สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

ประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะและยาฆ่าเชื้อบางชนิดในการลดการปนเปื้อนบนผิวหนังสุกร

Efficacy of Some Antibiotics and Antiseptics for Bacterial Decontamination on Pig Skin

โดย

อ.น.สพ. ชนาธิป ธรรมการ

ผศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ

หลักสูตรสัตวศาสตร์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2554

RCH
SF
ส771
ธ149ป
ป.1
เลขหมู่ 120228
เลขทะเบียน
วัน, เดือน, ปี 10 ก.พ. 2555
b 12336786
i

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เรื่อง

ประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะและยาฆ่าเชื้อบางชนิดในการลดการปนเปื้อนบนผิวหนังสุกร

Efficacy of Some Antibiotics and Antiseptics for Bacterial Decontamination on Pig Skin

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะและยาฆ่าเชื้อในการลดการติดเชื้อแบคทีเรียบนผิวหนังสุกร และเพื่อหายาที่เหมาะสมในการลดการติดเชื้อแบคทีเรียบนผิวหนังสุกร โดยทำการศึกษาโดยการใช้ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล (Tetracycline) และยาเบตาดีน (Povidone Iodine) ในการยับยั้งและลดจำนวนเชื้ออีโคไล โคลิฟอร์ม และเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดบนหนังสุกรในระยะเวลาต่างๆ โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของยาทั้ง 2 ชนิดโดยใช้เชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* Typhimurium เป็นเชื้อทดสอบ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยเตรียมแผ่นหนังสุกรขนาด 21 x 30 เซนติเมตร จำนวน 18 แผ่น สำหรับทดสอบด้วยเชื้อ *E. coli* จำนวน 9 แผ่น และสำหรับทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella* Typhimurium จำนวน 9 แผ่น การทดสอบด้วยเชื้อแต่ละชนิดแบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง ได้แก่ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมไม่ได้รับยาใดๆ กลุ่มที่ 2 ได้รับยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และกลุ่มที่ 3 ได้รับยา ยาเบตาดีน โดยแต่ละกลุ่มมี 3 ซ้ำ ทำเก็บเชื้อในแต่ละช่วงเวลา คือ 0 นาที (ก่อนเริ่มการทดลอง) 5 นาที 60 นาที 360 นาที และ 720 นาที การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของยาทั้งสองชนิดในการลดปริมาณเชื้อจุลชีพบนผิวหนังสุกรที่มีชีวิต โดยใช้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมเป็นตัวชี้วัด ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยใช้สุกรจำนวน 3 ตัว ทำการสุ่มแบ่งพื้นที่บนผิวหนังสุกรบริเวณแนวกลางหลังสุกรจากด้านหัวไปหาง สำหรับ 3 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับยาชนิดใดๆ กลุ่มที่ 2 ได้รับยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และ กลุ่มที่ 3 ได้รับยาเบตาดีน ทำการเก็บเชื้อในช่วงเวลา 0 นาที (ก่อนเริ่มการทดลอง) 5 นาที 60 นาที 360 นาที และ 720 นาที ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้พบว่าการใช้ยาฆ่าเชื้อชนิดเบตาดีมีประสิทธิภาพดีกว่ายาเตตร้าเวทแอร์โรซอลในการฆ่าเชื้อบนผิวหนังของสุกร โดยสามารถให้ผลในการฆ่าเชื้อที่รวดเร็วและคงประสิทธิภาพได้ยาวนานที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี คณะผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ นายอำพล กล่อมปัญญา ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง คุณอังคณา ทุมดี ที่ให้การช่วยเหลืออำนวยความสะดวกต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเนื้อสัตว์ นางวสาวศลิษา วงศ์บุปผา นางสาวอุมานันท์ เทวฤทธิ์ นายทศวัชร์ สุทธิศรี และนางสาวทิพยาภรณ์ กุสี นักศึกษาในหลักสูตรสัตวศาสตร์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้การช่วยเหลือในการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการจนทำให้การทำวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

อ.น.สพ. ชนาธิป ธรรมการ

ผศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ

พฤาภาคม 2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	19
สรุป	25
เอกสารอ้างอิง	26
ภาคผนวก ก	28
ภาคผนวก ข	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 แสดงอิทธิพลของระยะเวลาต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* ทั้งหมดบนหนังสุกรในกลุ่มต่างๆ 19

2 แสดงอิทธิพลของระยะเวลาต่อจำนวนเชื้อ *Salmonella* Typhimurium ทั้งหมดบนหนังสุกร 21

3 แสดงอิทธิพลของระยะเวลาต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งหมดบนผิวหนังสุกรมีชีวิตใน 22

ตารางภาคผนวกที่

1 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาต่างๆต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* ทั้งหมดบน หนังสุกรในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่พ่นยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และยาเบตาดีน 37

2 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาต่างๆต่อจำนวน *Salmonella* Typhimurium ทั้งหมดบนหนังสุกรในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่พ่นยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และยาเบตาดีน 38

3 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาต่างๆต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งหมดบนผิวหนังสุกรมีชีวิตในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่พ่นยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และยาเบตาดีน 39-40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แสดงขั้นตอนการดำเนินของการทดลองที่ 1	14
2 แสดงขั้นตอนการเก็บตัวอย่างจากสุกรมีชีวิต	16-17
3 แสดงวิธีการวิเคราะห์หา *E.coli* และ Coliform	18
4 แสดงประสิทธิภาพยาเตตร้าเวทแอร์โรซอลและยาเบตาดีนในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*	20
5 แสดงประสิทธิภาพยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และยาเบตาดีน ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ*Salmonella* Typhimurium	21
6 แสดงประสิทธิภาพยาเตตร้าเวทแอร์โรซอลและยาเบตาดีนในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์รวม	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะและยาฆ่าเชื้อบางชนิดในการลดการปนเปื้อนบนผิวหนังสุกร

Efficacy of Some Antibiotics and Antiseptics for Bacterial Decontamination on Pig Skin

บทนำ

การติดเชื้อที่เกิดขึ้นกับผิวหนังหรือบาดแผลนั้น ส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ตามปกติในสภาพแวดล้อม ซึ่งในสภาวะปกติสุกรเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวอาจไม่สร้างปัญหาแก่สุกร แต่หากสุกรอยู่ในภาวะเครียดซึ่งส่งผลให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายลดต่ำลง หรือเมื่อเกิดบาดแผลขึ้นกับผิวหนังสุกร เชื้อโรคดังกล่างก็จะทวีความรุนแรงขึ้น และก่อความเสียหายให้แก่สุกร ซึ่งโดยปกติหากเกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังหรือบาดแผลสุกร การปฏิบัติทั่วไปที่นิยมทำคือใช้ยาฆ่าเชื้อ (Antiseptic) หรือยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) ที่ผลิตมาสำหรับใช้ภายนอกโดยเฉพาะ

การวัดปริมาณเชื้อแบคทีเรียนั้นสามารถกระทำได้โดยการวัดปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยรวม (Total bacterial count) หรือใช้แบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นตัวชี้วัด โดยกระทำในบริเวณพื้นที่ที่มีขนาดแน่นอน ซึ่งสามารถประยุกต์มาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการลดการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังของสุกรที่ใช้สารยับยั้งหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง โดยวัดปริมาณแบคทีเรียในช่วงเวลาต่างๆหลังจากที่ใช้ยาดังกล่าวแล้ว ซึ่งมีการควบคุมปัจจัยการเลี้ยงต่างๆให้สุกรอยู่ในสภาวะเดียวกัน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะและยาฆ่าเชื้อ ในการลดการ ติดเชื้อแบคทีเรียบนผิวหนังสุกร
2. เพื่อหายาที่เหมาะสมในการลดการติดเชื้อแบคทีเรียบนผิวหนังสุกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

การรักษาแผลบนผิวหนังสัตว์ทั่วไปนั้นนิยมใช้ยาทาภายนอก (Antiseptics) ที่เป็นยาสามัญประจำบ้านที่มีใช้ในคนมาประยุกต์ใช้กับสัตว์ซึ่งมักเป็นยาสามัญประจำบ้านที่หาซื้อได้ทั่วไป ได้แก่ แอลกอฮอล์ สารในกลุ่มไอโอดีน ไฮโรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น (McDonnell and Russell, 1999) ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปแบบยาเตรียมที่เป็นชนิดน้ำทาภายนอกเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้อาจพบอยู่ในรูปแบบอื่นๆเช่น ชนิดครีมขี้ผึ้ง (Ointment) (Wormser *et. al*, 1997) ซึ่งมีการใช้ต่อเนื่องมาเป็นระยะเวลานานตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics) เพื่อใชในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังและบาดแผล ซึ่งส่วนใหญ่มักจะประยุกต์การใช้งานมาจากยาที่มีใช้ในคน สำหรับการใช้ยาฆ่าเชื้อหรือยาปฏิชีวนะบนผิวหนังสัตว์นั้นมีรายงานการใช้น้อยมาก เนื่องจากต้องคำนึงถึงการตกค้างของยาบนเนื้อเยื่อสัตว์ ซึ่งยาที่มีในท้องตลาดเมื่องไทยที่ผลิตสำหรับสัตว์นั้นส่วนใหญ่จะเป็นยปฏิชีวนะในกลุ่ม Tetracycline เช่น Chlortetracyclin และ Oxytetracycline โดย Gogus *et al.* (2000) รายงานถึงการประยุกต์ยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline และ Oxytetracycline ในการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อแกะในห้องเย็นโดยที่ไม่พบสารตกค้างหลงเหลืออยู่ในเนื้อแกะ

สาเหตุสำคัญในการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ (จุฑารัตน์, 2540)

จุลินทรีย์ที่ติดมากับตัวสัตว์ที่สำคัญ เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Salmonella* ซึ่งติดมากับสิ่งปฏิกูลที่ติดอยู่ตามผิวหนังและขนของสัตว์ และสามารถปนเปื้อนกับเนื้อสัตว์ได้ด้วยเหตุผลสำคัญดังต่อไปนี้

1. สภาพร่างกายสัตว์ที่อ่อนแอหรือเหนื่อยล้าขณะเดินทางจะมีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์จากกระเพาะและลำไส้เข้าสู่เนื้อเยื่อต่างๆของร่างกายได้ ทั้งนี้เนื่องจากที่ร่างกายอ่อนแอเม็ด-เลือดขาวที่ทำหน้าที่คอยสกัดเชื้อโรคที่ผ่านเข้ามาในระบบเลือดมีจำนวนน้อยลงไปมากดังนั้นจึงทำให้เนื้อสัตว์มีปริมาณจุลินทรีย์ที่สูงขึ้น

2. การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ติดมากับมูลสัตว์ที่ติดผิวหนังและขนของสัตว์ โดยเฉพาะอย่าง-ยิ่งจากฝูงสัตว์ที่มีการเลี้ยงแบบขังอยู่ภายในคอก ซึ่งจะสกปรกมากกว่าสัตว์ที่ถูกเลี้ยงแบบปล่อยทุ่ง ดังนั้นขณะที่สัตว์อยู่ภายในคอกพักในบริเวณโรงฆ่า ควรได้มีการฉีดน้ำชะล้างความสกปรกออกเพื่อลดความสกปรกในขั้นตอนแรกของการดำเนินการ

3. การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระเพาะอาหารเข้าสู่เนื้อสัตว์ได้ ในกรณีที่สัตว์ เช่น โค กระบือ เกิดอาการสำรอกอาหารออกมาขณะถูกกระทำให้สลบหรือขณะถูกแทงคอ ทำให้จุลินทรีย์ที่ติดมากับอาหารจะติดอยู่บริเวณลำคอของสัตว์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอดอาหารสัตว์ก่อนสั่งฆ่าสัตว์พวกสุกร โค กระบือ ควรได้รับการอดอาหารมาแล้วอย่างน้อย 12 ชั่วโมง เพื่อช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในมูลสัตว์ และมีผลทำให้ลดปริมาณการติด-เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ในขั้นตอนการชำแหละซากลงได้มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ขบวนการและการดำเนินการในขั้นตอนการฆ่าและการชำแหละซากภายในโรงฆ่าสัตว์จะต้องถูกต้องและได้มาตรฐาน เช่น การแทงคอเพื่อเอาเลือดออก จะต้องไม่เปิดปากแผลกว้างจนเกินไป เพราะจะทำให้เกิดการติดเชื้อมากขึ้น ขบวนการชำแหละซากที่กระทำบนพื้นหรือบนแคร่ เช่น ในโรงฆ่าสัตว์ในบ้านเรา จะพบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์สูงกว่าการชำแหละซากที่ใช้ระบบราวแขวน

5. สุขภาพของคนงานที่ปฏิบัติงานภายในโรงฆ่าสัตว์ คนงานทุกคนจะต้องผ่านการตรวจสุขภาพประจำปี และจะต้องไม่เป็นโรคติดต่อซึ่งอาจจะมีผลถึงผู้บริโภคเนื้อสัตว์ได้

6. การปนเปื้อนเนื่องมาจากการสุขาภิบาลในโรงฆ่าสัตว์ไม่ดีพอ การรักษาความสะอาดจะต้องกระทำทั้งบริเวณภายนอกและภายในโรงฆ่าสัตว์ทุกๆ จุดภายในบริเวณโรงฆ่าสัตว์นับตั้งแต่ ห้องฆ่า ห้องชำแหละไปจนถึงห้องเย็น ตลอดจนเครื่องมือเครื่องใช้ทุกอย่างจะต้องสะอาดรวมไปถึงการระบบการระบายน้ำของเสียออกจากโรงฆ่าสัตว์ต้องได้มาตรฐาน

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มักพบปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์ (Huffman, 2002)ได้แก่ เชื้อ *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogens, Campylobacter, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Stapphylococcus aureus, Aeromonas hydrophila* และ *Bacillus cereus*

Escherichia coli (ทิพย์นรา, 2552)

แบคทีเรีย *Escherichia coli* นิยมใช้ชื่อย่อ *E. coli* แบคทีเรียในกลุ่ม เป็น โคลิฟอร์ม ตัวชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์และมนุษย์ แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุด ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลว หรือเป็นน้ำ แต่อาการมักไม่รุนแรง เนื่องจาก ได้รับเชื้อนี้เข้าไปทีละน้อยอยู่เรื่อย ๆ เชื้อนี้มักปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ ปกติเชื้อเหล่านี้อาจพบในอุจจาระได้อยู่แล้วแม้จะไม่มีอาการอะไร

การจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์

Kingdom	:	Eubacteria
Phylum	:	Proteobacteria
Class	:	Gamma Proteobacteria
Order	:	Enterobacteriales
Family	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	*Escherichia*
Species	:	*Escherichia coli*

โรคติดเชื้อ *Enteric colibacillosis* (Colibacillosis) (กิจจา, 2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรค Colibacillosis เป็นโรคในระบบย่อยอาหารที่สำคัญของสุกร (Disease of digestive system) ซึ่งก่อปัญหาแพร่กระจายไปทั่วโลก รวมถึงสร้างความสูญเสียทางเศรษฐกิจแก่ฟาร์มสุกรในประเทศไทยมากที่สุดเมื่อเทียบกับโรคติดเชื้อชนิดอื่นๆ ของระบบการย่อยอาหาร

สาเหตุ เกิดจากการติดเชื้อ *Escherichia coli (E. coli)* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่พบได้ในลำไส้สุกรในกรณีที่มีจำนวนที่เหมาะสมจะไม่ก่อโรค แต่เมื่อใดก็ตามที่สุกรได้รับปัจจัยที่ส่งผลต่อแบคทีเรียในลำไส้ก็อาจจะส่งผลรุนแรงต่อสุกรได้

เชื้อ *E. coli* มีทั้งชนิดที่ก่อโรค (Pathogenic) และไม่ก่อโรค (Non-pathogenic) ชนิดของเชื้อที่ก่อโรคส่วนใหญ่จะเป็นซีโรไทป์ 0141, 0149 และ K88

การก่อโรค (กิจจา, 2530)

เชื้อ *E. coli* มักก่อความเสียหายแก่สุกรในช่วงอายุ

- 12 ชั่วโมง – 3 วัน
- 3 – 4 สัปดาห์
- 1 – 2 สัปดาห์หลังการหย่านม

กลุ่มอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* เป็นผลจากการเจริญของเชื้อในลำไส้แล้วสร้างสารพิษ (Toxin) ขึ้นมาซึ่งสารพิษเหล่านี้จะแตกต่างกันตามชนิดของสายเชื้อที่ก่อโรค โดยสามารถแบ่งตามกลุ่มอาการได้ 3 กลุ่ม ดังนี้

1.ภาวะเลือดเป็นพิษ และช็อค (Septicemia) เกิดจากเชื้อ *E. coli* ที่สร้างสารพิษพวก Endotoxin ทำให้สุกรเกิดอาการแพ้และช็อค เนื่องจากการหลั่งสาร Histamine ของร่างกาย ซึ่งทำให้หลอดเลือดขยายตัว (Vasodilatation) ภาวะนี้มักพบในลูกสุกรแรกเกิดเป็นส่วนใหญ่ แต่อาจพบได้ในลูกสุกรหลังหย่านม มักพบในฟาร์มที่มีการจัดการแม่สุกรท้องแก่และ ช่วงก่อนและหลังคลอดไม่ดี อาจพบอัตราการเกิดโรคในสุกรแรกเกิดได้ถึง 70%

อาการ ภาวะเลือดเป็นพิษ มักพบว่าลูกสุกรในครอกแสดงอาการป่วยมากกว่า 1 ตัว โดยลูกสุกรจะซึม หางตก มีไข้สูงในระยะแรก ผิวหนังจะมีสีแดง มักจะแยกตัวออกจากตัวปกติอื่นๆ ระยะท้ายๆจะนอนไม่ยอมลุก อุณหภูมิต่ำกว่าปกติ อัตราการตายอาจสูงถึง 100%

2. ภาวะท้องเสีย (Diarrhea) เกิดจากเชื้อ *E. coli* ที่สร้างสารพิษ Enterotoxin ซึ่งเป็น Exotoxin ชนิดหนึ่ง มีผลในการทำลายเยื่อบุลำไส้ ทำให้เกิดการอักเสบและสูญเสียความสามารถในการดูดซึมสารอาหารทำให้เกิดอาการท้องเสียอย่างรุนแรงตามมา มักเกิดในฟาร์มที่เลี้ยงเป็นอุตสาหกรรมแล้วมีการจัดการแม่สุกรช่วงก่อนและหลังคลอดไม่ดี ซึ่งในลูกสุกรที่มีอาการท้องเสียนั้นพบว่า 48 % เกิดจากการติดเชื้อ *E. coli*

อาการ ภาวะท้องเสีย ลูกสุกรมีอาการถ่ายเหลวมีสีเหลือง และบ่อยครั้ง ในรายที่รุนแรงจะถ่ายเป็นน้ำและมีกลิ่นเหม็นคาวซึ่งอาจตายภายใน 3 – 6 วัน เพราะร่างกายขาดน้ำ ตาจมลึก ขนลุก และซูบผอม บางตัวอาจเห็นคราบอุจจาระติดก้น อัตราการป่วยอาจสูงถึง 70 % แต่การเกิดโรคจะลดลงเมื่อลูกสุกรอายุมากขึ้นและถ้ารักษาทันท่วงทีลูกสุกรอาจปรับตัวได้และหายเป็นปกติ

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. โรคบวมน้ำ (Edema disease) เกิดจากเชื้อ *E. coli* ที่สร้างสารพิษ Neurotoxin หรือ Vasotoxin ซึ่งเมื่อเข้าสู่กระแสเลือดแล้วจะก่อความเสียหายของผนังหลอดเลือดทำให้คุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของผนังหลอดเลือดลดลง ทำให้น้ำออกไปยังเนื้อเยื่อต่างๆได้ เกิดการบวมน้ำตามมา ส่วนใหญ่มักจะเกิดกับสุกรหลังหย่านมที่โตเร็วและแข็งแรงในครอก มักเกิดจากที่สุกรมีความเครียดจากสาเหตุต่างๆ เช่น การเปลี่ยนอาหาร การตอน หรือการทำวัคซีน ทำให้เชื้อที่มีอยู่แล้วในลำไส้เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วและสร้างสารพิษออกมา

อาการ โรคบวมน้ำ ช่วงแรกของการเกิดโรคมักพบสุกรที่ขนาดใหญ่และแข็งแรงตายโดยไม่แสดงอาการป่วย ต่อมาจะเริ่มพบสุกรป่วยด้วยอาการทางระบบประสาทและระบบการไหลเวียนสุกรจะเดินโงนเงน เนื่องจากการทำงานของกล้ามเนื้อไม่ประสานกัน บางรายอาจรุนแรงจนเป็นอัมพาต ล้มจนลุกไม่ขึ้น อาจมีการกระตุกของกล้ามเนื้อบางตัวอาจมีอาการชัก สภาพร่างกายทั่วไปมักจะพบการบวมน้ำที่หนังตา ปากจมูก ใต้คางและอก

Coliforms

Coliform ประกอบด้วย 4 จีนัส ได้แก่ *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia* และ*Klebsiella* (สุมณฑา, 2545) การตรวจพบโคลิฟอร์มและฟีคอลโคลิฟอร์มเป็นดัชนีบ่งชี้ว่าเนื้อสัตว์มีสุขลักษณะการผลิตที่ไม่ดี และมีการปนเปื้อนของอุจจาระบนเนื้อสัตว์ (Eisel *et al.*, 1997) ถ้าพบเชื้อนี้ในปริมาณที่สูงในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่ยังไม่ได้ผ่านกระบวณการให้ความร้อนแสดงให้เห็นถึงสุขลักษณะที่ไม่ดี แต่ถ้ายังตรวจพบในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ผ่านความร้อนแล้วแสดงว่าความร้อนที่ใช้ไม่สูงพอ หรืออาจเกิดการปนเปื้อนภายหลังกระบวณการให้ความร้อนแล้ว เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มนี้ถูกทำลายง่ายด้วยความร้อนและความเย็น (ศศิธรและกาญจนี, 2534) *Escherichia coli* ถ้าตรวจพบในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์แสดงว่ามีการปนเปื้อนจากมูลสัตว์ ซึ่ง *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่เปราะบางถูกทำลายง่ายด้วยความร้อน ความเย็น และความแห้ง (Garcia-Lopez *et al.*, 1988) อย่างไรก็ตามสามารถแบ่งแบคทีเรียโคลิฟอร์มตามแหล่งที่มาได้ 2 พวก คือ

1. Fecal coliform อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น ถูกขับถ่ายออกมาพร้อมกับอุจจาระ เช่น *E.coli*
2. Non-fecal coliform อาศัยอยู่ในดินและพืชต่างๆ เช่น *Enterobacter aerogenes* (ธงชัยและวิบูรย์ลักษณ์, 2540)

วิธีการลดการปนเปื้อน

Gonzalez-Fandos and Dominguez (2007) กล่าวว่าการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์มีด้วยกันหลายวิธี ซึ่งได้แก่ การใช้คลอรีน, กรดอาหาร, ฟอสเฟต, สารฆ่าแบคทีเรีย (bacteriocins), ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide), โอโซน, น้ำ, แรงดันน้ำ (untrahigh hydrostatic pressure), การฉายรังสี,

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การถ่ายเท อิเลกตรอน (pulsed-field electricity), พลังงานความถี่ (ultrasonic energy) และแสงอัลตรา ไวโอเลต เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ในการควบคุม จุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์มิให้เจริญจนทำให้เกิดการเน่าเสียหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ จะต้องเข้าใจถึงลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เป็นอันดับแรก จึงจะสามารถควบคุมจุลินทรีย์ได้ จากการศึกษาและทดลองในครั้งนี้ได้นำสารละลายทางการค้าเบตาดีนและเตตร้าเวทแอร์โรซอล ซึ่งมีส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิดมาใช้ในการยับยั้งและลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนหนังหมู ซึ่งส่วนผสมของยาทั้งสองชนิดที่ใช้ในการทดสอบมีดังนี้

โพวิโดน-ไอโอดีน (Povidone-Iodine)(วรวุฒิ, 2552)

โพวิโดน-ไอโอดีนเป็นน้ำยาใส่แผลที่มีฤทธิ์ฆ่า และทำลายเชื้อโรคได้หลายชนิด จัดเป็นยาในกลุ่มเดียวกับทิงเจอร์ไอโอดีน และมีผลในการรักษาไม่แตกต่างกัน แต่มีข้อดีคือโพวิโดน-ไอโอดีนไม่แสบ กรณีทิงเจอร์ไอโอดีน ที่แสบเป็นเพราะว่ามีส่วนผสมของแอลกอฮอล์อยู่ เวลาโดนแผลทำให้แสบ ส่วนโพวิโดน-ไอโอดีนนั้น ไม่แสบเนื่องจากไม่มีแอลกอฮอล์ เตรียมมาจากการนำผงโพวิโดน-ไอโอดีนมาละลายน้ำ

สารละลายทางการค้าเบตาดีน (Betadine® Solution)

สารละลายทางการค้าเบตาดีนประกอบด้วยPovidone-Iodine 10 % w/v eqivalent to Iodine 1 % w/v สามารถนำมาใช้ในการยับยั้งและลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งสารละลายดังกล่าวมีลักษณะและคุณสมบัติพิเศษดังต่อไปนี้ คือ

- โพวิโดน-ไอโอดีน povidone-iodine (PVP-I) เป็นสารที่คงตัว ละลายได้ดีในน้ำเย็น เอธิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพีลแอลกอฮอล์ โพลีเอธิลีนกลัยคอล และกลีเซอรอล
- โพวิโดน-ไอโอดีน เป็นสารผสมระหว่าง polyvinylpyrrolidone (povidone, PVP) และ elemental iodine
- ในสารโพวิโดน-ไอโอดีนจะมีความเข้มข้นของไอโอดีนตั้งแต่ 9.0% จนถึง 12.0% โดยคำนวณจากน้ำหนักแห้ง

คุณสมบัติ

1. หลังจากการค้นพบ iodine โดย Bernard Courtois ในปี ค.ศ. 1811 ปรากฏว่าได้มีการนำไอโอดีนมาใช้อย่างกว้างขวาง ทั้งที่ใช้เพื่อป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อผิวหนัง รวมทั้งนำมาใช้ในการรักษาแผล
2. ไอโอดีนมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียอย่างมีประสิทธิภาพ ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียเป็นแบบออกฤทธิ์ต่อเชื้อหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ฆ่ายีสต์ เชื้อรา และไวรัส ได้อีกด้วย
3. ข้อเสียของไอโอดีนในรูปแบบของสารละลายคือ ฤทธิ์ระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อที่อยู่รอบๆแผล ซึ่งต่อมาเมื่อค้นพบโพวิโดน-ไอโอดีนก็สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียไม่ดื้อต่อโพวิโดน-ไอโอดีน (PVP-I) โดยพบอัตรา sensitization rate เพียง 0.7% เท่านั้น

5. โพวิโดน-ไอโอดีนถูกนำมาใช้ทำความสะอาดผิวหนังก่อนผ่าตัด ใช้เป็นน้ำยาทำแผลก่อนและหลังผ่าตัด ใช้รักษาและป้องกันการติดเชื้อที่ผิวหนัง แผลถลอก แผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก แผลกดทับ และนำมาใช้รักษาภาวะติดเชื้อในช่องคลอด

6. โพวิโดน-ไอโอดีนที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีความเข้มข้น 7.5–10.0% ในหลากหลายรูปแบบ ได้แก่ solution, spray, surgical scrub, ointment และ swab ชื่อการค้าที่รู้จักกันแพร่หลายในรูปแบบยาใส่แผลคือ เบตาดีน

ข้อควรระวังในการใช้ คือ ต้องระวังอย่าให้กระเด็นเข้าตาไม่เช่นนั้นจะทำให้เกิดความระคายเคืองได้ และเนื่องจากว่าสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายโดยผ่านทางผิวหนังเพราะฉะนั้นการใช้ในปริมาณมากๆ และติดต่อกันเป็นเวลานานอาจมีผลต่อร่างกายคือทำให้ปริมาณของธาตุไอโอดีนในกระแสเลือดสูงขึ้นได้ และอาจทำให้เกิดการเติบโตของต่อมไทรอยด์ที่มากผิดปรกติได้หรือที่เรียกว่าโรค hyperthyroidism ซึ่งสัตว์ตัวที่เป็นมักแสดงอาการอยากอาหารเพิ่มขึ้นหรือลดลงมากกว่าปรกติแต่น้ำหนักตัวลดลง กระตือรือร้นมากกว่าปกติหรือว่าอยู่ไม่เป็นสุข (hyperactivity) อาจมีอัตราการเต้นของหัวใจเร็วขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ตัวที่มีปัญหาเกี่ยวกับโรคไตอาจทำให้เกิดโรค hyperthyroidism ได้มากกว่าเพราะประสิทธิภาพในการขจัดธาตุไอโอดีนออกจากร่างกายทางไตลดลง จึงทำให้มีธาตุไอโอดีนคั่งค้างในกระแสเลือดสูงกว่าปรกติได้ ส่วนผลข้างเคียงอื่นๆพบได้น้อยมากมักมีปัญหาจากการแพ้หรือระคายเคืองเฉพาะปรากฏบนผิวหนังที่สัมผัสเท่านั้น

การเก็บรักษา (วรวุฒิ, 2552)

ปิดฝาให้สนิท และเก็บในที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส

เตตร้าเวท แอร์โรซอล - Tetravet Aerosol® (Malee, 2545)

เตตร้าเวท แอร์โรซอล เป็นเป็นยาปฏิชีวนะเป็นสารที่สกัดจากจุลินทรีย์บางชนิด เช่น แบคทีเรียหรือเชื้อรา สารสกัดที่ได้นี้จะมีฤทธิ์ในการยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อโรคหรือฆ่าเชื้อโรคนั้นๆ ยาปฏิชีวนะแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามการออกฤทธิ์คือ

1. พวกที่ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรค ได้แก่ ยาในกลุ่มเพนนิซิลลิน (Penicillin), เซฟาโลสปอริน (Cephalosporin), สเตร็ปโตมัยซิน (Streptomycin), กานามัยซิน (Kanamycin) และอื่นๆ

2. พวกที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรค คือ ทำให้เชื้อโรคอ่อนแอลง แล้วให้เซลล์ร่างกายจัดการฆ่าเชื้อโรคต่อ ตัวอย่างยากลุ่มนี้ได้แก่ เตตราไซคลิน คลอแรมเฟนิคอล อิริโทรมัยซิน ลินโคมัยซิน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตตร้าเวท แอร์โรซอล เป็นยาชนิดฉีดพ่นบาดแผลภายนอกสำหรับสัตว์สำหรับฉีดพ่นรักษาบาดแผลติดเชื้อภายนอกตัวสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น สุกร วัว ควาย แพะ แกะ เป็นต้นมีส่วนประกอบคือ อ๊อกซี่เตตร้าไซคลินไฮโดรคลอไรด์ 40 มิลลิกรัม เจนเชียนไวโอเล็ต 162 มิลลิกรัม คุณสมบัติดังต่อไปนี้

วรา (2551) กล่าวว่าอ๊อกซี่เตตร้าไซคลินไฮโดรคลอไรด์สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ rickettsia mycoplasma spirochetes และจุลินทรีย์อื่นๆออกฤทธิ์โดยจับกับโปรตีนของเชื้อ

อ๊อกซี่เตตร้าไซคลินทำงานโดยแทรกแซงความสามารถของแบคทีเรียในการผลิตโปรตีนที่มีความสำคัญกับจำนวนของแบคทีเรียนั้นๆ ซึ่งทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเพิ่มจำนวนตัวเองได้ กล่าวคือ Oxytetracycline จะหยุดการแพร่กระจายของการติดเชื้อแบคทีเรีย และภูมิคุ้มกันของร่างกายก็จะทำลายแบคทีเรียตัวนั้นเองในเจนเชียนไวโอเลต สูตรเคมี คือ $C_{25}H_{30}ClN_3$ ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ ยาระงับเชื้อ

วิธีใช้

- ควรลอกเอาคราบเลือด น้ำเหลือง และเศษเนื้อเยื่อที่ตาย และติดเป็นคราบอยู่บนบาดแผลออกก่อนที่จะพ่นยา เพื่อให้ตัวยาออกฤทธิ์รักษาบาดแผลติดเชื้อได้ดี
- เขย่ากระป๋องยาก่อนพ่นทุกครั้ง ให้ถือกระป๋องยาตั้งขึ้น และให้ห่างจากบริเวณที่ต้องการพ่นยาประมาณ 15 - 20 ซม.
- ฉีดพ่นยาให้ครอบคลุมบริเวณบาดแผลที่ต้องการรักษาวันละ 1 - 2 ครั้ง เป็นเวลา 3 - 5 วัน หรือตามความจำเป็น

คำเตือน : เป็นยาใช้เฉพาะภายนอกร่างกายเท่านั้น ห้ามกินหรือสูดดม ห้ามเก็บยา หรือใช้ใกล้เปลวไฟ หรือบริเวณที่มีความร้อนสูงมากๆ และห้ามเจาะกระป๋องยา เพราะอาจระเบิดขึ้นได้

การเก็บรักษา : เก็บในที่เย็นและพ้นแสงแดด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1

1.หนังสัตว์ทดลอง

หนังสัตว์ของสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ นำหนังมาตัดให้มีขนาด 21 x 30 cm. (ขนาดเท่ากระดาษ A4) จำนวน 3 แผ่น/ 1 ซ้ำ ใช้ในการทดลองนี้ใช้ทั้งหมด 3 ซ้ำ/ เชื้อจุลินทรีย์ 1 ตัว

2. เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อ *E. coli* และเชื้อ *Salmonella* Typhimurium

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1) TSB-YE

2) TSA-YE

3) Peptone 0.1 %

4) Glycerol 30 %

4.สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1) แอลกอฮอล์ (Alcohol) ความเข้มข้น 70 % และ 95 %

2) ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล (Tetravet Aerosol) และ ยาเบตาดีน (Betadine)

5.เครื่องมือ

1) ตู้ถ่ายเชื้อ (Larminar flow)

2) ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ (Bacteriological Incubator) อุณหภูมิตู้บ่ม 37 °C

3) ตู้อบ (Hot-air oven sterilizer) ฆ่าเชื้อโดยใช้ลมร้อนหมุนเวียนภายในตู้อุณหภูมิ 180 °C (350 °F) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง อุปกรณ์จำพวกเครื่องแก้ว

4) หม้อนึ่งความดันสำหรับฆ่าเชื้อ (Autoclave sterilizer) สามารถฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C (249.8 °F) เป็นเวลา 15 นาที

5) เครื่องชั่งอิเลกทรอนิกส์ (Digital balancing)

6) ตู้อบไมโครเวฟ (Microware oven)

7) เครื่องเขย่าสาร (Vortex)

8) ตู้เย็น

9) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

10) ออโตเมติกปิเปต (Automatic pipet) และ Disposable tip

11) ปากคีบ (Forcep), กรรไกร และมีด

12) ตะเกียงแอลกอฮอล์

13) ถุงพลาสติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14) ไม้พันก้านสำลี

15) ถาดโฟม

16) ตะแกรงใส่หลอด (Rack)

17) เครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆที่จำเป็นในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

18) สำลี

19) Tip

20) Eppem droff

การทดลองที่ 2

1.สัตว์ทดลอง

สุกรในฟาร์มคัดเลือกสุกรขุนอายุประมาณ6เดือน สุ่มแบ่งพื้นที่บนผิวหนังสุกรเป็น 3 ส่วน (ขนาดเท่ากระดาษ A4) จำนวน 1 ตัว/1ซ้ำ

2.อาหารเลี้ยงเชื้อ

1) PCA

2) NaCl 0.85%

3) LST

4) BGLB

5) EC

6) EMB

7) Tryptophane broth

8) MR-VP

9) Koser citrate broth

3.สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1) แอลกฮอล์ (Alchol) ความเข้มข้น 95%

2) ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล (Tetravet Aerosol®)

ซึ่งประกอบด้วย ใน 1 กรัม ประกอบด้วยตัวยาสำคัญ คืออ๊อกซี่เตตร้าซัยคลิน ไฮโดรคลอไรด์ 40 มิลลิกรัม เจนเซี่ยน ไวโอเล็ต 162 มิลลิกรัม (BOMAC LABORATORIES LTD, New Zealand)

3) ยาเบตาดีน (Betadine®)

ซึ่งประกอบด้วย povidone-iodine USP 10% w/v ;Mundipharma, Netherlands.

4) Kovacs reagent

5) Methyl red

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6) 5% alcoholic α-naphthol solution (w/v)

7) 40% KOH

4.เครื่องมือ

1) ตู้ถ่ายเชื้อ (Larminar flow)

2) ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ (Bacteriological Incubator) อุณหภูมิตู้บ่ม 37 °C

3) ตู้อบ (Hot-air oven sterilizer) ฆ่าเชื้อโดยใช้ลมร้อนหมุนเวียนภายในตู้อุณหภูมิ 180 °C (350 °F) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง อุปกรณ์จำพวกเครื่องแก้ว

4) หม้อนึ่งความดันสำหรับฆ่าเชื้อ (Autoclave sterilizer) สามารถฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C (249.8 °F) เป็นเวลา 15 นาที

5) เครื่องชั่งอิเลกทรอนิกส์ (Digital balancing)

6) ตู้อบไมโครเวฟ (Microware oven)

7) เครื่องเขย่าสาร (Vortex)

8) ตู้เย็น

9) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

10) ออโตเมติกปิเปต (Automatic pipet) และ Disposable tip

11) Loop

12) ตะแกรงใส่หลอด

13) สำลี

14) ถุงพลาสติก

15) ตะเกียงแอลกฮอล์

16) ไม่พันก้านสำลี

17) ฟรอยด์

18) หนังยาง

19) เครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆที่จำเป็นในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลอง ณ ฟาร์มสุกรทดลองและห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเนื้อสัตว์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 1

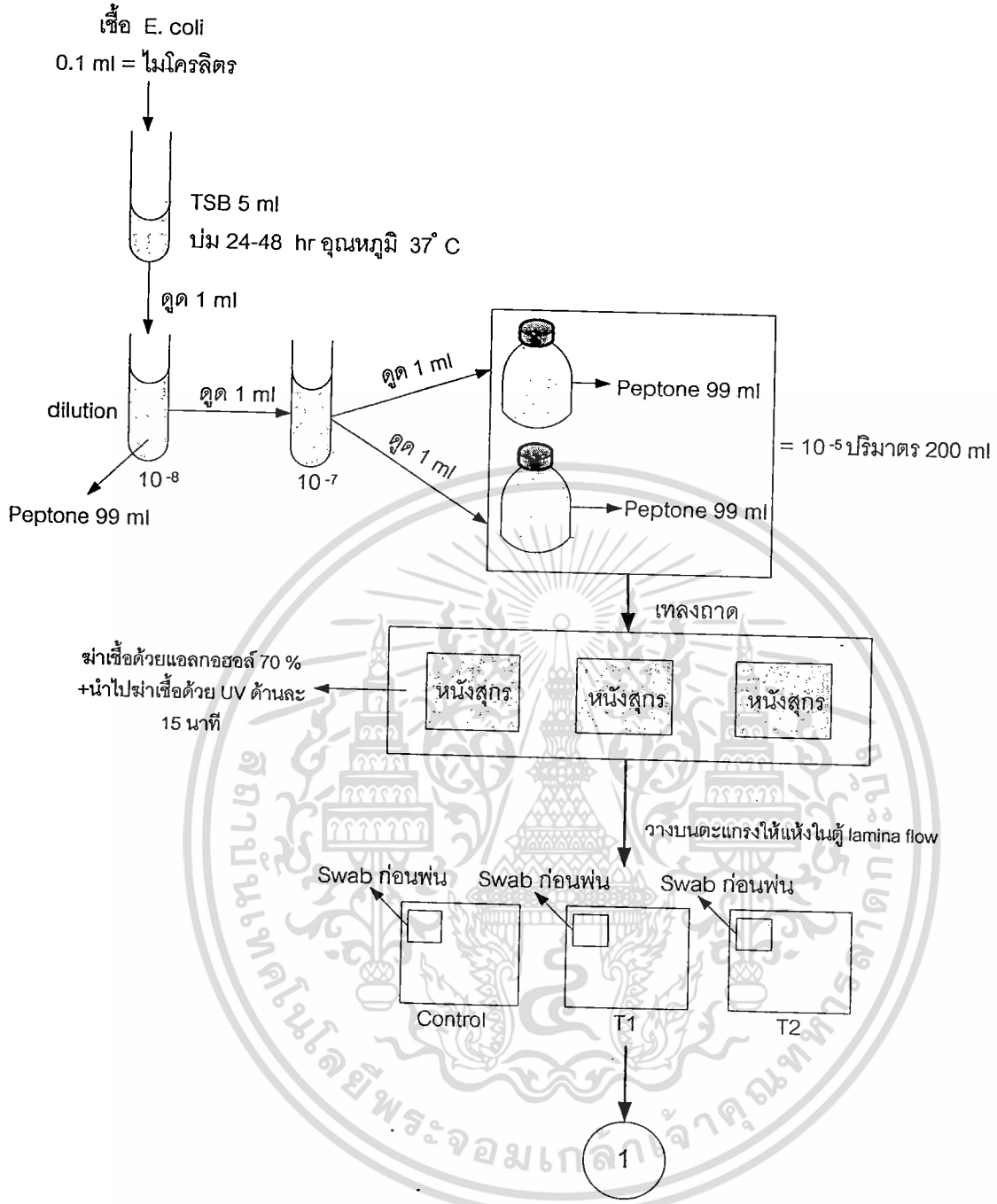
เปรียบเทียบประสิทธิภาพของยาออกซี่เตตร้าไซคลิน (Tetravet Aerosol®) และ Povidone Iodine (Povidine®) ในการลดปริมาณเชื้อจุลชีพบนแผ่นหนังสุกร โดยใช้เชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* Typhimurium เป็นเชื้อทดสอบ

ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยเตรียมแผ่นหนังสุกรขนาด 21 x 30 เซนติเมตร จำนวน 18 แผ่น สำหรับทดสอบด้วยเชื้อ *E. coli* จำนวน 9 แผ่น และสำหรับทดสอบด้วยเชื้อ *Salmonella* Typhimurium จำนวน 9 แผ่น การทดสอบด้วยเชื้อแต่ละชนิดแบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง ได้แก่ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ได้รับยาใดๆ กลุ่มที่ 2 ได้รับยา Tetravet Aerosol® และกลุ่มที่ 3 ได้รับยา Povidone Iodine โดยแต่ละกลุ่มมี 3 ซ้ำ (แผ่นหนัง 3 แผ่น)

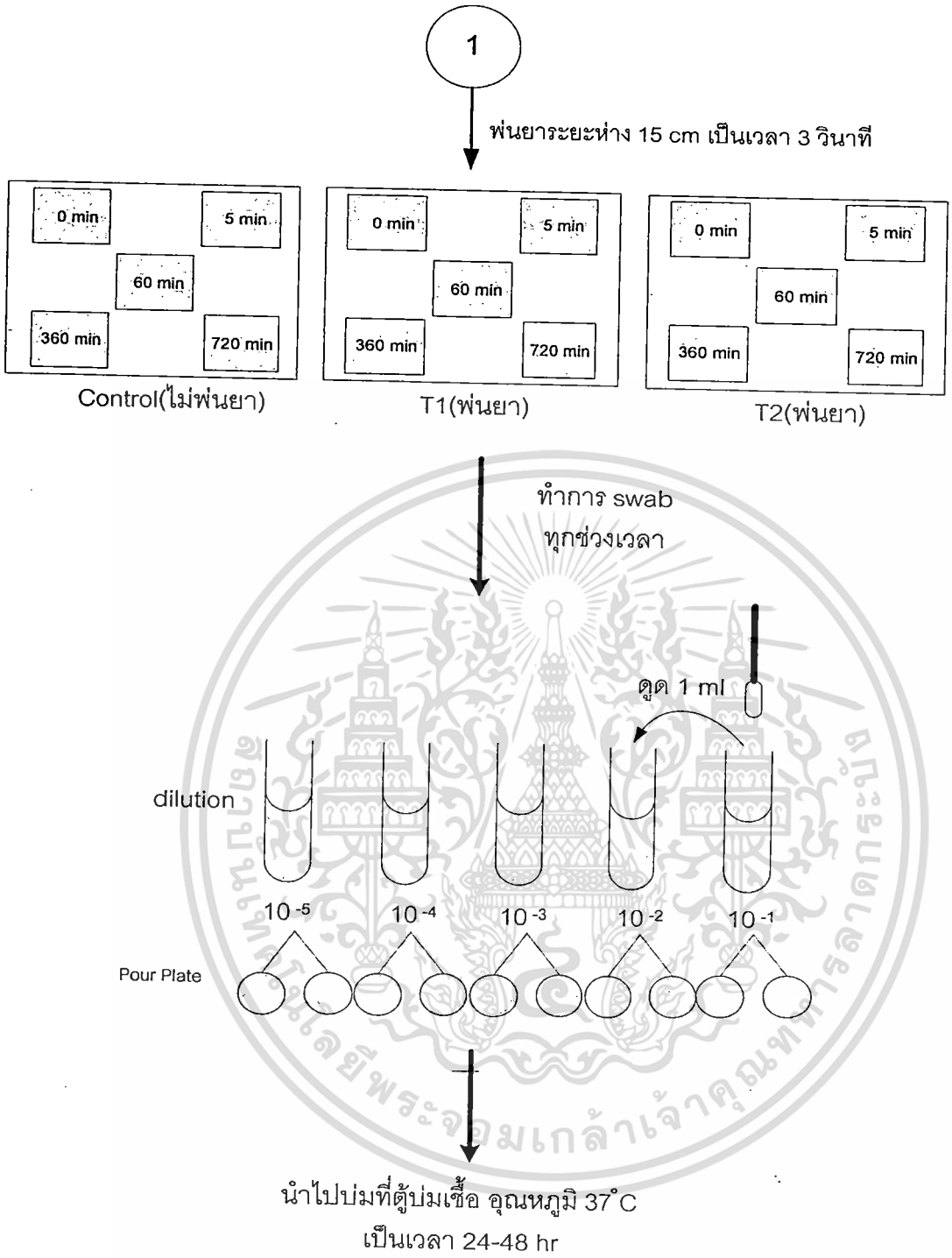
ทำการฆ่าเชื้อแผ่นหนังสุกรโดยการแช่แผ่นหนังสุกรด้วยแอลกอฮอล์ 70% แล้วนำมาพึ่งไว้บนตะแกรงให้แห้งสนิท เมื่อแผ่นหนังแห้งแล้วจึงย้ายมาบนถาดโฟมที่สะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% แผ่นล่ะ 1 ถาด หลังจากนั้นนำหนังสุกรที่แห้งแล้วมาผ่านการฆ่าเชื้ออีกครั้งโดยการฉายรังสีอัลตร้าไวโอเลตในตู้ตู้ถ่ายเชื้อ (Larminar flow) ด้านละ 15 นาที ทั้ง 2 ด้าน ทำการเตรียมเชื้อ *E. coli* สำหรับทดสอบที่มีความเข้มข้น 10^{-5} ปริมาตร 200 ml จากนั้นนำหนังสุกรมาจุ่มเชื้อให้ทั่วทั้ง 3 แผ่น วางบนตะแกรงให้แห้งในตู้ถ่ายเชื้อ ทำการแบ่งแผ่นหนังเป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาด 5 ตารางเซนติเมตร จำนวน 5 ช่อง สำหรับการเก็บเชื้อในแต่ละช่วงเวลา คือ 0 นาที (ก่อนเริ่มการทดลอง) 5 นาที 60 นาที 360 นาที และ 720 นาที ตามลำดับ

กลุ่มที่ 2 และ 3 ได้รับการฉีดพ่นยาโดยมีระยะห่างจากผิวหนังสุกร 15 cm เป็นเวลา 5 วินาที ให้ทั่วพื้นที่การเก็บตัวอย่างทำโดยการใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (autoclave) ทำการเก็บตัวอย่างเชื้อ (swab) บนผิวหนังสุกรในช่องสี่เหลี่ยมขนาด 5 ตารางเซนติเมตร ที่ระยะเวลาต่างๆ นำไปใส่ในหลอดที่มี Peptone 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร และทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} และ 10^{-8} โดยแต่ละความเข้มข้นนำไปเทในจานอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 2 จาน และนำไปเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง นับจำนวนตรวจหาปริมาณเชื้อ *E.coli* และ *Salmonella* Typhimurium ทั้งหมดที่ระยะเวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนการดำเนินของการทดลองที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

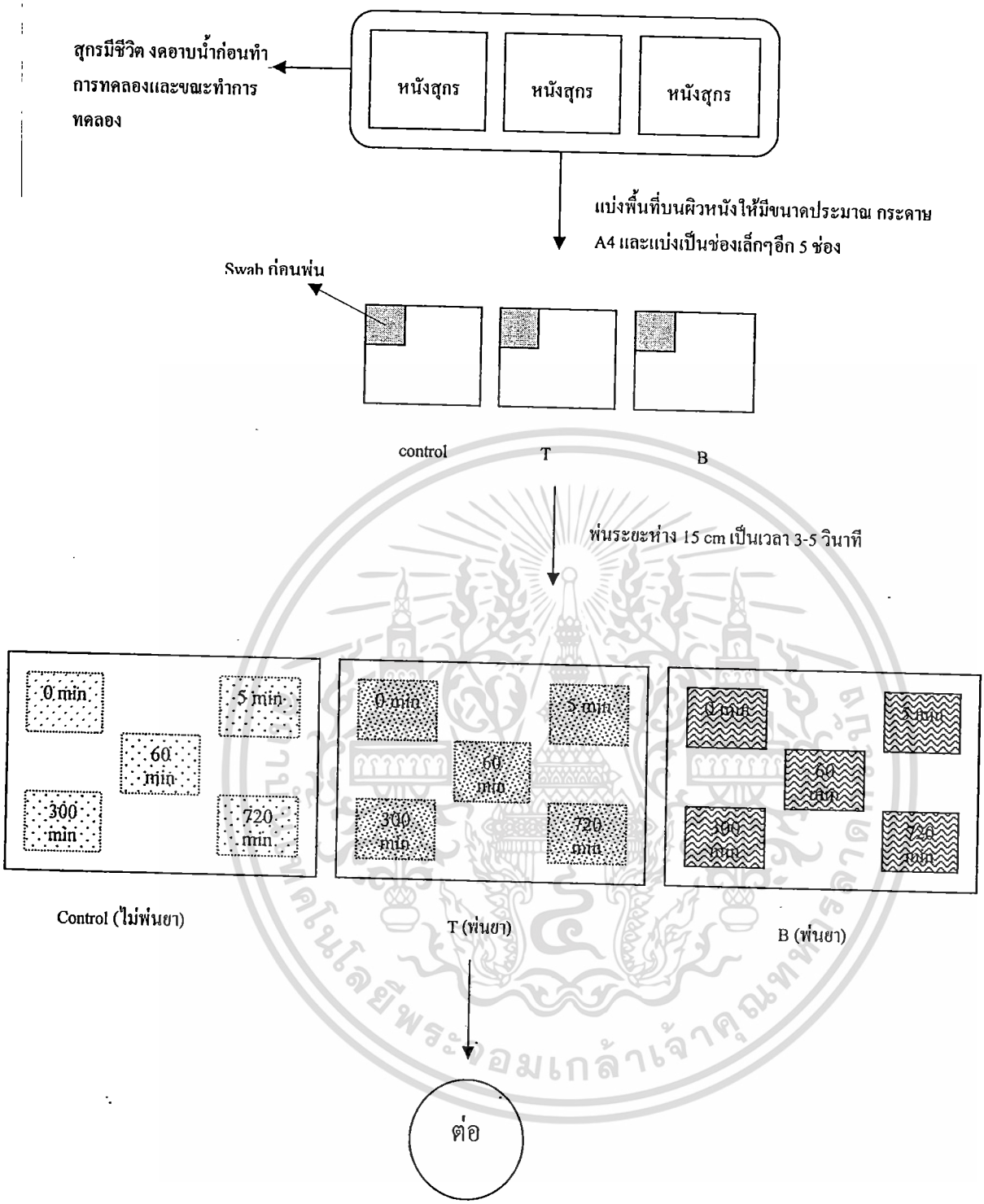
การทดลองที่ 2

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของยา Tetravet Aerosol® และ Povidine® ในการลดปริมาณเชื้อจุลชีพบนผิวหนังสุกรที่มีชีวิต โดยใช้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมเป็นตัวชี้วัด ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

ทำการคัดเลือกสุกรขุนอายุ 6 เดือน จำนวน 3 ตัว ทำการงดอาบน้ำสุกรก่อนทำการทดลองและระหว่างทำการทดลอง ทำการสุ่มแบ่งพื้นที่บนผิวหนังสุกรบริเวณแนวกลางหลังสุกรจากด้านหัวไปหาง ขนาด 21 x 30 เซนติเมตร จำนวน 3 ช่องสำหรับ 3 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับยาชนิดใดๆ กลุ่มที่ 2 ได้รับยา Tetravet Aerosol® และ กลุ่มที่ 3 ได้รับยา Povidine® แต่ละช่องแบ่งเป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาด 5 ตารางเซนติเมตร จำนวน 5 ช่องสำหรับการเก็บเชื้อในแต่ละช่วงเวลาต่างๆหลังจากพ่นยา คือ 0 นาที (ก่อนเริ่มการทดลอง) 5 นาที 60 นาที 360 นาที และ 720 นาที ตามลำดับ ทำการสลับตำแหน่งของกลุ่มการทดลองในสุกรแต่ละตัวที่ใช้ทดลอง

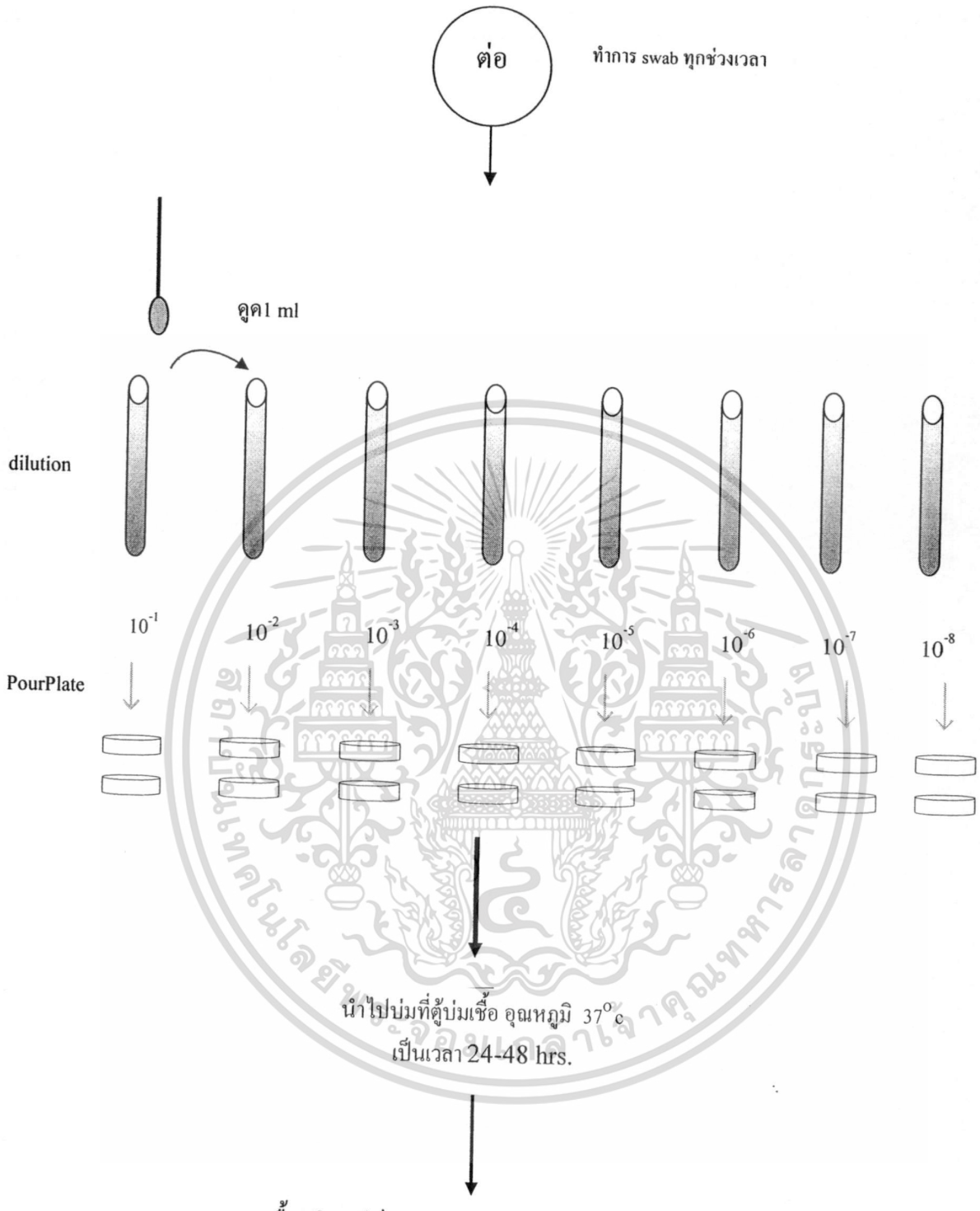
กลุ่มที่ 2 และ 3 ได้รับการฉีดพ่นยาโดยมีระยะห่างจากผิวหนังสุกร 15 cm เป็นเวลา 5 วินาที ให้ทั่วพื้นที่การเก็บตัวอย่างทำโดยการใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (autoclave) ทำการเขี่ยเชื้อ (swab) บนผิวหนังสุกรก่อนพ่นยา จากนั้นนำไปใส่ในหลอดที่มี NaCl 0.85% ปริมาตร 10 ml และทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} และ 10^{-8} โดยแต่ละความเข้มข้นนำไปเทในจานอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 2 จาน และนำไปเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง นับจำนวนตรวจหาเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ระยะเวลาต่างๆ ด้วยวิธี MPN (รูปที่ 2และรูปที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

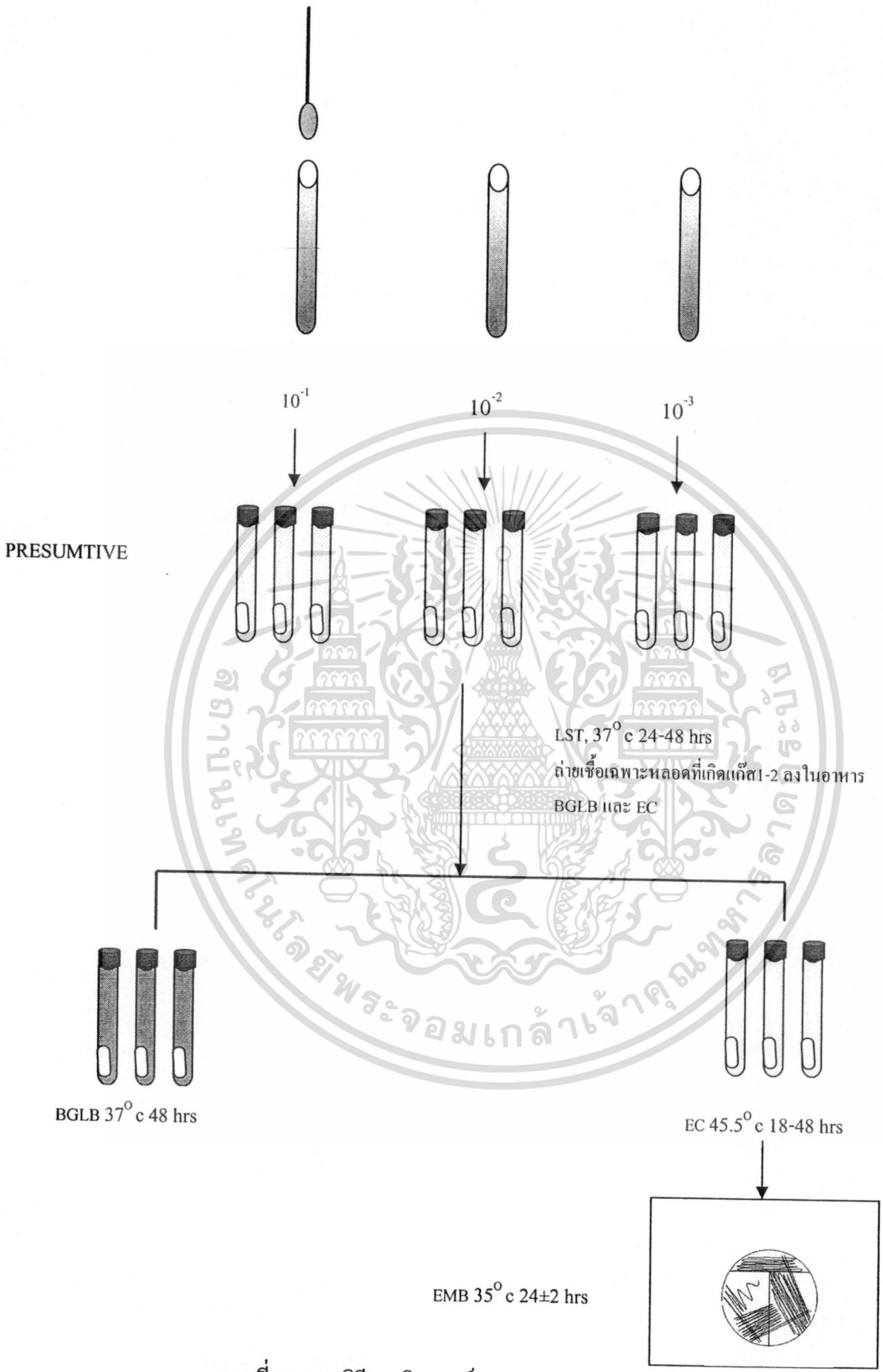
สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



ภาพที่ 2 แสดงขั้นตอนการเก็บตัวอย่างจากสุกรมีชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

120228



ภาพที่ 3 แสดงวิธีการวิเคราะห์หา *E.coli* และ Coliform

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

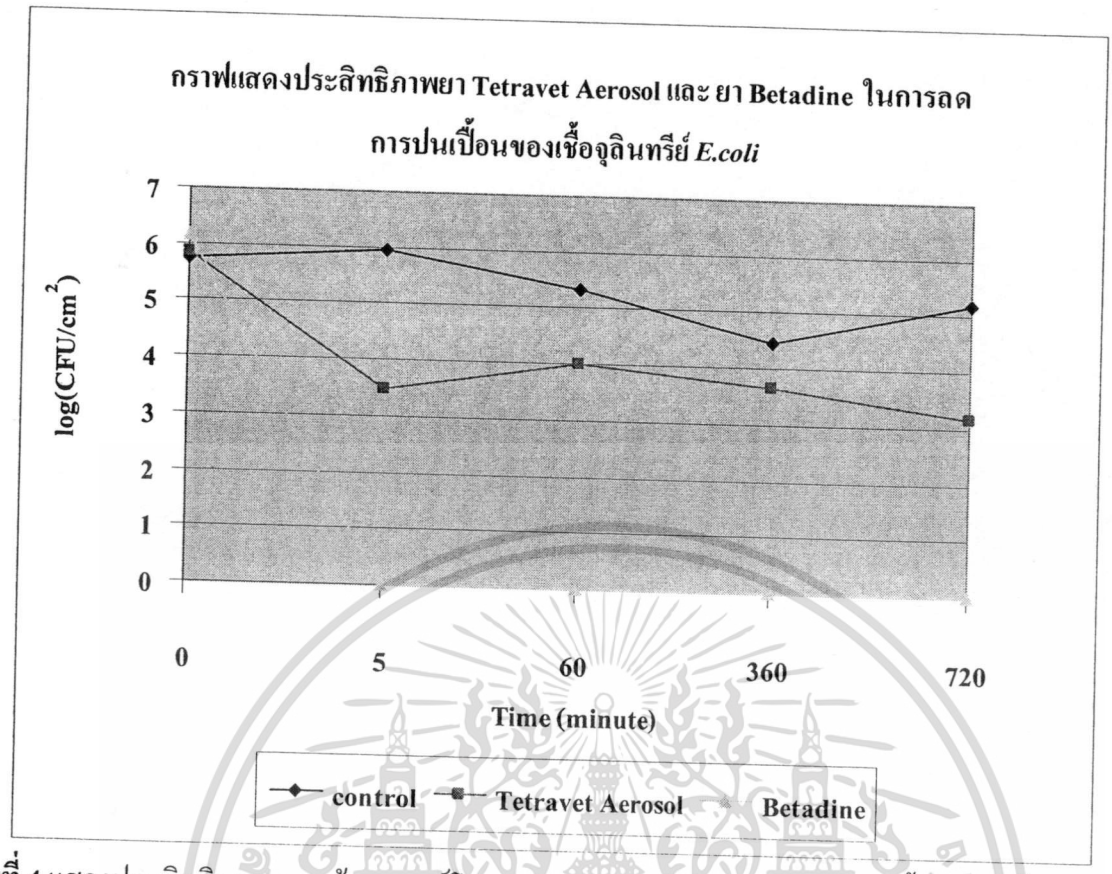
การทดลองที่ 1

จากการศึกษาผลของการใช้ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และ ยาเบตาดีนในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *Salmonella* Typhimurium บนหนังสุกร ในช่วงระยะเวลาต่างๆโดยทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ใช้ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และ ยาเบตาดีน โดยทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นและจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดหลังจากที่ระยะเวลาผ่านไปตามที่กำหนดไว้ ปรากฏผลดังนี้คือ

ตารางที่ 1 แสดงอิทธิพลของระยะเวลาต่อจำนวนเชื้อ*E. coli* ทั้งหมดบนหนังสุกรในกลุ่มต่างๆ

ระยะเวลา(นาที)	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU/g)		
	ควบคุม	ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล	ยาเบตาดีน
0	5.73	5.85	6.17
5	5.94	3.47	0.00
60	5.34	3.99	0.00
360	4.47	3.65	0.00
720	5.18	3.16	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



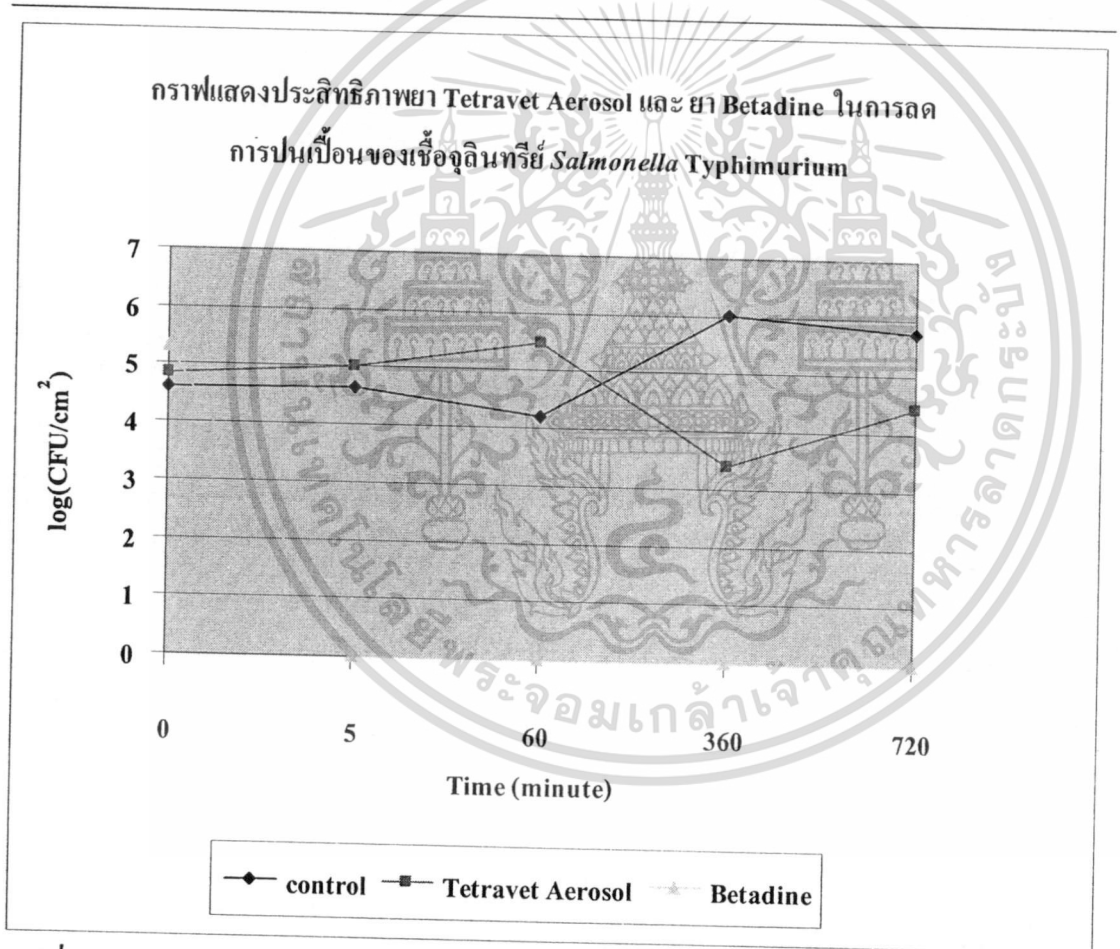
ภาพที่ 4 แสดงประสิทธิภาพยาเตตร้าเวทแอร์โรซอลและยาเบตาดีนในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*

ผลการทดลองจากตารางที่ 1 และภาพที่ 4 พบว่าจำนวน *E. coli* บนหนังสุกรในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่มีการใช้ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอลมีแนวโน้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น แต่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ สำหรับกลุ่มที่มีการใช้ยาเบตาดีน) บนหนังสุกรนั้นพบว่าจำนวน *E. coli* บนหนังสุกรลดลงอย่างมากและรวดเร็วจนไม่พบ *E. coli* เลยตั้งแต่เวลา 5 นาทีเป็นต้นไป ผลดังกล่าวพบว่า ยาเบตาดีนสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ให้มีจำนวนลดลงและไม่ให้เพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ได้อย่างชัดเจนมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงอิทธิพลของระยะเวลาต่อจำนวนเชื้อ *Salmonella* Typhimurium ทั้งหมดบนหนังสุกร

ระยะเวลา(นาที)	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU/g)		
	ควบคุม	ยาเตตร้าเวท แอร์โรซอล	ยาเบตาดีน
0	4.61	4.83	5.32
5	4.63	5.00	0.00
60	4.20	5.49	0.00
360	6.03	3.39	0.00
720	5.75	4.43	0.00



ภาพที่ 5 แสดงประสิทธิภาพยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และยาเบตาดีน ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium

ผลการทดลองจากตารางที่ 2 และภาพที่ 5 พบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium บนหนังสุกรในกลุ่มควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงเวลา 60 เป็นต้นไป และลดลงเล็กน้อยที่เวลา 720 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium เริ่มต้นพบว่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ กลุ่มที่มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ยาการใช้ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล พบว่าจำนวน *Salmonella* Typhimurium บนหนังสุกรมีจำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงเวลา 5 และ 60 นาที ตามลำดับ หลังจากนั้นจำนวนเชื้อจะลดลงในช่วงเวลา 360 และ 720 นาที ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium เริ่มต้นพบว่าไม่แตกต่างกันในทาง การใช้ยาเบตาดีนบนหนังสุกรนั้นพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium บนหนังสุกรลดลงอย่างมากและรวดเร็วจนไม่พบ *Salmonella* Typhimurium เลยตั้งแต่เวลา 5 นาทีเป็นต้นไป ผลดังกล่าวพบว่า ยาเบตาดีนสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium ให้มีจำนวนลดลงและไม่ให้เพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ได้อย่างชัดเจนมากที่สุด

การทดลองที่ 2

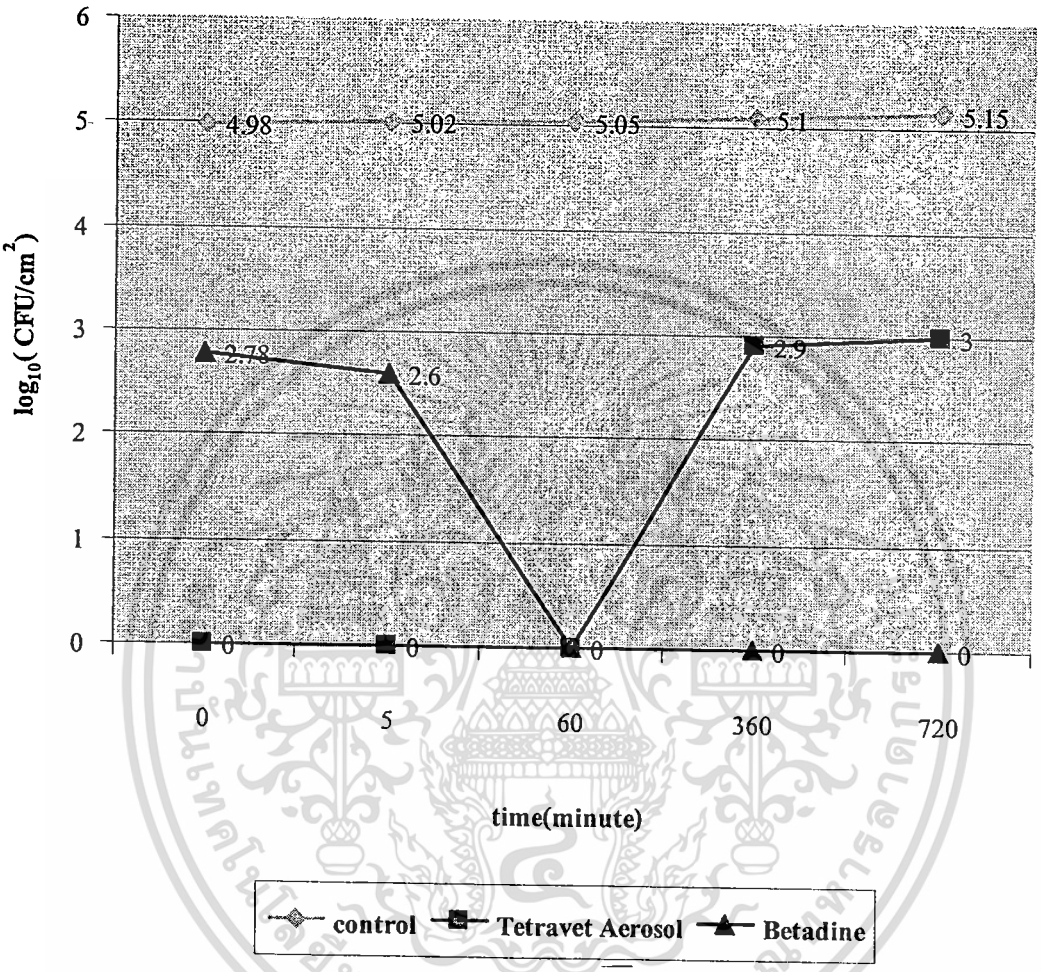
จากการศึกษาพบว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้ยามีการเพิ่มของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมมากขึ้นเรื่อยๆตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ส่วนในกลุ่มที่ใช้ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล เมื่อพ่นยาลงไปที่เวลา 0,5 และ 60 นาที เชื้อจุลินทรีย์รวมมีค่าเท่ากับ 0.00 $\log_{10}$ CFU/g จากนั้นเชื้อจุลินทรีย์รวมเริ่มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่อเวลา 360 ถึง 720 นาทีซึ่งค่าที่เพิ่มมากที่สุดอยู่ที่ 3.00 $\log_{10}$ CFU/g และกลุ่มที่ใช้ยาเบตาดีน เมื่อพ่นยาลงไป เชื้อจุลินทรีย์รวมค่อยๆลดลงตายลงเรื่อยๆจนที่เวลา 60 ถึง 720นาทีเชื้อจุลินทรีย์รวมได้ตายหมด มีค่าเท่ากับ 0.00 $\log_{10}$ CFU/g แสดงผลดัง (ตารางที่ 1) และพบว่ายาทั้งสองชนิดนี้มีคุณสมบัติที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ได้

ตารางที่ 3 แสดงอิทธิพลของระยะเวลาต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งหมดบนผิวหนังสุกรมีชีวิต

ระยะเวลา(นาที) ความเจือจาง 10^{-3}	จำนวนจุลินทรีย์ ($\log_{10}$ CFU/g)		
	ควบคุม	ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล	ยาเบตาดีน
0	4.98	0.00	2.78
5	5.02	0.00	2.60
60	5.05	0.00	0.00
360	5.10	2.90	0.00
720	5.15	3.00	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงประสิทธิภาพยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล (Tetravet Aerosol)
และ ยาเบตาดีน(Betadine) ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์รวม



ภาพที่ 6 แสดงประสิทธิภาพยาเตตร้าเวทแอร์โรซอลและยาเบตาดีนในการลดการปนเปื้อนของ เชื้อจุลินทรีย์รวม

จากตารางที่ 3 และภาพที่ 6 พบว่าการใช้ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และ ยาเบตาดีน มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนจุลินทรีย์และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์รวมได้ โดยพบว่า กลุ่มที่ไม่ใช้ยามีการเพิ่มของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมมากขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งต่างจากกลุ่มที่ใช้ยาทั้ง 2 กลุ่มอย่างสิ้นเชิง เนื่องจากกลุ่มที่ใช้ยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล เมื่อพ่นยาลงไปเชื้อจุลินทรีย์รวมได้ตายหมดทันทีในช่วงเวลา 1 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น เชื้อจุลินทรีย์รวมก็ค่อยเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามไปด้วย เพราะเนื่องจากยาชนิดนี้เป็นยาที่ออกฤทธิ์รวดเร็ว รุนแรง ในช่วงเวลาสั้นๆ และกลุ่มที่ใช้ยาเบตาดีน เมื่อพ่นยาลงไปเชื้อจุลินทรีย์รวมค่อยๆตายลงอย่างช้าๆจนเวลา 60 ถึง720 นาทีเชื้อจุลินทรีย์รวมจึงตายหมด เพราะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากยาชนิดนี้เป็นยาที่เมื่อใช้จะเคลือบติดกับผิวหนัง และออกฤทธิ์อย่างสม่ำเสมอ ดังนั้นหากต้องการใช้ยาฆ่าเชื้อสำหรับการป้องกันและรักษาการติดเชื้อที่ผิวหนังสุกร ยาเบตาดีนจึงน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีที่สุดในการลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่ผิวหนังสุกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

การฆ่าเชื้อบนผิวหนังสุกรนั้นอาจเลือกใช้ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) หรือยาฆ่าเชื้อ (antiseptic) ซึ่งมีขายอยู่ในท้องตลาดทั่วไปได้ จากผลการทดลองที่ได้พบว่าการใช้ยาฆ่าเชื้อชนิดเบตาดีมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการฆ่าเชื้อบนผิวหนังของสุกร โดยสามารถให้ผลในการฆ่าเชื้อที่รวดเร็วและคงประสิทธิภาพได้ยาวนานที่สุด ยาฆ่าเชื้อดังกล่าวสามารถหาซื้อได้ง่ายและมีราคาถูกกว่ายาปฏิชีวนะ ทั้งยังไม่มีอันตรายต่อผู้บริโภค และไม่ก่อให้เกิดการดื้อยาตามมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์นรา ยิ้นลิ้ง. 2552. จุลินทรีย์ในใจ. [Online] Available : http://yalor.yru.ac.th/~dolah/notes/4032601-1-49G16/MM/MM_404752053.doc. 05/03/2552.

วรวุฒิ เจริญศิริ. 2552. สาระสุขภาพ-อาชีวอนามัยและอนามัยสิ่งแวดล้อม. [Online] Available : http://www.vachiraphuket.go.th/www/public-health/. 06/04/2552.

Malee pinkes. 2545. การใช้ยาปฏิชีวนะ. [Online] Available : http://www.school.net.th/library/create-web/10000/science/10000-1663.html. 06/04/2552

กัญจนา ธีระกุล และคณะ. 2547. จุลชีววิทยาปฏิบัติการ. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 330 น.

กรมอาชีวศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ. 2524. หลักการเลี้ยงสัตว์ทั่วไป. สำนักพิมพ์อักษรเจริญทัศน์, กรุงเทพมหานคร. 134 น.

กิจจา อุไรรงค์. 2530. แนวทางการวินิจฉัย รักษาและควบคุมโรคสุกร. โครงการตำรา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 348 น.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540. การจัดการโรงฆ่าสัตว์. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร. 260 น.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และ วิบูลย์ลักษณ์ วิสุทธิสักดิ์.2540.วิเคราะห์น้ำเสีย.เรือนแก้วการพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.379 น.

นิตยา บุญมี และ อดิศร เสวตวิวัฒน์.2542.ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร.ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.75 น.

พงษ์ชาญ ณ ลำปาง. 2527. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับการผลิตสุกร. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตร-ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 49 น.

รณชัย สิทธิไกรพงษ์. 2540. การผลิตสุกร. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการ-เกษตร สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร. 227 น.

วรวุธ ชัยเนตร, 2544. เอกสารประกอบการสอน วิชา 03-240-302 การผลิตสุกร. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตกาฬสินธุ์, กาฬสินธุ์. 257 น.

วรา พานิชเกรียงไกร. 2551. การใช้ยา a-z สำหรับสัตวแพทย์. ภาควิชาเภสัชศาสตร์ คณะสัตว-แพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร. 503 น.

ศศิธร คณะรัตน์ และ กาญจนี ธรรมาพิพัฒนกุล.2534.การตรวจวิเคราะห์เนื้อสัตว์ในห้องปฏิบัติการ.น.5-7. ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมพนักงานตรวจเนื้อฝ่ายสัตวแพทยสาธารณสุข, กรมปศุสัตว์. กรุงเทพมหานคร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545.จุลชีววิทยาทางอาหาร.โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์,กรุงเทพมหานคร.454 น.

AOAC. 2005. Offiial methods of analysis of 18th ed.Microbiological Methods No.966.24.Maryland,USA. 252 p.

Eisel, W.G., R., H.Linton and P.M.Muriana. 1997. A survey of microbial levels for imcoming raw beef, environmental sources, and ground beef in a red meat processing plant. Food Microbiol. 14 : 273-282.

Garcia-López, M.L., M. Prieto and A. Otero. 1998. The physiological attributes of gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat product,pp.1-28.In A. Davies and R. Board. (eds.). The Microbiology of meat and Poultry. Blackie Academic & Professional,London.

Gonzalez-Fandos, E. and J.L. Dominguez. 2007. Effect of potassium sorbate washing on the growth of Listeria monocytogens on fresh poultry. Food control, 18 : 842-846.

Huffman, R.D. 2002. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. Meat Science, 62 : 285-294.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมตัวอย่างและสารเคมีในการทดลองที่ 1

1.น้ำสำหรับเจือจาง (diluent)

วัตถุประสงค์การใช้

- ตรวจวิเคราะห์ทั่วๆไป

น้ำยาสำหรับเจือจาง

- Peptone 0.1%

2. การเตรียมตัวอย่างหนังหมู

ใช้ปากคีบจุ่มแอลกอฮอล์ลนไฟจับหนังสุกร แล้วใช้กรรไกรจุ่มแอลกอฮอล์ลนไฟตัดหนังสุกรให้มีขนาด 21 x 30 cm. (ขนาดเท่ากระดาษ A4) จำนวน 3 แผ่น/ 1 ซ้ำ จากนั้นนำหนังสุกรมาแช่แอลกอฮอล์ 70% ใช้ปากคีบจุ่มแอลกอฮอล์ลนไฟจับหนังสุกร มาพึ่งไว้บนตะแกรงให้แห้งสนิท แล้วนำมาใส่ถาดโฟม นำหนังสุกรที่ได้มาฆ่าเชื้อโดยการฉายรังสี UV ในตู้ตู้ถ่ายเชื้อ (Larminar flow) ด้านละ 15 นาที ให้ทั้ง 2 ด้าน

3. วิธีการทำให้ตัวอย่างเจือจาง (Serial ditution)

1) นำไม้พันสำลีที่ swab เชื้อบนหนังสุกรมาจุ่มในหลอดที่ใส่ Peptone 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี จะได้ความเจือจาง 10^{-1} (1:10)

2) ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-1} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Peptone 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี จะได้ความเจือจาง 10^{-2} (1:100)

3) ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-2} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Peptone 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี จะได้ความเจือจาง 10^{-3} (1:1000)

4) ทำเช่นเดิมจนได้ระดับความเจือจาง (ditution) 1:100000000 (10^{-8})

5) นำเชื้อตัวอย่างที่เจือจางแล้วไปทำต่อในข้อ 4

4. วิธีการ Pour plate

1) นำอาหาร TSA-YE มาหลอม แล้วปล่อยให้เย็นลงประมาณ 45 °C

2) ดูดตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-4},10^{-5},10^{-6},10^{-7},10^{-8},10^{-9} และ10^{-10} ความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อความเจือจางละ 2 จาน

3) เทอาหาร TSA-YE ที่หลอมเหลวแล้ว เทลงในจานเพาะเชื้อ แล้วหมุนวนซ้าย 10 รอบ ขวา 10 รอบ เพื่อให้กระจายทั่ว วางไว้จนอาหารเย็นและวุ้นแข็งตัว

4) นำไปบ่มโดยคว่ำจานเพาะเชื้อ บ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

5. การตรวจผล

1) การนับจำนวนโคโลนี ให้เลือกเฉพาะจานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ 30-300 โคโลนี โดยนับจำนวนโคโลนีทั้ง 2 จาน แล้วนำค่าที่ได้มาหาร 2 จะเท่ากับจำนวนเฉลี่ยของโคโลนีที่นับได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) การคำนวณจำนวนโคโลนี

จำนวนโคโลนี/กรัม(หรือมิลลิลิตร) = $\frac{\text{จำนวนโคโลนี}}{\text{ความเจือจางของตัวอย่าง}}$

นิยมรายงานเป็น CFU (colony forming unit) ต่อ g หรือ ml เช่น ที่ความเจือจาง 10^{-4} นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ยได้ 89.5 ดังนั้นจำนวนโคโลนีเท่ากับ 89.5 x10^4 CFU/g. (กัญจนาและคณะ, 2547)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการทดลองใช้อาหาร TSA-YE และ TSB-YE

1) เตรียมอาหาร TSA-YE จำนวน 10 ขวด/ 1 ซ้ำ ขวดละ300 ml ใส่ในขวดขนาด 500 ml

ใช้ TSB ; น้ำกลั่น 1000 ml จะใช้ TSB 30 g

ถ้าน้ำกลั่น 300 ml จะใช้ TSB $\frac{30 \times 300}{1000}$ = 9 g

ใช้ YE ; น้ำกลั่น 100 ml จะใช้ YE 0.5 g

ถ้าน้ำกลั่น 300 ml จะใช้ YE $\frac{0.5 \times 300}{100}$ = 1.5 g

ใช้ Agar ; น้ำกลั่น 100 ml จะใช้ YE 1.5 g

ถ้าน้ำกลั่น 300 ml จะใช้ YE $\frac{1.5 \times 300}{100}$ = 4.5 g

2) เตรียมอาหาร TSB-YE จำนวน 2 หลอด/ 1 ซ้ำ หลอดละ 5 ml

ใช้ TSB ; น้ำกลั่น 1000 ml จะใช้ TSB 30 g

ถ้าน้ำกลั่น 10 ml จะใช้ TSB $\frac{30 \times 10}{1000}$ = 0.3 g

ใช้ YE ; น้ำกลั่น 100 ml จะใช้ YE 0.5 g

ถ้าน้ำกลั่น 10 ml จะใช้ YE $\frac{0.5 \times 10}{100}$ = 0.05 g

3) เตรียม Peptone 0.1% จำนวน 100 หลอด/ 1 ซ้ำ หลอดละ 9 ml

ใช้ Peptone ; น้ำกลั่น 100 ml จะใช้ Peptone 0.1 g

ถ้าน้ำกลั่น 1000 ml จะใช้ Peptone $\frac{0.1 \times 1000}{100}$ = 1 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) เตรียม Peptone 0.1% จำนวน 2 ขวด/ 1 ซ้ำ ขวดละ 99 ml

ใช้ Peptone ; น้ำกลั่น 100 ml จะใช้ Peptone 0.1 g

ถ้าน้ำกลั่น 99 ml จะใช้ Peptone $\frac{0.1 \times 99}{100} = 0.099$ g

วิธีการเตรียมตัวอย่างและสารเคมีในการทดลองที่ 2

1.น้ำสำหรับเจือจาง(diluent)

วัตถุประสงค์การใช้

-ตรวจวิเคราะห์ทั่วๆไป

น้ำยาสำหรับเจือจาง

-NaCl 0.85%

2.การเตรียมสุกร

คัดเลือกสุกรขุนอายุประมาณ 6 เดือน งดอาบน้ำก่อนทำการทดลอง และขณะทการทดลอง สุ่มแบ่งพื้นที่บนผิวหนังสุกรโดยเลือกพื้นที่บริเวณหลัง แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ขนาดประมาณ กระดาษA4

3.วิธีการทำให้ตัวอย่างเจือจาง (Serial dilution)

1) นำไม้พันสำลีที่ swab เชื้อบนหนังสุกรมาจุ่มในหลอดที่ใส่ NaCl 0.85% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี จะได้ความเจือจาง 10^{-1} (1:10)

2) ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-1} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน NaCl 0.85% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี จะได้ความเจือจาง 10^{-2} (1:100)

3) ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-2} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน NaCl 0.85% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี จะได้ความเจือจาง 10^{-3} (1:1000)

4) ทำเช่นเดิมจนได้ระดับความเจือจาง (ditution) 1:100000000 (10^{-8})

5) นำเชื้อตัวอย่างที่เจือจางแล้วไปทำต่อในข้อ 4

4. วิธีการ Pour plate

1) นำอาหาร PCA มาหลอม แล้วปล่อยให้เย็นลงประมาณ 45 °C

2) ดูดตัวอย่างที่ความเจือจาง 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} และ10^{-8}ความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อความเจือจางละ 2 จาน

3) เทอาหาร PC ที่หลอมเหลวแล้ว เทลงในจานเพาะเชื้อ แล้วหมุนวนซ้าย 10 รอบ ขวา 10 รอบ เพื่อให้กระจายทั่ว วางไว้จนอาหารเย็นและวุ้นแข็งตัว

4) นำไปบ่มโดยคว่ำจานเพาะเชื้อ บ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

5. การตรวจผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) การนับจำนวนโคโลนี ให้เลือกเฉพาะจานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ 30-300 โคโลนี โดยนับจำนวนโคโลนีทั้ง 2 จาน แล้วนำค่าที่ได้มาหาร 2 จะเท่ากับจำนวนเฉลี่ยของโคโลนีที่นับได้

2) การคำนวณจำนวนโคโลนี

$$\text{จำนวนโคโลนี/กรัม(หรือมิลลิลิตร)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนี}}{\text{ความเจือจางของตัวอย่าง}}$$

นิยมรายงานเป็น CFU (colony forming unit) ต่อ g หรือ ml

เช่น ที่ความเจือจาง 10^{-4} นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ยได้ 89.5 ดังนั้นจำนวนโคโลนีเท่ากับ 89.5 $x10^{4}$ CFU/g. (กัญจนาและคณะ, 2547)

6.การตรวจหาเชื้อ จุลินทรีย์ *E.coli* และ Coliform ด้วยวิธี MPN

6.1) วิธีการตรวจหา Coliform

1)ปิเปต 1 ml ของตัวอย่างเชื้อที่ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} ใส่ลงในหลอดแก้ว ที่มี Laury sulfate tryptose broth (LST) 9 ml (มีหลอด fermention tube คว่ำอยู่ภายใน)ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

2) นำหลอดดังกล่าวไปบ่มที่ 35 °C นาน 24-48 ชั่วโมง

3) ตรวจผลโดยดูหลอดที่เกิดฟองแก๊สใน fermention tube

4) ถ่ายเชื้อเฉพาะหลอดที่เกิดฟองแก๊สโดยใช้ loop ลงใน Brilliant green lactose bile (BGLB) broth

5) นำหลอดดังกล่าวไปบ่มที่ 35 °C นาน 48±2 ชั่วโมง

6) ตรวจผลหลอด BGLB ที่มีฟองแก๊สเกิดขึ้น

7) นำไปเปิดตาราง MPN (ตารางที่ 2) รายงานผลเป็น MPN Coliform bactria

6.2) วิธีการตรวจวิเคราะห์ *E.coli*

1) ถ่ายเชื้อ 1 loop จากหลอด LST ที่มีฟองแก๊สลงในอาหาร EC broth

2) นำหลอดดังกล่าวไปบ่มที่ 45.5 ± 0.02°C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง

3) เขี่ยเชื้อ 1 loop จากหลอด EC broth ที่มีแก๊ส แล้ว streak ลงบน Levine's eosin methylne blue (EMB) agar

4) นำหลอดดังกล่าวไปบ่มที่ 35 °C นาน 48±2 ชั่วโมง

5) โคโลนีของ *E.coli* จะมีลักษณะสีดตรงกลางหรืออาจไม่มีก็ได้

6) เพื่อเก็บไปจัดจำแนก โดย Biochemical test โดยเขี่ยเชื้ออย่างน้อย 2 โคโลนี (isolate colony) ถ่ายใส่ PCA บ่มที่ 35 °C นาน 18-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7) ประเมินค่า MPN ของ *E.coli* จากจำนวนหลอด EC broth ที่มีโคโลนี ให้ผลเป็น ++-- หรือ -+--

การทดสอบ Biochemical test (IMvic test)

1) ทดสอบ Indole

โดยถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ลงในอาหาร Tryptophane broth บ่มที่ อุณหภูมิ 35 °C นาน 24±2 ชั่วโมง แล้วเติม Kovacs reagent 0.2-0.3 ml โดยผลบวกจะปรากฏสีแดงที่ส่วนบน

2) ทดสอบ MR-VP

ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ลงในอาหาร MR-VP บ่มที่ 35 °Cนาน 24±2 ชั่วโมง แล้วแบ่งเป็น 2 ส่วน

2.1) ทดสอบ methyl red reaction โดยเติมสารละลาย methyl red 5 หยด ลงในสารละลายเชื้อโดยผลบวกจะให้สีแดง ผลลบจะให้สีเหลือง

2.2) ทดสอบ VP โดยถ่ายเชื้อ 1 ml.ใส่หลอดทดลองแล้วเติม 5% alcoholic α-naphthol solution (w/v) ปริมาตร 0.6 ml และ 40% KOH ปริมาตร 0.2 ml ผสมทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ตรวจผลและบันทึก ผลบวกจะให้สีชมพูแดง

3) ทดสอบ citrate

โดยถ่ายเชื้อจาก PCA slant ลงในอาหาร Koser citrate broth บ่มที่ 35 °Cนาน 96 ชั่วโมง รายงานการเจริญเป็น (+) ไม่เจริญ เป็น(-)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการทดลองนี้ใช้ PCA, EMB, LST, BGLB, EC, Tryptophane broth, MR-VP และ Koser citrate broth

a. เตรียมอาหาร PCA จำนวน 9 ขวด/1 ซ้ำ ขวดละ 300 ml

ใช้ PCA ; น้ำกลั่น 1,000 ml จะใช้ PCA 23.4 g

ถ้าน้ำกลั่น 300 ml จะใช้ PCA $\frac{23.4 \times 300}{1,000} = 7.02$ g

b. เตรียมอาหาร LST จำนวน 135 หลอด/1 ซ้ำ หลอดละ 9 ml

ใช้ LST ; น้ำกลั่น 1,000 ml จะใช้ LST 35.6 g

ถ้าน้ำกลั่น 1,215 ml จะใช้ LST $\frac{35.6 \times 1,215}{1,000} = 7.02$ g

c. เตรียมอาหาร BGLB จำนวน 10หลอด/1 ซ้ำ หลอดละ 9 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ BGLB ; น้ำกลั่น 1,000 ml จะใช้ BGLB 40 g

ถ้าน้ำกลั่น 90 ml จะใช้ BGLB $\frac{40 \times 90}{1,000}$ = 3.60 g

d. เตรียมอาหาร EC จำนวน 10หลอด/1 ซ้ำ หลอดละ 9 ml

ใช้ EC ; น้ำกลั่น 1,000 ml จะใช้ EC 3.7 g

ถ้าน้ำกลั่น 90 ml จะใช้ EC $\frac{3.7 \times 90}{1,000}$ = 3.33 g

e. เตรียมอาหาร EMB จำนวน 1 ขวด ขวดละ 300 ml

ใช้ EMB ; น้ำกลั่น 1,000 ml จะใช้ EMB 37.5 g

ถ้าน้ำกลั่น 300 ml จะใช้ EMB $\frac{37.5 \times 300}{1,000}$ = 11.25 g

f. เตรียมอาหาร Tryptophane broth จำนวน หลอด ขวดละ 2 ml

ใช้ Tryptophane broth ; น้ำกลั่น1,000 ml จะใช้ Tryptophane broth 37.5 g

ถ้าน้ำกลั่น 300 ml จะใช้ Tryptophane broth $\frac{37.5 \times 300}{1,000}$ = 11.25 g

g. เตรียมอาหาร MR-VP จำนวน หลอด ขวดละ 2 ml

ใช้ MR-VP ; น้ำกลั่น 1,000 ml จะใช้ MR-VP 37.5 g

ถ้าน้ำกลั่น 300 ml จะใช้ MR-VP $\frac{37.5 \times 300}{1,000}$ = 11.25 g

h. เตรียมอาหาร Koser citrate broth จำนวน หลอด ขวดละ 2 ml

ใช้ Koser citrate broth; น้ำกลั่น 1,000 ml จะใช้ Koser citrate broth 37.5 g

ถ้าน้ำกลั่น 300 ml จะใช้ Koser citrate broth $\frac{37.5 \times 300}{1,000}$ = 11.25g

i. เตรียมอาหาร NaCl 0.85% จำนวน 15 หลอด/1ซ้ำ หลอดละ 10 ml

ใช้ NaCl 0.85%; น้ำกลั่น 100 ml จะใช้ NaCl 0.85 g

ถ้าน้ำกลั่น 150 ml จะใช้ NaCl $\frac{0.85 \times 150}{100}$ = 1.27g

เตรียมอาหาร NaCl 0.85% จำนวน 135 หลอด/1ซ้ำ หลอดละ 9 ml

ใช้ NaCl 0.85%; น้ำกลั่น 100 ml จะใช้ NaCl 0.85 g

ถ้าน้ำกลั่น 1215 ml จะใช้ NaCl $\frac{0.85 \times 1,215}{100}$ = 10.38g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : การเตรียม NaCl 0.85 % 10^{-1} จำนวน 15 หลอด/1ซ้ำ หลอดละ 10 ml

10^{-2}-10^{-8} จำนวน 135 หลอด/1ซ้ำ หลอดละ 9 ml

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1) การเตรียม methyl red เตรียมโดยชั่ง methyl red 0.1 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 90% ปริมาตร 300 มล. แล้วเติมน้ำให้ครบ 500 มล.
2) การเตรียม 5% alcoholic α-naphthol solution (w/v) เตรียมโดยชั่ง α-naphthol 5 กรัม ละลายด้วย absolute alcohol 95 มล.
3) 40%KOH เตรียมโดยชั่ง KOH 40 กรัมละลายด้วยน้ำกลั่น 60 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาต่างๆต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* ทั้งหมดบนหนังสุกรในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่พ่นยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และยาเบตาดีน

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น	จำนวนจุลินทรีย์														
		Control					Tetravet Aerosol(T1)					Betadine(T2)				
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	log	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	log	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	log
0	10^{-2}	>300,>300	>300,>300	77,57	$6.70x10^{3}$	3.83	>300,>300	>300,>300	218,174	$1.96x10^{4}$	4.29	>300,>300	>300,>300	25,27	$2.60x10^{3}$	3.41
	10^{-3}	>300,>300	160,111	7,6	$7.10x10^{4}$	4.85	145,164	>300,>300	24,21	$8.85x10^{4}$	4.95	>300,>300	>300,>300	3,3	$3.00x10^{3}$	3.48
	10^{-4}	77,97	16,24	5,0	$5.35x10^{5}$	5.73	30,27	116,108	1,0	$7.03x10^{5}$	5.85	258,245	47,48	0,0	$1.50x10^{6}$	6.17
	10^{-5}	19,12	3,5	0,1	$9.75x10^{5}$	5.99	0,0	18,15	0,0	$1.65x10^{6}$	6.22	64,46	8,4	0,0	$3.05x10^{6}$	6.48
5	10^{-2}	>300,>300	>300,>300	0,0			0,0	37,22	0,0	$2.95x10^{3}$	3.47	0,0	0,0	0,0	0	0
	10^{-3}	>300,>300	97,88	0,0	$9.25x10^{4}$	4.97	1,1	12,12	0,0	$6.75x10^{3}$	3.82	0,0	0,0	0,0	0	0
	10^{-4}	163,166	8,13	0,0	$8.75x10^{5}$	5.94	0,0	1,2	0,0	$1.50x10^{4}$	4.18	0,0	0,0	0,0	0	0
	10^{-5}	23,12	0,1	0,0	$1.75x10^{6}$	6.24	0,0	0,0	0,0			0,0	0,0	0,0	0	0
60	10^{-1}		>300,>300					>300,>300					0,0		0	0
	10^{-2}	>300,>300	>300,>300	15,19	$1.70x10^{3}$	3.23	0,0	55,53	113,174	$9.88x10^{3}$	3.99	0,0	0,0	0,0	0	0
	10^{-3}	>300,259	211,228	0,0	$2.19x10^{5}$	5.34	0,0	19,22	40,47	$3.20x10^{4}$	4.51	0,0	0,0	0,0	0	0
	10^{-4}	47,67		0,0	$5.70x10^{5}$	5.76	0,0		3,5	$4.00x10^{4}$	4.60	0,0		0,0	0	0
	10^{-5}	6,8		0,0	$7.00x10^{5}$	5.85	0,0		0,0			0,0		0,0	0	0
360	10^{-1}		>300,>300	123,105	$1.14x10^{3}$	3.06		>300,>300	28,40	$3.40x10^{2}$	2.53		52,35	0,0	$4.35x10^{2}$	2.64
	10^{-2}	>300	>300,>300	32,51	$4.15x10^{3}$	3.62	0	74,71	18,16	$4.48x10^{3}$	3.65	0	8,11	0,1	$9.50x10^{2}$	2.98
	10^{-3}	>300	53,55	10,1	$2.98x10^{4}$	4.47	0	13,15	1,0	$1.40x10^{4}$	4.15	0	0,0	0,1		
	10^{-4}	45,37		0,0	$4.10x10^{5}$	5.61	0,0		0,0			0,0		0,0		
	10^{-5}	1,13		0,0	$7.00x10^{5}$	5.85	0,0		0,0			0,0		0,0		
	10^{-6}	0,1					0,0					0,0				
	10^{-7}	0					0					0				
	10^{-8}	0					0					0				
720	10^{-1}		>300,>300	>300,>300			1,0		88,81	$8.45x10^{2}$	2.93		0,0	0,0	0	0
	10^{-2}	>300	>300,>300	57,34	$4.55x10^{3}$	3.66	0	0,0	18,11	$1.45x10^{3}$	3.16	0	0,0	0,0	0	0
	10^{-3}	107	208,189	4,8	$1.53x10^{5}$	5.18	0	0,0	4,2	$3.00x10^{3}$	3.48	0	0,0	0,0	0	0
	10^{-4}	21,17		0,0	$1.90x10^{5}$	5.28	0,0		0,0			0,0		0,0	0	0
	10^{-5}	5,5		0,0	$5.00x10^{5}$	5.70	0,0		0,0			0,0		0,0	0	0
	10^{-6}	0,1					0,0					0,0			0	0
	10^{-7}	0					0					0			0	0
	10^{-8}	0					0					0			0	0

เวลา(นาที)	ความเข้มข้น	จำนวนจุลินทรีย์														
		Control					Tetravet Aerosol(T1)					Betadine(T2)				
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	log	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	log	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	log
0	10^{-1}		>300,>300	>300,>300				>300,>300	>300,>300				>300,>300	>300,>300		
	10^{-2}	>300,>300	>300,>300	>300,>300			142,176	>300,>300	230,250	$2.00x10^4$	4.30	133,118	>300,>300	>300,>300	$1.26x10^4$	4.10
	10^{-3}	59,24	42,38	37,46	$4.10x10^4$	4.61	60,78	201,219	60,70	$6.70x10^4$	4.83	22,22	201,219	205,214	$2.10x10^5$	5.32
	10^{-4}	10,10	5,3	33,26	$1.45x10^5$	5.16	2,11	29,25	11,26	$1.73x10^5$	5.24	7,3	29,25	65,56	$4.38x10^5$	5.64
	10^{-5}	0,0	0,0	5,4	$4.50x10^5$	5.65	1,0	3,21	2,6	$5.67x10^5$	5.75	0,1	3,21	6,5	$8.75x10^5$	5.94
5	10^{-1}		>300,>300	>300,>300				>300,>300	8,4	6.00x10	1.78		28,0	0,0	$2.80x10^2$	2.45
	10^{-2}	>300,>300	>300,>300	145,154	$1.50x10^4$	4.18	18,39	>300,>300	16,19	$2.30x10^3$	3.36	0,0	0,1	0,0	0	0
	10^{-3}	59,47	181,166	29,35	$4.25x10^4$	4.63	8,7	134,110	11,10	$8.75x10^3$	3.94	0,0	0,0	0,0	0	0
	10^{-4}	6,8	24,20	13,18	$3.75x10^5$	5.57	1,0	20,18	1,4	$1.00x10^5$	5.00	0,0	0,0	0,0	0	0
	10^{-5}	2,0	4,1	2,1	$2.00x10^5$	5.30	0,0	3,3	0,0	$3.00x10^5$	5.48	0,0	0,0	0,0	0	0
60	10^{-1}	50,82	>300,>300	>300,>300	$6.60x10^2$	2.82	1,2	>300,>300	163,172	$1.68x10^3$	3.22	0,0	0,0	40,42	$4.10x10^2$	2.61
	10^{-2}	9,22	138,150	143,207	$1.60x10^4$	4.20	1,1	>300,>300	147,141	$1.44x10^4$	4.16	0,0	0,0	28,32	$3.00x10^3$	3.48
	10^{-3}	1,1	35,90	75,110	$7.75x10^4$	4.89	0,0	207,215	117,108	$8.09x10^4$	4.90	0,0	0,0	11,8	$9.50x10^3$	3.98
	10^{-4}	0,0	2,3	17,17	$9.75x10^4$	4.99	0,0	22,39	32,30	$3.08x10^5$	5.49	0,0	0,0	0,0		
	10^{-5}	0,0	0,0	2,2	$2.00x10^5$	5.30	0,0	18,4	2,2	$6.50x10^5$	5.81	0,0	0,0	0,0		
360	10^{-1}	>300,>300	>300,>300	>300,>300			102,98	4,2	14,18	9.50x10	1.98	0,0	24,29	0,0	$2.65x10^2$	2.42
	10^{-2}	168,107	>300,>300	258,241	$1.94x10^4$	4.29	45,41	1,0	5,8	$2.48x10^3$	3.39	0,0	7,6	0,0	$6.50x10^2$	2.81
	10^{-3}	52,37	>300,>300	122,117	$8.23x10^4$	4.92	5,3	0,0	6,6	$5.00x10^3$	3.70	0,0	0,1	0,0		
	10^{-4}	2,0	116,105	101,107	$1.08x10^6$	6.03	0,2	0,0	1,1	$1.50x10^4$	4.17	0,0	0,0	0,0		
	10^{-5}	0,1	12,8	7,11	$9.50x10^5$	5.98	0,0	0,0	2,0	$2.00x10^5$	5.30	0,0	0,0	0,0		
720	10^{-1}	>300,>300	>300,>300	>300,>300			>300,>300	>300,>300	>300,>300			0,0	2,1	0,0	1.50x10	1.18
	10^{-2}	53,38	>300,>300	>300,>300	$4.55x10^3$	3.66	68,85	263,236	254,264	$2.54x10^4$	4.41	0,0	1,1	1,1	$1.00x10^2$	2
	10^{-3}	5,4	132,110	186,>300	$1.21x10^5$	5.08	26,10	29,43	110,104	$2.70x10^4$	4.43	0,0	0,1	0,1		
	10^{-4}	0,0	51,39	79,57	$5.65x10^5$	5.75	3,0	5,3	36,33	$3.50x10^4$	4.54	0,0	0,0	1,0		
	10^{-5}	0,0	8,6	16,9	$9.75x10^5$	5.99	0,0	0,2	8,5	$4.25x10^5$	5.63	0,0	0,0	0,0		

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาต่างๆต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งหมดบนผิวหนังสุกรมีชีวิตในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่พ่นยาเตตร้าเวทแอร์โรซอล และยาเบตาดีน

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น	จำนวนจุลินทรีย์														
		Control					Tetravet Aerosol					Betadine				
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย (cfu/g)	log (log_{10}cfu/g)	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย (cfu/g)	log (log_{10}cfu/g)	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย (cfu/g)	log (log_{10}cfu/g)
0	10^{-1}	>300	>300,>300	>300,>300			0	0,0	0,0			12	12,16	20,28	1.76×10^{2}	2.24
	10^{-2}	215	227,220	214,206	2.16×10^{4}	4.33	0	0,0	0,0			4	3,1	6,4	3.60×10^{2}	2.55
	10^{-3}	96	96,92	100,96	9.6×10^{4}	4.98	0	0,0	0,0			1	0,0	1,1	0.60×10^{3}	2.78
	10^{-4}	14,12	12,10	20,16	1.40×10^{5}	5.14	0	0,0	0,0			0,0	0,0	0,0		
	10^{-5}	1,0	1,0		1.00×10^{5}	5.00	0	0,0				0,0	0,0			
5	10^{-1}	>300	>300,>300	>300,>300			0	0,0	0,0			10	10,16	24,22	1.64×10^{2}	2.21
	10^{-2}	228	229,234	216,220	2.25×10^{4}	4.35	0	0,0	0,0			1	2,3	4,4	2.80×10^{2}	2.45
	10^{-3}	97	104,120	102,110	1.06×10^{5}	5.02	0	0,0	0,0			0	0,0	1,1	0.40×10^{2}	2.60
	10^{-4}	14,11	38,24	21,20	2.13×10^{5}	5.32	0	0,0	0,0			0,0	0,0	0,0		
	10^{-5}	3,2	2,3		2.50×10^{5}	5.40	0	0,0				0,0	0,0			
60	10^{-1}	>300	>300,>300	>300,>300			2	2,2	1,2	1.8×10	1.26	9	8,10	12,10	9.80×10	1.99
	10^{-2}	240	228,240	222,230	2.32×10^{4}	4.37	0	0,0	0,0			2	2,1	3,1	1.80×10^{2}	2.26
	10^{-3}	102	115,118	106,115	1.11×10^{5}	5.05	0	0,0	0,0			0	0,0	0,0		
	10^{-4}	22,17	29,40	28,32	2.80×10^{5}	5.45	0	0,0	0,0			0,0	0,0	0,0		
	10^{-5}	3,4	4,3		3.50×10^{5}	5.54	0	0,0				0,0	0,0			
360	10^{-1}	>300	>300,>300	>300,>300			26	20,24	18,23	2.22×10^{2}	2.35	23	10,5	8,5	1.02×10^{2}	2.08
	10^{-2}	268	254,260	245,251	2.56×10^{4}	4.41	10	2,2	3,2	3.80×10^{2}	2.58	6	1,0	1,1	1.80×10^{2}	2.26
	10^{-3}	124	138,131	120,122	1.27×10^{5}	5.10	3	0,0	0,1	0.80×10^{3}	2.90	1	0,0	0,0		
	10^{-4}	26,28	30,45	26,33	3.13×10^{5}	5.50	0,0	0,0	0,0			0,0	0,0	0,0		
	10^{-5}	4,4	3,5		4.00×10^{5}	5.60	0,0	0,0				0,0	0,0			

ตารางภาคผนวกที่ 3 (ต่อ)

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น	จำนวนจุลินทรีย์														
		Control					Tetravet Aerosol					Betadine				
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย (cfu/g)	log (log cfu/g)	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย (cfu/g)	log (log cfu/g)	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย (cfu/g)	log (log cfu/g)
720	10^{-1}	>300	>300,>300	>300,>300			34	40,38	38,40	3.80×10^{2}	2.58	29	6,2	3,1	8.20×10	1.91
	10^{-2}	280	270,280	240,260	2.66×10^{4}	4.42	10	3,6	5,8	6.40×10^{2}	2.81	10	0,0	0,0	2.00×10^{2}	2.30
	10^{-3}	142	154,148	140,129	1.42×10^{5}	5.15	0	1,1	2,1	1.00×10^{3}	3.00	0	0,0	0,0		
	10^{-4}	25,24	52,40	38,30	3.48×10^{5}	5.54	0,0	0,0	0,0			0,0	0,0	0,0		
	10^{-5}	4,5	6,8		5.75×10^{5}	5.76	0,0	0,0				0,0	0,0			

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง