ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

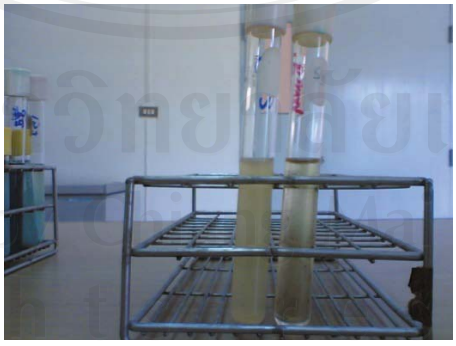
ขั้นตอนการเก็บตัวย่างเพื่อนำมาเพาะเชื้อซัลโมเนลล่า

ภาพ 1 นำตัวอย่างมูลที่เก็บได้มาชั่งน้ำหนัก

ภาพ 2 เติม NB ลงไปในตัวอย่างปริมาณ 10 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง

ภาพ 3 ผสมสารแขวนลอยมูลให้เข้ากันกับ NB

ภาพ 4 ดูดสารแขวนลอยมูล10 ml มาใส่ในหลอด NB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศา นาน 18-24 ชั่วโมง



1 2

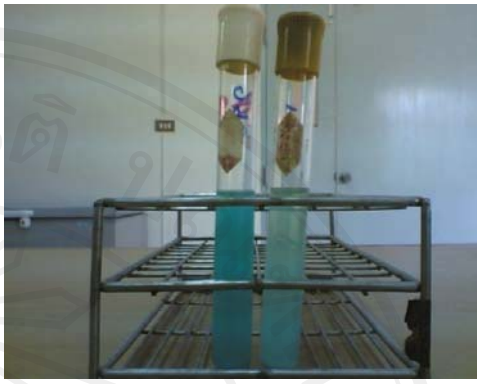
ภาพ 5 สารแขวนลอยมูลที่มีเชื้อจะมีลักษณะขุ่นดังหลอดที่ 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขั้นตอนการเก็บตัวย่างเพื่อนำมาเพาะเชื้อซัลโมเนลล่า (ต่อ)

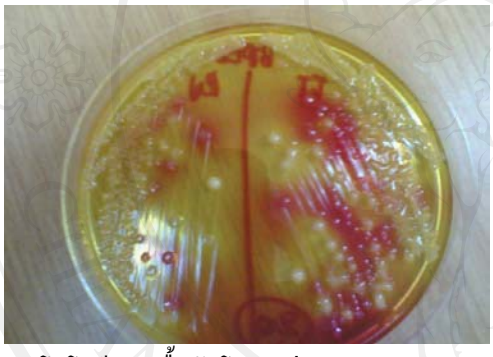
1 2

ภาพ 6 หลอดที่มีเชื้อใน RV broth จะมีขุ่น ดังหลอดที่ 2

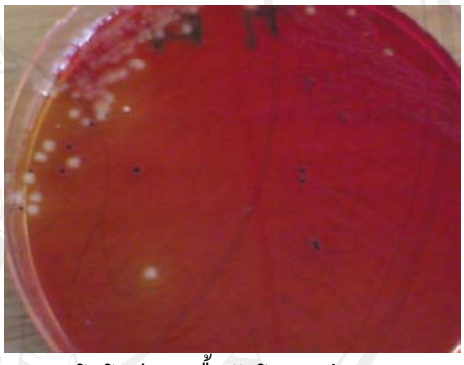


1 2

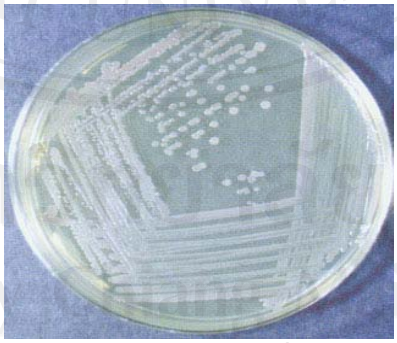
ภาพ 7 หลอดที่มีเชื้อใน TT brothจะมีขุ่นดังหลอดที่2



ภาพ 8 โคโลนีของเชื้อซัลโมเนลล่า บน BPLS agar จะกลม นูนเล็กน้อย สีชมพู และสีของอาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆ จะเปลี่ยนเป็นสีแดง หรือสีชมพู



ภาพ 9 โคโลนีของเชื้อซัลโมเนลล่าบน XLT4 agar จะกลม นูน ใส กลางโคโลนีมีจุดสีดำ (สร้าง ไฮโดเจนซัลไฟต์ : H2S)



