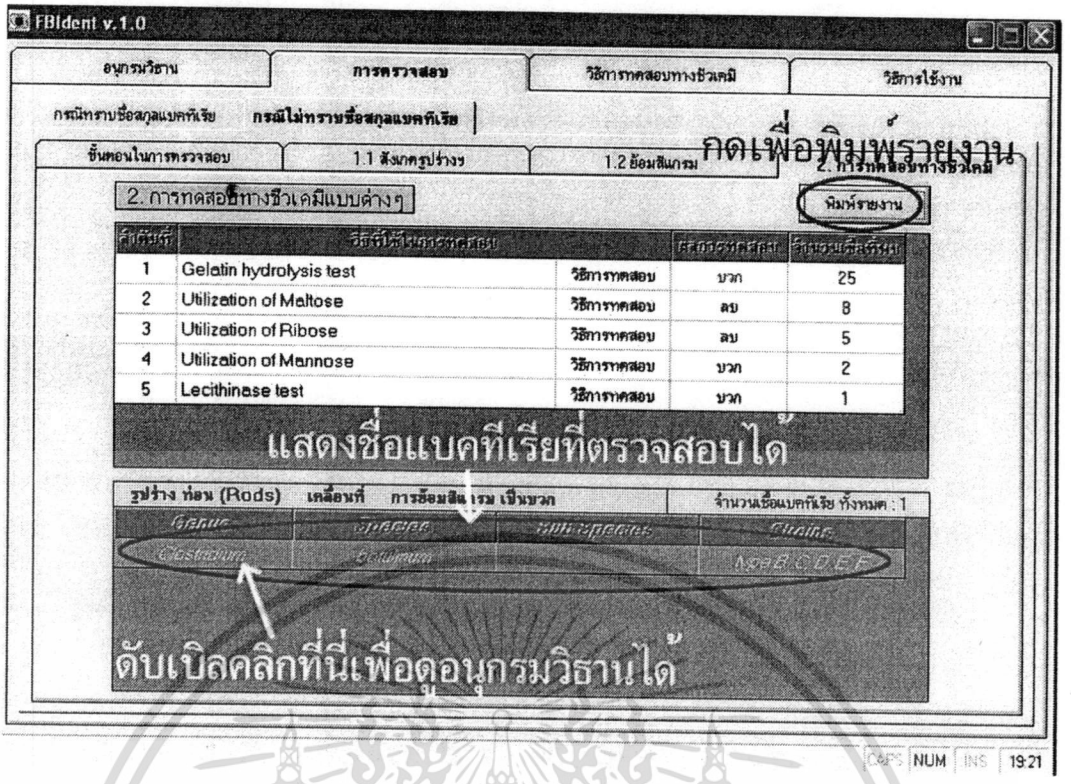
รูปที่ 4.8 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ

ในการทดสอบทางชีวเคมีแต่ละวิธี สามารถกดดูวิธีการทดสอบได้ที่ช่อง "วิธีการทดสอบ" จะมีวิธีการทดสอบพร้อมภาพผลการทดสอบให้เห็นอย่างชัดเจน

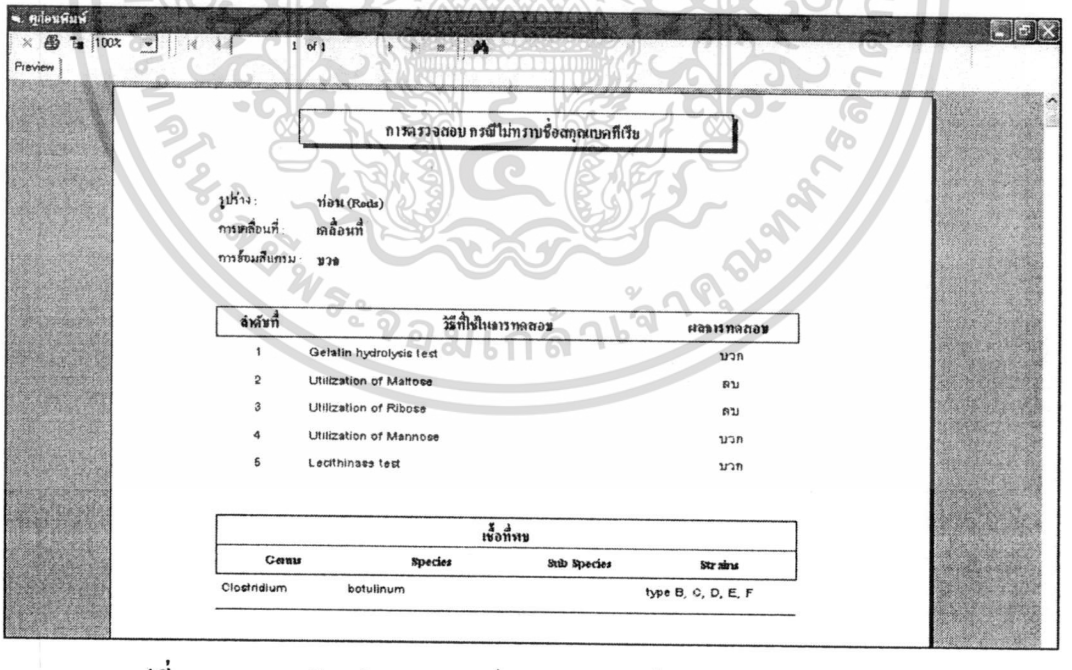
จากรูปที่ 4.8 จะเห็นว่าโปรแกรมทำการเลือกวิธีการทดสอบทางชีวเคมีที่เหมาะสมมาให้ทำการทดสอบครั้งละวิธี จนกว่าจะเหลือแบคทีเรียในตารางแสดงผล 1 ตัว ก็จะสามารถ ระบุได้ว่า แบคทีเรียที่ทำการตรวจสอบเป็นตัวใด มีชื่อสกุลว่าอะไร คุณสมบัติเป็นแบบไหน และจัดอยู่ในลำดับหมวดหมู่ใดตามหลักอนุกรมวิธาน

จากรูปที่ 4.9 สามารถอธิบายได้ว่า จากการทดสอบทางชีวเคมี 5 วิธี แบคทีเรียที่ทำการตรวจสอบคือ *Clostridium botulinum type B, C, D, E, F* โดยมีผลการทดสอบเจลาตินเป็นบวก สามารถใช้น้ำตาลแมนโนสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ แต่ไม่สามารถใช้น้ำตาลมอลโตส และไรโบสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ และผลการทดสอบเลซิติเนสเป็นบวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดงตัวอย่างเมื่อเสร็จสิ้นการตรวจสอบ



รูปที่ 4.10 แสดงตัวอย่างแบบฟอร์มสำหรับพิมพ์รายงานผลการตรวจสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเสร็จสิ้นการตรวจสอบ สามารถกดที่ปุ่ม "พิมพ์รายงาน" เพื่อแสดงผลการทดสอบทั้งหมดได้ ดังรูปที่ 4.10 นอกจากนี้ยังสามารถดับเบิลคลิกที่ชื่อ *Clostridium* ในตาราง เพื่อดูอนุกรมวิธาน และรายละเอียดอื่นๆของ *Clostridium botulinum type B, C, D, E, F* ในหน้าอนุกรมวิธานได้ทันที และสามารถกดที่ปุ่ม "พิมพ์รายงาน" เพื่อแสดงผลในหน้านี้ได้เช่นเดียวกัน

ในการตรวจสอบควรจะปฏิบัติตามที่โปรแกรมระบุทีละขั้นตอน เพื่อป้องกันข้อผิดพลาดในการตรวจสอบ แต่หากมีความชำนาญในการใช้โปรแกรมแล้ว สามารถข้ามขั้นตอนบางอย่างที่ไม่จำเป็นได้

4.3 ส่วนที่ 3 วิธีการทดสอบทางชีวเคมี

ส่วนนี้จะทำหน้าที่ช่วยเหลือในการค้นหาวิธีทดสอบทางชีวเคมี ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และส่วนประกอบทางเคมีของสารทดสอบ รวมไปถึงวิธีการเตรียมและข้อแนะนำที่จำเป็นสำหรับการตรวจสอบ ลักษณะของโปรแกรมส่วนนี้ดังแสดงในรูปที่ 4.11

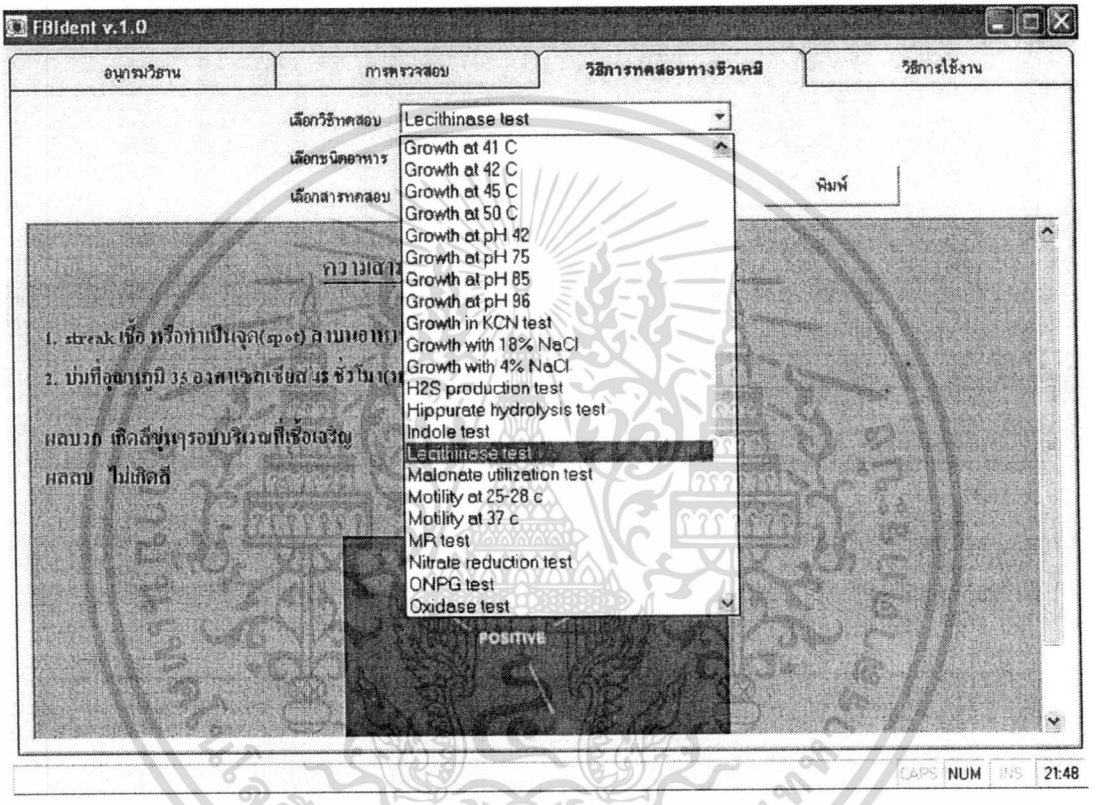
รูปที่ 4.11 แสดงส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมีของโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0

4.3.1 วิธีการใช้งานส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี

ในส่วนนี้จะมี 3 ช่องให้เลือกได้แก่ ช่องเลือกวิธีทดสอบ ช่องเลือกชนิดอาหาร และช่องเลือกสารทดสอบ โดยแต่ละช่องเมื่อกดที่ปุ่มตัวเลือกรายการทางขวามือ (รูปสามเหลี่ยมคว่ำ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรแกรมก็จะแสดงรายการออกมาให้เลือก หากรายการที่เลือกเป็นช่องวิธีทดสอบ รายการที่แสดงขึ้นมา ก็จะเป็นรายชื่อวิธีทดสอบทางชีวเคมีวิธีต่างๆ หากรายการที่เลือกเป็นช่องชนิดอาหาร รายการที่แสดงขึ้นมา ก็จะเป็นรายชื่อของอาหารที่ใช้ในการทดสอบทางชีวเคมี และหากรายการที่เลือกเป็นช่องสารทดสอบ รายการที่แสดงขึ้นมาก็จะเป็นรายชื่อสารทดสอบที่ใช้ในการทดสอบทางชีวเคมี เป็นต้น โดยเมื่อเลือกรายการที่ต้องการแล้วโปรแกรมจะแสดงรายละเอียดของรายการที่เลือกออกมา ดังตัวอย่างรูปที่ 4.12 เมื่อกดเลือกวิธีทดสอบเลซิติเนส (Lecithinase test)



รูปที่ 4.12 แสดงวิธีการใช้งานส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี

ทุกรายการที่เลือกในส่วนนี้ สามารถพิมพ์รายงานออกมาได้โดยกดที่ปุ่มพิมพ์รายงาน ในส่วนนี้หากมีปัญหาไม่สามารถพิมพ์ออกมาได้ สามารถแก้ไขได้โดยติดตั้งโปรแกรมบิซิเนสพีดีเอฟไรท์เตอร์(Business pdf writer) เพิ่ม เพื่อให้ใช้งานส่วนนี้ได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

4.4 ส่วนที่ 4 วิธีการใช้งาน

ส่วนนี้จะเป็นส่วนช่วยเหลือเพื่อการใช้งานโปรแกรมอย่างมีประสิทธิภาพ การใช้งานเพียงกดสกอล์บาร์ (Scrollbar) ขึ้นลงในการอ่านเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการนำแบคทีเรียบางชนิดมาทดสอบความถูกต้องของโปรแกรม FBI dent เวอร์ชัน1.0

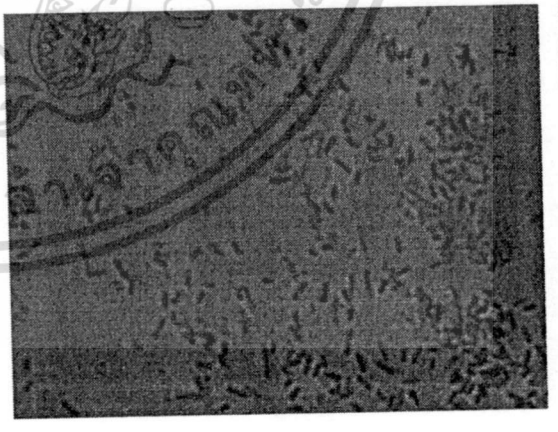
4.5.1 แบคทีเรียแกรมลบ

เชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่รวบรวมได้จากแหล่งเก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ยกเว้น *Pseudomonas aeruginosa* ที่อยู่ในวงศ์ Pseudomonadaceae และถูกนำมาใช้ในการทดสอบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีดังนี้

4.5.1.1 ลักษณะรูปร่างและการติดสีแกรม

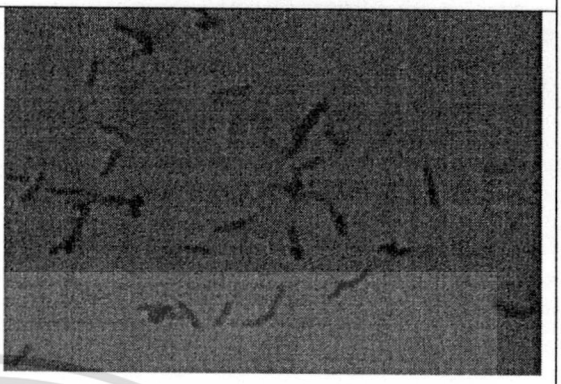
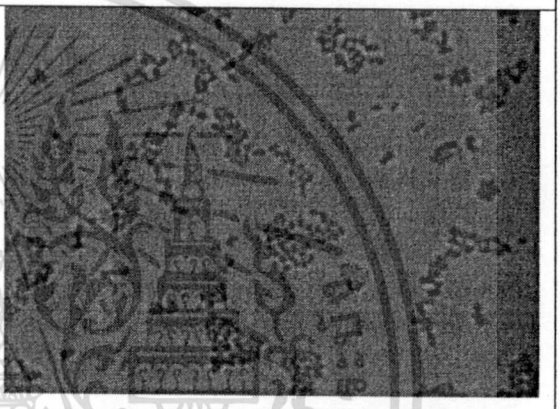
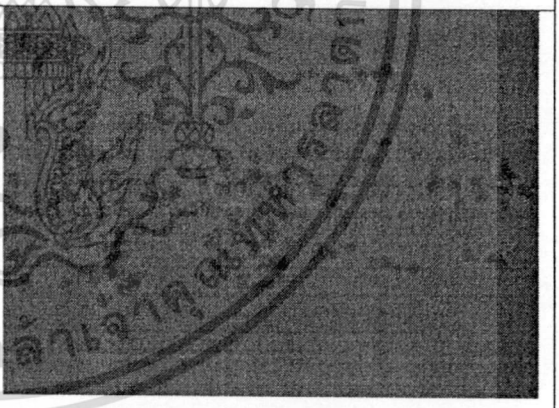
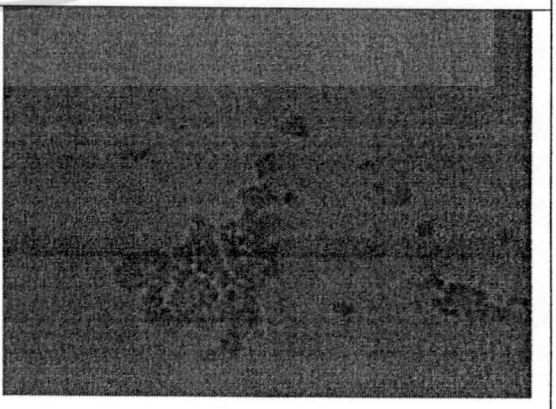
จากการย้อมแกรมเพื่อศึกษารูปร่างและการติดสีแกรมของแบคทีเรียแกรมลบ 14 สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่ *Aeromonas caviae, Edwardsiella tarda, Enterobacter intermedium, Escherichia coli, Hafnia alvei, Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Morganella morganii, Providencia rettgeri, Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Salmonella anotum, Salmonella enteritidis* DMST 10633, *Salmonella lexington* DMST 4412, *Serratia* sp. และ *Shigella sonnei* พบว่าเซลล์แบคทีเรียย้อมติดสีแดงของซาฟานิน และมีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะรูปร่างและการติดสีแกรมของแบคทีเรียแกรมลบทั้ง 14 สายพันธุ์

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะรูปร่าง	ภาพถ่ายลักษณะรูปร่างและการติดสีแกรมของแบคทีเรีย
Aeromonas caviae	ท่อน ปลายมน	

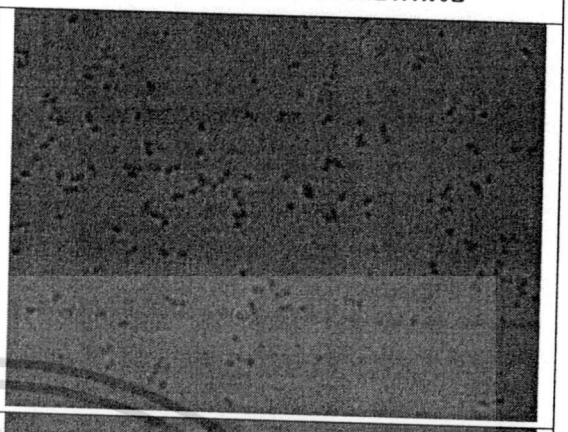
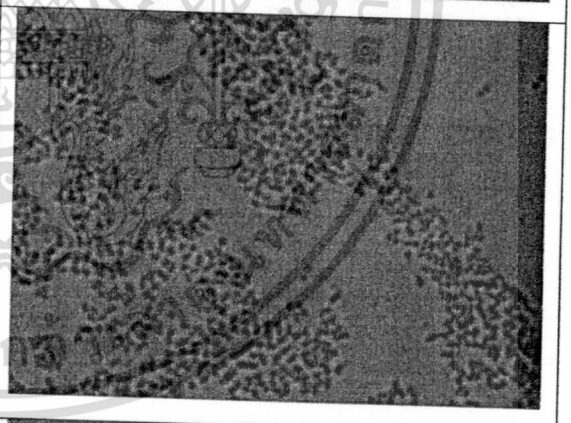
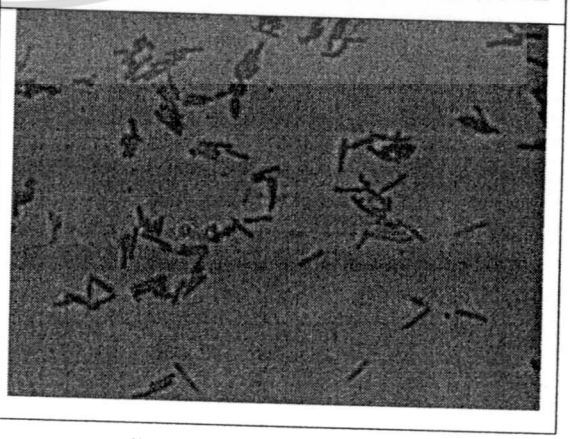
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะรูปร่าง	ภาพถ่ายลักษณะรูปร่าง และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย
Edwardsiella tarda	ท่อนตรงยาว	
Enterobacter intermedius	ท่อนสั้น	
Escherichia coli	ท่อนสั้น	
Hafnia alvei	ท่อนสั้น	

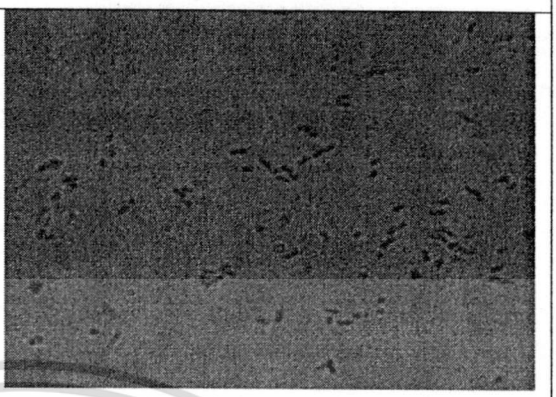
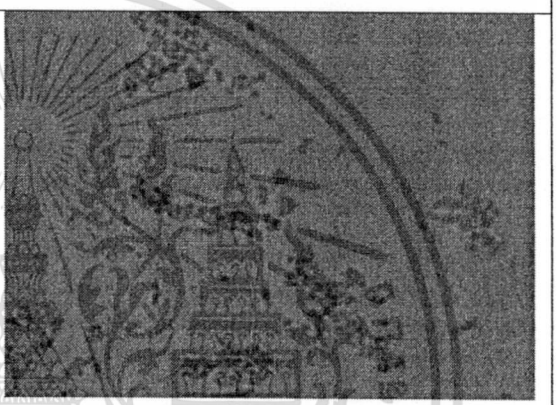
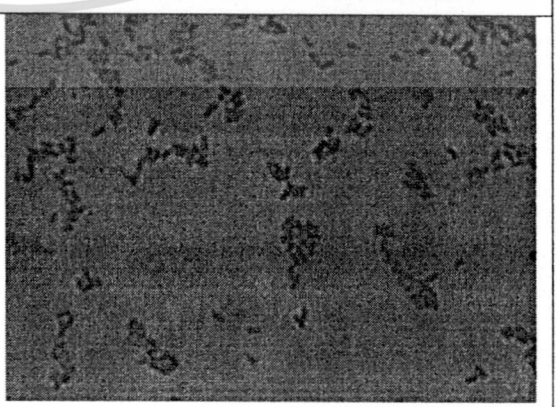
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะรูปร่าง	ภาพถ่ายลักษณะรูปร่าง และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย
Klebsiella pneumoniae DMST 8216	ท่อนสั้น	
Morganella morganii	ท่อนสั้น	
Providencia rettgeri	ท่อนสั้น	
Pseudomonas aeruginosa TISTR 781	ท่อนตรงยาว หรือโค้งเล็กน้อย	

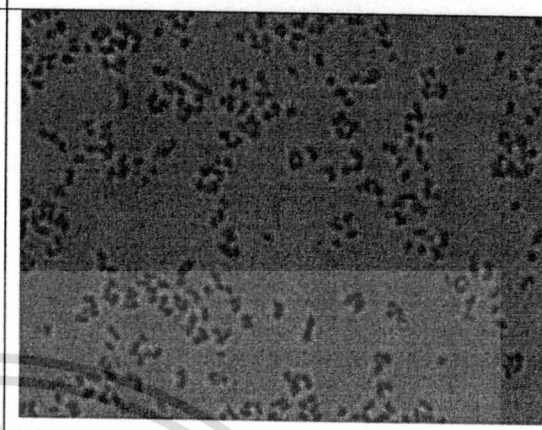
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะรูปร่าง	ภาพถ่ายลักษณะรูปร่าง และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย
Salmonella anotum	ท่อนสั้น	
Salmonella enteritidis DMST 10633	ท่อนสั้น	
Salmonella lexington DMST 4412	ท่อนสั้น	
Serratia sp.	ท่อนสั้น	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

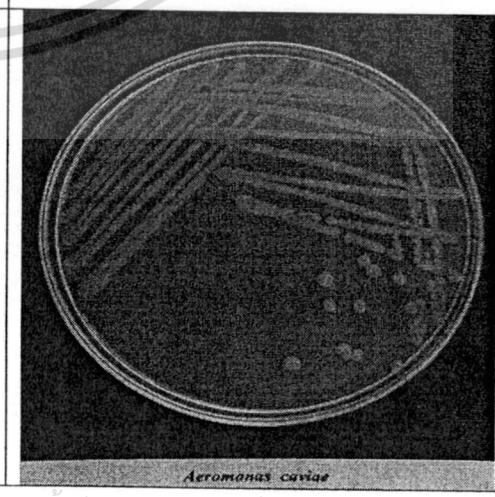
ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะรูปร่าง	ภาพถ่ายลักษณะรูปร่าง และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย
Shigella sonnei	ท่อนสั้น	

4.1.2 ลักษณะโคโลนี

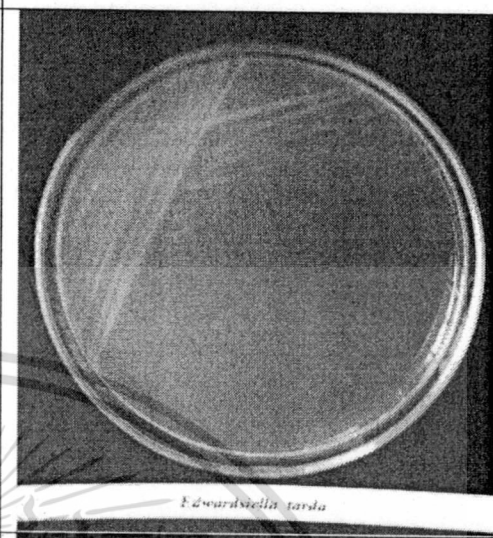
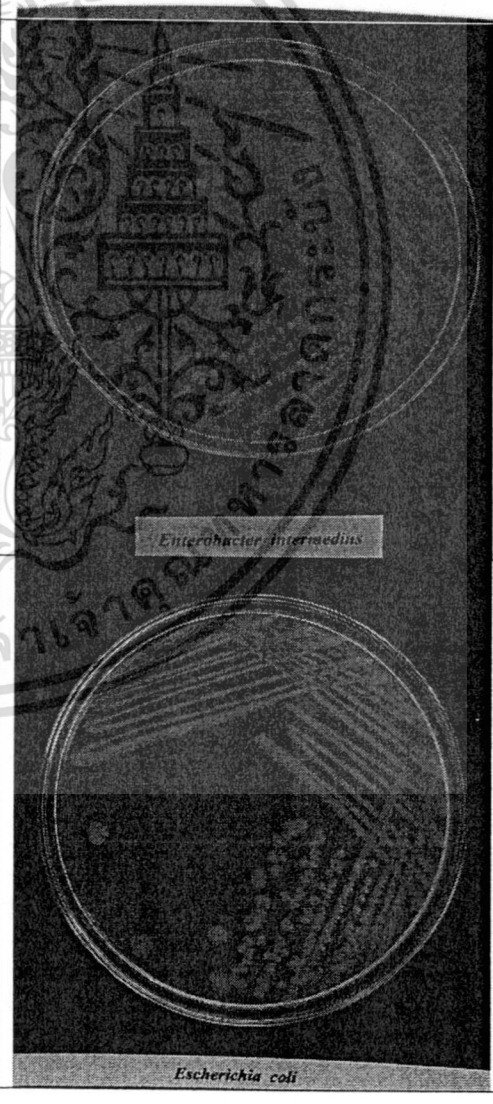
จากการนำแบคทีเรียทั้ง 14 สายพันธุ์ มาลาก (cross streak) บนอาหารแข็งนิวเตรียนท์ เพื่อศึกษาลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียแต่ละชนิด พบว่า *Aeromonas caviae, Edwardsiella tarda, Enterobacter intermedium, Escherichia coli, Hafnia alvei, Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Morganella morganii, Providencia rettgeri, Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Salmonella anotum, Salmonella enteritidis* DMST 10633, *Salmonella lexington* DMST 4412, *Serratia* sp. และ *Shigella sonnei* มีลักษณะโคโลนีดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียแกรมลบ 14 สายพันธุ์

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	ภาพถ่ายลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Aeromonas caviae	โคโลนีลักษณะกลมขอบเรียบ สีครีม ทึบแสง ขนาด 1-2 มิลลิเมตร	

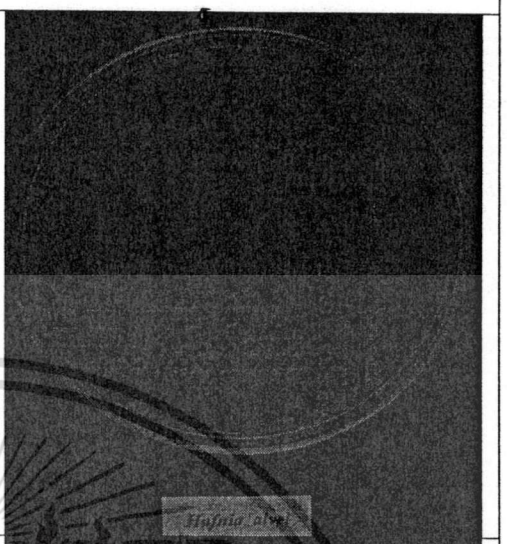
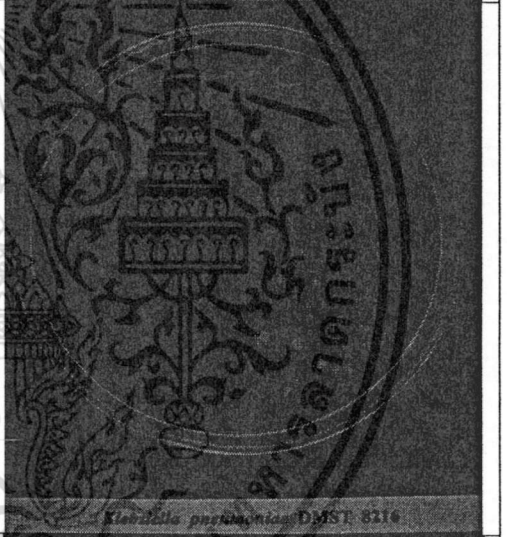
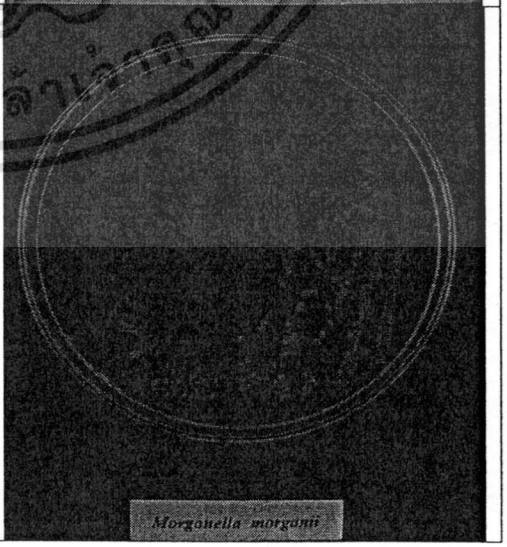
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	ภาพถ่ายลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Edwardsiella tarda	โคโลนีลักษณะบาง ผิวเรียบ สีใส ขนาด 0.2 – 0.5 มิลลิเมตร	
Enterobacter intermedium	โคโลนีลักษณะเป็นเมือก ผิวเรียบ ขนาด 0.5 - 1 มิลลิเมตร	
Escherichia coli	โคโลนีลักษณะกลมนูน มีผิวเรียบมัน ทึบแสง ขนาด 1- 2 มิลลิเมตร	

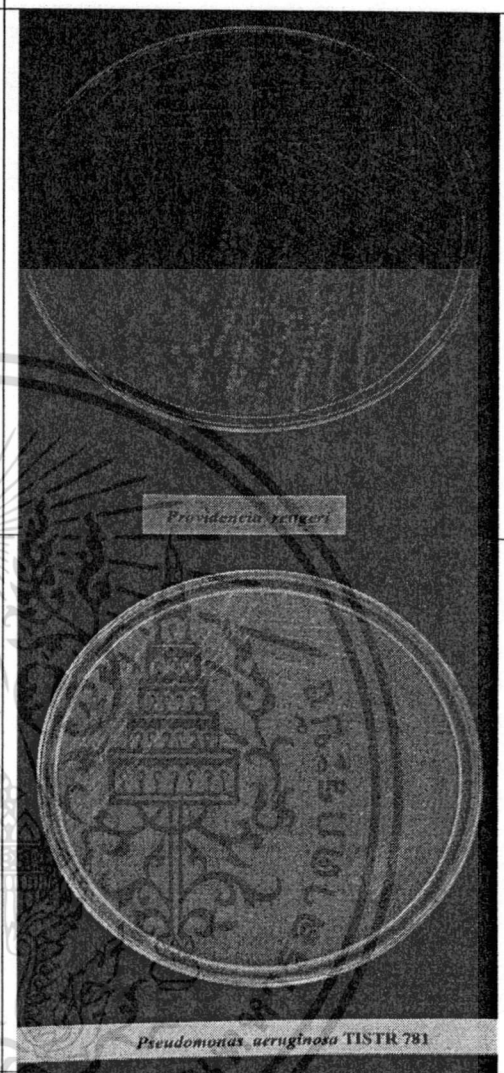
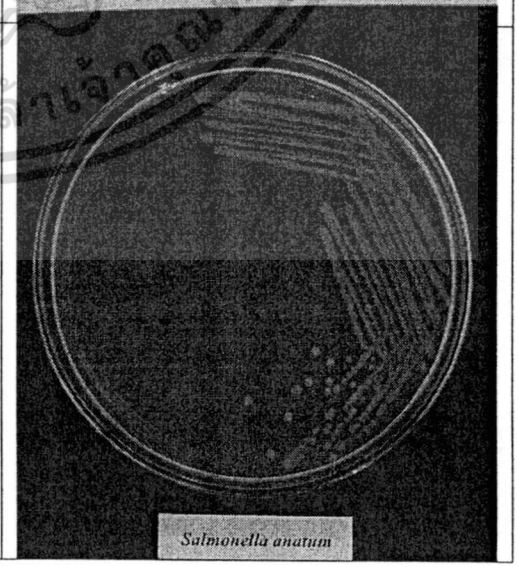
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	ภาพถ่ายลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Hafnia alvei	โคโลนีลักษณะ กลมเล็ก สีใส ขนาด 0.5-1 มิลลิเมตร	
Klebsiella pneumoniae DMST 8216	โคโลนีลักษณะกลม นูน สีครีม เป็นเมือก ขนาด 0.8-1 มิลลิเมตร	
Morganella morganii	โคโลนีลักษณะกลมนูน สีครีม ขนาด 1- 2 มิลลิเมตร	

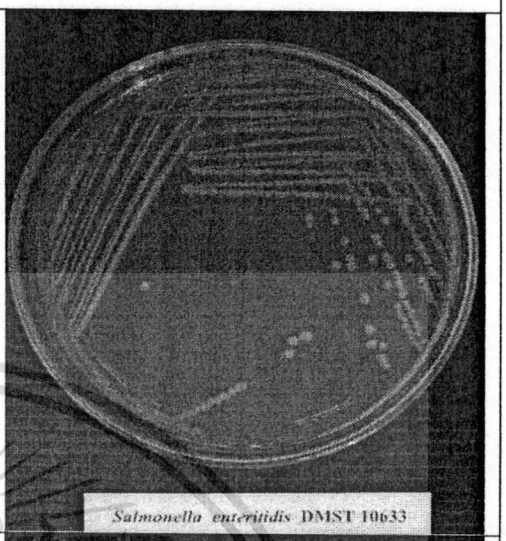
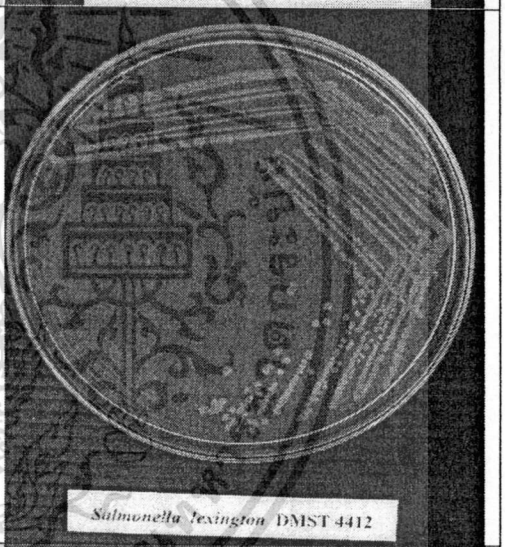
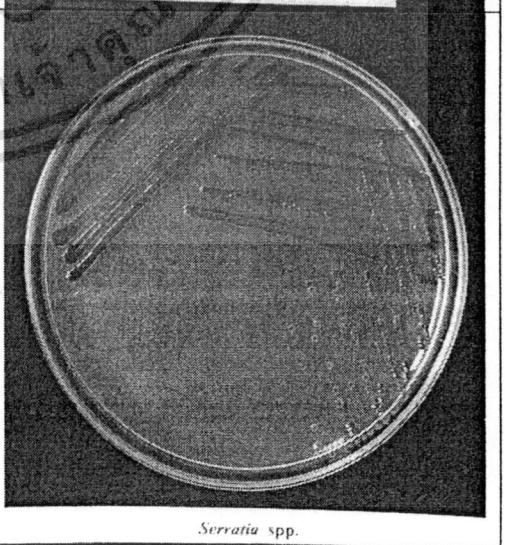
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	ภาพถ่ายลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Providencia rettgeri	โคโลนีลักษณะกลม สีขาวขุ่น ผิวเรียบ ขนาด 1- 2 มิลลิเมตร	
Pseudomonas aeruginosa TISTR 781	โคโลนีมีขนาดเล็กมาก สีใส ขนาด 0.2- 0.5 มิลลิเมตร	
Salmonella anotum	โคโลนีลักษณะกลม ขอบเรียบ ขนาด 0.5-1 มิลลิเมตร	

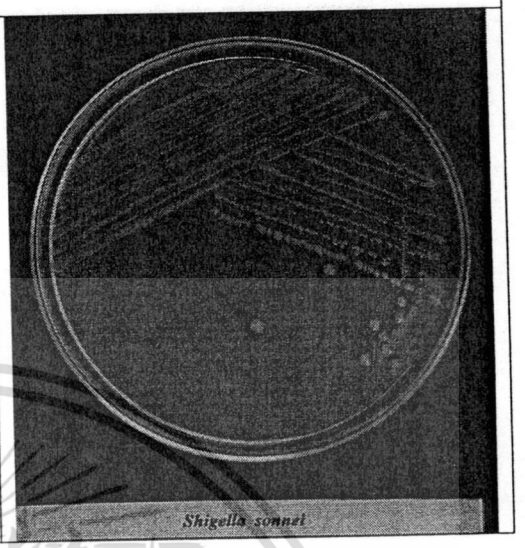
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	ภาพถ่ายลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Salmonella enteritidis DMST 10633	โคโลนีลักษณะ กลม ขอบเรียบ สีครีม ทึบแสง ขนาด 1- 2 มิลลิเมตร	
Salmonella lexington DMST 4412	โคโลนีลักษณะ กลม ขอบเรียบ สีครีมทึบแสง ขนาด 1- 2 มิลลิเมตร	
Serratia sp.	โคโลนีลักษณะกลม ผิวเรียบ มักมีสีชมพู สีแดง ขนาด 0.5 - 1.5 มิลลิเมตร	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

เชื้อแบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	ภาพถ่ายลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Shigella sonnei	โคโลนีกลมนูนโปร่งใส ขอบเรียบ มัน ไม่มีสี ขนาด 1- 2 มิลลิเมตร	

4.1.3 ผลการทดสอบเปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียแต่ละชนิดที่นำมาใช้ในการทดสอบ

1. *Aeromonas caviae*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Aeromonas caviae* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส ความสามารถในการย่อยอาร์จีนิน และความสามารถในการย่อยเจลาติน จากการทดลองพบว่า *Aeromonas caviae* มีรูปร่างเป็นท่อนปลายมน ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส สามารถย่อยอาร์จินินได้และสามารถย่อยเจลาตินได้ ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Aeromonas caviae* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อนปลายมน	ท่อน
การเคลื่อนที่	เคลื่อนที่	เคลื่อนที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Arginine Dihydrolase Test	+	+
Gelatin Hydrolysis Test	+	+

2. *Edwardsiella tarda*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Edwardsiella tarda* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส ความสามารถในการใช้ซิเตรท และความสามารถในการสร้างอินโดล จากการทดลองพบว่า *Edwardsiella tarda* มีรูปร่างเป็นท่อนตรงยาว ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส ไม่สามารถใช้ซิเตรท และสามารถสร้างอินโดลได้ ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Edwardsiella tarda* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนตรงยาว
การเคลื่อนที่	เคลื่อนที่	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Citrate Utilization Test	-	-
Indole Test	+	+

3. *Enterobacter intermedius*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Enterobacte intermedius* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส การทดสอบดีอะมิเนส และความสามารถในการสร้างอินโดล จากการทดลองพบว่า *Enterobacter*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

intermedius มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ดีอะมิเนส และไม่สามารถสร้างอินโดลได้ ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Enterobacter intermedius* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	เคลื่อนที่	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Deaminase Test	-	-
Indole Test	-	-

4. *Escherichia coli*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Escherichia coli* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส ความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท และการทดสอบเมทิลคาร์บินอล จากการทดลองพบว่า *Escherichia coli* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส สามารถรีดิวซ์ไนเตรท และไม่สามารถผลิตอะซิโตอิน ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Escherichia coli* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	เคลื่อนที่	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Nitrate Reduction Test	+	+
VP Test	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. *Hafnia alvei*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Hafnia alvei* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส การทดสอบดีอะมิเนส และความสามารถในการสร้างอินโดล จากการทดลองพบว่า *Hafnia alvei* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ดีอะมิเนส และไม่สามารถสร้างอินโดลได้ ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Hafnia alvei* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	เคลื่อนที่	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Deaminase Test	-	-
Indole Test	-	-

6. *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Klebsiella pneumoniae* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส การทดสอบดีอะมิเนส และความสามารถในการสร้างอินโดล จากการทดลองพบว่า *Klebsiella pneumoniae* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ไม่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ดีอะมิเนส และไม่สามารถสร้างอินโดลได้ ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216 ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	ไม่เคลื่อนที่	ไม่เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Deaminase Test	-	-
Indole Test	-	-

7. *Morganella morganii*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Morganella morganii* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส การทดสอบยูรีเอส และความสามารถในการสร้างอินโดล จากการทดลองพบว่า *Morganella morganii* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส สามารถผลิตเอนไซม์ยูรีเอส และสามารถสร้างอินโดลได้ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ไม่ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Morganella morganii* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	ไม่เคลื่อนที่	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Urease Test	+	+
Indole Test	+	+

8. *Providencia rettgeri*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Providencia rettgeri* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส การทดสอบยูรีเอส และความสามารถในการสร้างอินโดล จากการทดลองพบว่า *Providencia rettgeri* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส สามารถผลิตเอนไซม์ยูรีเอส และสามารถสร้างอินโดลได้ ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ไม่ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Providencia rettgeri* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	เคลื่อนที่	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Urease Test	-	+
Indole Test	+	+

9. *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Pseudomonas aeruginosa* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส ความสามารถในการใช้กลูโคส จากการทดลองพบว่า *Pseudomonas aeruginosa* มีรูปร่างเป็นท่อนตรงยาว ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส และสามารถใช้น้ำกลูโคสได้ ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ*Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนตรงยาว
การเคลื่อนที่	เคลื่อนที่	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Utilization of Glucose	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. *Salmonella anotum*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Salmonella anotum* ไม่มีข้อมูลในโปรแกรม แต่ในโปรแกรมจะมีข้อมูลของ Salmonella สปีชีส์อื่น ซึ่งมีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส และการทดสอบเมทิลเรด จึงได้นำ *Salmonella anotum* มาทำการทดสอบเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น จากการทดลองพบว่า *Salmonella anotum* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส และสามารถสร้างกรดได้ ซึ่งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ผลจากการทดลองคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Salmonella anotum.*

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	ลบ
Catalase Test	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	+
MR Test	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	+

11. *Salmonella enteritidis* DMST 10633

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Salmonella enteritidis* ไม่มีข้อมูลในโปรแกรม แต่ในโปรแกรมจะมีข้อมูลของ Salmonella สปีชีส์อื่น ซึ่งมีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส และการทดสอบเมทิลเรด จึงได้นำ *Salmonella enteritidis* มาทำการทดสอบเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น จากการทดลองพบว่า *Salmonella enteritidis* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส และสามารถสร้างกรดได้ ซึ่งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 ผลจากการทดลองคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Salmonella enteritidis* DMST 10633

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	ลบ
Catalase Test	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	+
MR Test	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	+

12. *Salmonella lexington* DMST 4412

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Salmonella lexington* ไม่มีข้อมูลในโป รแกรม แต่ในโปรแกรมจะมีข้อมูลของ Salmonella สปีชีส์อื่น ซึ่งมีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส และการทดสอบเมทิลเรด จึงได้นำ *Salmonella lexington* มาทำการทดสอบเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น จากการทดลองพบว่า *Salmonella lexington* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส และสามารถสร้างกรดได้ ซึ่งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.14 ผลจากการทดลองคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Salmonella lexington* DMST 4412

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	ลบ
Catalase Test	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	+
MR Test	ไม่มีผลระบุในโปรแกรม	+

13. *Serratia* sp.

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Serratia* sp. มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการย่อยอาร์จินิน จากการทดลองพบว่า *Serratia* sp. มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส และไม่สามารถย่อยอาร์จินิน ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรมแสดงดังตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Serratia* sp. ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	เคลื่อนที่	เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Arginine Dihydrolase Test	-	-

14. *Shigella sonnei*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในกรณีที่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรียตามข้อมูลในโปรแกรม FBI dent เวอร์ชั่น 1.0 พบว่า *Shigella sonnei* มีการศึกษารูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบแคตาเลส ความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท และการทดสอบเมทิลคาร์บินอล จากการทดลองพบว่า *Shigella sonnei* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ติดสีแดงของซาฟานินเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีการเคลื่อนที่ สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส สามารถรีดิวซ์ไนเตรท และไม่สามารถผลิตอะซิโตอิน ซึ่งจากการทดลองผลที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรมแสดงดังตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 เปรียบเทียบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Shigella sonnei* ระหว่างผลจากโปรแกรมและผลจากการทดลอง

การทดสอบ	ผลจากโปรแกรม	ผลจากการทดลอง
รูปร่าง	ท่อน	ท่อนสั้น
การเคลื่อนที่	ไม่เคลื่อนที่	ไม่เคลื่อนที่
การติดสีแกรม	ลบ	ลบ
Catalase Test	+	+
Nitrate Reduction Test	+	+
VP Test	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

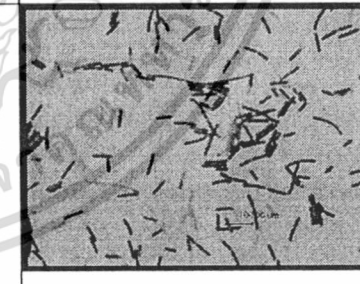
4.5.2 แบคทีเรียแกรมบวก

4.5.2.1 ลักษณะรูปร่างและการติดสีแกรม

จากการย้อมแกรมเพื่อดูรูปร่างและการติดสีแกรมของแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 9 ชนิด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า พบว่าเชื้อ *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans* และ *Bacillus subtilis* มีรูปร่างเป็นท่อนตรงหรือเกือบตรง *Lactobacillus casei* มีรูปร่างเป็นท่อนยาว *Lactobacillus lactis* มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น *Listeria monocytogenes* มีรูปร่างเป็นท่อน *Leuconostoc mesenteroides* มีรูปร่างกลมรี *Pediococcus halophilus* และ *Staphylococcus aureus* มีรูปร่างกลม ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 9 ชนิดนี้ติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต แสดงดังตารางที่ 4.17

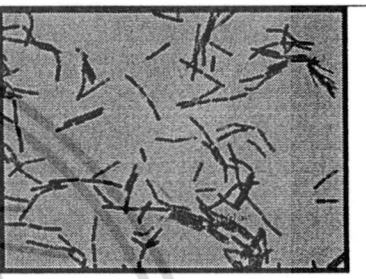
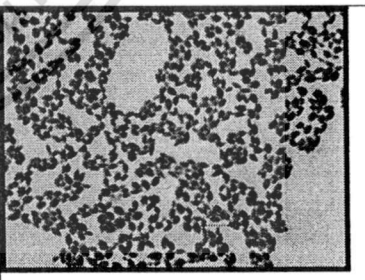
การติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต เนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวกมีไขมันที่ผนังเซลล์น้อยกว่าแบคทีเรียแกรมลบ และมีความซับซ้อนขององค์ประกอบที่ผนังเซลล์น้อยกว่า เมื่อล้างสีด้วยแอลกอฮอล์ เซลล์จะเหี่ยว เพราะเกิดการสูญเสียน้ำ เยื่อหุ้มเซลล์มีรูขนาดเล็กลง สารประกอบโมเลกุลใหญ่ของสีละลายออกมาไม่ได้ เซลล์ยังคงติดสีม่วง เมื่อย้อมทับด้วยซาฟรานิน จึงย้อมไม่ติดสีแดง (นงลักษณ์และปรีชา ,2547)

ตารางที่ 4.17 แสดงผลการย้อมแกรมของแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 9 ชนิด

เชื้อทดสอบ	ลักษณะรูปร่าง	ภาพถ่ายลักษณะรูปร่างและการติดสีแกรมของเชื้อทดสอบ
Bacillus cereus	รูปร่างเป็นท่อนตรง หรือเกือบตรง มีเอนโดสปอร์	

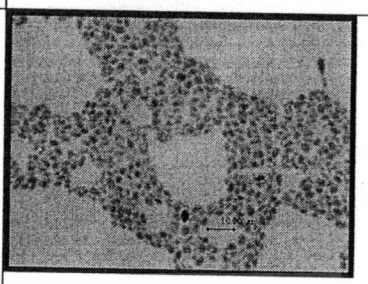
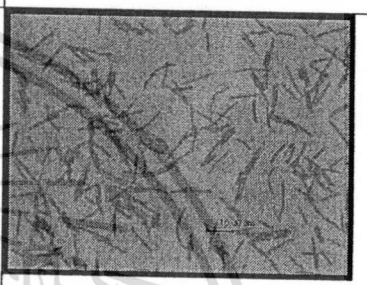
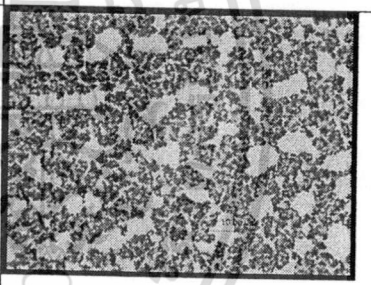
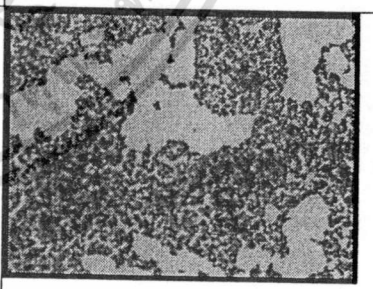
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 (ต่อ)

เชื้อทดสอบ	ลักษณะรูปร่าง	ภาพถ่ายลักษณะรูปร่างและการติดสีแกรมของเชื้อทดสอบ
Bacillus coagulans	รูปร่างเป็นท่อนตรง หรือเกือบตรง มีเอนโดสปอร์	
Bacillus subtilis	รูปร่างเป็นท่อนตรง หรือเกือบตรง มีเอนโดสปอร์	
Lactobacillus casei	รูปร่างเป็นท่อนยาว	
Lactobacillus lactis	รูปร่างเป็นท่อนสั้นถึงกลมรี	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 (ต่อ)

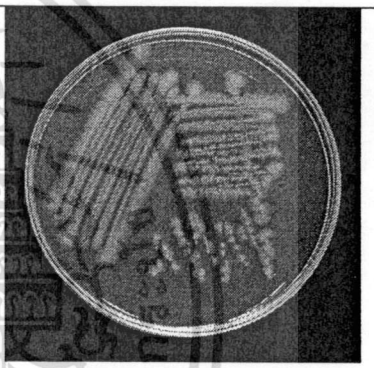
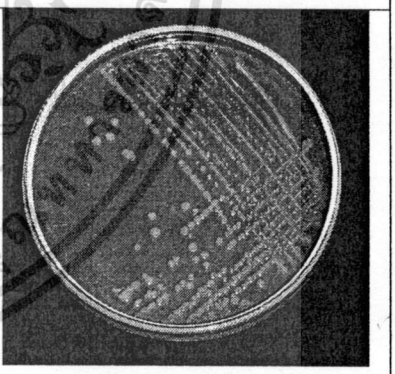
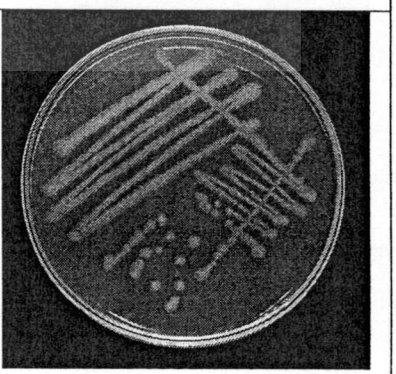
เชื้อทดสอบ	ลักษณะรูปร่าง	ภาพถ่ายลักษณะรูปร่างและการติดสีแกรมของเชื้อทดสอบ
Leuconostoc mesenteroides	รูปร่างกลมรี	
Listeria monocytogenes	มีรูปร่างเป็นท่อน	
Pediococcus halophilus	รูปร่างกลม	
Staphylococcus aureus	รูปร่างกลม	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2.2 ลักษณะโคโลนี

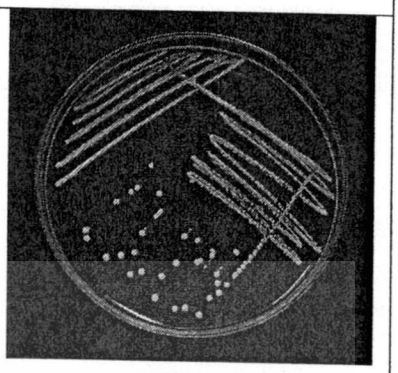
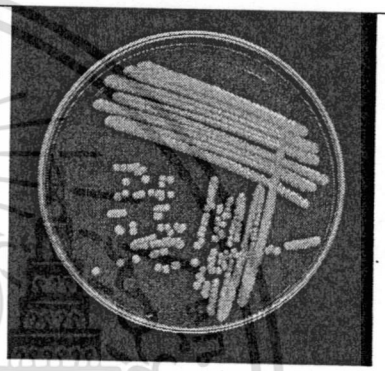
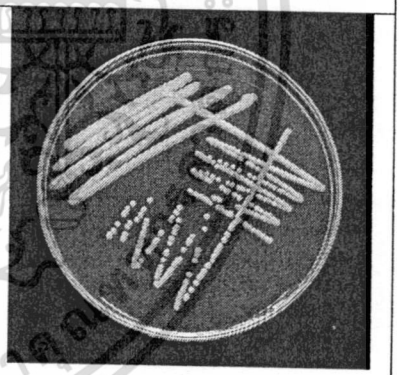
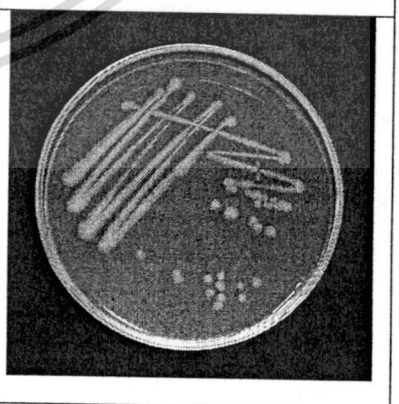
จากการนำเชื้อทดสอบทั้ง 9 ชนิด มาทำการ cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อดูลักษณะโคโลนีของเชื้อแต่ละชนิด โดยเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่า *Bacillus cereus* , *Bacillus coagulans* , *Listeria monocytogenes* , *Pediococcus halophilus* และ *Staphylococcus aureus* มีโคโลนีผิวเรียบ สีครีม ทึบแสง *Bacillus subtilis* มีโคโลนีผิวเรียบหรือขรุขระ สีครีม ทึบแสง *Lactobacillus casei* และ *Leuconostoc mesenteroides* มีโคโลนีผิวเรียบ สีขาว *Lactobacillus lactis* มีโคโลนีผิวขรุขระ สีครีม แสดงดังตารางที่ 4.18

ตารางที่ 4.18 แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อของเชื้อทดสอบ 9 ชนิด

เชื้อทดสอบ	ลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ	ภาพถ่ายลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Bacillus cereus	โคโลนีผิวเรียบ สีครีม ทึบแสง ขอบหยัก	
Bacillus coagulans	โคโลนีผิวเรียบ สีครีม ทึบแสง ขอบเรียบ	
Bacillus subtilis	โคโลนีผิวเรียบหรือขรุขระ สีครีม ทึบแสง ขอบเรียบ	

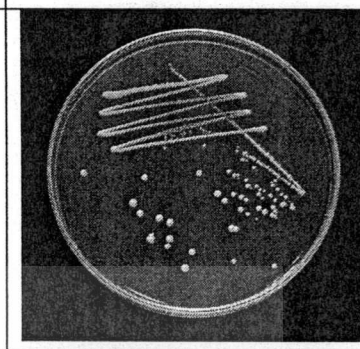
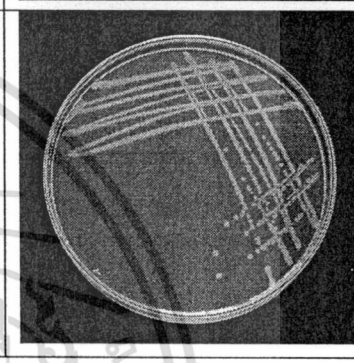
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 (ต่อ)

เชื้อทดสอบ	ลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ	ภาพถ่ายลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Lactobacillus casei	โคโลนีผิวเรียบ สีขาว ขอบเรียบ	
Lactobacillus lactis	โคโลนีผิวขรุขระ สีครีม ขอบเรียบ	
Leuconostoc mesenteroides	โคโลนีผิวเรียบ ขนาดเล็ก สีขาว ขอบเรียบ	
Listeria monocytogenes	โคโลนีผิวเรียบ สีครีม ทึบแสง ขอบเรียบ	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 (ต่อ)

เชื้อทดสอบ	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	ภาพถ่ายลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Pediococcus halophilus	โคโลนีผิวเรียบ สีครีม ทึบแสง ขอบเรียบ	
Staphylococcus aureus	โคโลนีผิวเรียบ สีครีม ทึบแสง ขอบเรียบ	

4.5.2.3 การทดสอบทางชีวเคมี

1. *Bacillus cereus*

จากการทดสอบทางชีวเคมีตามโปรแกรม FBI dent ในกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย เชื้อ *B. cereus* มีการทดสอบดังนี้ การเคลื่อนที่ ความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการสร้างแก๊สจากน้ำตาลกลูโคส และความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท ผลการทดสอบพบว่า *B. cereus* สามารถเคลื่อนที่ได้ โดยเชื้อจะมีรอยการเจริญออกจากรอยที่แทงไว้ สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคสได้ โดยอาหารที่ใส่เชื้อจะมีการเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลือง แต่ไม่สามารถสร้างแก๊สได้ และสามารถรีดิวซ์ไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ โดยเกิดสีแดงปนตะกอน ซึ่งผลที่ได้ตรงกับผลจากโปรแกรม FBIdent Version 1.0 แสดงดังตารางที่ 4.19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus cereus* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0

วิธีการทดสอบของ เชื้อ *B. cereus*	ผลการทดสอบ	ผลจากโปรแกรม FBI dent V.1.0
การเคลื่อนที่	+	+
Acid production from glucose	+	+
Gas production from glucose	-	-
Nitrate reduction test	+	+

2. *Bacillus coagulans*

จากการทดสอบทางชีวเคมีตามโปรแกรม FBI dent ในกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย เชื้อ *B. coagulans* มีการทดสอบดังนี้ การเคลื่อนที่ ความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการสร้างแก๊สจากน้ำตาลกลูโคส และความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท ผลการทดสอบพบว่า *B. coagulans* สามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคสได้ แต่ไม่สามารถสร้างแก๊สได้ และสามารถรีดิวซ์ไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ซึ่งผลที่ได้ตรงกับผลจากโปรแกรม FBIdent Version 1.0 แสดงดังตารางที่ 4.20

ตารางที่ 4.20 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus coagulans* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับโปรแกรม FBI dent V.1.0

วิธีการทดสอบของเชื้อ *B. coagulans*	ผลการทดสอบ	ผลจากโปรแกรม FBI dent V.1.0
การเคลื่อนที่	+	+
Acid production from glucose	+	+
Gas production from glucose	-	-
Nitrate reduction test	+	+

3. *Bacillus subtilis*

จากการทดสอบทางชีวเคมีตามโปรแกรม FBI dent ในกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย เชื้อ *B. subtilis* มีการทดสอบดังนี้ การเคลื่อนที่ ความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการสร้างแก๊สจากน้ำตาลกลูโคส และความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท ผลการทดสอบพบว่า *B. subtilis* สามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถสร้างกรดจากน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลูโคสได้ แต่ไม่สามารถสร้างแก๊สได้ และสามารถรีดิวซ์ไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ซึ่งผลที่ได้ตรงกับผลจากโปรแกรม FBIdent Version 1.0 แสดงดังตารางที่ 4.21

ตารางที่ 4.21 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus subtilis* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0

วิธีการทดสอบของเชื้อ *B. subtilis*	ผลการทดสอบ	ผลจากโปรแกรม FBI dent V.1.0
การเคลื่อนที่	+	+
Acid production from glucose	+	+
Gas production from glucose	-	-
Nitrate reduction test	+	+

4. *Lactobacillus casei*

จากการทดสอบทางชีวเคมีตามโปรแกรม FBI dent ในกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย เชื้อ *L. casei* มีการทดสอบดังนี้ การเคลื่อนที่ ความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการสร้างแก๊สจากน้ำตาลกลูโคส และความสามารถในการใช้เซลโลไบโอส ผลการทดสอบพบว่า *L. casei* สามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคสได้ แต่ไม่สามารถสร้างแก๊สได้ และสามารถใช้เซลโลไบโอสในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ซึ่งผลที่ได้ตรงกับผลจากโปรแกรม FBIdent Version 1.0 แสดงดังตารางที่ 4.22

ตารางที่ 4.22 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Lactobacillus casei* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0

วิธีการทดสอบของเชื้อ *Lactobacillus casei*	ผลการทดสอบ	ผลจากโปรแกรม FBI dent V.1.0
การเคลื่อนที่	+	+
Acid production from glucose	+	+
Gas production from glucose	-	-
Utilization of cellobios	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. *Lactobacillus lactis*

จากการทดสอบทางชีวเคมีตามโปรแกรม FBI dent ในกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย เชื้อ *L. lactis* มีการทดสอบดังนี้ การเคลื่อนที่ ความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการสร้างแก๊สจากน้ำตาลกลูโคส และความสามารถในการใช้เซลโลไบโอส ผลการทดสอบพบว่า *L. lactisi* สามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคสได้ แต่ไม่สามารถสร้างแก๊สได้ และสามารถใช้เซลโลไบโอสในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ซึ่งผลที่ได้ตรงกับผลจากโปรแกรม FBIdent Version 1.0 แสดงดังตารางที่ 4.23

ตารางที่ 4.23 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Lactobacillus lactis* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0

วิธีการทดสอบของเชื้อ *Lactobacillus lactis*	ผลการทดสอบ	ผลจากโปรแกรม FBI dent V.1.0
การเคลื่อนที่	+	+
Acid production from glucose	+	+
Gas production from glucose	-	-
Utilization of cellobios	-	-

6. *Leuconostoc mesenteroides*

จากการทดสอบทางชีวเคมีตามโปรแกรม FBI dent ในกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย เชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* มีการทดสอบดังนี้ การเคลื่อนที่ การทดสอบการใช้อาร์จินีน การทดสอบเอนไซม์แคตาเลส และการทดสอบการสร้างอินโดล ผลการทดสอบพบว่า *Leuconostoc mesenteriodes* ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่สามารถใช้อาร์จินีนได้ ไม่สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสได้ และไม่สามารถสร้างอินโดลได้ ซึ่งผลที่ได้ตรงกับผลจากโปรแกรม FBIdent Version 1.0 แสดงดังตารางที่ 4.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.24 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0

วิธีการทดสอบของเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides*	ผลการทดสอบ	ผลจากโปรแกรม FBI dent V.1.0
การเคลื่อนที่	-	-
Arginine dihydrolase test	-	-
Catalase test	-	-
Indole test	-	-

7. Listeria monocytogenes

จากการทดสอบทางชีวเคมีตามโปรแกรม FBI dent ในกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย เชื้อ *Listeria monocytogenes* มีการทดสอบดังนี้ การเคลื่อนที่ การทดสอบเอนไซม์แคตาเลส การทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดส และความสามารถในการสร้างกรดจากแมนนิทอล ผลการทดสอบพบว่า *Listeria monocytogenes* สามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสได้ ไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดส และสามารถสร้างกรดจากแมนนิทอลได้ ซึ่งผลที่ได้ตรงกับผลจากโปรแกรม FBIdent Version 1.0 แสดงดังตารางที่ 4.25

ตารางที่ 4.25 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Listeria monocytogenes* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0

วิธีการทดสอบของเชื้อ *Listeria monocytogenes*	ผลการทดสอบ	ผลจากโปรแกรม FBI dent V.1.0
การเคลื่อนที่	+	+
Catalase test	+	+
Oxidase test	-	-
Acid production from mannitol	+	+

8. Pediococcus halophilus

จากการทดสอบทางชีวเคมีตามโปรแกรม FBI dent ในกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรียเชื้อ *Pediococcus halophilus* มีการทดสอบดังนี้ การเคลื่อนที่ การทดสอบเอนไซม์แคตาเลส ความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท และการทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดส ผลการทดสอบพบว่า *Pediococcus halophilus* ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่สามารถรีดิวซ์ไนเตรทได้ และไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดส ซึ่งผลที่ได้ตรงกับผลจากโปรแกรม FBIdent Version 1.0 แสดงดังตารางที่ 4.26

ตารางที่ 4.26 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Pediococcus halophilus* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0

วิธีการทดสอบของเชื้อ *Pediococcus halophilus*	ผลการทดสอบ	ผลจากโปรแกรม FBI dent V.1.0
การเคลื่อนที่	-	-
Catalase test	-	-
Nitrate reduction test	-	-
Oxidase test	-	-

9. Staphylococcus aureus

จากการทดสอบทางชีวเคมีตามโปรแกรม FBI dent ในกรณีที่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรียเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีการทดสอบดังนี้ การเคลื่อนที่ การทดสอบเอนไซม์แคตาเลส การทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดส และความสามารถในการสร้างกรดจากดีไซโลส ผลการทดสอบพบว่า *Staphylococcus aureus* ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสได้ ไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดส และสามารถสร้างกรดจากดีไซโลสได้ ซึ่งผลที่ได้ตรงกับผลจากโปรแกรม FBIdent Version 1.0 แสดงดังตารางที่ 4.27

ตารางที่ 4.27 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเปรียบเทียบผลที่ได้กับ โปรแกรม FBI dent V.1.0

วิธีการทดสอบของเชื้อ *Staphylococcus aureus*	ผลการทดสอบ	ผลจากโปรแกรม FBI dent V.1.0
การเคลื่อนที่	-	-
Catalase test	+	+
Oxidase test	-	-
Acid production from D-xylose	+	+

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาโดยดูลักษณะโคโลนีเมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และย้อมแกรมเพื่อดูรูปร่างและการติดสีแกรมของแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบ 9 ชนิด พบว่า

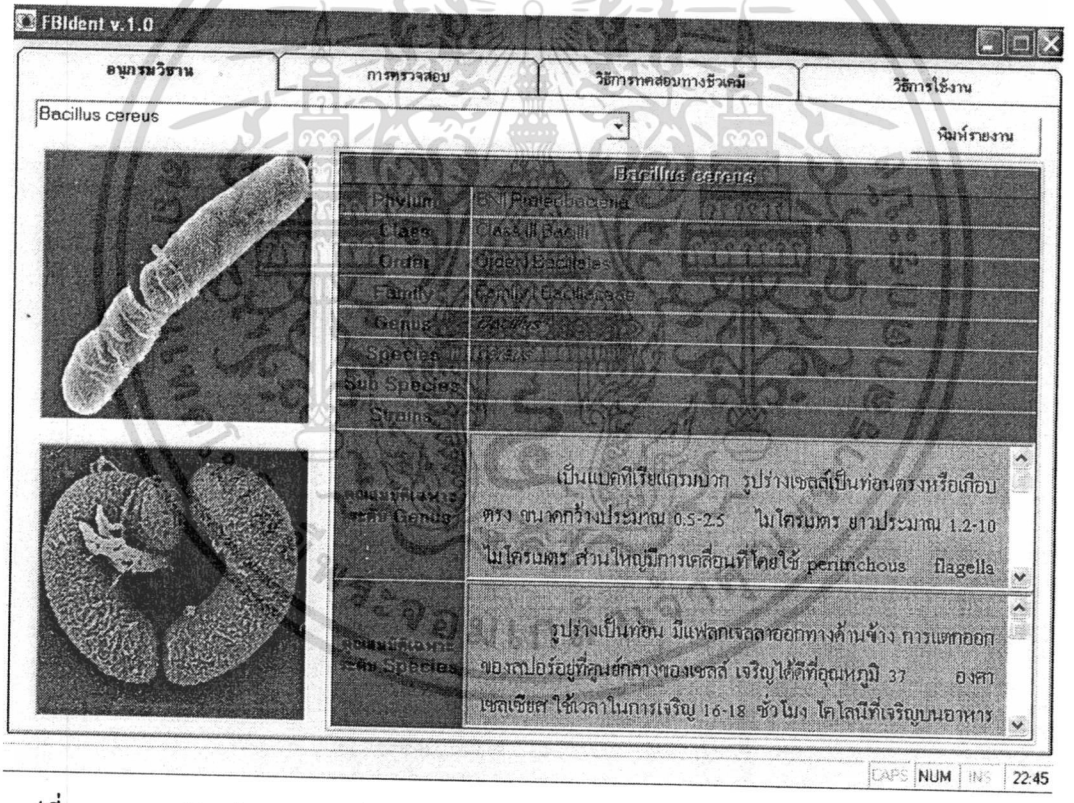
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีในโปรแกรม FBI dent version 1.0 ที่ได้สร้างไว้ จึงได้ทำการถ่ายภาพลักษณะเชื้อที่ได้จากการทดลองนำไปลงในโปรแกรมเพื่อให้โปรแกรมมีความสมบูรณ์มากขึ้น และเมื่อนำเชื้อทั้ง 9 ชนิดซึ่งทราบชื่อสกุลของเชื้อ มาทดสอบทางชีวเคมีเพื่อดูผลการทดสอบว่าตรงกับผลในโปรแกรมที่สร้างไว้หรือไม่ โดยแบคทีเรียทั้ง 9 ชนิดมีวิธีการทดสอบทางชีวเคมีที่แตกต่างกันออกไปแล้วแต่ชนิดของเชื้อ จากการทดสอบพบว่าผลการทดสอบได้ผลตรงกับโปรแกรมที่สร้างไว้ จึงเห็นได้ว่าข้อมูลที่มีในโปรแกรม FBI dent version 1.0 ที่สร้างไว้ เมื่อนำแบคทีเรียแกรมบวกที่มีในโปรแกรมมาทดสอบ (กรณีทราบชื่อสกุลของแบคทีเรีย) ผลที่ได้ตรงกับข้อมูลในโปรแกรม แสดงว่าโปรแกรม FBI dent version 1.0 มีความน่าเชื่อถือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการดำเนินงาน

การดำเนินงานสร้างโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 ใช้โปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซส เอ็กซ์พี ในการบันทึกฐานข้อมูลเกี่ยวกับแบคทีเรียทั้งหมด 340 ชนิด แบ่งข้อมูลทั้งหมดออกเป็น 26 ตาราง โดยแบ่งตามลักษณะพื้นฐาน และคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรีย และจัดกลุ่มแบคทีเรียที่มีความคล้ายคลึงกันไว้ในตารางเดียวกัน เพื่อความสะดวกในการเข้าถึงข้อมูลที่อ้างอิงจากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 8 และ 9 ตามลำดับ และใช้โปรแกรมไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค ในการเขียนโค๊ดชุดคำสั่งจัดการระบบฐานข้อมูล และออกแบบลักษณะการทำงานให้ตรงตามวัตถุประสงค์ โดยทำงานร่วมกับโปรแกรมคริสตัลรีพอร์ทและบิซิเนสพีดีเอฟไรท์เตอร์ เพื่อช่วยในการแสดงผล และพิมพ์รายงาน



รูปที่ 5.1 แสดงตัวอย่างรายละเอียดของ *Bacillus Cereus* จากโปรแกรม FBIdent เวอร์ชั่น 1.0

โปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 ที่สร้างขึ้น สามารถใช้ในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย โดยช่วยเหลือในส่วนของการจัดเก็บเอกสารจำนวนมาก เพื่อความสะดวกในการเลือกใช้ และช่วยเหลือในการคิดและวิเคราะห์ผลข้อมูล พร้อมทั้งช่วยเลือกวิธีทดสอบทางชีวเคมีที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี สามารถประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจสอบได้เป็นอย่างมาก นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นพจนานุกรมขนาดเล็กของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร ดังตัวอย่างการค้นหาข้อมูลของเชื้อ *Bacillus cereus* ในรูปที่ 5.1 รวมไปถึงวิธีทดสอบทางชีวเคมี การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารทดสอบ สามารถค้นหาได้ง่ายและสะดวก เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติทางวิทยาศาสตร์ขนาดเล็กไปจนถึงขนาดกลาง

ปัญหาหลักที่เกิดขึ้นระหว่างการสร้างโปรแกรม จะอยู่ในขั้นตอนการสร้างฐานข้อมูลเป็นส่วนใหญ่ เพราะแม้ว่าหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology เป็นแหล่งอ้างอิงข้อมูลของแบคทีเรียที่ได้รับการยอมรับจากทั่วโลก แต่เนื่องจากจำนวนชนิดของแบคทีเรียที่มีมากมาย และมีการศึกษาใหม่ๆเกิดขึ้นตลอดเวลา ทำให้แบคทีเรียบางชนิดเช่น *Bacillus, Clostridium และ Lactobacillus* ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง เกิดการค้นพบสายพันธุ์ใหม่ๆเพิ่มขึ้นอยู่เสมอ ข้อมูลของแบคทีเรียเหล่านี้จึงยังไม่มีการบันทึกไว้ในหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology เล่มที่ 9 จำเป็นต้องดึงข้อมูลจากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology เล่มที่ 8 มาใช้ประกอบ และค้นคว้าข้อมูลเพิ่มเติมจากอินเตอร์เนต นอกจากนี้ยังมีผลการทดสอบทางชีวเคมีอีกจำนวนไม่น้อยที่ไม่สามารถระบุผลบวกและผลลบได้อย่างชัดเจน ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการสร้างฐานข้อมูล ซึ่งรวมไปถึงเทคโนโลยีในการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย ที่กำลังพัฒนาก้าวเข้าสู่ระดับโมเลกุล โดยใช้ความรู้ทางพันธุกรรม ซึ่งสามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้อย่างแม่นยำและเป็นระบบมากกว่าการใช้วิธีการทดสอบทางชีวเคมี แต่เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีขั้นสูง จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์เครื่องมือราคาแพงและผู้ใช้งานที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะทาง ทำให้อาจใช้เทคโนโลยีและเครื่องมือเหล่านี้ได้เฉพาะในห้องปฏิบัติทางวิทยาศาสตร์ขนาดใหญ่เท่านั้น โปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้เพื่อช่วยเหลือการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย ด้วยวิธีการทดสอบทางชีวเคมีที่สามารถปฏิบัติการทดสอบและตรวจผลได้ง่าย สะดวกรวดเร็ว และประหยัดค่าใช้จ่าย

เนื่องจากโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 เป็นโปรแกรมเฉพาะทาง ที่รวบรวมข้อมูลเฉพาะแบคทีเรียที่มีความเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งบางครั้งการสืบค้นแบคทีเรียชนิดอื่นนอกเหนือจากที่มีในโปรแกรมจึงไม่อาจทำได้ ในอนาคตจึงควรจะมีการปรับปรุงฐานข้อมูลให้ละเอียดกว่าเดิม และอาจจะขยายขอบเขตเพื่อให้ครอบคลุมแบคทีเรียในกลุ่มอื่นๆมากขึ้น นอกจากนี้หลังการพัฒนาโปรแกรม ควรจะมีการทดสอบการใช้งานจริงในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ขนาดเล็ก หรือขนาดกลาง เพื่อให้ผู้ใช้งานประเมินผลความถูกต้องของโปรแกรม อันจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย ที่ใช้ในงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพต่อไปในอนาคต

จากการทดลองเพื่อทำการประเมินผลของโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 โดยใช้แบคทีเรียแกรมลบทั้งหมด 14 ชนิด พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. *Aeromonas caviae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนปลายมน สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส มีความสามารถในการย่อยอาร์จินิน และมีความสามารถในการย่อยเจลาตินได้

2. *Edwardsiella tarda* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนตรงยาว สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส ไม่มีความสามารถในการใช้ซิเตรท และมีความสามารถในการสร้างอินโดล

3. *Enterobacter intermedius* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส ไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ดีอะมิเนส และไม่มีความสามารถในการสร้างอินโดล

4. *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส มีความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท และไม่มีความสามารถในการสร้างอะซิโตอิน

5. *Hafnia alvei* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส ไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ดีอะมิเนส และไม่มีความ สามารถในการสร้างอินโดล

6. *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216 เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ไม่สามารถเคลื่อนได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส ไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ดีอะมิเนส และไม่มีความสามารถในการสร้างอินโดล

7. *Morganella morganii* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยูรีเอส และมีความสามารถในการสร้างอินโดล

8. *Providencia rettgeri* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยูรีเอส และมีความสามารถในการสร้างอินโดล

9. *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนตรงยาวหรือโค้งเล็กน้อย สามารถเคลื่อนได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส และมีความสามารถในการใช้ดีกลูโคส

10. *Salmonella anotum* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส และมีความสามารถในการสร้างกรด

11. *Salmonella enteritidis* DMST 10633 เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส และมีความสามารถในการสร้างกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. *Salmonella lexington* DMST 4412 เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส และมีความสามารถในการสร้างกรด

13. *Serratia* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส และไม่มีความสามารถในการย่อยอาร์จินิน

14. *Shigella sonnei* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ไม่สามารถเคลื่อนได้ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส และมีความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท จากการ ทดสอบลักษณะทางสัญฐานวิทยาและทางชีวเคมีพบว่ามีเพียง 2 การทดสอบที่มีผลไม่ตรงกับผลของโปรแกรม คือ การทดสอบการเคลื่อนที่ของ *Morganella morganii* พบว่าเชื้อนี้สามารถเคลื่อนที่ได้ ขณะที่ข้อมูลจากโปรแกรมแสดงผลว่าไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ และการทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยูรีเอสของเชื้อ *Providencia rettgeri* จากการทดสอบพบว่าเชื้อนี้มีความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ยูรีเอส ขณะที่ข้อมูลจากโปรแกรมแสดงผลว่าไม่มีความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ยูรีเอส และจากการค้นคว้าเพิ่มเติมจากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) พบว่าทั้ง *Morganella morganii* สามารถเคลื่อนที่ได้ และ *Providencia rettgeri* สามารถการสร้างเอ็นไซม์ยูรีเอส ซึ่งตรงกับผลจากการทดสอบ สำหรับเชื้อ *Salmonella anotum, Salmonella enteritidis* และ *Salmonella lexington* ไม่มีข้อมูลในโปรแกรม แต่ได้นำเชื้อเหล่านี้มาทำการทดสอบตามข้อมูลที่มีในโปรแกรมโดยใช้ *Salmonella* sp. ผลการทดสอบให้ข้อมูลตรงกับในโปรแกรม แต่ถ้าต้องการจัดจำแนกลงถึงสปีชีส์จะต้องมีการทดสอบเพิ่มเติมจากข้อมูลที่มีในโปรแกรม ถึงจะจัดจำแนกได้ว่าเป็น Salmonella สปีชีส์ใด

จากการนำแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 9 ชนิดมาทำการศึกษาลักษณะรูปร่างโดยการย้อมแกรม และศึกษาการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งนำมาทดสอบทางชีวเคมีตามที่โปรแกรม FBI dent version 1.0 เขียนไว้ พบว่าผลการทดสอบที่ได้ตรงกับข้อมูลที่มีอยู่ในโปรแกรมทั้งหมด แสดงว่าโปรแกรม FBI dent version 1.0 มีความถูกต้อง 100 เปอร์เซ็นต์ ในกรณีที่เราทราบชื่อสกุลแบคทีเรียที่นำมาตรวจสอบ

จากการหาข้อมูลในหนังสือ Bergey's Manual of Determinative bacteriology ในการจัดจำแนก bacillus ในระดับสปีชีส์ต่างๆ จะต้องมีการทดสอบทางชีวเคมีมากกว่าที่มีในโปรแกรม FBI dent version 1.0 เช่น ในการที่จะจัดจำแนก *B. subtilis* ออกจาก *B. pumitus* และ *B. licheniformis* จะต้องศึกษาและใช้การทดสอบต่างๆ ได้แก่ ขนาดของเซลล์ ความสามารถในการย่อยแป้ง ความสามารถในการย่อยฮิบปูเรต (hippurate) ความสามารถในการรีดิวซ์ไนเทรตเป็นไนไทรต์ ความสามารถในการเจริญในสภาวะไร้อากาศ รวมทั้งอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดในการเจริญ ลักษณะเหล่านี้สามารถใช้ในการจำแนกสปีชีส์ทั้งสามออกจากกันได้ หรือในการจัดจำแนก *B.cereus* ออกจาก *B.anthracis* , *B. thuringiensis* และ *B. megaterium* โดยศึกษาขนาดเซลล์ การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบความสามารถในการเคลื่อนที่ การสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส ไซโลส และแมนนิทอล ความสามารถในการรีดิวซ์ไนเทรตเป็นไนไทรต์ ปฏิกิริยา egg yalk ความสามารถในการเจริญในสภาวะไร้อากาศ ความสามารถในการสร้างด่างบนอาหารที่มีเกลือหรือซิเตรท รวมทั้งอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดในการเจริญ นอกจากนี้ยังสามารถจำแนก *B. coagulans* ออกจาก *B. stearothermophilus* และ *B. alvei* โดยศึกษาขนาดเซลล์ การทดสอบความสามารถในการเคลื่อนที่ การสร้างเอนไซม์แคตาเลส การสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส ไซโลส และแมนนิทอล ความสามารถในการเจริญในสภาวะไร้อากาศ ความสามารถในการสร้างอินโดลและไดไฮ-ดรอกซีอะซิโตน (dihydroxyacetone) รวมทั้งอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดในการเจริญ ซึ่งในโปรแกรม FBI dent version 1.0 มีข้อมูลในการทดสอบทางชีวเคมี 4 อย่าง ได้แก่ ความสามารถในการเคลื่อนที่ ความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการสร้างแก๊สจากน้ำตาลกลูโคส และความสามารถในการีดิสซ์ไนเตรท ซึ่งข้อมูลที่นำมาใช้ในการศึกษานี้สามารถจำแนกได้แค่ระดับจีนัสเท่านั้น นั่นคือ *bacillus* ถ้าต้องการจำแนกถึงระดับสปีชีส์ก็ต้องมีการทดสอบทางชีวเคมีเพิ่มเติมดังข้อมูลใน Bergey's Manual of Determinative bacteriology จึงจะสามารถจำแนกสปีชีส์ของเชื้อ *bacillus* ได้

ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการทดสอบและการค้นคว้าเอกสารเพิ่มเติมจะได้นำไปปรับปรุงแก้ไขข้อมูลในโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากกว่าเดิมเพื่อให้สามารถนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ได้จริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ดวงพร คันธโชติ. 2537. **อนุกรมวิธาน์ของแบคทีเรียและปฏิบัติการ.** กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 202 หน้า.

ไชยวัฒน์ ตระการรัตน์สันติ. 2543. **คู่มือการใช้งานและเขียนโปรแกรม Microsoft Access 2000**. กรุงเทพฯ: กิจอักษร. 383 หน้า.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 507 หน้า.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2538. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 735 หน้า.

นันทนี แขวงโสภา. 2544. **อินไซต์ Access XP (2002)**. กรุงเทพฯ: โปรวิชั่น. 632 หน้า.

ศุภชัย สมพานิช. 2545. **สร้างระบบงานฐานข้อมูลด้วย Visual Basic ฉบับปรับปรุง**. นนทบุรี: อินโฟ เพรส. 628 หน้า.

สัจจะ จรัสรุ่งรวีวร. 2542. **คู่มือการสร้างแอพพลิเคชั่นด้วย Visual Basic 6 ฉบับสมบูรณ์**. นนทบุรี: อินโฟ เพรส. 628 หน้า.

Buchanan, R. E., Gibbons, N. E., Cowan, S. T., Holt, J. G., Liston, J., Murray, R. G. E., Niven, C. F., Ravin, A. W. and Stanier, R. Y. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** 8th ED. Maryland: Willams & Wilkins. 1974. 1268 p.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T., editor . **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9th ED. Maryland: Willams & Wilkins. 1994. 787 p.

Cantón, R., Pérez-Vázquez, M., Oliver, A., Saz, B. S. D., Gutiérrez, M. O., Martínez-Ferrer, M. and Baquero, F. 2000. ***"Evaluation of the Wider System, a New Computer-Assisted Image-Processing Device for Bacterial Identification and Susceptibility Testing."*** *Journal of Clinical Microbiology.* ***38 : 1339-1346.***

Cocolin, L., Rantsiou, K., Iacumin, L., Cantoni, C. and Comi, G. 2002. "Direct Identification in Food Samples of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* by Molecular Methods." **Applied and Environmental Microbiology**. 68 : 6273-6282.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Miller, J.M. and Alachi, P. 1996. "Evaluation of New Computer-Enhanced Identification Program for Microorganisms: Adaptation of BioBASE for Identification of Members of the Family Enterobacteriaceae." **Journal of Clinical Microbiology.** 34 : 179 – 181.

Ogier, J.C., Son, O., Gruss, A., Tailliez, P. and Delacroix-Buchet, A. 2002. "Identification of the Bacterial Microflora in Dairy Products by Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis." **Applied and Environmental Microbiology.** 68 : 3691-3701.

O'Hara, C. M. and Miller J. M. 2000. "Evaluation of the MicroScan Rapid Neg ID3 Panel for Identification of* Enterobacteriaceae *and Some Common Gram-Negative Nonfermenters ." Journal of Clinical Microbiology. 38 : 3577-3580.

Oliveira, K., Procop, G. W., Wilson, D., Coull, J. and Stender, H. 2002. "Rapid Identification of* Staphylococcus aureus *Directly from Blood Cultures by Fluorescence In Situ Hybridization with Peptide Nucleic Acid Probes." **Journal of Clinical Microbiology.** 40 : 247-251.

Patel, J. B., Leonard, D. G. B., Pan, X., Musser, J. M., Berman, R. E. and Nachamkin, I. 2000. "Sequence-Based Identification of *Mycobacterium* Species Using the MicroSeq 500 16S rDNA Bacterial Identification System." **Journal of Clinical Microbiology.** 38 : 246-251.

Parry, T.J. and Pawsey, R.K.1995. Principles of Microbiology for Students of Food Technology. Stanley Thrones Ltd., Cheltenham , UK.

Reva, O., Sorokulova, I. and Smirnov, V. 2001. "Simplified Technique for Identification of the Aerobic Spore-Forming Bacteria by Phenotype." **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.** 51 : 1361-1371.

York, M. K., Baron, E. J.,Clarridge, J. E.,Thomson, R. B. and Weinstein, M. P. 2000. "Multilaboratory Validation of Rapid Spot Tests for Identification of *Escherichia coli*." **Journal of Clinical Microbiology.** 38 : 3394-3398.

Anonymous. 2005. Pseudomonas. [Online]. Available : http://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas.

Anonymous. 2005. Introductory Microbiology Laboratories. [Online]. Available : http://www.biology.ucok.edu/Microbiology/LabHomepage.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Anonymous. 2002. Reagents and test procedures. [Online]. Available :
http://jamaica.u.arizona.edu/ic/srl/micro/nazillabiochem.html

Christensen, W.B. 1946. Media - Bacteria. [Online]. Available :
http://whitewolf.newcastle.edu.au/techinfo/med_bacto.html

Dusold, L. 2001. Media Index . [Online]. Available :
http://vm.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-mi.html

Kaiser, G. 2002. LAB 8: Identification of Bacteria Through Biochemical Testing. [Online].
Available : http://www.cat.cc.md.us/courses/bio141/labmanua/lab8/lab8.html#starch

Leavell, S. 2005. Practical 1. [Online]. Available :
http://www.austin.cc.tx.us/microbugz/html/practical_1.html

Mark, L. 2004. Life Science Glossary. [Online]. Available :
http://www.biochem.northwestern.edu/holmgren/Glossary/Definitions.html

Reynolds, J. 2004. Lab Procrdures Manual. [Online]. Available :
http://www.rlc.dcccd.edu/mathsci/reynolds/micro/lab_manual/TOC.html

Sandie, L. 2005. Microbiology Lab Index. [Online]. Available :
http://www.austin.cc.tx.us/microbugz/labindex.html

Schwach, T. 2005. Image Gallery. [Online]. Available :
http://www.microscopyconsulting.com/Gallery/

Tayler, R. 2002. Bacterial Biochemical Tests. [Online]. Available :
http://whitewolf.newcastle.edu.au/techinfo/proc_bacto_biochem.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้