สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การพัฒนาฐานข้อมูลแบคทีเรียในอุตสาหกรรมอาหาร

DEVELOPMENT OF BACTERIAL DATABASE IN FOOD INDUSTRY

T061030

คมรัชกร ราชสมบัติ

KOMRATCHAGON RATCHASOMBAT

QW
A151 ก
2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 61030
วัน,เดือน,ปี - 7 ก.ค. 2549

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2548

ISBN 974-15-1635-5

b 11554484

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DEVELOPMENT OF BACTERIAL DATABASE IN FOOD INDUSTRY

KOMRATCHAGON RATCHASOMBAT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2005

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	**การพัฒนาฐานข้อมูลแบคทีเรียในอุตสาหกรรมอาหาร**
ชื่อนักศึกษา	**นายคมรัชกร ราชสมบัติ**
รหัสประจำตัว	43065217
ปริญญา	**วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต**
สาขาวิชา	**เทคโนโลยีชีวภาพ**
พ.ศ.	2548
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	**รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล**
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สาวิตรี วทัญญูไพศาล**

บทคัดย่อ

วงการอุตสาหกรรมอาหารในปัจจุบัน มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแบคทีเรียกันมากขึ้น เพื่อเพิ่มผลผลิต และรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยในงานวิจัยทางจุลชีววิทยา ขั้นตอนหนึ่งที่ค่อนข้างยุ่งยากแต่มีความสำคัญ คือการทดสอบเพื่อจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองหรือแยกได้จากแหล่งธรรมชาติ วิธีการดั้งเดิมที่ยังคงใช้กันอยู่คือ การตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และสัณฐานวิทยาก่อนเปรียบเทียบผลกับคู่มือการจัดจำแนกเชื้อ แม้ว่าในปัจจุบันจะมีการผลิตชุดตรวจสอบแบบรวดเร็วจากหลายบริษัท แต่ส่วนใหญ่ยังมีราคาแพงเนื่องจากต้องติดตั้งซอฟท์แวร์ในการค้นหาชื่อวิทยาศาสตร์เพิ่มเติม 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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Development of Bacterial Database in Food Industry
Student	Mr.Komratchagon Ratchasombat
Student ID	43065217
Degree	Master of science
Major	Biotechnology
Year	2005
Thesis Advisor	Assoc.Prof. Duangai Ochaikul
Thesis Co-Advisor	Asst.Prof.Dr. Savitri Vatanyoopaisarn

ABSTRACT

To date bacteria are of great concern in the food industry both their benefit and impact. One of the most important and time consuming work in bacterial research is the identification of unknown isolates. The conventional methods which still being used in many laboratories are morphological observation, biochemical tests prior to comparing the results with Bergy's Manual. Although there are many rapid kits commercially available, it is expensive and does not affordable to many small labs due to the price of identification software required with the test kits. 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. 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ผศ.ดร.สาวิตรี วทัญญูไพศาล ผู้ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา ช่วยตรวจสอบ และให้ความช่วยเหลืออื่นๆ ตลอดจนปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆ ซึ่งคำแนะนำ และประสบการณ์ที่ได้รับจักมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อข้าพเจ้าในภายหน้า ข้าพเจ้ามีความซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับจากทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง และขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ได้แก่ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง รศ.มาลินี ตันติยาภรณ์ และ รศ.ธีรวัฒน์ ประกอบผล ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิ และอาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำ ตลอดจนข้อคิดต่างๆ อันก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการศึกษาค้นคว้าและเป็นแนวทางในการจัดทำวิทยานิพนธ์จนประสบความสำเร็จ มา ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณยายลาวัลย์ ขำคม คุณพ่อประภาส คุณแม่กุหลาบ ราชสมบัติ ที่คอยดูแลและอบรมสั่งสอนข้าพเจ้าตลอดมา และนายคมกริช ราชสมบัติ น้องชายที่คอยเป็นกำลังใจและสนับสนุนในทุกๆเรื่อง ทำให้ข้าพเจ้าผ่านพ้นอุปสรรคที่ยากลำบาก จนสามารถสำเร็จการศึกษา

ขอขอบคุณนายพินิจ ยิ่งกำแหง นายธีรพันธ์ เจริญสาคร นางสาววิภาวี แบบประเสริฐ และนางสาวอัมพร อุดมศักดิ์สกุล เพื่อนที่คอยช่วยเหลือทุกอย่าง ตลอดจนบุคคลที่ข้าพเจ้าไม่ได้กล่าวถึงไว้ในที่นี้ ที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าเป็นอย่างดีตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันอันพึงมีจากการทำวิทยานิพนธ์นี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่บุคคลทั้งหลายทั้งที่ได้เอ่ย และไม่ได้เอ่ยนาม

คมรัชกร ราชสมบัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ II

กิตติกรรมประกาศ III

สารบัญ IV

สารบัญตาราง VI

สารบัญรูป VII

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 3

1.4 ประโยชน์ที่จะได้รับจากงานวิจัย 3

บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 การตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย 4

2.1.1 ลักษณะ และคุณสมบัติต่างๆ ที่ช่วยในการจัดจำแนกแบคทีเรีย 7

2.1.2 คุณสมบัติเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละจีนัสที่นำมาใช้เพื่อพัฒนาฐานข้อมูลตามหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 11

2.2 การออกแบบฐานข้อมูลด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี (Microsoft Access XP) 19

2.2.1 แนวคิดในการออกแบบ 20

2.2.2 การวางแบบโครงสร้าง 20

2.3 การเขียนโปรแกรมด้วยไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 (Microsoft Visual Basic 6.0) 21

2.4 ตัวอย่างงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรีย 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 ส่วนที่ 2 การตรวจสอบ 49

4.2.1 วิธีการใช้งานส่วนการตรวจสอบ กรณีทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย 50

4.2.2 วิธีการใช้งานส่วนการตรวจสอบ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย 51

4.3 ส่วนที่ 3 การทดสอบทางชีวเคมี 56

4.3.1 วิธีการใช้งานส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี 56

4.4 ส่วนที่ 4 วิธีการใช้งาน 57

บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงาน 57

บรรณานุกรม 60

ภาคผนวก ก 63

ภาคผนวก ข 74

ภาคผนวก ค 86

ภาคผนวก ง 90

ประวัติผู้เขียน 97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ตัวอย่างการทดสอบทางชีวเคมีวิธีแบบต่างๆ และจุดประสงค์ในการทดสอบ.....6

3.1 แสดงรายละเอียดของชื่อตารางและรายละเอียดต่างๆในฐานข้อมูลโดยสังเขป.....26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.5 แสดงวิธีการทดสอบการตรวจดูรูปร่าง 51

4.6 แสดงขั้นตอนในการตรวจสอบ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย 52

4.7 แสดงการตรวจสอบรูปร่างและการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย 53

4.8 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ 54

4.9 แสดงตัวอย่างเมื่อเสร็จสิ้นการตรวจสอบ 55

4.10 แสดงตัวอย่างแบบฟอร์มสำหรับพิมพ์รายงานผลการตรวจสอบ 55

4.11 แสดงส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมีของโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 56

4.12 แสดงวิธีการใช้งานส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี 57

5.1 แสดงตัวอย่างรายละเอียดของ *Bacillus Cereus* จากโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 58

ง.1 แสดงการเลือกไฟล์สำหรับติดตั้งโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 91

ง.2 แสดงหน้าต่างเริ่มเข้าสู่การติดตั้งโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 92

ง.3 แสดงหน้าต่างสำหรับใส่ข้อมูลของผู้ใช้ 92

ง.4 แสดงหน้าต่างเลือกตำแหน่งสำหรับติดตั้งโปรแกรม 93

ง.5 แสดงหน้าต่างตั้งชื่อ และตำแหน่งติดตั้งไอคอน เพื่อเรียกใช้โปรแกรม 93

ง.6 แสดงหน้าต่างข้อมูลที่ผู้ใช้งานตั้งค่าไว้ 94

ง.7 แสดงหน้าต่างการคัดลอกไฟล์ สู่เครื่องคอมพิวเตอร์ของผู้ใช้งาน 94

ง.8 แสดงหน้าต่าง ตำแหน่งของไอคอนสำหรับการเรียกใช้โปรแกรม 95

ง.9 เสร็จสิ้นการติดตั้งโปรแกรม 95

ง.10 แสดงหน้าต่างเมื่อเริ่มเข้าสู่การใช้งานโปรแกรม FBIdent เวอร์ชั่น 1.0 96

ง.11 แสดงหน้าต่างโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 เมื่อพร้อมใช้งาน 96

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 อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการตรวจสอบเพื่อความถูกต้อง อีกทั้งยังมีการทดลองทางวิทยาศาสตร์อีกจำนวนมาก ที่ต้องมีการตรวจสอบหาชนิดของแบคทีเรีย เนื่องจากเป็นการคัดแยกได้จากแหล่งต่างๆตามธรรมชาติ เช่น จากในดิน น้ำ อากาศ วัสดุต่างๆ ผลิตภัณฑ์อาหาร หรือแม้แต่จากสิ่งมีชีวิต เช่น คน พืช และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัตว์ เป็นต้น ซึ่งในทางปฏิบัติเมื่อแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ จากตัวอย่างดังกล่าวข้างต้นมาแล้ว หากต้องการตรวจสอบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดใด จะพิจารณาจากคุณสมบัติทางด้านสัณฐานวิทยา เช่น รูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์ คุณสมบัติการติดสีแกรม ซึ่งเป็นการวินิจฉัยเบื้องต้น หากต้องการทราบรายละเอียดมากขึ้น จำเป็นต้องมีการทดสอบทางชีวเคมี เช่นความสามารถในการใช้น้ำตาลต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน การสร้างเอนไซม์บางชนิด ความต้องการออกซิเจนในการเจริญ หรือแม้แต่การเทียบรหัสพันธุกรรมซึ่งตื่นตัวกันมากในปัจจุบัน เป็นต้น แล้วนำคุณสมบัติที่ทดสอบได้เปรียบเทียบกับคุณสมบัติของแบคทีเรียที่ทราบข้อมูลอยู่แล้วจากแหล่งอ้างอิงที่เชื่อถือได้ 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 เป็นแนวทางในการพัฒนาเพื่อสร้างฐานข้อมูลขนาดใหญ่ขึ้นในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 การตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย

แบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กชนิดหนึ่งซึ่งมีเซลล์เดียว (Unicellular) ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จึงจะสามารถสังเกตเห็นได้ เนื่องจากมีจำนวนประชากรมากมาย ทำให้พบเห็นแบคทีเรียได้แทบทุกสภาวะในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำจืด น้ำเค็ม ชั้นบรรยากาศ หรือแม้แต่ในสภาวะที่สิ่งมีชีวิตทั่วไปไม่อาจอาศัยอยู่ได้ เช่นสภาวะหนาวจัดบริเวณขั้วโลกที่มีน้ำแข็งตลอดเวลา หรือบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงอย่างเช่นในบริเวณน้ำพุร้อน หรือภูเขาไฟ ด้วยคุณสมบัติที่หลากหลายเหล่านี้ จึงเป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์เป็นอย่างมาก มีการศึกษาค้นคว้าทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียแขนงต่างๆมากมาย

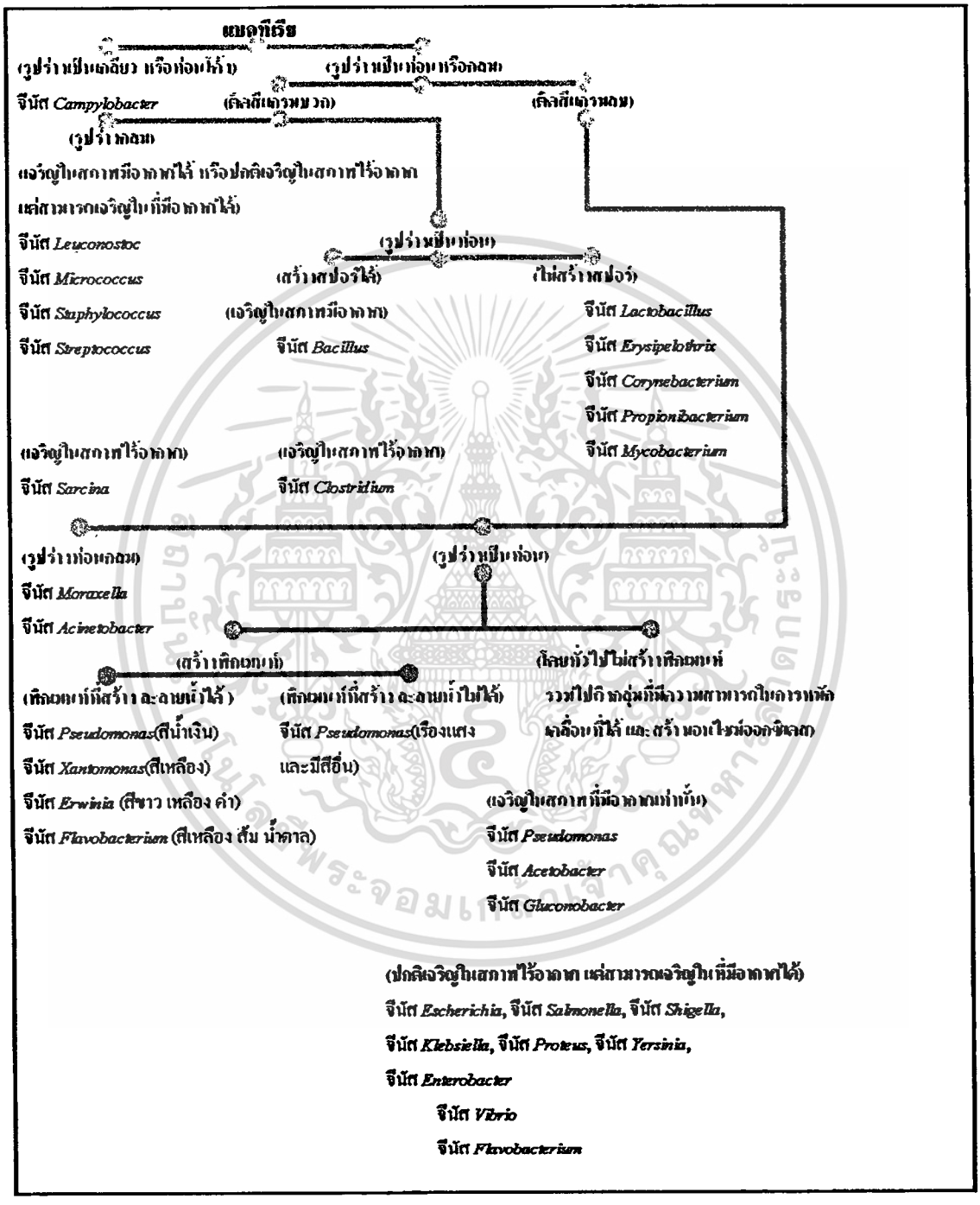
จากวิทยาการที่ก้าวหน้าในปัจจุบัน ทำให้ค้นพบแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่เกิดขึ้นอยู่เสมอ ปัจจุบันพบว่ามีประชากรแบคทีเรียอยู่นับหมื่นสปีชีส์ ที่ได้มีการบันทึกข้อมูลไว้ และยังมีแบคทีเรียอีกจำนวนมากที่รอการตรวจสอบและจัดจำแนกชนิด โดยแบคทีเรียที่ได้รับความสนใจมากที่สุดคือแบคทีเรียที่มีความเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร 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 ต้องใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องมือและอุปกรณ์ราคาแพง 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. การทดสอบการย่อยเอ็สคูลิน	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

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า 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 เกิดจากการละลายของอัลฟาแนปโทล (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 เช่น พวก กลุ่มแบคทีเรียที่มีกิจกรรมการหมัก 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) ต่อมามีการดัดแปลงสูตรอาหาร โดยเติมเด็กซ์โตรส 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 การดำรงชีวิตเป็นแบบเคโมออร์แกโน-โทรฟ 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 ท่อปัสสาวะ หรือแผลติดเชื้อ

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

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น 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

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 0.6-0.7 ไมโครเมตร 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)

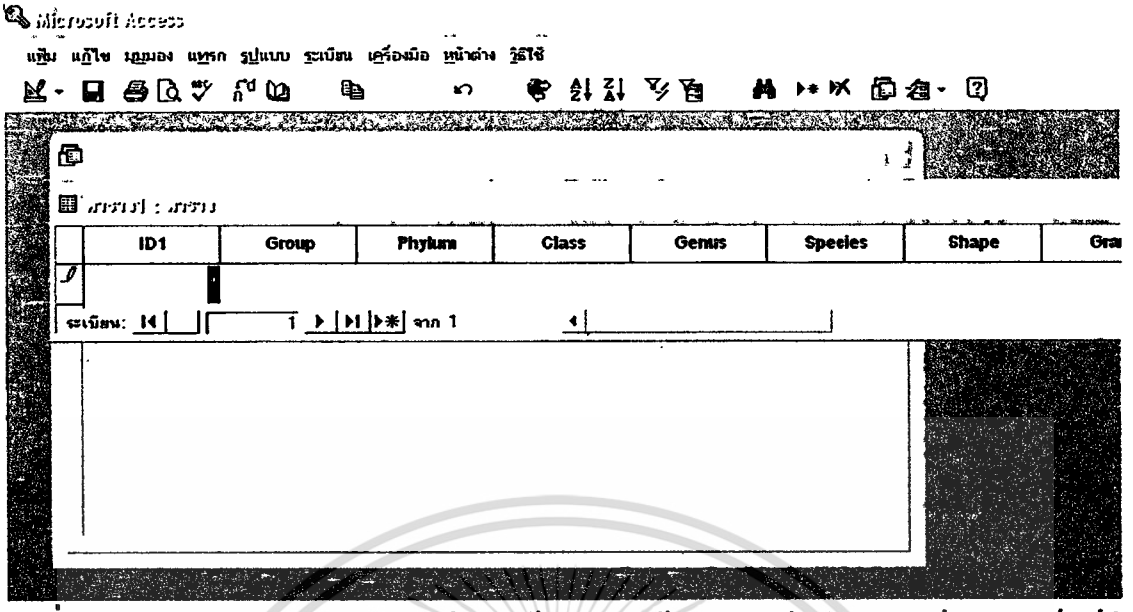
โปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี เป็นโปรแกรมฐานข้อมูลในชุดโปรแกรมไมโครซอฟท์ออฟฟิต (Microsoft Office) ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยโปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี ได้รับการพัฒนาเป็นฐานข้อมูลเชิงสัมพันธ์ (Relational database) ในระดับคอมพิวเตอร์ตั้งโต๊ะ (Desktop computer) ซึ่งมีสมรรถนะที่ดี การบำรุงรักษาทำได้ง่าย และสะดวก โปรแกรมไมโครซอฟท์แอคเซสเอ็กซ์พี มีการติดต่อภายในแบบ GUI (Graphical user interface) โดยมีอ็อบเจกต์ (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 และแสดงผลลัพธ์ สามารถทำได้ตรงตามต้องการ 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 โดยแต่ละแอพพลิเชชั่นอาจจะมีหลายฟอร์มก็ได้ 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)ไม่สามารถจำแนกได้ เนื่องจากมีข้อมูลทางชีวเคมีไม่เพียงพอ

York *et al.* (2000) ได้ทำการทดลองเพื่อจัดจำแนกเชื้อ *E. coli* โดยใช้วิธีทดสอบทางชีวเคมี 5 วิธี ได้แก่ 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 จรัส รุ่งรวีวร. 2542)

หนังสือสร้างระบบงานฐานข้อมูลด้วยวิชวลเบสิคฉบับโปรแกรมเมอร์ (ศุภชัย สมพานิช. 2545)

หนังสืออินไซด์แอคเซสเอ็กซ์พี (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

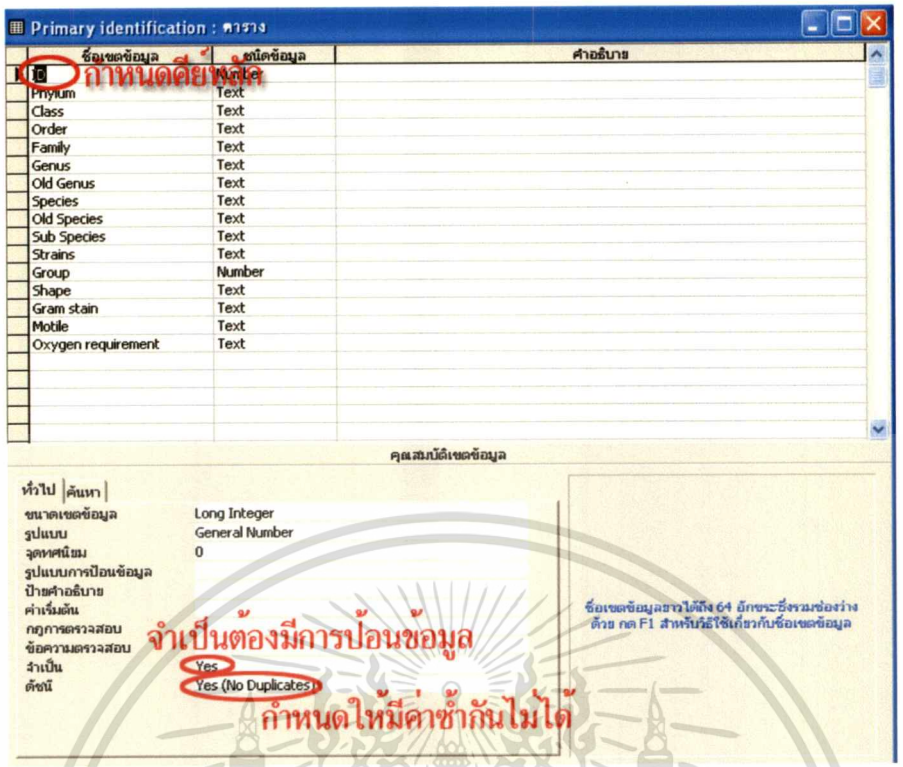
3.2.3 การบันทึกข้อมูลลงในโปรแกรมไมโครซอฟแอคเซสเอ็กซ์พี

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

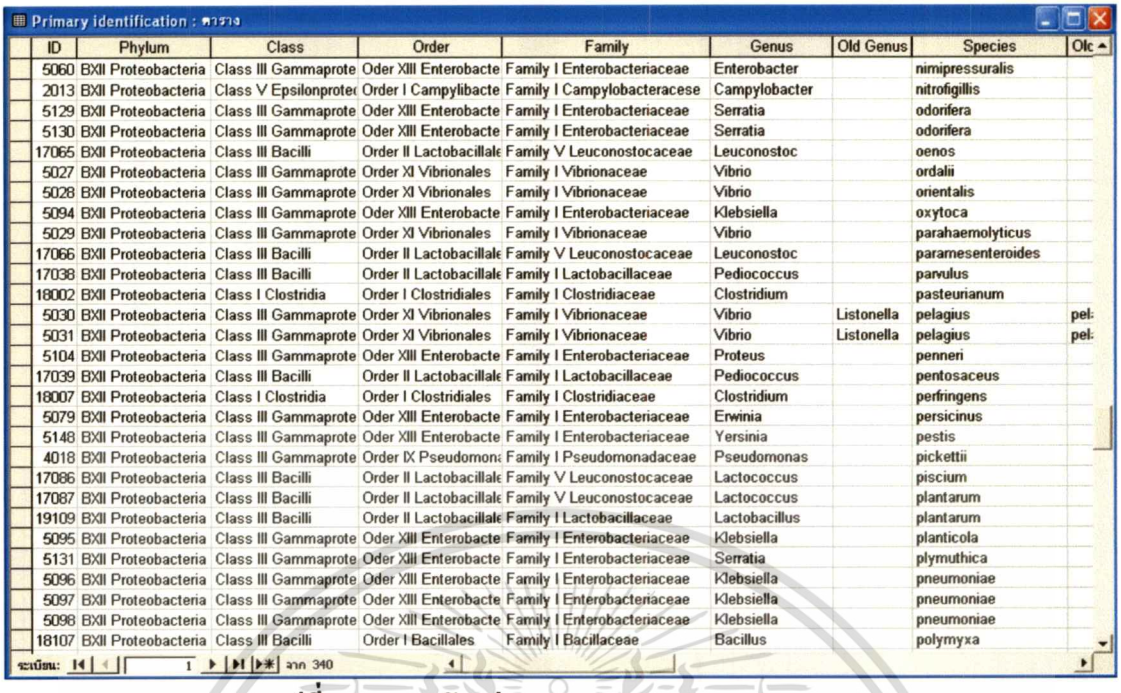


รูปที่ 3.1 แสดงการสร้างตาราง Primary identification ในมุมมองออกแบบ

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 และรูปที่ 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	Olc
5060	BXII Proteobacteria	Class III Gammaprote	Oder XIII Enterobacte	Family I Enterobacteriaceae	Enterobacter		nimipressuralis	
2013	BXII Proteobacteria	Class V Epsilonprotec	Order I Campylibacte	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 Pseudomona	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: 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

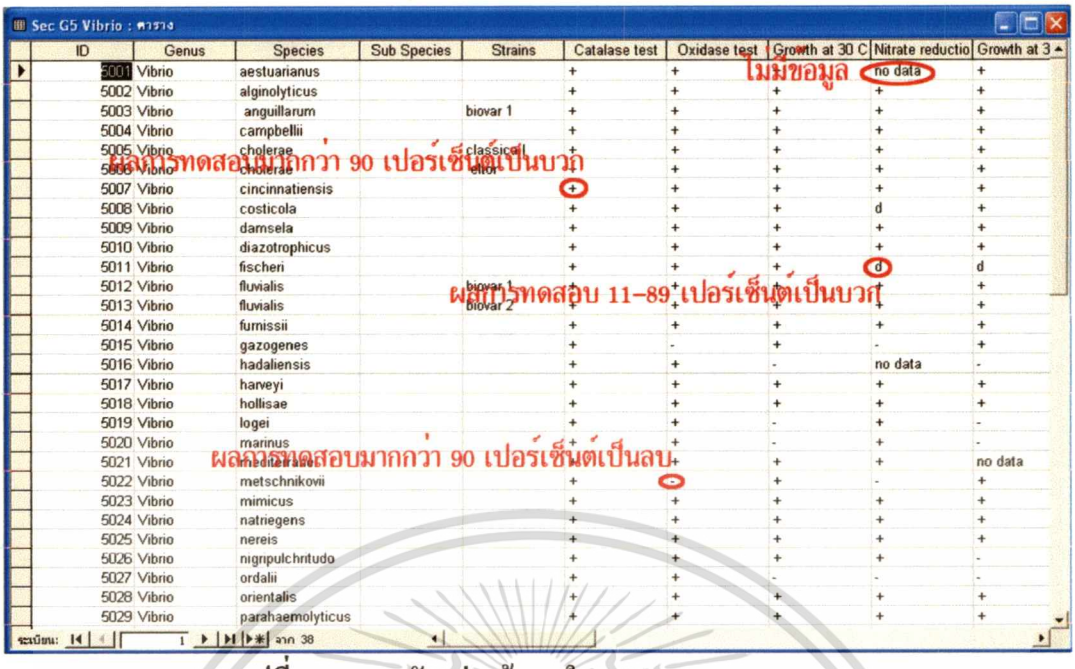
ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

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 และกำหนดความหมายของสัญลักษณ์ต่างๆไว้ในตารางดังนี้

(+)	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

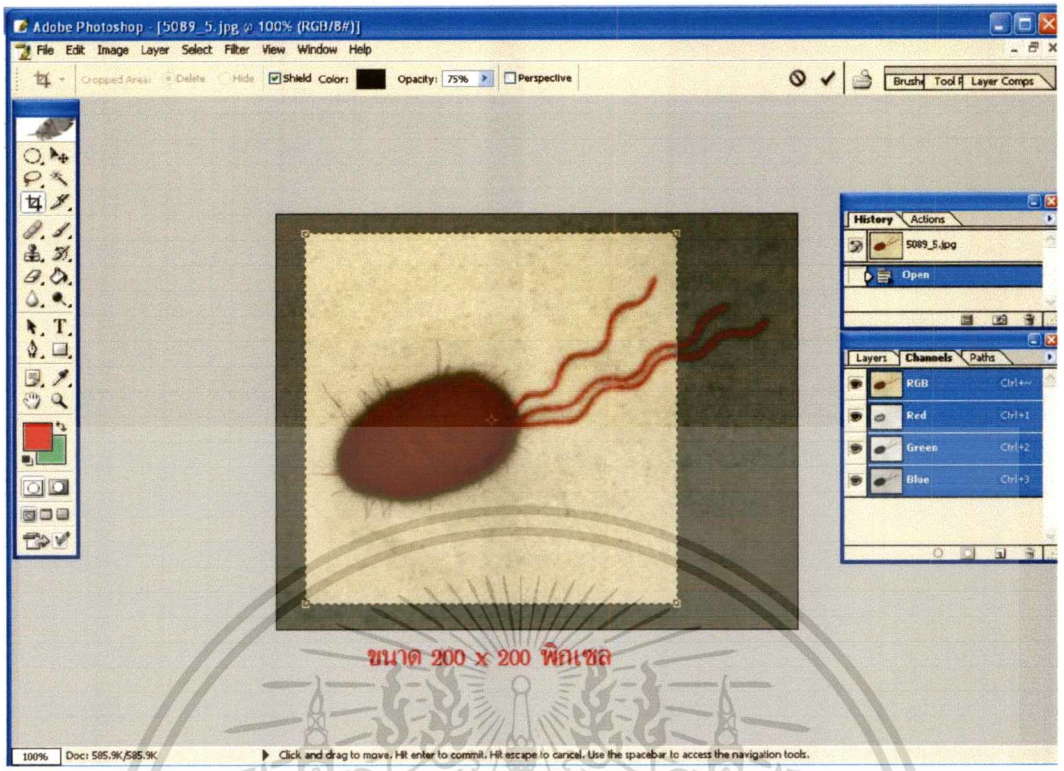
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



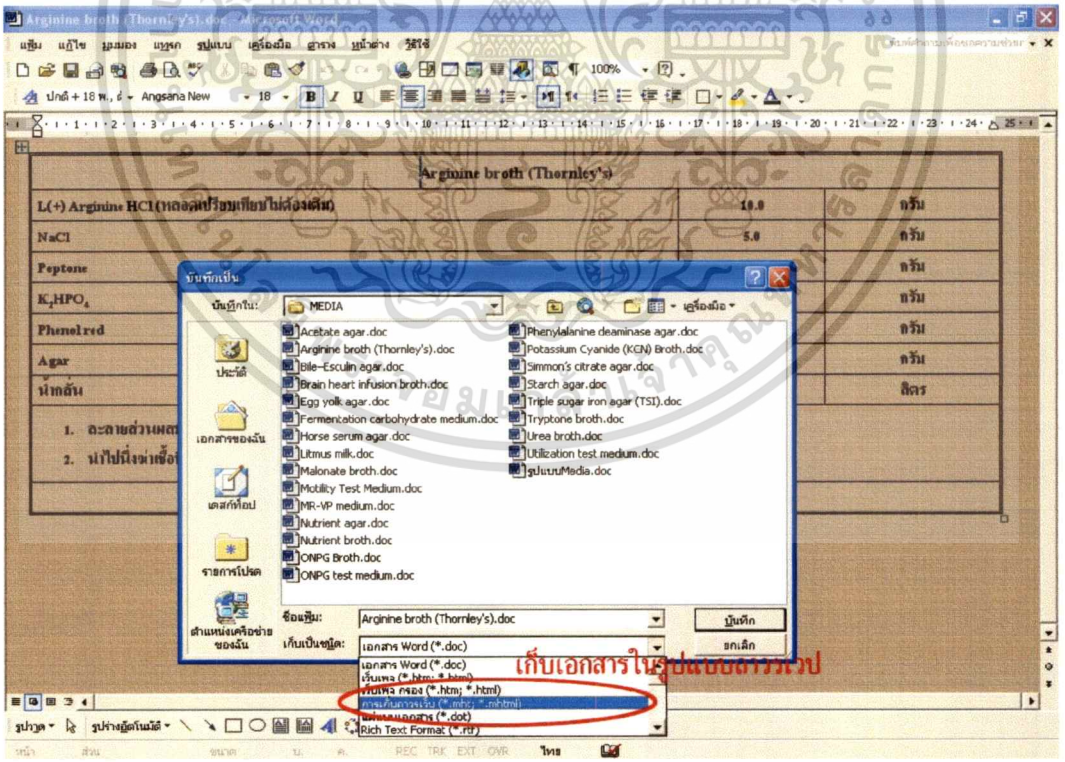
รูปที่ 3.3 แสดงตัวอย่างข้อมูลในตาราง Sec G5 Vibrio

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

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

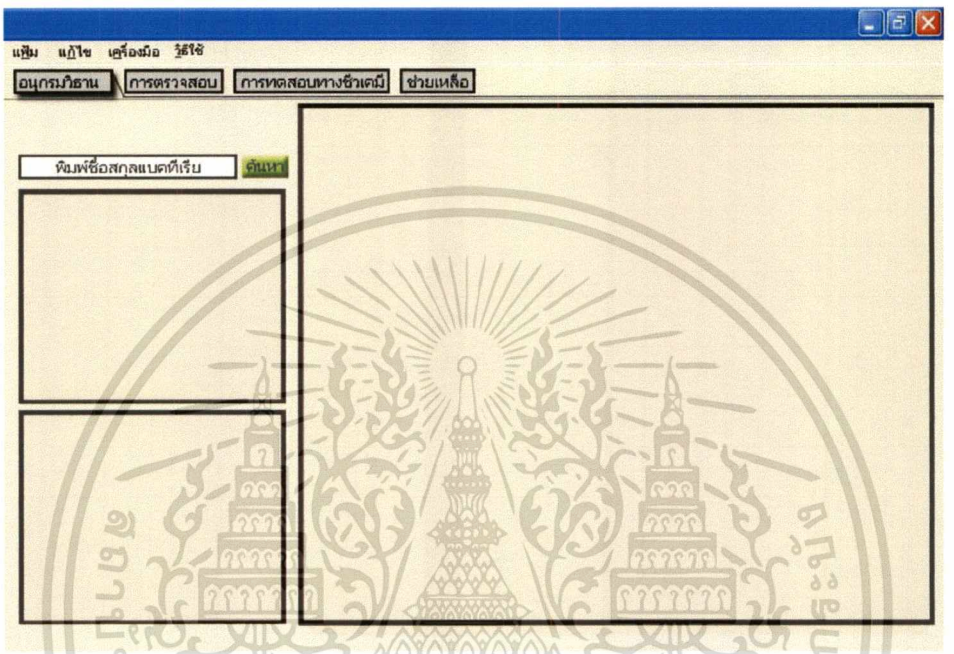
3.3 การเขียนโปรแกรมด้วยไมโครซอฟท์วิชวลเบสิค 6.0 (Microsoft Visual Basic 6.0)

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

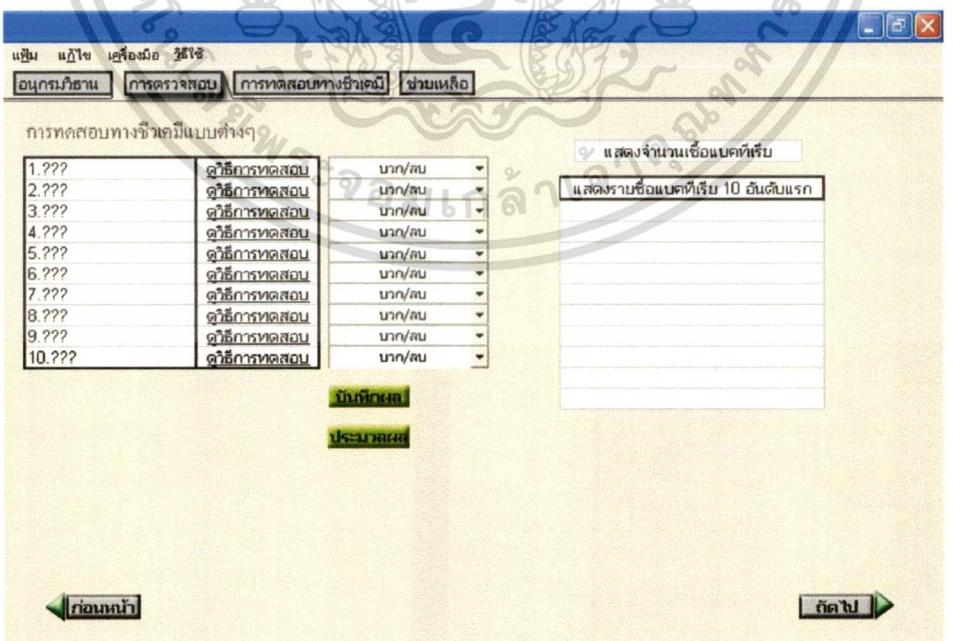
จุดมุ่งหมายหลักของการดำเนินงานนี้คือ การสร้างแอพพลิเคชัน หรือโปรแกรมช่วยเหลือในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร โดยการทำงานร่วมกับฐานข้อมูล ที่อ้างอิงจากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 9 ซึ่งเป็นแหล่งอ้างอิงฐานข้อมูลแบคทีเรียที่มีความน่าเชื่อถือ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

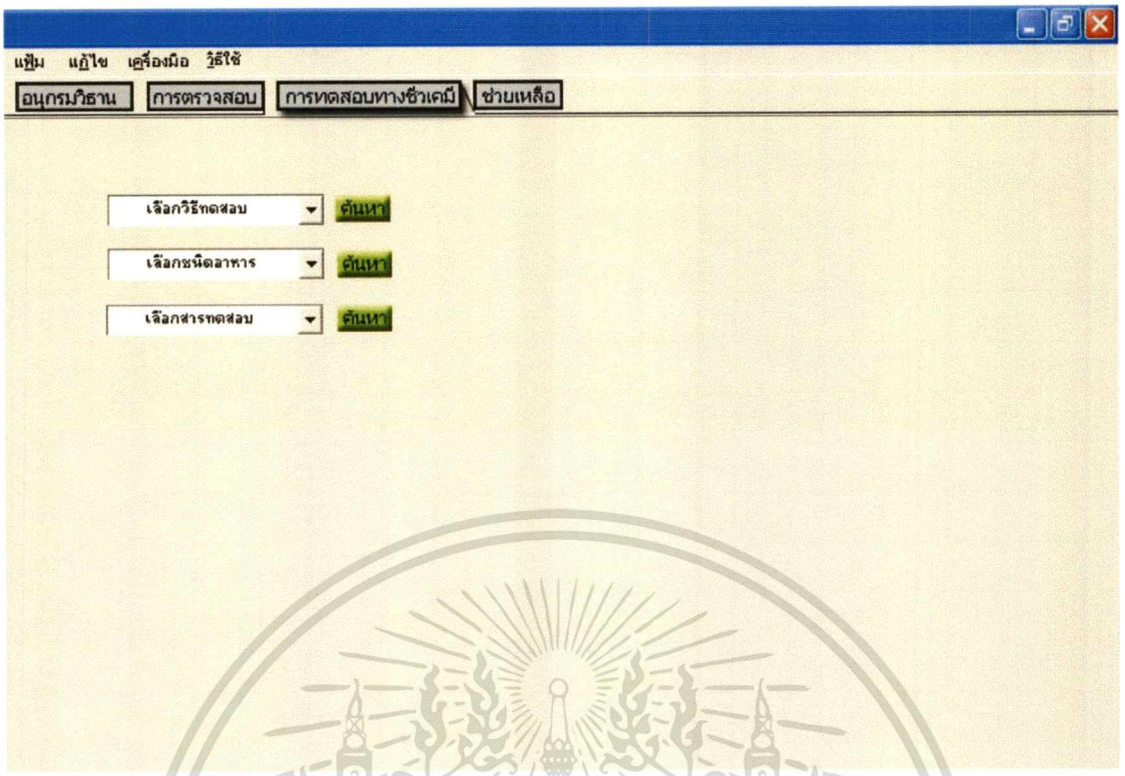


รูปที่ 3.7 รูปแบบเค้าโครงส่วนอนุกรมวิธานของโปรแกรม FBIdent ก่อนสร้างเพื่อใช้งานจริง



รูปที่ 3.8 รูปแบบเค้าโครงส่วนการตรวจสอบของโปรแกรม FBIdent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



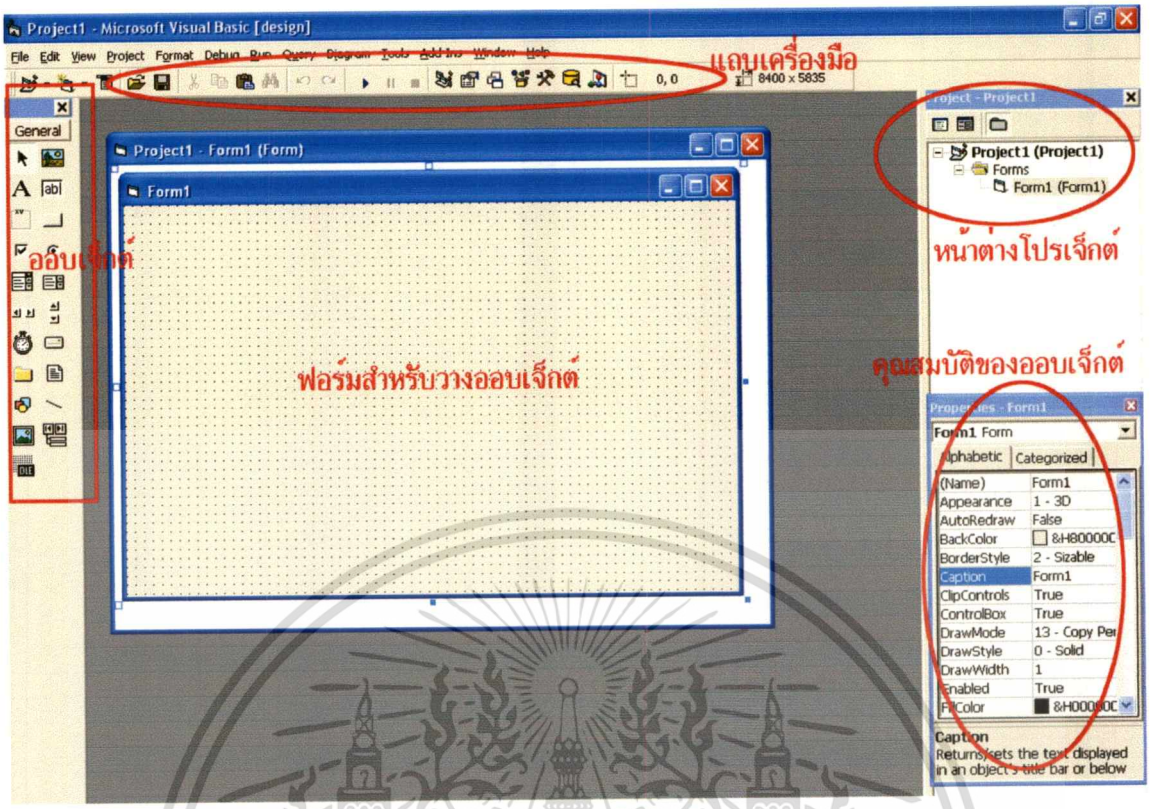
รูปที่ 3.9 รูปแบบเค้าโครงส่วนการทดสอบทางชีวเคมีของโปรแกรม FBIdent

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

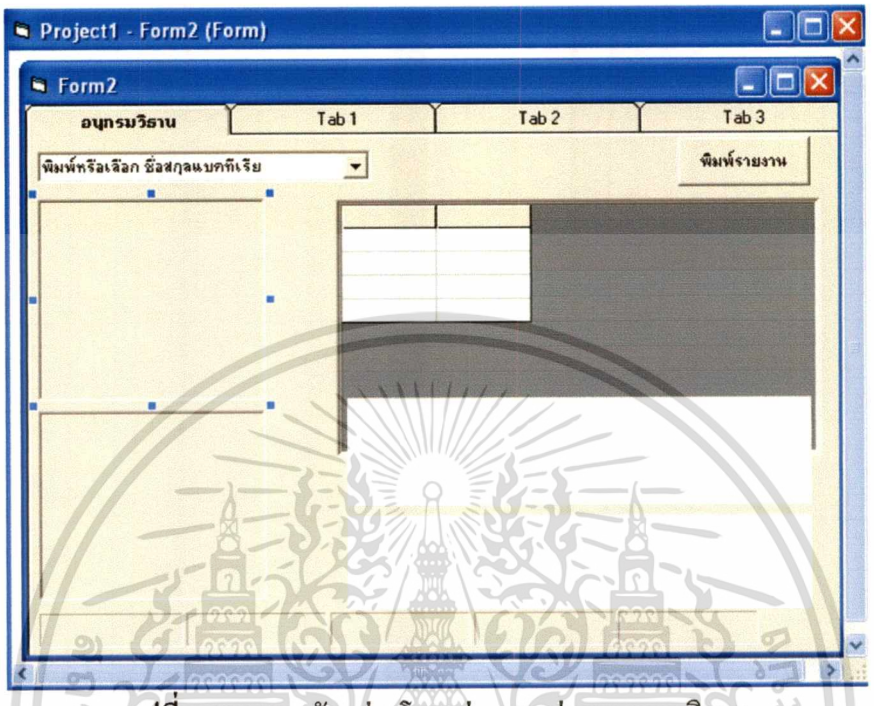
3.3.1.1 ดำเนินการสร้างส่วนอนุกรมวิธาน

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

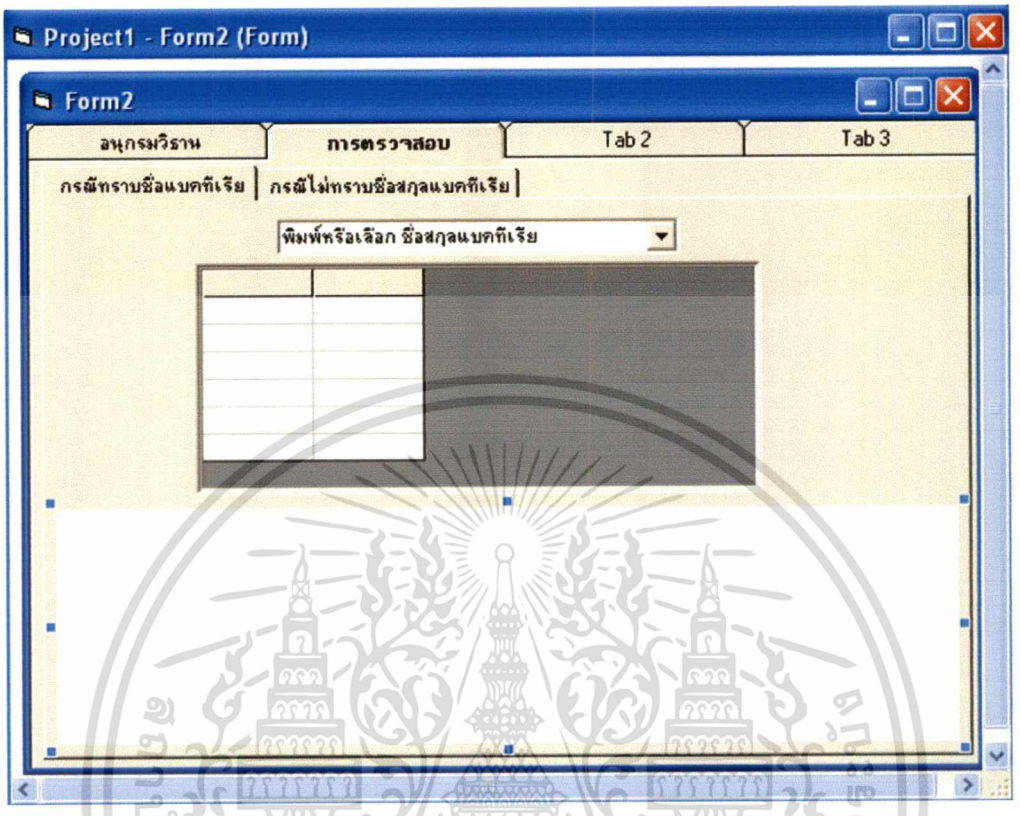
โครงสร้างของโปรแกรมส่วนนี้ นับเป็นส่วนสำคัญที่สุดของโปรแกรม เนื่องจากใช้ในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นจุดมุ่งหมายหลักของโปรแกรม โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนย่อย คือ กรณีทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย และกรณีที่ไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

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

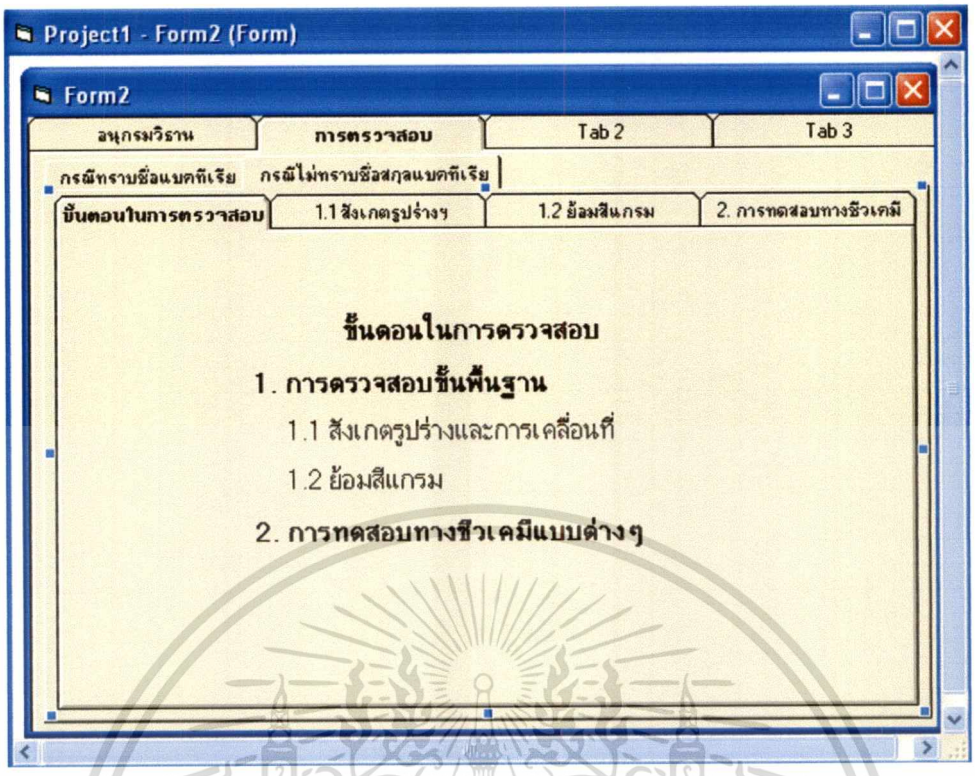
กรณีที่ไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย ทำการเพิ่มออบเจ็กต์ดังต่อ ไปนี้

- 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

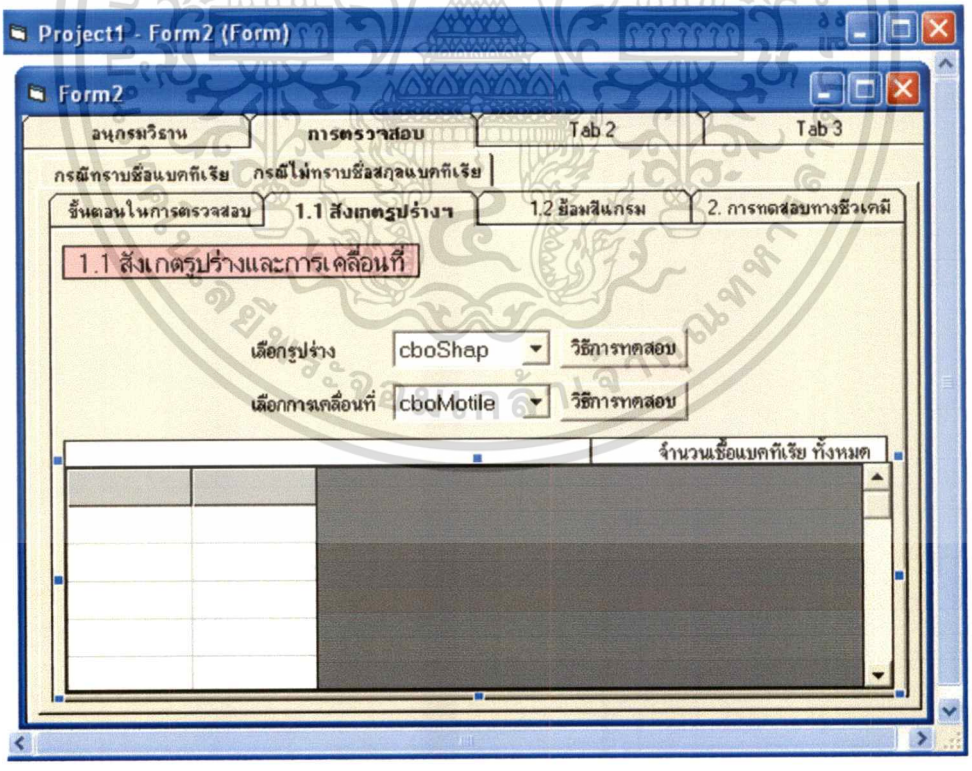
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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

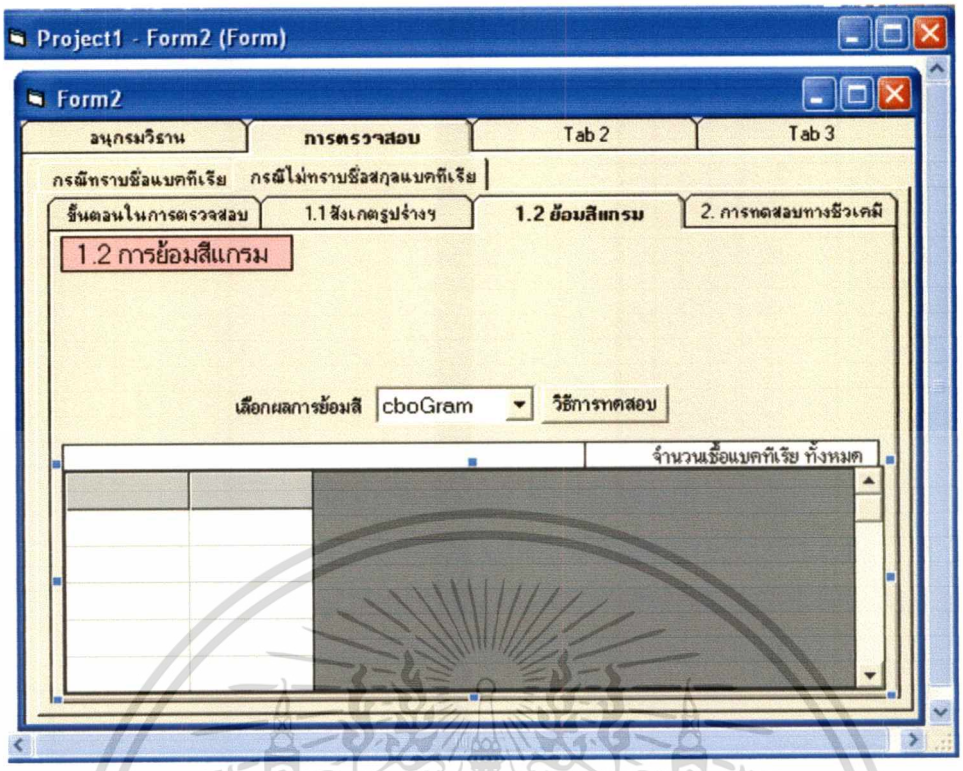


รูปที่ 3.13 แสดงตัวอย่างโครงร่าง ขั้นตอนในการตรวจสอบ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

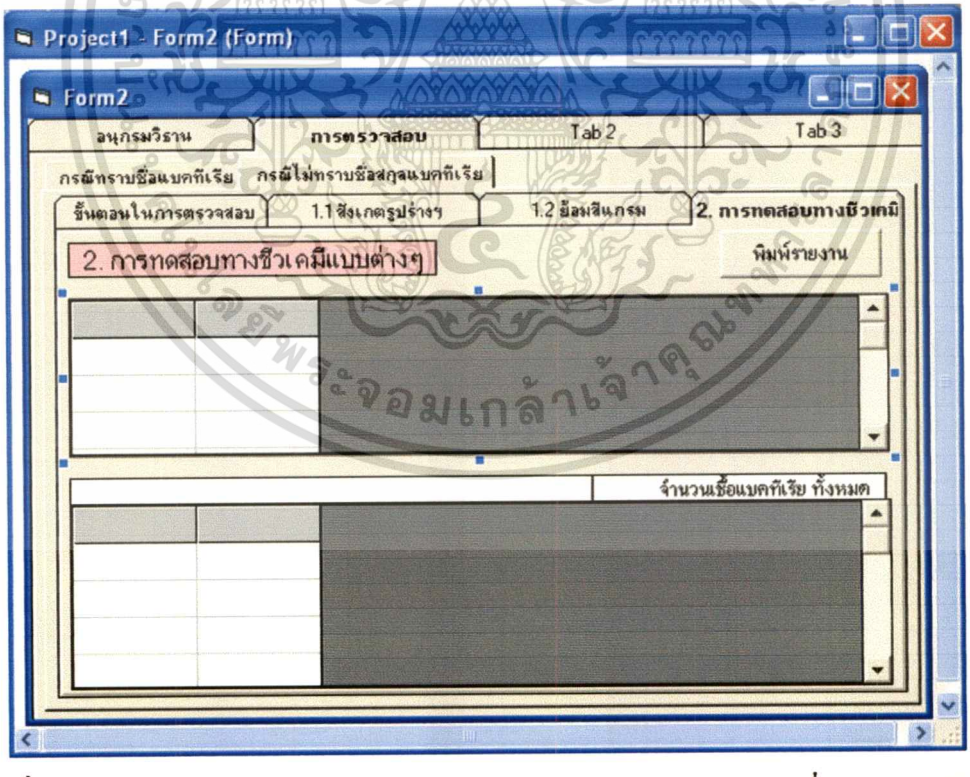


รูปที่ 3.14 แสดงตัวอย่างโครงร่าง 1.1 สังเกตรูปร่างฯ กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.15 แสดงตัวอย่างโครงร่าง 1.2 ย้อมสีแกรม กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย



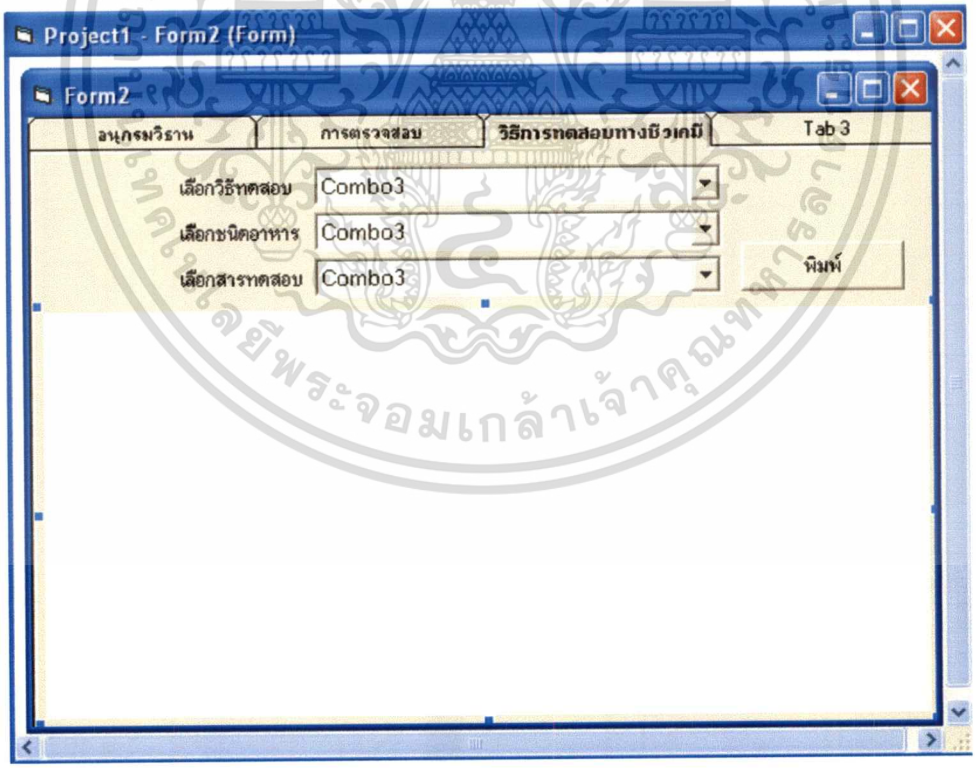
รูปที่ 3.16 แสดงตัวอย่างโครงร่าง 2. การทดสอบทางชีวเคมี กรณีไม่ทราบชื่อสกุลแบคทีเรีย

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

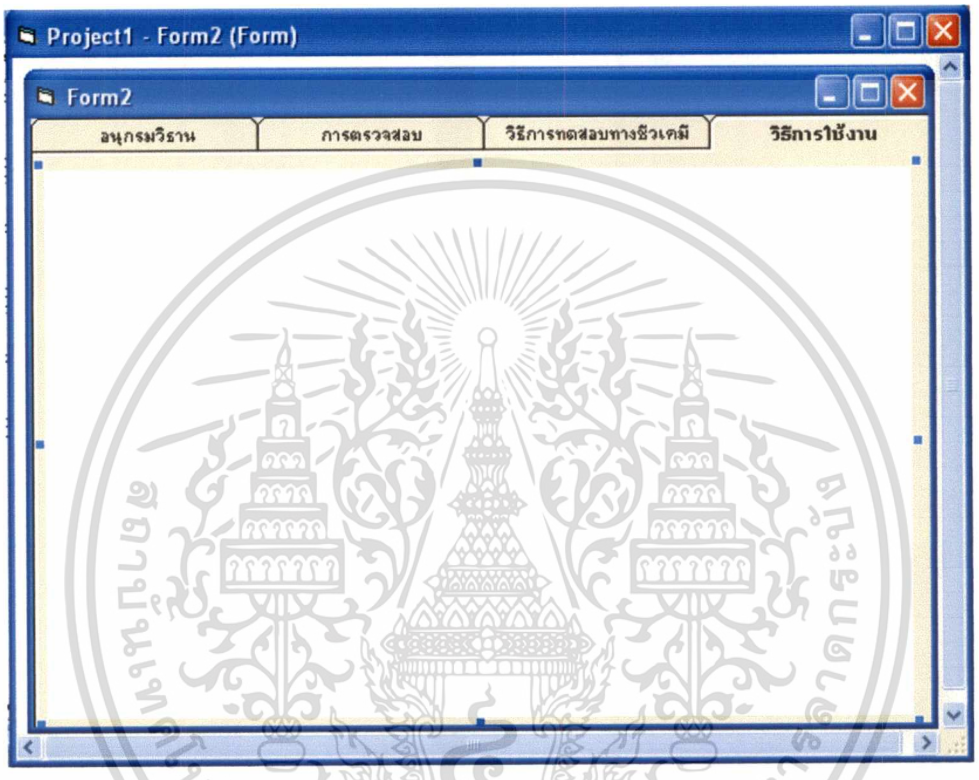


รูปที่ 3.17 แสดงตัวอย่างโครงร่าง ส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.4 ดำเนินการสร้างส่วนวิธีการใช้งาน

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

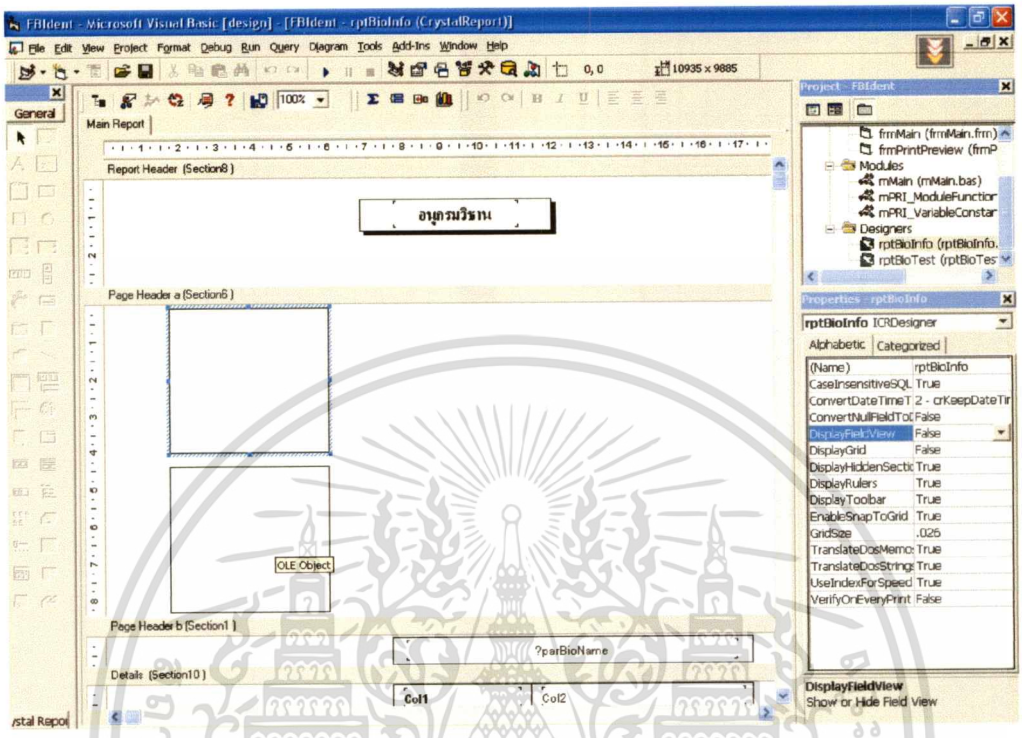
ในการแสดงผลวิธีการทดสอบทางชีวเคมี ในส่วนของการตรวจสอบนั้น มีปัญหาเนื่องมาจากเนื้อที่ในการวางออบเจ็กต์ไม่เพียงพอ ดังนั้นจึงสร้างฟอร์มขึ้นมาใหม่อีก 1 ฟอร์ม ตั้งชื่อฟอร์มเป็น "frmBioTestHelp" โดยเพิ่มออบเจ็กต์ WebBrowser อีก 1 ช่อง เพื่อให้ส่วนนี้ทำหน้าที่แสดงวิธีการทดสอบทางชีวเคมี ตั้งค่า Caption เป็น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

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

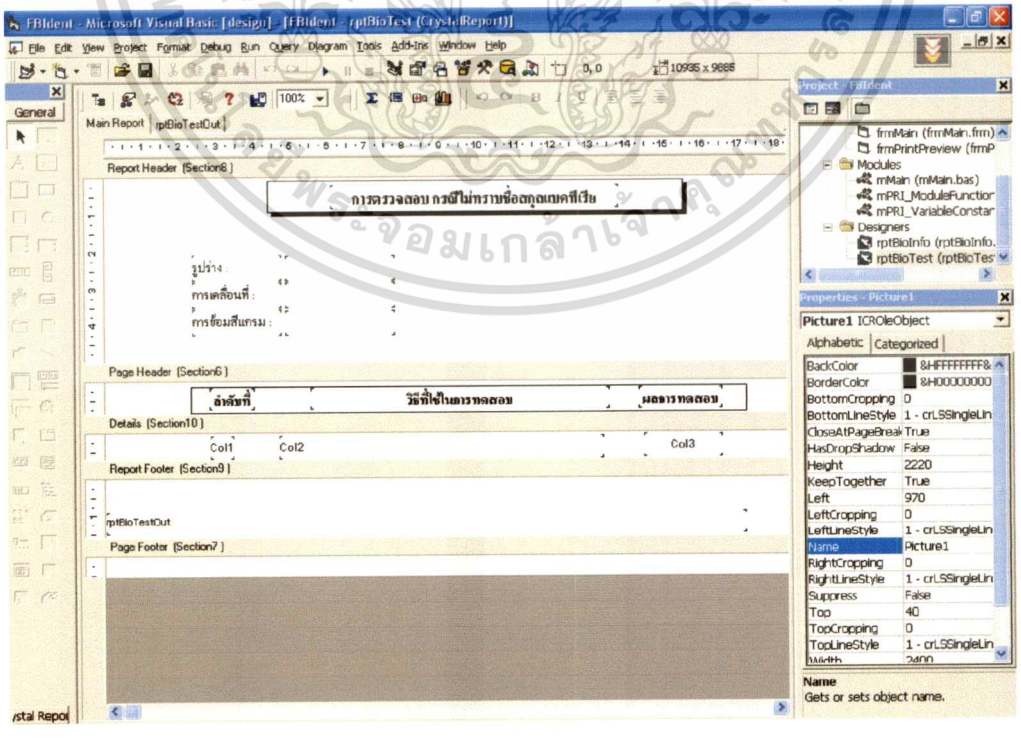
สร้างแบบฟอร์มดีไซเนอร์ในการพิมพ์รายงานขึ้นอีก 2 หน้า เพื่อทำงานร่วมกับปุ่ม "พิมพ์รายงาน" ในส่วนของอนุกรมวิธาน และปุ่ม "พิมพ์" ในส่วนของวิธีการทดสอบทางชีวเคมี โดยเลือก Project ที่แถบเมนูบาร์ เพิ่ม Crystal Report 8.5 แล้วเลือกใช้ Blank Report จากนั้นทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกแบบฟอร์มดีไซเนอร์จนได้ดังรูปที่ 13.19 และ 13.20 ตั้งชื่อฟอร์มดีไซเนอร์เป็น “rptBioInfo” และ “rptBioTest” ตามลำดับ



รูปที่ 3.19 รูปแบบพิมพ์รายงานในหน้าอนุกรมวิธาน โดยใช้โปรแกรมคริสตัลรีพอร์ท 8.5



รูปที่ 3.20 รูปแบบพิมพ์รายงานในหน้าการตรวจสอบ โดยใช้โปรแกรมคริสตัลรีพอร์ท 8.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การเรียกใช้เมธอด (Method) ของออบเจ็กต์

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\"
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Public Const gconBacteriaReagentLocation = "\REAGENT\"
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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
'           .TextMatrix(10, 1) = gGetTextFile(gconBacteriaDescLocation &
rstTemp.Fields("ID") & "_SPC.doc")
            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 รวมไปถึงข้อมูลคุณสมบัติเฉพาะในระดับจีนัสและสปีชีส์ซึ่งไม่ได้ทำการเก็บไว้ในฐานข้อมูล โดยแสดงผลออกมาเป็นเอกสารเวป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การนำโปรแกรมไปใช้งาน

หลังจากทำการเขียนโค๊ดชุดคำสั่ง เพื่อกำหนดหน้าที่ในการทำงานของออบเจ็กต์จนครบทุกออบเจ็กต์ สามารถทดสอบดูการทำงานของโปรแกรมได้โดยการคลิกที่ปุ่มเริ่ม (start) 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 โดยใช้โปรแกรมอินสตอลชิลด์เอ็กซ์เพรส 2.11 ซึ่งต้องกำหนดค่าในการติดตั้งอย่างถูกต้อง จึงจะนำโปรแกรมไปใช้งานได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการดำเนินงาน

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

รูปที่ 4.1 แสดงหน้าจอหลักเมื่อเริ่มเข้าสู่โปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0

ตัวโปรแกรมถูกแบ่งออกเป็นทั้งหมด 4 ส่วนหลัก ได้แก่

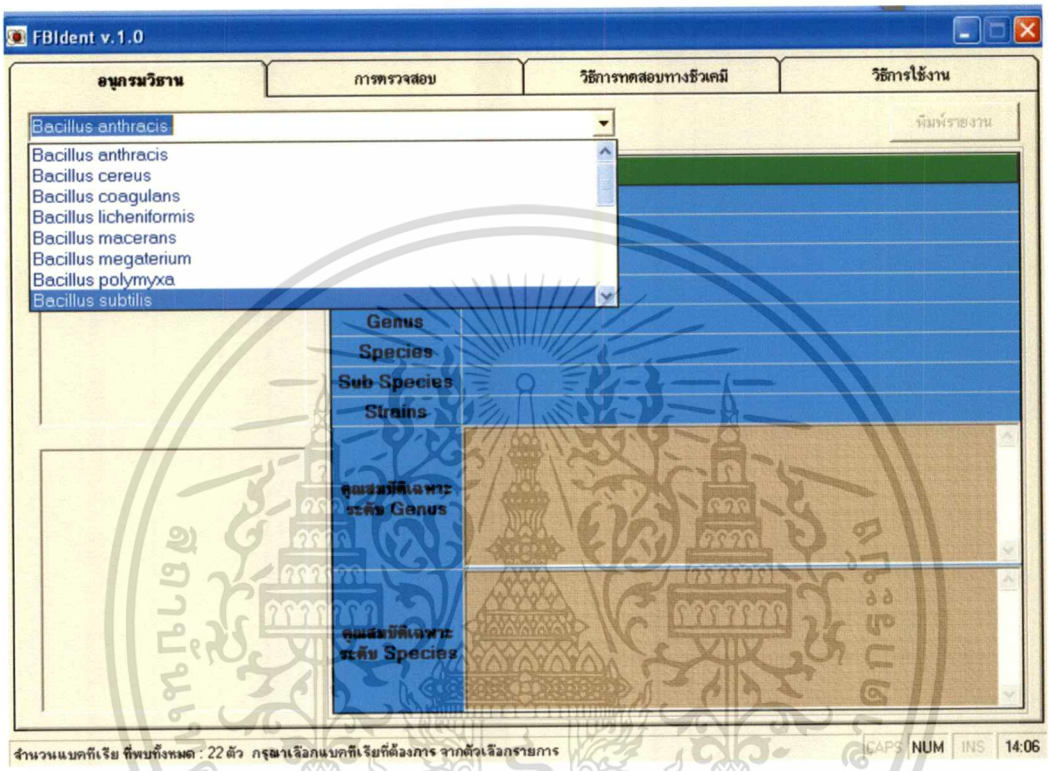
- ส่วนที่ 1 อนุกรมวิธาน
- ส่วนที่ 2 การตรวจสอบ
- ส่วนที่ 3 วิธีการตรวจสอบทางชีวเคมี
- ส่วนที่ 4 วิธีการใช้งาน

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 และแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บางชนิดในฐานข้อมูล สามารถระบุรายละเอียดได้ถึงระดับสายพันธุ์ (Strain) นอกจากนี้ยังแสดงคุณสมบัติเฉพาะของแบคทีเรียทั้งในระดับจีนัส และสปีชีส์ โดยกล่าวถึงลักษณะรูปร่าง ขนาด การระบุชนิดแกรมของบวกทีเรีย การเคลื่อนที่ ลักษณะการดำรงชีวิต ความต้องการอาหารชนิดต่างๆ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ ความสามารถพิเศษและคุณสมบัติทางชีวเคมีแบบต่างๆ ค่า G+C content รวมไปถึงแหล่งที่อยู่ทั่วไปที่สามารถตรวจพบได้



รูปที่ 4.2 แสดงตัวอย่างการพิมพ์ค้นหา *Bacillus subtilis*

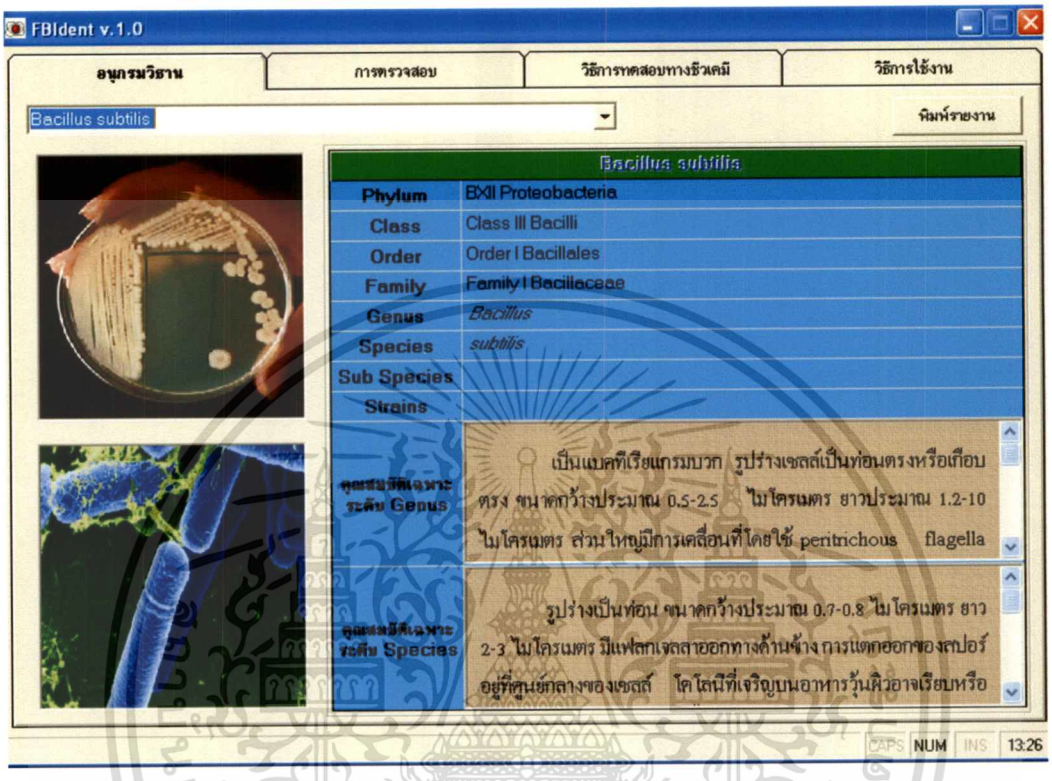
4.1.1 วิธีการใช้งานส่วนอนุกรมวิธาน

พิมพ์ชื่อจีนัส หรือสปีชีส์ ของแบคทีเรียที่ต้องการทราบข้อมูล โดยอาจจะพิมพ์ทั้งหมด หรือบางส่วนของคำก็ได้ เช่น หากต้องการดูข้อมูลของ *Bacillus subtillis* อาจจะเลือกพิมพ์เฉพาะคำว่า bacillus หรือ subtillis หรือบางส่วนของคำเช่น bacill หรือ subt แล้วกดเอ็นเทอร์ (enter) ที่คีย์บอร์ด (Keybord) โปรแกรมจะแสดงรายชื่อแบคทีเรียที่มีส่วนของชื่อตรงกับคำที่พิมพ์ทั้งหมดออกมา หากมีเพียงชนิดเดียวโปรแกรมจะแสดงผลทันที แต่หากคำที่พิมพ์นั้นไปพ้องกับชื่อแบคทีเรียอื่นอีกหลายชนิด สามารถเลือกดูได้ โดยกดที่แถบเมนูตัวเลือกทางขวามือของช่องที่พิมพ์ หรือกดปุ่มลูกศรขึ้นลงที่คีย์บอร์ดเพื่อเลือกแบคทีเรียที่ต้องการได้

ตัวอย่างดังรูปที่ 4.2 แสดงการพิมพ์คำค้นหาแบคทีเรีย โดยใช้คำว่า “Bacillus” โปรแกรมจะแสดงรายชื่อแบคทีเรียทั้งหมดที่มีคำว่า Bacillus เป็นส่วนประกอบของคำ ที่แถบสถานะด้านล่างของโปรแกรมจะขึ้นข้อความว่า “จำนวนแบคทีเรีย ที่พบทั้งหมด 22 ตัว: กรุณาเลือกแบคทีเรียที่ต้องการจากตัวเลือกรายการ” หมายความว่ามีแบคทีเรียที่มีคำว่า Bacillus เป็นส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกอบในชื่อทั้งหมด 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

4.2 ส่วนที่ 2 การตรวจสอบ

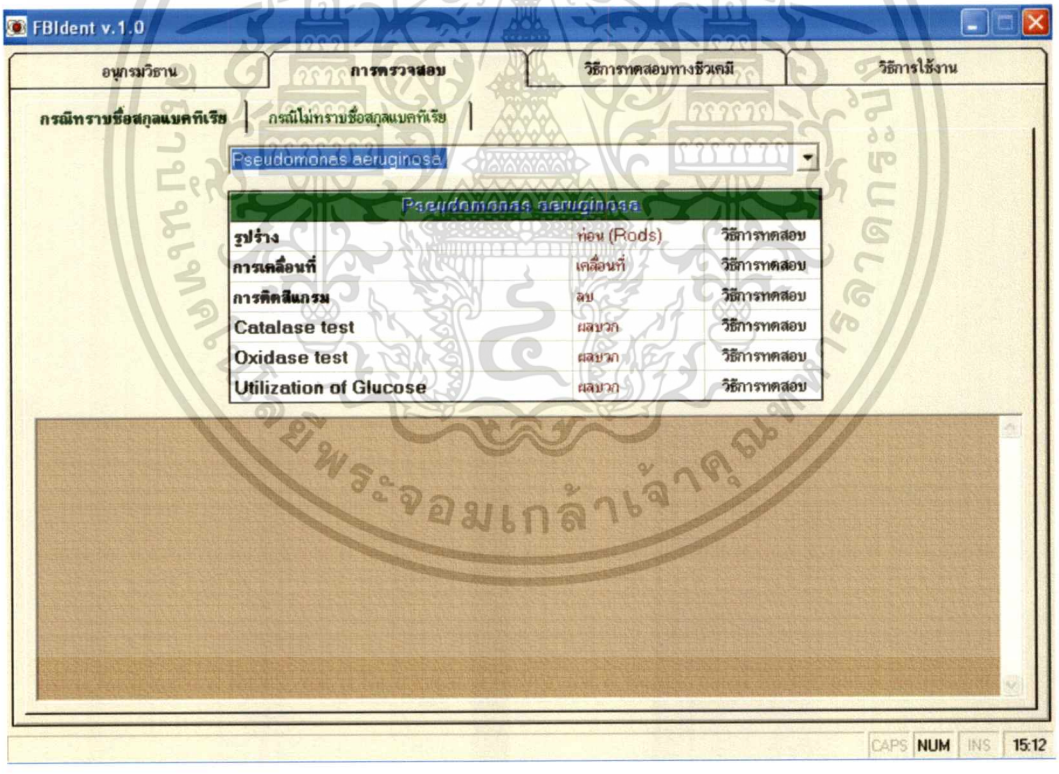
ส่วนนี้จะทำหน้าที่ในการช่วยเหลือเพื่อตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย โดยจะแบ่งออกเป็นอีก 2 ส่วนย่อย คือกรณีทราบชื่อสกุลของแบคทีเรีย และกรณีที่ไม่ทราบชื่อสกุลของแบคทีเรีย อันสืบเนื่องมาจาก แบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยทางวิทยาศาตร์ มีแหล่งที่มา 2 แบบ แบบแรกได้มาจากภาครัฐหรือภาคเอกชนซึ่งทราบชื่อสกุลแบคทีเรียเป็นที่แน่นอนแล้ว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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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



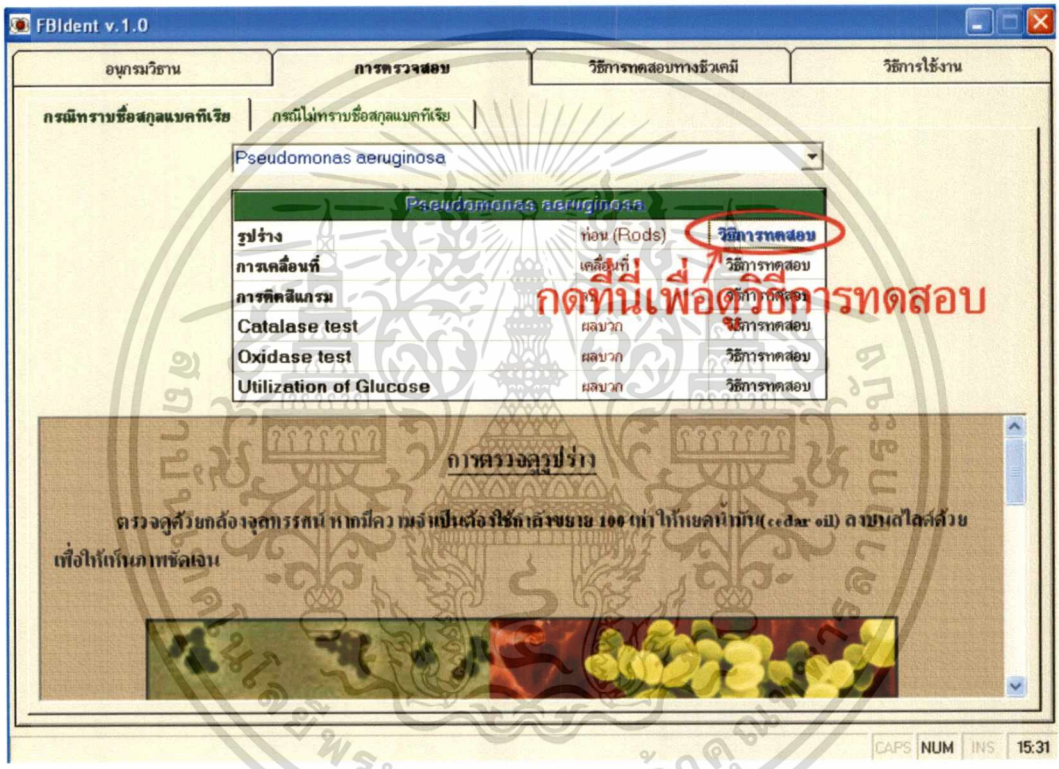
รูปที่ 4.4 แสดงวิธีการตรวจสอบกรณีทราบว่าเป็น *Pseudomonas aeruginosa*

จากรูปที่ 4.4 จะเห็นว่ามีวิธีการตรวจสอบ *Pseudomonas aeruginosa* 6 วิธี ได้แก่ การตรวจดูรูปร่าง การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การทดสอบคาตาเลส (Catalase test) การทดสอบออกซิเดส (Oxidase test) และความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคส (Utilization of glucose) ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถอธิบายคุณสมบัติทั่วไปของ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ว่า มีรูปร่างเป็นท่อน (Rods) สามารถเคลื่อนที่ได้ ย้อมติดสีแกรมลบ ผลการทดสอบออกซิเดสและคาตาเลสเป็นบวก และสามารถใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ เป็นต้น นอกจากนี้ที่ปุ่มวิธีการทดสอบทางขวามือยังมีไว้กรณีที่ผู้ทำการตรวจสอบต้องการดูวิธีในการทดสอบ สามารถกดดูวิธีการทดสอบได้ดังรูปที่ 4.5

ในส่วนของวิธีการทดสอบ หากรายละเอียดมีความยาวมากเกินกว่าที่จะแสดงผลในหน้าต่างที่กำหนดไว้ สามารถเลื่อนอ่านได้ โดยกดเลื่อนขึ้นหรือเลื่อนลงที่สกอล์บาร์ทางขวามือ หรือกดที่ช่องวิธีการทดสอบที่ต้องการอ่าน 1 ครั้ง แล้วเลื่อนอ่านโดยใช้ปุ่มลูกศรขึ้นลงที่คีย์บอร์ด



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 โดยการตรวจสอบขั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

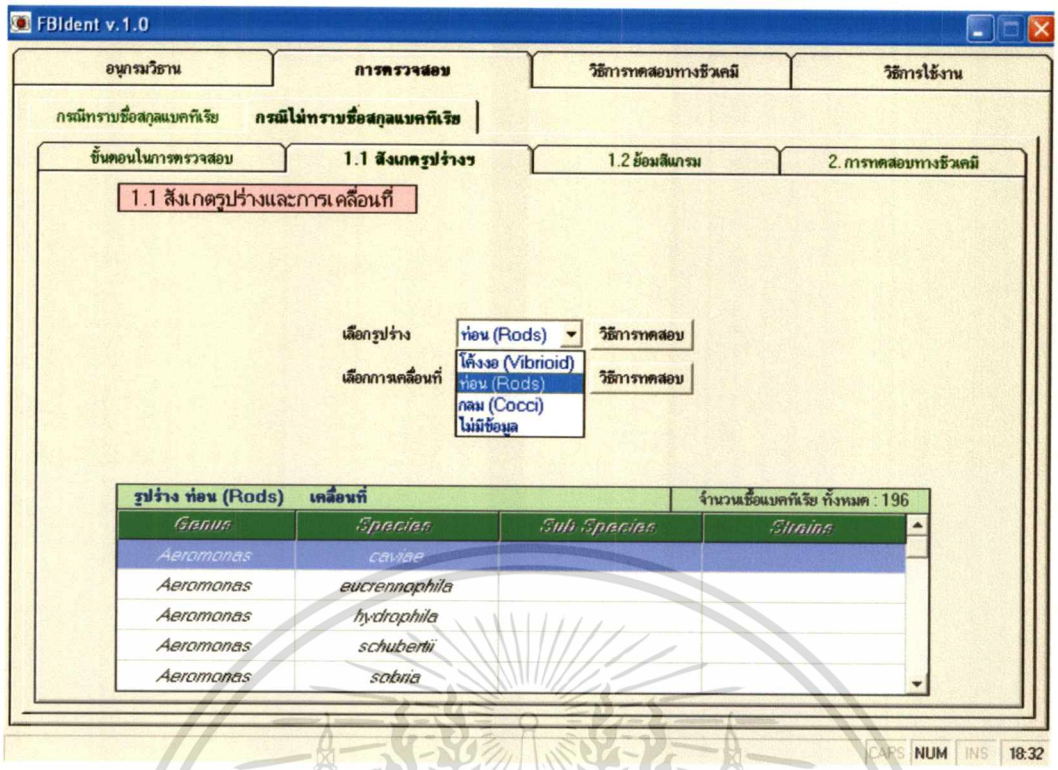
พื้นฐานจะประกอบด้วยการสังเกตรูปร่าง การเคลื่อนที่ และการย้อมสีแกรม ซึ่งเป็นการตรวจดูทางกายภาพ สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ส่วนการตรวจสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆเป็นการตรวจดูคุณสมบัติทางเคมีของแบคทีเรีย

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

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

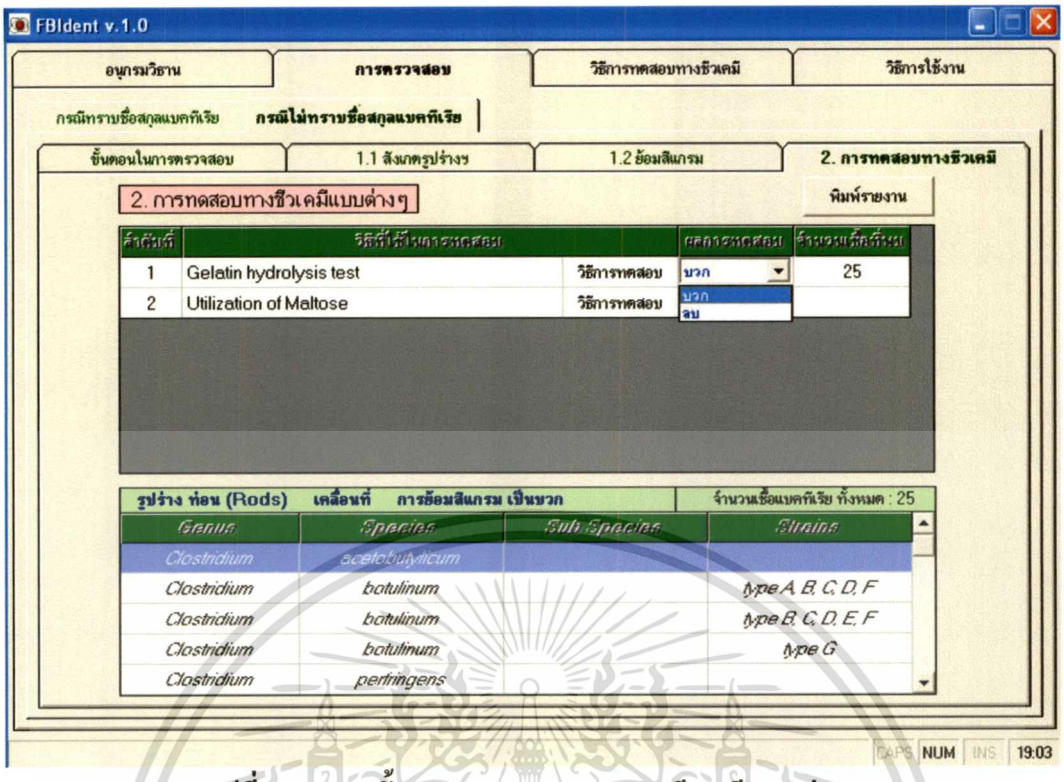


รูปที่ 4.7 แสดงการตรวจสอบรูปร่างและการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย

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

หลังจากผ่านการตรวจสอบขั้นพื้นฐานมาแล้ว ขั้นตอนต่อไปเป็นการตรวจสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ โปรแกรมจะทำการคำนวณ และประมวลผลเฉพาะจากจำนวนแบคทีเรียที่ค้นพบจากขั้นตอนการตรวจสอบขั้นพื้นฐาน เพื่อค้นหาวิธีการตรวจสอบที่ดีที่สุดในการจำแนกแบคทีเรียกลุ่มที่เหลืออยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



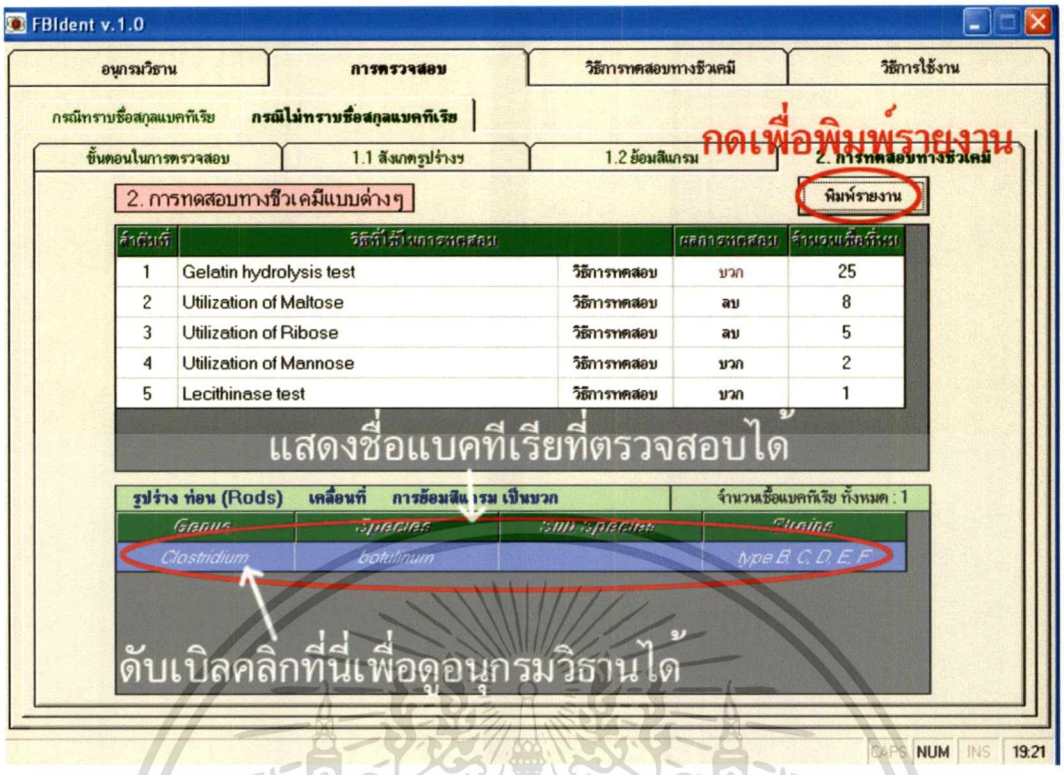
รูปที่ 4.8 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบทางชีวเคมีแบบต่างๆ

ในการทดสอบทางชีวเคมีแต่ละวิธี สามารถกดดูวิธีการทดสอบได้ที่ช่อง "วิธีการทดสอบ" จะมีวิธีการทดสอบพร้อมภาพผลการทดสอบให้เห็นอย่างชัดเจน

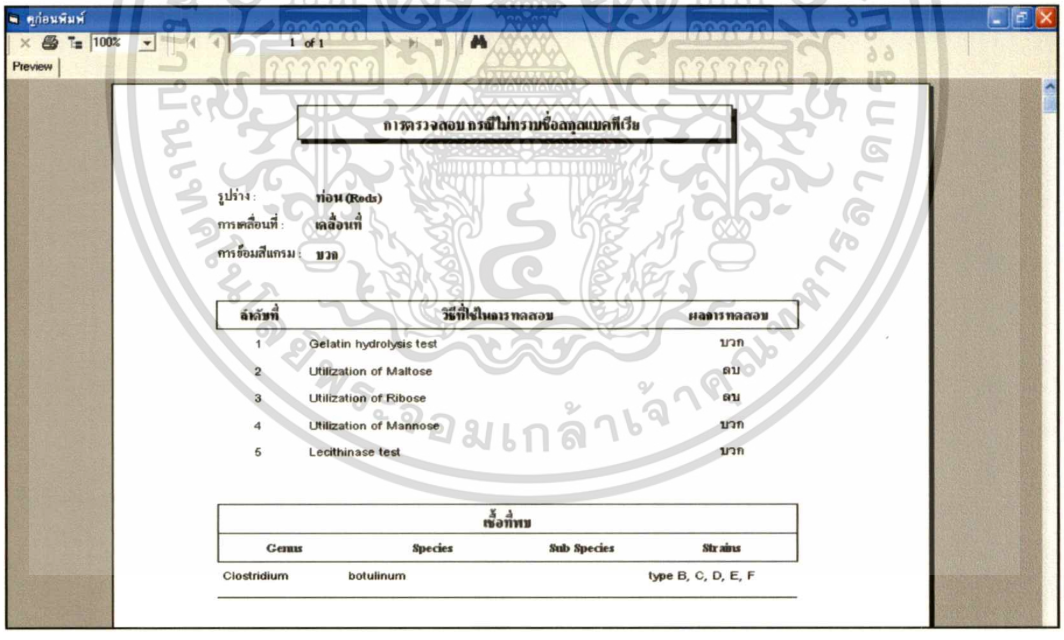
จากรูปที่ 4.8 จะเห็นว่าโปรแกรมทำการเลือกวิธีการทดสอบทางชีวเคมีที่เหมาะสมมาให้ทำการทดสอบครั้งละวิธี จนกว่าจะเหลือแบคทีเรียในตารางแสดงผล 1 ตัว ก็จะสามารถ ระบุได้ว่า แบคทีเรียที่ทำการตรวจสอบเป็นตัวใด มีชื่อสกุลว่าอะไร คุณสมบัติเป็นแบบไหน และจัดอยู่ในลำดับหมวดหมู่ใดตามหลักอนุกรมวิธาน

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการตรวจสอบควรจะปฏิบัติตามที่โปรแกรมระบุทีละขั้นตอน เพื่อป้องกันข้อผิดพลาดในการตรวจสอบ แต่หากมีความชำนาญในการใช้โปรแกรมแล้ว สามารถข้ามขั้นตอนบางอย่างที่ไม่จำเป็นได้

4.3 ส่วนที่ 3 วิธีการทดสอบทางชีวเคมี

ส่วนนี้จะทำหน้าที่ช่วยเหลือในการค้นหาวิธีทดสอบทางชีวเคมี ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และส่วนประกอบทางเคมีของสารทดสอบ รวมไปถึงวิธีการเตรียมและข้อแนะนำที่จำเป็นสำหรับการตรวจสอบ ลักษณะของโปรแกรมส่วนนี้ดังแสดงในรูปที่ 4.11

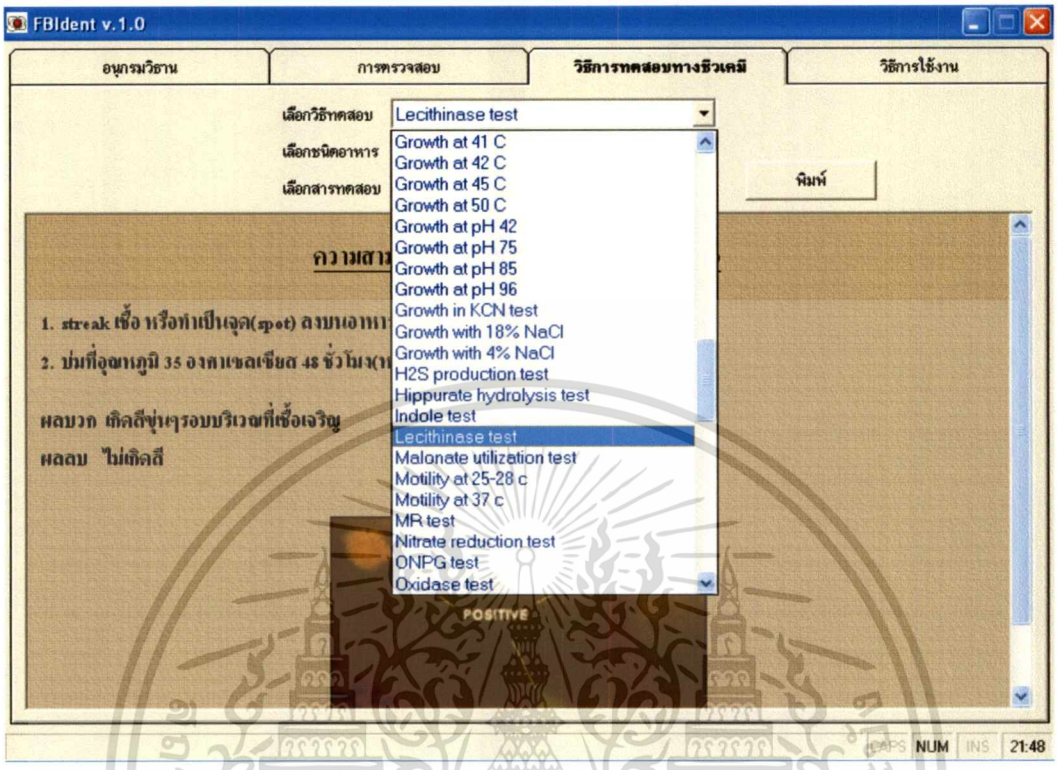
รูปที่ 4.11 แสดงส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมีของโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0

4.3.1 วิธีการใช้งานส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี

ในส่วนนี้จะมี 3 ช่องให้เลือกได้แก่ ช่องเลือกวิธีทดสอบ ช่องเลือกชนิดอาหาร และช่องเลือกสารทดสอบ โดยแต่ละช่องเมื่อกดที่ปุ่มตัวเลือกรายการทางขวามือ (รูปสามเหลี่ยมคว่ำ) โปรแกรมก็จะแสดงรายการออกมาให้เลือก หากรายการที่เลือกเป็นช่องวิธีทดสอบ รายการที่แสดงขึ้นมา ก็จะเป็นรายชื่อวิธีทดสอบทางชีวเคมีวิธีต่างๆ หากรายการที่เลือกเป็นช่องชนิดอาหาร รายการที่แสดงขึ้นมา ก็จะเป็นรายชื่อของอาหารที่ใช้ในการทดสอบทางชีวเคมี และหากรายการที่เลือกเป็นช่องสารทดสอบ รายการที่แสดงขึ้นมาก็จะเป็นรายชื่อสารทดสอบที่ใช้ในการทดสอบทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชีวเคมี เป็นต้น โดยเมื่อเลือกรายการที่ต้องการแล้วโปรแกรมจะแสดงรายละเอียดของรายการที่เลือกออกมา ดังตัวอย่างรูปที่ 4.12 เมื่อกดเลือกวิธีทดสอบเลซิติเนส (Lecithinase test)



รูปที่ 4.12 แสดงวิธีการใช้งานส่วนวิธีการทดสอบทางชีวเคมี

ทุกรายการที่เลือกในส่วนนี้ สามารถพิมพ์รายงานออกมาได้โดยกดที่ปุ่มพิมพ์รายงาน ในส่วนนี้หากมีปัญหาไม่สามารถพิมพ์ออกมาได้ สามารถแก้ไขได้โดยติดตั้งโปรแกรมบิซิเนสพีดีเอฟไรท์เตอร์(Business pdf writer) เพิ่ม เพื่อให้ใช้งานส่วนนี้ได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

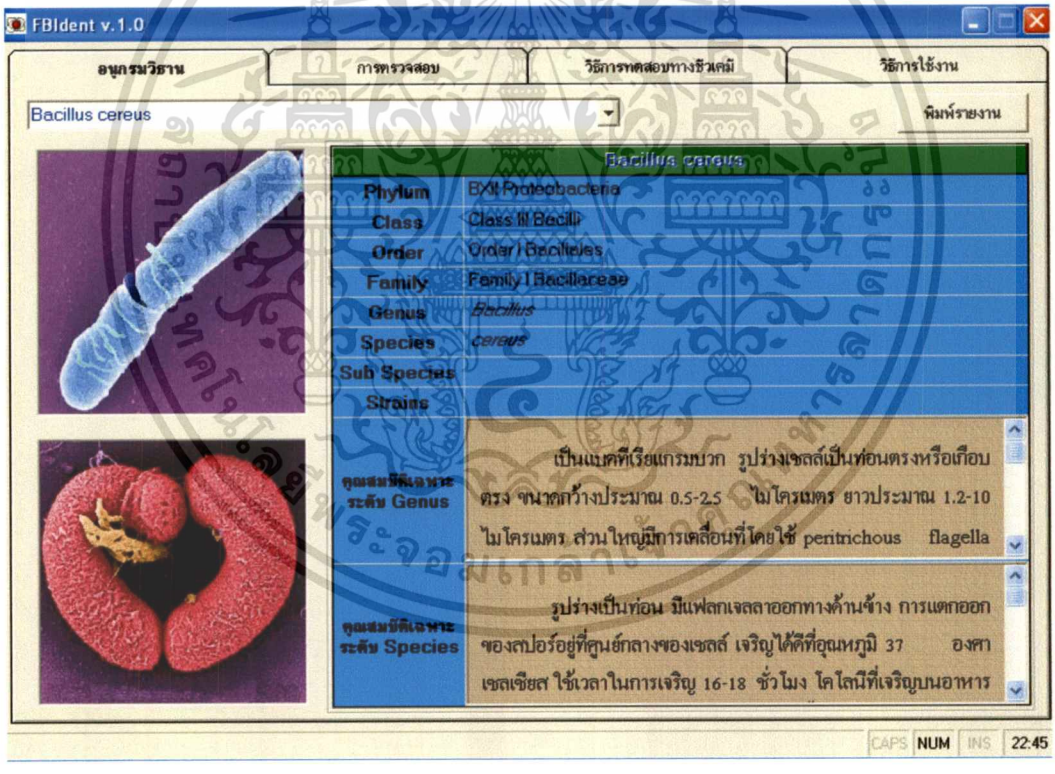
4.4 ส่วนที่ 4 วิธีการใช้งาน

ส่วนนี้จะเป็นส่วนช่วยเหลือเพื่อการใช้งานโปรแกรมอย่างมีประสิทธิภาพ การใช้งานเพียงกดสกอล์บาร์ (Scrollbar) ขึ้นลงในการอ่านเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ดวงพร คันธโชติ. 2537. **อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ.** 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

Anonymous. 2002. Reagents and test procedures. [Online]. Available :

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

ภาคผนวก ก

วิธีการทดสอบทางชีวเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การทดสอบทางชีวเคมี

1. การทดสอบความสามารถในการใช้อะซีเตต (Acetate utilization test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารแข็งอะซีเตต (Acetate agar)
2. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง (สูงสุด 7 วัน)

การตรวจผล

ผลบวก มีการเจริญ เกิดสีน้ำเงิน

ผลลบ ไม่มีการเจริญ อาหารเป็นสีเขียวเหมือนเดิม

2. ความสามารถในการผลิตกรดจากคาร์โบไฮเดรต (Acid production from)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหารเหลวเฟอร์เมนเตชันคาร์โบไฮเดรต (Fermentation carbohydrate medium) โดยมีน้ำตาลชนิดต่างๆเป็นส่วนประกอบ
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง หรือ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 18-24 ชั่วโมง

การตรวจผล

ผลบวก อาหารเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง แสดงว่าเชื้อสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่ใช้ทดสอบ และมีกรดเกิดขึ้น

ผลลบ อาหารไม่เปลี่ยนสี (มีสีเขียวเหมือนเดิม)

3. ความสามารถในการย่อยอาร์จินิน (Arginine dihydrolase test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลวอาร์จินิน {Arginine broth (Thornley's)} ที่เติมอาร์จินินและไม่เติมอาร์จินิน (หลอดควบคุม)
2. เทน้ำมันทับให้หนาประมาณ 4-5 มิลลิเมตร ลงในแต่ละหลอด
3. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจผลภายใน 4 วัน

การตรวจผล

ผลบวก อาหารจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีม่วงหรือม่วงแดง (หลอดควบคุมมีสีเหลือง)

ผลลบ หลอดอาหารไม่เปลี่ยนสี (มีสีเหลืองเหมือนเดิม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ความสามารถในการย่อยเคซีน (Casein hydrolysis test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้ออายุประมาณ 24 ชั่วโมง ลงในอาหารแข็งลิตมัสมิลค์ (Litmus milk)
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง ตรวจผลดูการเปลี่ยนแปลงทุก 3 7 14 และ 21 วัน

การตรวจผล

ผลบวก เกิดบริเวณวงใส (Clear zone) รอบโคโลนีของเชื้อ

ผลลบ ไม่เกิดบริเวณวงใสรอบโคโลนีของเชื้อ

5. การทดสอบคาตาเลส (Catalase test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารแข็งนิวเตรียนท์ (Nutrient agar) บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
2. หยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์รีเอเจนต์ (H_2O_2 reagent) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เอียงอาหารไปมาให้สัมผัสกับโคโลนีของเชื้อ

การตรวจผล

ผลบวก เกิดฟองแก๊ส

ผลลบ ไม่เกิดฟองแก๊ส

6. ความสามารถในการใช้ซิเตรท(Citrate utulization test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารแข็งซิมมอนซิเตรท (Simmon's citrate agar) ในหลอดอาหารเอียง(Slant)
2. ใช้เข็มเขี่ยใส่เชื้อลงในอาหาร ในลักษณะจุด (Point inoculation)
3. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง (สูงสุด 7 วัน)

การตรวจผล

ผลบวก เชื้อสามารถเจริญบนอาหาร ทำให้อาหารเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน

ผลลบ เชื้อไม่สามารถเจริญบนอาหารได้ ทำให้อาหารมีสีเขียวเหมือนเดิม

7. ความสามารถในการสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลส (Coagulase test)

วิธีการ

1. บ่มเชื้อในอาหารเหลวเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน (Brain heart infusion broth) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เตรียมพลาสมา ในหลอดทดลองขนาดเล็กที่อบฆ่าเชื้อแล้ว
3. ดูดสารละลายของเชื้อ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดพลาสมา ผสมให้เข้ากัน
4. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

การตรวจผล

ผลบวก พลาสมาจับตัวแข็งเป็นก้อน แสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ coagulase

ผลลบ พลาสมามีลักษณะเหลว แสดงว่าเชื้อไม่สามารถสร้างเอนไซม์ coagulase

8. การทดสอบดีอะมิเนส (Deaminase test)

วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหารฟีนิลอะลานินดีอะมิเนส (Phenylalanine deaminase agar) อายุประมาณ 18-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม และหลอดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อ
2. เติมเฟอริกคลอไรด์รีเอเจนต์ (ferric chloride reagent) ลงไปหลอดละ 5 หยด
3. เขย่าหลอดเบาๆเพื่อให้เชื้อหลุดจากอาหาร
4. สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหาร ภายใน 5 นาที

การตรวจผล

ผลบวก อาหารจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีเขียว

ผลลบ อาหารไม่เปลี่ยนสี (มีสีเหลืองเหมือนเดิม)

9. ความสามารถในการย่อยเอซคิวลิน (Esculin hydrolysis test) ที่อุณหภูมิต่างๆ

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อโดยการขีด (streak) บนอาหารแข็งไบล์เอสคิวลิน (Bile–Esculin agar)
2. บ่มเชื้อ 12-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิเหมาะสม

การตรวจผล

ผลบวก อาหารจะเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็นสีดำ

ผลลบ อาหารไม่เปลี่ยนสี (มีสีน้ำตาลเหมือนเดิม)

10. ความสามารถในการสร้างแก๊สจากน้ำตาลกลูโคส (Gas production from glucose)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลวเฟอร์เมนเตชันคาร์โบไฮเดรต โดยมีน้ำตาลกลูโคสเป็นส่วนประกอบ และใส่หลอดดักแก๊ส (Duhram tube)
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง หรือ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 18-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจผล

ผลบวก เกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส (อาหารอาจจะเปลี่ยนสี หรือไม่เปลี่ยนสีก็ได้)

ผลลบ ไม่เกิดแก๊ส

11. ความสามารถในการย่อยเจลาติน (Gelatin hydrolysis test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารนิวเตรียนท์เจลาตินโดยแทง (Stab) ลงไปที่ส่วนของก้นหลอดอาหารที่แช่เย็นจัดจนแข็ง
2. บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส(หรืออุณหภูมิที่เหมาะสม) เป็นเวลา 3 วัน
3. นำไปแช่ตู้เย็น 1-2 ชั่วโมง ก่อนอ่านผล

การตรวจผล

ผลบวก อาหารไม่แข็งตัว เนื่องจากเชื้อย่อยเจลาติน

ผลลบ อาหารยังแข็งเหมือนเดิม

12. การย้อมสีแกรม (Gram stain test)

วิธีการ

1. เกลี่ย (smear) เชื้อที่ต้องการย้อม บนสไลด์ที่ล้างสะอาด ทิ้งให้แห้งแล้วตรึงด้วยความร้อน (Heat fix) โดยผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง การตรึง (Fix) เพื่อให้เซลล์แห้งยึดติดกับสไลด์
2. หยดสีแอมโมเนียมคริสตัลไวโอเลต ลงบนเชื้อที่เกลี่ย 1-2 นาที แล้วเทสีทิ้ง
3. หยดสารละลายไอโอดีนบนเชื้อที่เกลี่ย นาน 2 นาที แล้วเททิ้ง สารละลายไอโอดีนจะช่วยให้เซลล์ติดสีย้อมได้ดีขึ้น (mordant)
4. นำสไลด์มาล้างสีด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 นานประมาณ 30 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด
5. หยดสีซาฟรานิน บนเชื้อที่เกลี่ยนาน 15-30 วินาที ล้างน้ำ แล้วซับให้แห้ง
6. ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

การตรวจผล

ผลบวก เซลล์ติดสีม่วงของแอมโมเนียมคริสตัลไวโอเลต จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก

ผลลบ เซลล์ติดสีแดงของซาฟรานิน จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. การเจริญที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารแข็งนิวเตรียนท์
2. บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจผลทุกวันจนครบ 7 วัน (หรือแล้วแต่ชนิดเชื้อ)

การตรวจผล

ผลบวก มีการเจริญของเชื้อเกิดขึ้น

ผลลบ ไม่มีการเจริญของเชื้อ

14. การเจริญในอาหารโพแตสเซียมไซยาไนด์ (Growth in KCN test)

วิธีการ

1. บ่มเชื้อลงในอาหารแข็งนิวเตรียนท์ เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง
2. ปลูกเชื้อ 1 ลูป ลงในอาหารเหลวโปแตสเซียมไซยาไนด์ 1 หลอด และหลอดที่ไม่เติมโปแตสเซียมไซยาไนด์ เป็นหลอดควบคุม อีก 1 หลอด (ควรปิดปากหลอดให้สนิท)
3. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง(หรืออุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อนั้นๆ) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

การตรวจผล

ผลบวก มีการเจริญโดยสังเกตได้จากอาหารมีลักษณะขุ่น (ทั้ง 2 หลอด)

ผลลบ ไม่มีการเจริญในหลอดทดสอบ

15. การเจริญเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 4 (Growth with NaCl 4%)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารแข็งนิวเตรียนท์ โดยเติมโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 4
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง ตรวจผลทุกวันจนครบ 7 วัน(หรือแล้วแต่ชนิดของเชื้อ)

การตรวจผล

ผลบวก มีการเจริญของเชื้อเกิดขึ้น

ผลลบ ไม่มีการเจริญของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16. ความสามารถในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์(H_2S production test)

วิธีการ

1. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงในอาหารทริปเปิลซูการ์ไอรอน {Triple sugar iron agar (TSI)} โดยแทง(stab) ลงไปที่ส่วนของก้นหลอด แล้วขีดไปมาที่ผิวของอาหารเอียง
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง ตรวจผลทุกวันจนครบ 7 วัน(หรือแล้วแต่ชนิดของเชื้อ)

การตรวจผล

ผลบวก เกิดรอยดำของเฟอรัสซัลไฟด์ตามแนวที่ปลูกเชื้อ

ผลลบ ไม่เกิดรอยดำของเฟอรัสซัลไฟด์(แต่อาจจะเกิดสีอื่นได้เนื่องจากความเป็นกรดด่าง)

17. การทดสอบการย่อยฮิปปูเรต (Hippurate hydrolysis test)

วิธีการ

1. เตรียม สารละลายโซเดียมฮิปปูเรต ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปิดจุก และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
2. ละลายหลอดที่บรรจุสารละลายโซเดียมฮิปปูเรต
3. เขี่ยเชื้อลงในหลอดที่บรรจุสารละลายโซเดียมฮิปปูเรต
4. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
5. เติมนินไฮดรินรีเอเจนต์ (ninhydrin reagent) 0.2 มิลลิลิตร(5 หยด) ไม่ควรเขย่าหลอด
6. บ่มต่อ 10 นาที แต่ต้องไม่เกิน 1 ชั่วโมง เพราะอาจจะทำให้อ่านผลผิดพลาด

การตรวจผล

ผลบวก สีม่วงดำ

ผลลบ ไม่เปลี่ยนสี หรือสีม่วงอ่อน

18. การทดสอบการสร้างสารอินโดล (Indole test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลวทริปโตน (Tryptone broth)
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. เติมโคแวกซ์รีเอเจนต์ (Kovac's reagent) 0.5 มิลลิลิตร

การตรวจผล

ผลบวก เกิดสีแดงที่ผิวชั้นบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลลบ ไม่เกิดสี

19. ความสามารถในการสร้างเลซิติเนส (Lecithinase)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อในลักษณะขีด หรือจุด (spot) ลงบนอาหารแข็งเอ้กโยล์ค (egg yolk agar)
2. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง(หรือสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ)

การตรวจผล

ผลบวก เกิดสีขุ่นๆรอบบริเวณที่เชื้อเจริญ

ผลลบ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

20. ความสามารถในการใช้มาโลเนท (Malonate utilization test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลวมาโลเนท (Malonate broth)
2. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง(หรือสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ)

การตรวจผล

ผลบวก อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

ผลลบ อาหาร ไม่เปลี่ยนสี(มีสีเขียวเหมือนเดิม)

21. ความสามารถในการเคลื่อนที่ (Motility test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารแข็งที่ใช้ทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility test medium) ในลักษณะแทงลงไปตรงๆถึงก้นหลอด
2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง

การตรวจผล

ผลบวก เชื้อเจริญออกจากแนวที่ปลูกเชื้อ และกระจายไปทั่วหลอด

ผลลบ เชื้อเจริญเฉพาะบริเวณแนวที่ปลูกเชื้อ

22. การทดสอบเอ็มอาร์ {MR test (Methyl red)}

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลวเอ็มอาร์วีพี (MR-VP medium)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน
3. หยดเมทธิลเรดรีเอเจนต์ (Methyl red reagent) 5-6 หยด (ต่ออาหารที่มีเชื้อ 5 มิลลิลิตร)

การตรวจผล

ผลบวก เปลี่ยนจากสีเหลืองหรือส้ม เป็นสีแดงสด

ผลลบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (มีเหลืองหรือส้มเหมือนเดิม)

23. ความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท (Nitrate reduction test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเหลวนิวเตรียนท์ (Nutrient broth)
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
3. หยดสารลายกรดซัลฟานิลิก (Salfanilic acid solution) และสารละลายแอลฟา-แนพทิลเอมีน (α-napthylamine solution)

การตรวจผล (มีโอกาสอ่านผลผิดได้ง่าย ถ้าเข้าใจไม่ถูกต้อง)

ถ้าเกิดสีแดงปนตะกอนแสดงว่าผลเป็นบวก แต่การไม่เปลี่ยนสียังไม่ถือว่าเป็นผลลบ ให้ทดสอบต่อโดยเติมผงสังกะสีหลังจากเติมผงสังกะสีแล้วหากไม่เปลี่ยนสีให้ลงผลเป็นบวก แต่ถ้าเปลี่ยนเป็นสีแดงให้ลงผลเป็นลบ

24. การทดสอบออร์โทไนโตรฟีนิลเบตา-ดี-กาแลกโตไพราโนไซด์ (ONPG test)

วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวออร์โทไนโตรฟีนิลเบตา-ดี-กาแลกโตไพราโนไซด์ (ONPG test medium) หรืออาหารที่มีแลกโตสเป็นส่วนประกอบ
2. หยดสารละลายซาลีน (Saline solution) ร้อยละ 0.9 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบ
3. เขี่ยเชื้อลงหลอดทดสอบ แล้วเติม ONPG broth
4. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง แล้วควรอ่านผลทันที

การตรวจผล

ผลบวก สีเหลือง

ผลลบ ไม่เกิดสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25. การทดสอบออกซิเดส (Oxidase test)

วิธีการ

1. ใช้ไม้พันสำลี (Cotton bud) ชุบในสารละลายเตตราเมทธิลพีฟีนิลีนไดเอมีนไฮโดรคลอริก (Tetramethyl-p-phenylenediamine HCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5
2. นำไม้พันสำลีไปลากบนเชื้อทดสอบที่เจริญอยู่บนอาหารแข็ง

การตรวจผล

ผลบวก เกิดสีม่วงเข้มบนปลายสำลีภายใน 10 วินาที

ผลลบ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

26. การทดสอบการย่อยแป้ง (Starch hydrolysis test)

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อในอาหารแข็งสตาร์ช (Starch agar) โดยบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจนกระทั่งมีการเจริญของเชื้อ
2. เทน้ำยาไอโอดีนลงบนโคโลนีของเชื้อ

การตรวจผล

ผลบวก รอบโคโลนีของเชื้อจะเกิดบริเวณใส ในขณะที่อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

ผลลบ เป็นสีน้ำเงินหมด

27. ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยูรีเอส (Urease test)

วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวยูเรีย (Urea broth) ใช้เชื้ออายุน้อย เพื่อป้องกันมิให้มีการปะปนของเซลล์ที่ตายแล้ว หรือสิ่งเจือปนอื่นๆที่เกิดจากการเจริญของเซลล์ ซึ่งจะไปรบกวนผลการทดสอบ)
2. บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ตรวจผลการทดสอบทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน

การตรวจผล

ผลบวก อาหารเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีบานเย็น

ผลลบ ไม่เปลี่ยนสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

28. ความสามารถในการใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปในอาหารทดสอบความสามารถการใช้แหล่งคาร์บอน (Utilization test medium) โดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน และใส่หลอดดักแก๊สที่ผ่านการฆ่าเชื้อไว้ในหลอดทดสอบ
2. บ่มที่อุณหภูมิห้อง หรือ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 18-24 ชั่วโมง
3. ตรวจผลโดยดูการเปลี่ยนสี และการเกิดแก๊สในอาหาร

การตรวจผล

ผลบวก เกิดการเปลี่ยนสีของอาหารเป็นสีเหลือง และมีแก๊สเกิดขึ้น หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างใดอย่างหนึ่ง ให้ถือเป็นผลบวก

ผลลบ อาหารไม่เปลี่ยนสี และไม่เกิดแก๊ส

29. การทดสอบวีพี {VP test (Voges-Proskauer)}

วิธีการ

1. ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลวเอ็มอาร์วีพี
2. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง
3. ถ่ายเชื้อมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบที่สะอาด
4. เติมสารละลายแอลฟา-แนพทอล (α-naphthol solution) ร้อยละ 5 ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร
5. เติมโพแตสเซียมไฮดรอกซ์ไซด์ (KOH) ร้อยละ 40 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

การตรวจผล

ผลบวก สีแดงภายใน 5 นาที

ผลลบ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง (มีสีเหลืองเหมือนเดิม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารแข็งอะซีเตต (Acetate agar)

ส่วนประกอบ

แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรท ($MgSO_4.7H_2O$)	0.20	กรัม
แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต {$(NH_4)H_2PO_4$}	1.00	กรัม
ไดโพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	1.00	กรัม
อะซีเตต (Acetate)	2.00	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.00	กรัม
โบรโมไธมอลบลู (Bromothymol blue)	0.08	กรัม
วุ้น (Agar)	15.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมด ยกเว้นวุ้น ปรับพีเอช เป็น 6.8
2. เติมวุ้น ต้มให้ละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

2. อาหารเหลวอาร์จินิน {Arginine broth (Thornley's)}

ส่วนประกอบ

แอล-อาร์จินินไฮโดรคลอริก {L(+) Arginine HCl}	10.00	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.00	กรัม
เปปโตน (Peptone)	1.00	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.30	กรัม
ฟีนอลเรด (Phenol red)	0.01	กรัม
วุ้น	3.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมด แล้วปรับพีเอช เป็น 7.2±0.19
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. อาหารแข็งไบล์เอสคิวลิน (Bile–Esculin agar)

ส่วนประกอบ

บีฟเอ็กซ์แทรกซ์ (Beef extract)	3.00	กรัม
เปปโตน (Peptone)	5.00	กรัม
เอสคิวลิน (Esculin)	1.00	กรัม
ออกซ์กอลล์ (Oxgall)	40.00	กรัม
เฟอริกซิเตรท (Ferric citrate)	0.50	กรัม
วุ้น	15.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันด้วยความร้อน ปรับพีเอช 6.6 ± 0.2
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

4. อาหารเหลวเบรนฮาร์ทอินฟิวชัน (Brain heart infusion broth)

ส่วนประกอบ

คาร์ฟเบรนอินฟิวชัน (Calf brain infusion)	200.00	มิลลิลิตร
เบรนฮาร์ทอินฟิวชัน (Beef heart infusion)	250.00	มิลลิลิตร
เปปโตน	10.00	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	2.50	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.00	กรัม
ดี-กลูโคสโมโนฟอสเฟต (D-glucose monophosphate)	2.00	กรัม

วิธีการเตรียม

1. ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ด้วยความร้อน ปรับพีเอช เป็น 7.4±0.1
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

5. อาหารแข็งเอ้กโยล์ค (Egg yolk agar)

ส่วนประกอบ

เปปโตน	20.00	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	2.50	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	1.00	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)	0.05	กรัม
เด็กซ์โตรส (Dextrose)	1.00	กรัม
วุ้น	12.50	กรัม
น้ำกลั่น	500.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH 7.4
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที
3. ทำให้เย็น อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส เติม antibiotic free egg yolk ผสมให้เข้ากัน เทลงในจานเพาะเชื้อ (ทำความสะอาดเปลือกไข่ และแช่ใน disinfectant 1 ชั่วโมง ก่อนที่จะแยกไข่โดยวิธีปราศจากเชื้อ)

6. อาหารเหลวเฟอร์เมนเตชันคาร์โบไฮเดรต (Fermentation carbohydrate medium)

ส่วนประกอบ

บีฟเอ็กซ์แทรกซ์ (Beef extract)	3.00	กรัม
เปปโตน	5.00	กรัม
น้ำตาลที่ต้องการทดสอบ	10.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.0	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ต้มส่วนผสมทั้งหมดจนละลาย แล้วเติมบรอมไธมอลบลู (Bromthymol blue) ร้อยละ 1.6 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
2. เตรียมอาหารใส่หลอดทดสอบ หลอดละประมาณ 6 มิลลิลิตร
3. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที
4. ยกออกมาแช่ในน้ำเย็น เพื่อป้องกันน้ำตาลแตกตัว

7. อาหารนิวเตรียนท์เจลาติน (Nutrient gelatin)

ส่วนประกอบ

เจลาติน	40.00	กรัม
บีฟเอ็กซ์แทรกซ์	3.00	กรัม
เปปโตน	5.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

8. อาหารเหลวมาโลเนท (Malonate broth

ส่วนประกอบ

ยีสต์เอ็กซ์แทรกซ์ (Yeast extract)	1.00	กรัม
ไดแอมโมเนียมซัลเฟต $\{(NH_4)_2SO_4\}$	2.00	กรัม
ไดโพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.60	กรัม
โพแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.40	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	2.00	กรัม
โซเดียมมาโลเนท (Sodium malonate)	3.00	กรัม
กลูโคส (Glucose)	0.25	กรัม
บรอมไธมอลบลู (Bromthymol blue)	0.025	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับพีเอช 6.7±0.2 เทใส่หลอดทดสอบละ 3 มิลลิลิตร
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

9. อาหารแข็งที่ใช้ทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility Test Medium)

ส่วนประกอบ

บีฟเอ็กซ์แทรกซ์	3.00	กรัม
เปปโตน	10.00	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.00	กรัม
วุ้น	4.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH 7.4±0.2 เทใส่หลอดทดสอบที่มีฝาปิดแบบ screw หลอดละ 8 มิลลิลิตร

2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5-8 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การนำมาใช้ ให้หลอมละลายในน้ำเดือด และปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จึงเติมไตรฟีนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ Triphenyltetrazolium chloride ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็น 5 มิลลิลิตร

10. อาหารเหลวเอ็มอาร์วีพี (MR-VP medium)

ส่วนประกอบ

บัฟเฟอร์เปปโตน (Buffer peptone)	7.00	กรัม
ไดโพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	5.00	กรัม
กลูโคส	5.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับพีเอช 6.9
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

11. อาหารแข็งนิวเตรียนท์ (Nutrient agar)

ส่วนประกอบ

บีฟเอ็กซ์แทรคซ์	3.00	กรัม
เปปโตน	5.00	กรัม
วุ้น	15.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

12. อาหารเหลวนิวเตรียนท์ (Nutrient broth)

ส่วนประกอบ

บีฟเอ็กซ์แทรคซ์	3.00	กรัม
เปปโตน	5.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. สารละลายออร์โทไนโตรฟีนิลเบตา-ดี-กาแลกโตไพราโนไซด์ (ONPG Broth)

ส่วนประกอบ

ออร์โทไนโตรฟีนิลเบตา-ดี-กาแลกโตไพราโนไซด์ (Ortho-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside)	1.50	กรัม
เปปโตน	7.50	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	3.75	กรัม
ไดโพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.01 โมลาร์	250.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	750.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลาย ออร์โทไนโตรฟีนิลเบตา-ดี-กาแลกโตไพราโนไซด์ ใน ไดโพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.01 โมลาร์
2. ฆ่าเชื้อโดยการกรอง เก็บไว้ให้ห่างจากแสง ที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส (ส่วนที่ 1)
3. ละลายเปปโตนกับโซเดียมคลอไรด์ ในน้ำกลั่น ปรับพีเอช 7.2 ± 0.1
4. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที(ส่วนที่ 2)
5. ละลายส่วนผสมทั้ง 2 ส่วน แล้วเก็บไว้ให้ห่างจากแสง ที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส

14. อาหารเหลวออร์โทไนโตรฟีนิลเบตา-ดี-กาแลกโตไพราโนไซด์ (ONPG test medium)

ส่วนประกอบ

บีฟเอ็กซ์แทรกซ์	3.00	กรัม
เปปโตน	5.00	กรัม
แลกโตส	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

15. อาหารแข็งฟีนิลอะลานินดีอะมิเนส (Phenylalanine deaminase agar)

ส่วนประกอบ

ยีสต์เอ็กซ์แทรคซ์ (Yeast extract)	3.00	กรัม
แอล-ฟีนิลอะลานิน (L-Phenylalanine)	1.00	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	1.00	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.00	กรัม
วุ้น	12.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันด้วยความร้อน ปรับพีเอช 7.3 ± 0.2
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 10 นาที

16. อาหารเหลวโปแตสเซียมไซยาไนด์ {(Potassium Cyanide (KCN) Broth)}

ส่วนประกอบ

โปแตสเซียมไซยาไนด์ (KCN)	0.50	กรัม
โปรตีโอสเปปโตนเบอร์ 3 (Proteose peptone No. 3) หรือ โพลีเปปโตน (polypeptone)	3.00	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.00	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.225	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	5.64	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ยกเว้นโปแตสเซียมไซยาไนด์
2. ปรับพีเอช 7.6 แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เก็บไว้ที่เย็น 5-8 องศาเซลเซียส
3. ละลายโปแตสเซียมไซยาไนด์ 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่เย็น 5-8 องศาเซลเซียส
4. ใช้บัลบ์ปิเปตเตอร์ (bulb pipetter) ดูดสารละลายโปแตสเซียมไซยาไนด์ ที่เตรียมไว้ 15 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลวโปแตสเซียมไซยาไนด์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
5. เทอาหารใส่หลอดๆละ 1-1.5 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดให้มิดชิด เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5-8 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17. อาหารแข็งสตาร์ช (Starch agar)

ส่วนประกอบ

บีฟเอ็กซ์แทรคซ์	3.00	กรัม
เปปโตน	5.00	กรัม
โปเตโตสตาร์ช (Potato starch)	10.00	กรัม
วุ้น	15.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

18. อาหารแข็งซิมมอนซิเตรท (Simmon's citrate agar

ส่วนประกอบ

แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรท ($MgSO_4.7H_2O$)	0.20	กรัม
แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต {$(NH_4)H_2PO_4$}	1.00	กรัม
ไดโพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	1.00	กรัม
โซเดียมซิเตรท (Sodium Citrate)	2.00	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.00	กรัม
โบรโมไธมอลบลู	0.08	กรัม
วุ้น	15.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

19. อาหารแข็งทริปเปิลซูการ์ไอรอน {Triple sugar iron agar (TSI)}

ส่วนประกอบ

โพลีเปปโตน	20.00	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.00	กรัม
แลกโตส	10.00	กรัม
ซูโครส	10.00	กรัม
กลูโคส	1.00	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฟอรัสซัลเฟต $\{Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O\}$	0.20	กรัม
โซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$)	0.20	กรัม
ฟีนอลเรด	0.025	กรัม
วุ้น	13.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยการต้ม และคนให้เข้ากัน ปรับพีเอช 7.4 ± 0.2
2. เทอาหารลงไป 1 ใน 3 ของหลอดทดลอง
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที
4. นำหลอดทดลองมาวางเอียงจนอาหารแข็ง

20. อาหารเหลวทริปโตน (Tryptone broth)

ส่วนประกอบ

ทริปโตน (Tryptone) หรือ ทริปติเคส (Trypticase)	10.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับพีเอช 6.9 ± 0.2 ใช้หลอดทดสอบละ 5 มิลลิลิตร
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

21. อาหารเหลวยูเรีย (Urea broth)

ส่วนประกอบ

ยูเรีย (Urea)	20.00	กรัม
ยีสต์เอ็กซ์แทรคซ์	0.10	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	9.50	กรัม
ไดโพแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	9.10	กรัม
ฟีนอลเรด	0.01	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน โดยห้ามใช้ความร้อน ปรับพีเอช 6.8 ± 0.2
2. ฆ่าเชื้อด้วยการกรองผ่านกระดาษกรอง 0.45 ไมโครเมตร
3. เทอาหารลงในหลอดทดสอบที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหลอดละ 1.5-3.0 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

22. อาหารทดสอบความสามารถการใช้แหล่งคาร์บอน (Utilization test medium)

ส่วนประกอบ

บีฟเอ็กซ์แทรคซ์	3.00	กรัม
เปปโตน	5.00	กรัม
แหล่งคาร์บอนที่ต้องการทดสอบ	10.00	กรัม
น้ำกลั่น	1.00	ลิตร

วิธีการเตรียม

1. ต้มส่วนผสมทั้งหมดจนละลาย แล้วเติม บรอมไธมอลบลูร้อยละ 1.6 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
2. เตรียมอาหารใส่หลอดทดสอบ หลอดละประมาณ 6 มิลลิลิตร
3. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที
4. ยกออกมาแช่ในน้ำเย็น เพื่อป้องกันน้ำตาลแตกตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

การเตรียมสารทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารทดสอบ

1. สารละลายแอลฟา-แนพทอล ร้อยละ 5 (α-naphthol solution)

ส่วนประกอบ

พีไดเมทธิลอะมิโนเบนซอลดีไฮด์ (P-dimethylaminobenzaldehyde)

	10.00	กรัม
แอลกอฮอล์	150.00	มิลลิลิตร
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	50.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายพีไดเมทธิลอะมิโนเบนซอลดีไฮด์ในแอลกอฮอล์โดยทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส จนกระทั่งละลายหมด ปล่อยให้เย็น
2. เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นช้าๆ บรรจุในขวดหยดสีน้ำตาล และเก็บไว้ในตู้เย็น

2. โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 40 (40% KOH)

ส่วนประกอบ

โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)	20.00	กรัม
น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำกลั่น เก็บใส่ขวดสีน้ำตาล

3. สารละลายแอลฟา-แนพทิลเอมีน (α-Napthylamine solution)

ส่วนประกอบ

แอลฟา-แนพทิลเอมีน (α –napthylamine)	0.50	กรัม
กรดอะซีติก 5 นอร์มอล (Acetic acid 5 N)	100.0	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. เตรียมกรดอะซีติก 5 นอร์มอล โดยเทกรดอะซีติก17.4 นอร์มอล ลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
2. จากนั้น ละลายแอลฟา-แนพทิลเอมีน 0.5 กรัม ในกรดอะซีติก 5 นอร์มอล 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. บรอมไธมอลบลูร้อยละ 1.6 (Bromthymol blue 1.6 %)

ส่วนประกอบ

บรอมไธมอลบลู (Bromthymol blue)	1.60	กรัม
เอทธิลแอลกอฮอล์	100.00	มิลลิลิตร

5. เฟอริกคลอไรด์รีเอเจนต์ (Ferric chloride reagent)

ส่วนประกอบ

เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride)	1.00	กรัม
น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลายเฟอริกคลอไรด์ใน น้ำกลั่น เก็บใส่ขวดสีน้ำตาล

6. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์รีเอเจนต์ (H_2O_2 reagent)

ส่วนประกอบ

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)	3.00	กรัม
น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร

7. โคแวกซ์รีเอเจนต์ (Kovac's reagent)

ส่วนประกอบ

พีไดเมทธิลอะมิโนเบนซอลดีไฮด์ (P-dimethylaminobenzaldehyde)	10.00	กรัม
แอลกอฮอล์	150.00	มิลลิลิตร
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	50.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ละลายพีไดเมทธิลอะมิโนเบนซอลดีไฮด์ ในแอลกอฮอล์โดยทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส จนกระทั่งละลายหมด ปล่อยให้เย็น
2. เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ช้าๆ เก็บในขวดหยดสีน้ำตาล และเอาไว้ในตู้เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. เมอคิวลิกคลอไรด์ (Mercuric chloride)

ส่วนประกอบ

เมอร์คิวลิกคลอไรด์ ($HgCl_2$)	12.00	กรัม
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	16.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	80.00	มิลลิลิตร

9. สารละลายเมทธิลเรด (Methyl red solution)

ส่วนประกอบ

เมทธิลเรด (Methyl red)	0.80	กรัม
เอธานอลร้อยละ 95 (Ethanol 95%)	300.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200.0	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลาย เมทธิลเรดในเอธานอลร้อยละ 95 แล้วจึงเติมน้ำกลั่น

10. นินไฮดรินรีเอเจนต์ (Ninhydrin reagent)

ส่วนประกอบ

นินไฮดริน (Ninhydrin)	3.50	กรัม
อะซีโตน (Acetone)	50.00	มิลลิลิตร
บิวธานอล (Butanol)	50.00	มิลลิลิตร

11. ออกซิเดสรีเอเจนต์ (Oxidase reagent)

ส่วนประกอบ

เตตราเมทธิลพีพีนิลีนไดเอมีน (Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride)

	1.00	กรัม
กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid)	0.10	กรัม
น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร

12. สารละลายซาลีนร้อยละ 0.9 (Saline solution 0.9%)

ส่วนประกอบ

โซเดียมคลอไรด์	0.90	กรัม
น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. สารละลายกรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid solution)

ส่วนประกอบ

กรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid)	0.80	กรัม
กรดอะซีติก 5 นอร์มอล	100.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. เตรียมกรดอะซีติก 5 นอร์มอล โดยเทกรดอะซีติก 17.4 นอร์มอล ลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
2. จากนั้น ละลายกรดซัลฟานิลิก 0.8 กรัม ในกรดอะซีติก 5 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

คู่มือการติดตั้งโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

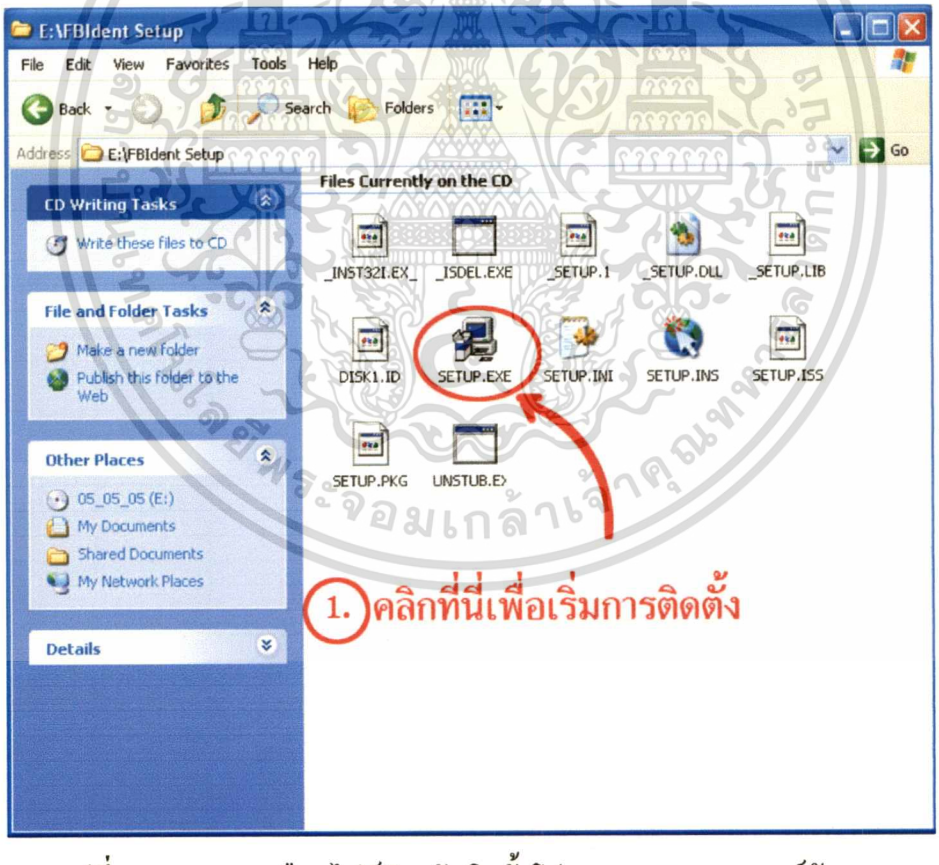
ภาคผนวก ง
คู่มือการติดตั้งโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0

1. ความต้องการของระบบ (System requirement)

ต้องการซีพียูความเร็ว 350 เมกกะเฮิร์ซ เนื้อที่ว่างในฮาร์ดดิสก์ 235 เมกกะไบท์ และแรม 128 เมกกะไบท์ เป็นอย่างน้อย ส่วนซีดีรอมไม่จำกัดความเร็ว สามารถใช้ได้กับระบบปฏิบัติการวินโดวส์ 95 98 Me 2000 และ XP

2. การติดตั้งโปรแกรม

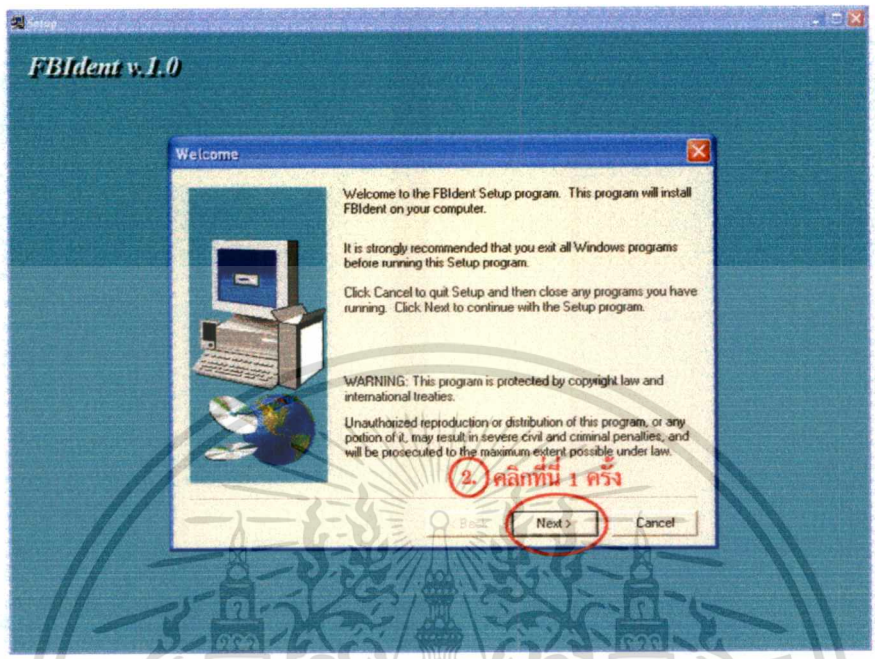
2.1 ใส่แผ่นสำหรับติดตั้งโปรแกรมที่ซีดีรอม จะมีหน้าต่างอัตโนมัติแสดงข้อมูลจากซีดีรอมดังรูปที่ ง.1 จากนั้นดับเบิ้ลคลิกที่ไฟล์ Setup.exe จากโฟลเดอร์ “FBIdent Setup”



รูปที่ ง.1 แสดงการเลือกไฟล์สำหรับติดตั้งโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

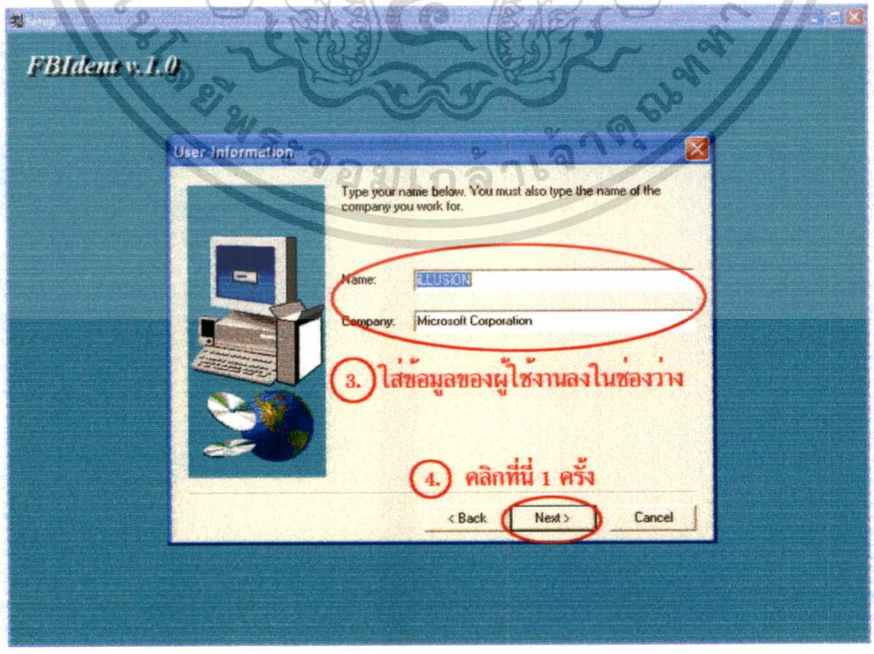
2.2 เมื่อปรากฏหน้าต่างเริ่มการติดตั้ง ดังรูปที่ ง.2 ทำการคลิกที่ปุ่ม “Next>” 1 ครั้ง จะเข้าสู่หน้าต่างสำหรับกรอกข้อมูลของผู้ใช้ ดังรูปที่ ง.3



รูปที่ ง.2 แสดงหน้าต่างเริ่มเข้าสู่การติดตั้งโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0

2.3 ใส่ข้อมูลผู้ใช้งาน ดังรูปที่ ง.3

2.4 ทำการคลิกที่ปุ่ม “Next>” 1 ครั้ง

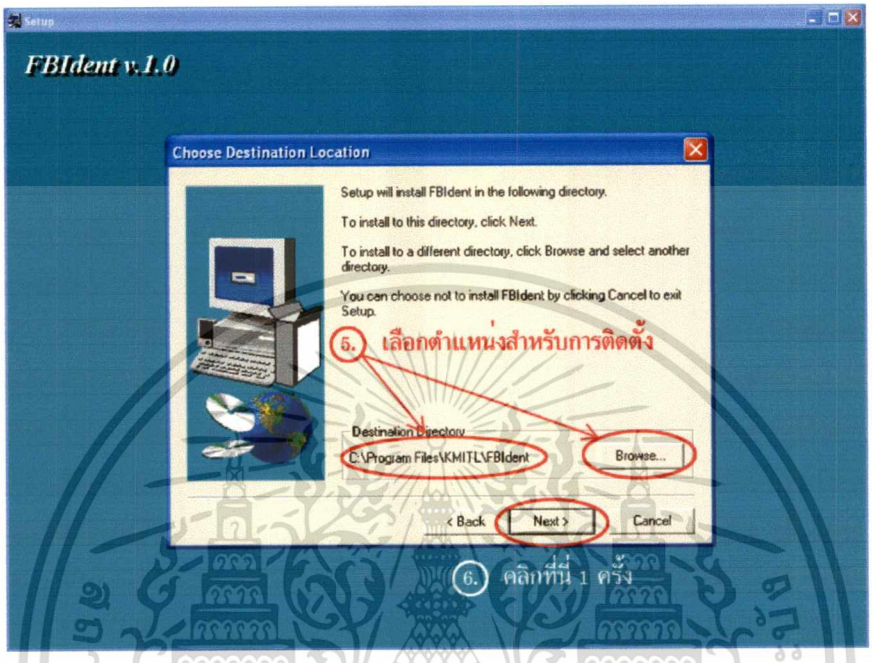


รูปที่ ง.3 แสดงหน้าต่างสำหรับใส่ข้อมูลของผู้ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

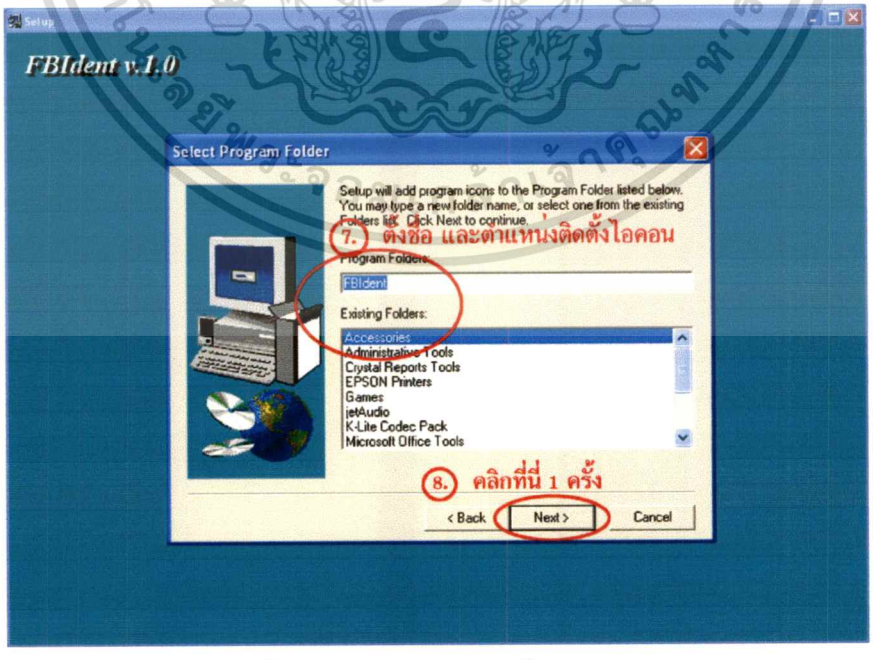
2.5 หลังจากนั้นจะเข้าสู่หน้าต่างสำหรับเลือกตำแหน่งในการติดตั้งโปรแกรมลงในเครื่องคอมพิวเตอร์ของผู้ใช้งาน ดังรูปที่ ง.4 ผู้ใช้งานสามารถเลือกตำแหน่งที่จะติดตั้งได้เอง หรือเลือกใช้ตำแหน่งตามที่โปรแกรมกำหนดได้

2.6 เมื่อเลือกตำแหน่งติดตั้งเสร็จ ทำการคลิกที่ปุ่ม “Next>” 1 ครั้ง



รูปที่ ง.4 แสดงหน้าต่างเลือกตำแหน่งสำหรับติดตั้งโปรแกรม

2.7 ตั้งชื่อ และตำแหน่งติดตั้งไอคอน เพื่อเรียกใช้โปรแกรม ดังรูปที่ ง.5

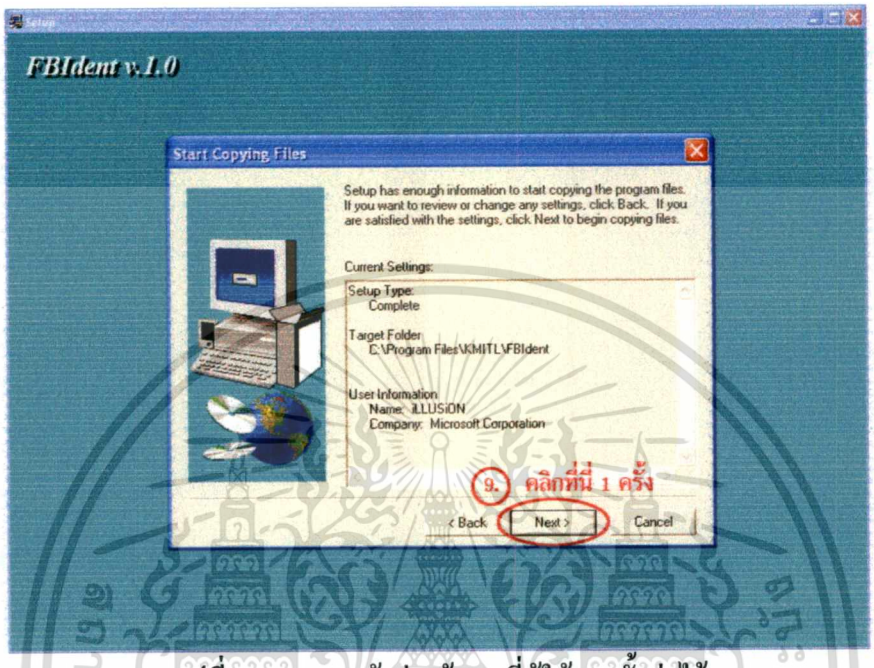


รูปที่ ง.5 แสดงหน้าต่างตั้งชื่อ และตำแหน่งติดตั้งไอคอน เพื่อเรียกใช้โปรแกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

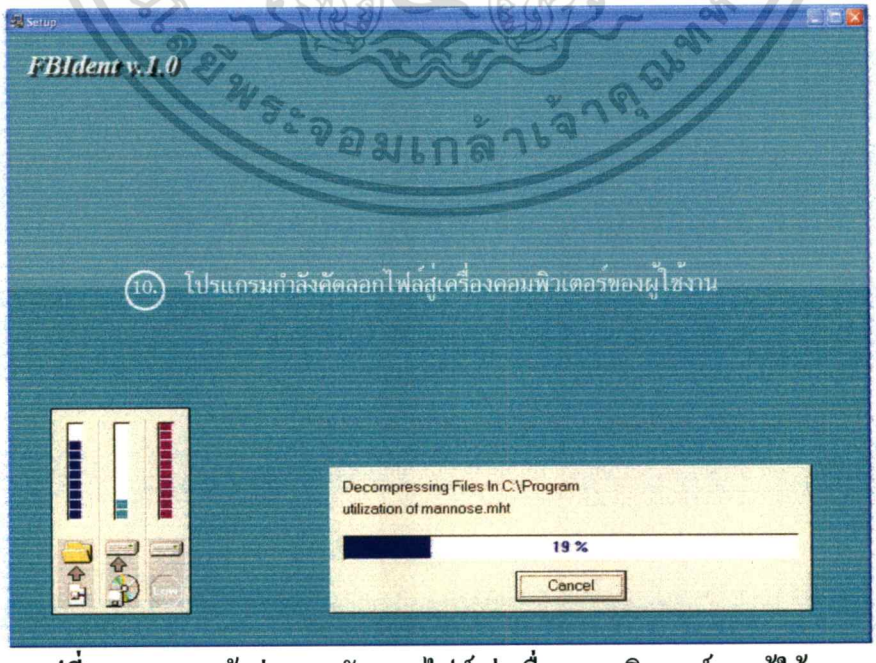
2.8. ทำการคลิกที่ปุ่ม “Next>” 1 ครั้ง

2.9 รูปที่ ง.6 จะแสดงข้อมูลข้อมูลตามที่ผู้ใช้งานตั้งค่าไว้ หากต้องการเปลี่ยนแปลงการตั้งค่า สามารถคลิกที่ปุ่ม “Back>” เพื่อกลับไปตั้งค่าใหม่ได้ หรือคลิกที่ปุ่ม “Next>” เพื่อทำการติดตั้งโปรแกรมต่อไป



รูปที่ ง.6 แสดงหน้าต่างข้อมูลที่ผู้ใช้งานตั้งค่าไว้

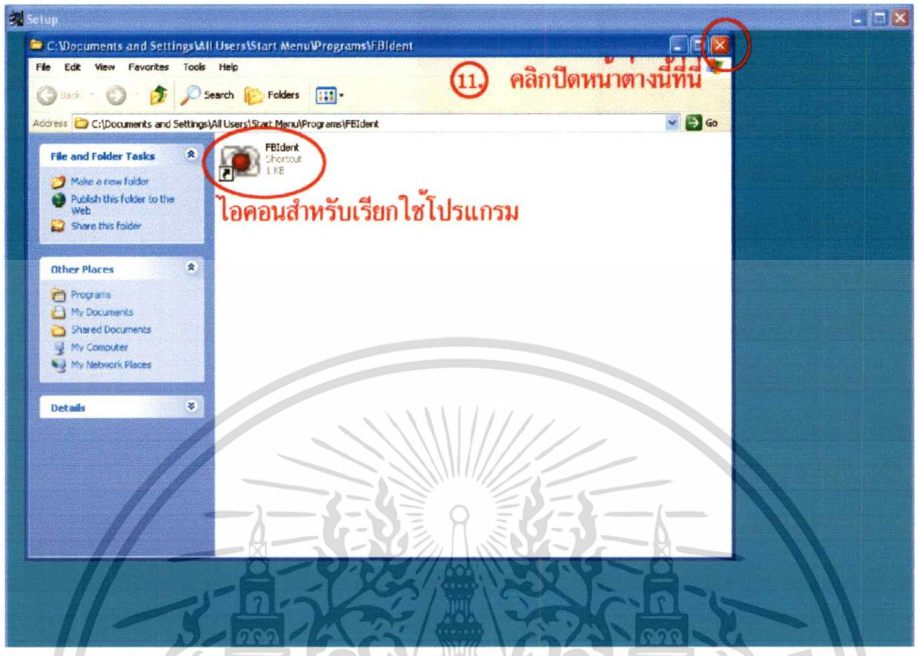
2.10 จากรูป ง.7 แสดงการเริ่มคัดลอกไฟล์จากซีดีรอม เพื่อติดตั้งโปรแกรมลงบนเครื่องคอมพิวเตอร์ของผู้ใช้งาน



รูปที่ ง.7 แสดงหน้าต่างการคัดลอกไฟล์ สู่เครื่องคอมพิวเตอร์ของผู้ใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

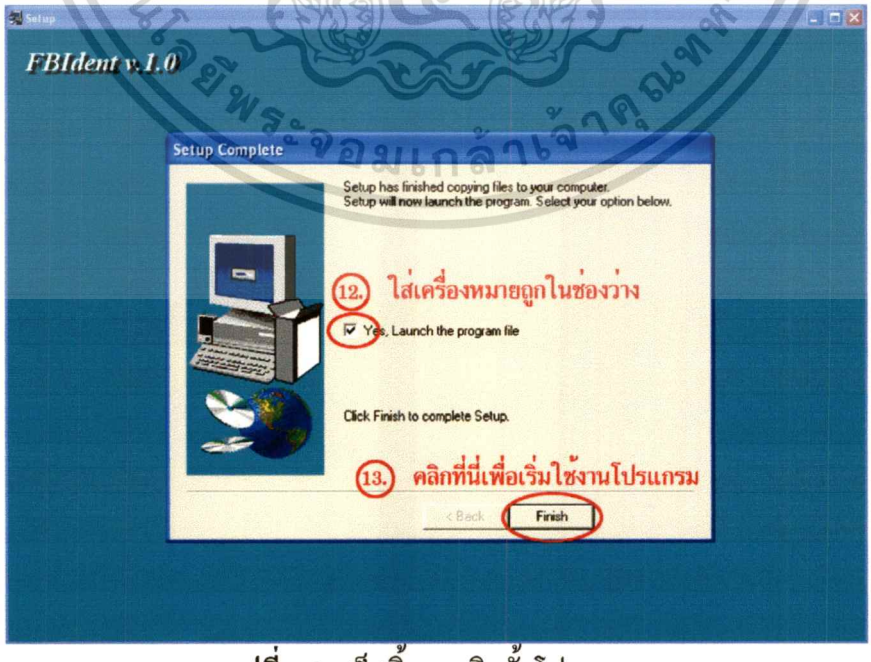
2.11 หลังจากคัดลอกไฟล์เสร็จ จะปรากฏหน้าต่างแสดงไอคอนสำหรับเรียกใช้งาน ทำการปิดหน้าต่างนี้ โดยการคลิกที่เครื่องหมายกากบาทที่บริเวณมุมขวาบนสุด ดังรูปที่ ง.8



รูปที่ ง.8 แสดงหน้าต่าง ตำแหน่งของไอคอนสำหรับการเรียกใช้โปรแกรม

2.12 การติดตั้งเสร็จสิ้น คลิกเลือกที่ "Yes, Launch the program file" ดังรูปที่ ง.9

2.13 คลิกที่ปุ่ม "Finish" เพื่อเริ่มการใช้งานโปรแกรม

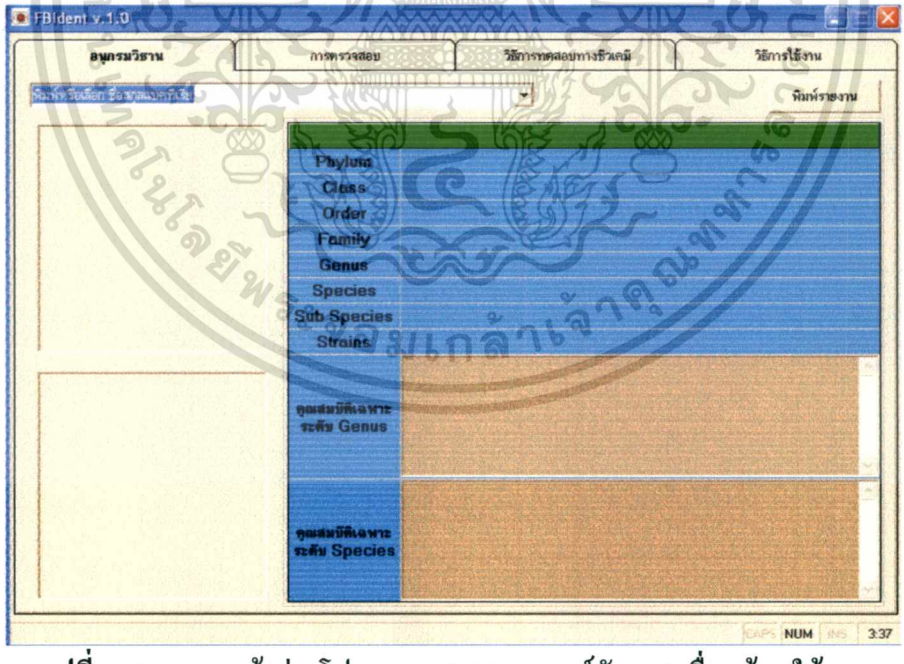


รูปที่ ง.9 เสร็จสิ้นการติดตั้งโปรแกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเริ่มเข้าสู่โปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 จะแสดงหน้าต่างดังรูปที่ ง.10 และรูปที่ ง.11 ตามลำดับ

รูปที่ ง.10 แสดงหน้าต่างเมื่อเริ่มเข้าสู่การใช้งานโปรแกรม FBIdent เวอร์ชั่น 1.0



รูปที่ ง.11 แสดงหน้าต่างโปรแกรม FBIdent เวอร์ชัน 1.0 เมื่อพร้อมใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นายคมรัชกร ราชสมบัติ เกิดเมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธุ์ พ.ศ. 2519 ปัจจุบันอาศัยอยู่บ้านเลขที่ 362 หมู่ที่ 1 ตำบลอาจสามารถ อำเภออาจสามารถ จังหวัดร้อยเอ็ด ในปี พ.ศ. 2542 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี เข้าทำงานที่อุทยานแห่งชาติเขาพระวิหารในตำแหน่งนักวิชาการ หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้