ภาพ 10 นำโคโลนีที่เป็นซัลโมเนลล่ามาเพาะลงบน NA เพื่อใช้ในการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และการทดสอบอื่นๆ อีกต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อซัลโมเนลล่า

1 2 3

ภาพ 11 การทดสอบการหาเอนไซม์ urease (Urease Test)

เชื้อซัลโมเนลล่าให้ผลการทดสอบ เป็นผลลบ (-) คือไม่มีการเปลี่ยนสีอินดิเตเตอร์ คือ phenol red จากสีเหลืองเป็นสีชมพู ดังหลอดทดลองที่ 3

1 2 3 4

ภาพ 12 การทดสอบ MIL Media (Motility Indole Lysine)

แบ่งเป็น 3 การทดสอบดังนี้

1. การทดสอบการเคลื่อนที่(Motility Test)

เชื้อซัลโมเนลล่าให้ผลการทดสอบเป็นบวก (+) เห็นการเจริญของเชื้อออกนอกรอย stab อย่างชัดเจนที่บริเวณรอย stab โดยเห็นขอบเขตของเชื้อที่เจริญอย่างชัดเจน

2. การทดสอบ Indole (Indole Test)

เชื้อซัลโมเนลล่าให้ผลการทดสอบเป็นลบ (-) คือ สีของรีเอเจนต์ไม่เปลี่ยนแปลง โดยหยด Kovac'sreagent ลงไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3-5 หยด เขย่าเบาๆ สังเกตสีที่เกิดขึ้น

3. การทดสอบ Lysine Iron Agar Test

เชื้อซัลโมเนลล่าให้ผลการทดสอบเป็น +/- สีม่วง(ผิววุ้น) +/สีม่วง(ก้นหลอด) - : แสดงว่าบนผิววุ้นมีการผลิตเอนไซม์ lysine decarboxylase และก้นหลอดเกิดสีม่วงไม่มีการผลิตเอนไซม์ lysine deamina ดังหลอดทดลองที่ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อซัลโมเนลล่า (ต่อ)

1 2 3 4 5

ภาพ 13 การทดสอบการใช้น้ำตาล (TRIPLE SUGAR IRON (TSI)Agar Test)

เชื้อซัลโมเนลล่าให้ผลการทดสอบเป็น K/A, Gas (+,-) H_2S (+) คือ บนผิววุ้น (slant) ที่มีสีแดง-ส้มซึ่งเป็นสีของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนไปเป็นสีแดงเข้ม(alkaline หรือ K) ส่วนที่ก้นหลอด (butt) เปลี่ยนจากสีแดง-ส้มเป็นสีเหลือง เกิดก๊าซ จะเห็นรอยแตก หรือสังเกตเห็นฟองอากาศ และการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ จะเห็นสีดำของตะกอน ดังหลอดทดลองที่ 4 และ 5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 1 3-tube MPN Table

No. of Tubes Positive in:			MPN in the inoculums of tubes
First Set	**Middle Set**	**Last Set**	
0	0	0	<0.03
0	0	1	0.03
0	0	2	0.06
0	0	3	0.09
0	1	0	0.03
0	1	1	0.061
0	1	2	0.092
0	1	3	0.12
0	2	0	0.062
0	2	1	0.093
0	2	2	0.12
0	2	3	0.16
0	3	0	0.094
0	3	1	0.13
0	3	2	0.16
0	3	3	0.19
1	0	0	0.036

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(ต่อ) ตาราง MPN

No. of Tubes Positive in:			MPN in the inoculums of tubes
First Set	Middle Set	Last Set	
1	0	1	0.072
1	0	2	0.11
1	0	3	0.15
1	1	0	0.073
1	1	1	0.11
1	1	2	0.15
1	1	3	0.19
1	2	0	0.11
1	2	1	0.15
1	2	2	0.20
1	2	3	0.24
1	3	0	0.16
1	3	1	0.20
1	3	2	0.24
1	3	3	0.29
2	0	0	0.091
2	0	1	0.14

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(ต่อ) ตาราง MPN

No. of Tubes Positive in:			MPN in the inoculums of tubes
First Set	Middle Set	Last Set	
2	0	2	0.20
2	0	3	0.26
2	1	0	0.15
2	1	1	0.20
2	1	2	0.27
2	1	3	0.34
2	2	0	0.21
2	2	1	0.28
2	2	2	0.35
2	2	3	0.42
2	3	0	0.29
2	3	1	0.36
2	3	2	0.44
2	3	3	0.53
3	0	0	0.23
3	0	1	0.39
3	0	2	0.64

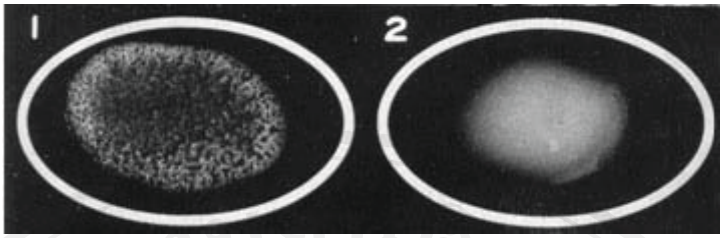
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(ต่อ) ตาราง MPN

No. of Tubes Positive in:			MPN in the inoculums of tubes
First Set	**Middle Set**	**Last Set**	
3	0	3	0.95
3	1	0	0.43
3	1	1	0.75
3	1	2	1.2
3	1	3	1.6
3	2	0	0.93
3	2	1	1.5
3	2	2	2.1
3	2	3	2.9
3	3	0	2.4
3	3	1	4.6
3	3	2	11
3	3	3	>24

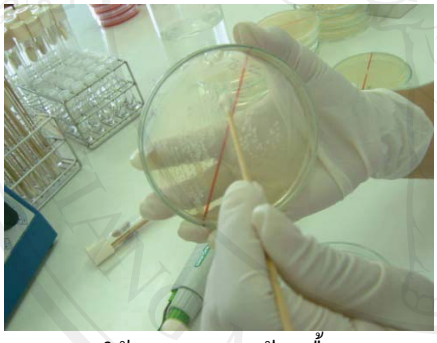
ที่มา: http://water.me.vccs.edu/courses/ENV108/mpntable.htm

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 14 แสดงผลบวกการทดสอบเชื้อกับ *Salmonella* antiserum โดยวิธี slide agglutination เชื้อเกิดตะกอนหยาบกับ *Salmonella* antiserum (1) และ เชื้อไม่เกิดตะกอนกับน้ำเกลือ (2)
ที่มา : http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=1079

ขั้นตอนการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal inhibitory concentration : MIC)



ภาพ 15 ใช้ cotton swab ป้ายเชื้อจาก NA

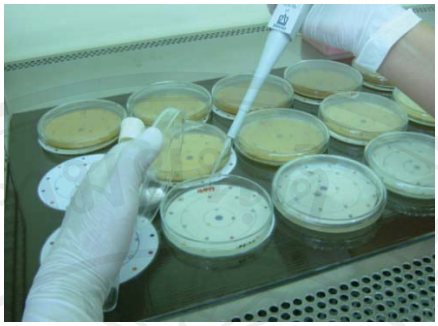
ภาพ 16 นำมาจุ่มใน NB

ภาพ 17 ปรับความข้นให้เท่ากับ 0.5 McFarland (มีเชื้อประมาณ 10^8 colony-forming unit)

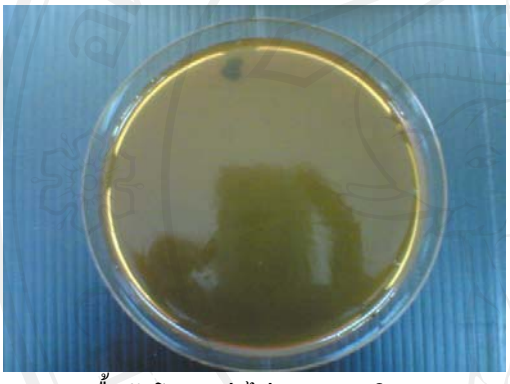
ภาพ 18 การเตรียม MHA ผสมกับสารสกัดหยาบหรือสารยูจีนอลมาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 6.250 ถึง 0.0610 µl/ml

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

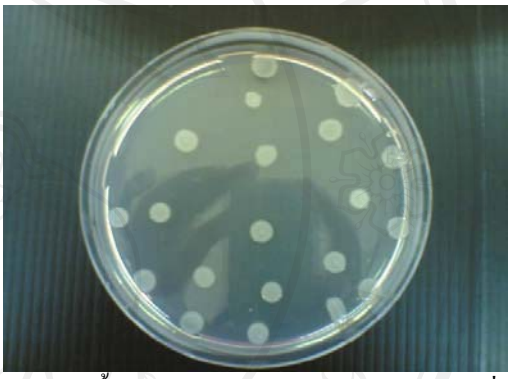
ขั้นตอนการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimal inhibitory concentration : MIC)(ต่อ)



ภาพ 19 หยดเชื้อซัลโมเนลล่าที่เตรียมไว้ลงบน MHA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศา นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วอ่านผล

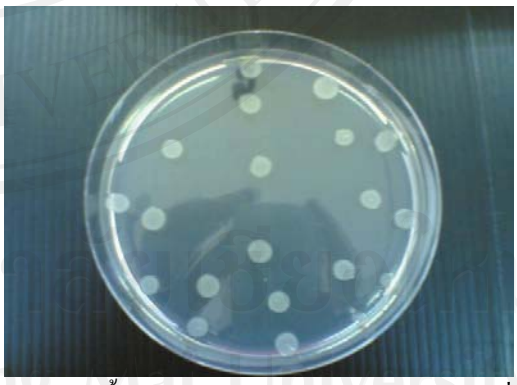


ภาพ 20 เชื้อซัลโมเนลล่าไม่สามารถเจริญบน MHA ที่ผสม สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1.250 µl/ml



ภาพ 21 เชื้อซัลโมเนลล่าสามารถเจริญบน MHAที่ผสมสารสกัดหยาบ ที่ความเข้มข้น 0.1953 µl/ml

ภาพ 22 เชื้อซัลโมเนลล่าไม่สามารถเจริญบน MHA ที่ผสมสารยูจีนอลที่ความเข้มข้น 0.7812 µl/ml



ภาพ 23 เชื้อซัลโมเนลล่าสามารถเจริญบน MHA ที่ผสมสารยูจีนอลที่ความเข้มข้น 0.0976 µl/ml

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2 การยับยั้งเชื้อซัลโมเนลล่าด้วยสารสกัดหยาบจากใบพลู

ลำดับ/วันที่	ชนิดของเชื้อ	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	control
1 (0)	*S.*Anatum	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
2(0)	*S.*Anatum	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
3(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
4(0)	*S.*Enteritidis	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
5(0)	*S.*Anatum	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
6(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
7(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
8(35)	*S.Stanley*	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
9(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
10(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
11(0)	*S.*Bezenhied	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
12(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
13(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
14(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
15(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
16(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
17(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
18(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
19(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
20(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
ความเข้มข้นของยา A= 6.250, B=3.125, C=1.5625, D=0.7812, E=0.3906 , F=0.1953 , G=0.0976, H=0.0488, I=0.0122, J=0.0061.K=0.061, ผล+/+ :ไม่สามารถยับยั้งได้, -/- :สามารถยับยั้งได้													

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 3 การยับยั้งเชื้อซัลโมเนลล่าด้วยสารยูจีนอลมาตรฐาน

ลำดับ/วันที่	ชนิดของเชื้อ	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	control
1 (0)	*S.*Anatum	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
2(0)	*S.*Anatum	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
3(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
4(0)	*S.*Enteritidis	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
5(0)	*S.*Anatum	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
6(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
7(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
8(35)	*S.Stanley*	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
9(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
10(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
11(0)	*S.*Bezenhied	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
12(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
13(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
14(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
15(0)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
16(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
17(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
18(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
19(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
20(35)	*S.*Stanley	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
ความเข้มข้นของยา A= 6.250, B=3.125, C=1.5625, D=0.7812, E=0.3906 , F=0.1953 , G=0.0976, H=0.0488, I=0.0122, J=0.0061.K=0.061, , ผล+/+ :ไม่สามารถยับยั้งได้, -/- :สามารถยับยั้งได้													

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวพิมพ์ภัทรา บุญเรืองไพศาล

วัน เดือน ปี เกิด 17 มีนาคม 2526

ประวัติการศึกษา ประถมศึกษา โรงเรียนคำเที่ยงอนุสรรณ์ ปีการศึกษา 2532 – 2537

มัธยมต้น โรงเรียนกาวิละวิทยาลัย ปีการศึกษา 2538 – 2540

มัธยมปลาย โรงเรียนกาวิละวิทยาลัย ปีการศึกษา 2541 – 2543

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์บางพระ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล

ภาคตะวันออก ปีการศึกษา 2544 – 2547

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีการศึกษา 2548 – ปัจจุบัน

ผลงานทางวิชาการ

พิมพ์ภัทรา บุญเรืองไพศาล นุชา สิมะสาธิกุล เกศินี เกตพยัคฆ์ ประภาวดี ไพรินทร์ ดวงพร พิชผล และภาวิน ผดุงทศ. ผลของสารสกัดหยาบจากใบพลู และสารยูจีนอลมาตรฐานต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonells spp.* สัมมนาวิชาการบัณฑิตศึกษาเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 5. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างวันที่ 3 – 4 ธันวาคม 2550. วารสารเกษตร. 23 (ฉบับพิเศษ) : หน้า 213 – 217

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved