

การประยุกต์ใช้วุ้นตามท้องตลาดเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการเรียนการสอนปฏิบัติการจุลชีววิทยา

เพลินพิศ หานนท์, กิตติพันธุ์ เสมอพิทักษ์, อรัญญา คงถาวร, กฤษณา ตระการไทย
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Application of Food Grade Agar for Preparation as Media Using in Microbiological Laboratory Learning

Ploenpit Hanond, Kittipan Samerpitak, Aranya Kongthawon, Krissana Thrakarathai
Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

หลักการและเหตุผล: เนื่องจากวุ้นที่ใช้ในงานปฏิบัติการจุลชีววิทยาจะเป็นวุ้นคุณภาพดี มีราคาแพง ดังนั้นการใช้วุ้นทำอาหารตามท้องตลาดมาทดลองเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ถ้าได้ผลที่ไม่ต่างกัน ย่อมจะสามารถใช้ทดแทนเพื่อลดต้นทุนโดยเฉพาะในงานการเรียนการสอนได้

วัตถุประสงค์: เพื่อประเมินศักยภาพของวุ้นตามท้องตลาดสำหรับการใช้ในการเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา สำหรับการเรียนการสอนปฏิบัติการจุลชีววิทยา

วิธีการ: ทดลองใช้วุ้นตามท้องตลาดเตรียมอาหาร Nutrient agar (NA) และ Sugar assimilation media สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย 86 สายพันธุ์ และใช้เตรียมอาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) เพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ 22 สายพันธุ์ (ราสาย 19 สายพันธุ์, ยีสต์ 3 สายพันธุ์) เปรียบเทียบคุณภาพและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ดังกล่าว กับอาหารที่เตรียมโดยวุ้นคุณภาพดีที่ใช้ประจำ

ผลการทดลอง: แบคทีเรียทั้ง 86 สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงใน NA และ Sugar assimilation media ที่เตรียมจากวุ้นตามท้องตลาดมีคุณภาพและคุณสมบัติ ไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เตรียมด้วยวุ้นคุณภาพดี สำหรับการใช้วุ้นตามท้องตลาดในอาหาร SDA พบว่าราสาย 9 สายพันธุ์ให้ผลการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างจากวุ้นคุณภาพดี ส่วน 5 สายพันธุ์ให้ผลดีกว่า และ 5 สายพันธุ์ให้ผลที่ด้อยกว่า (Paired t-test, $p < 0.05$) ส่วนการใช้เพาะเลี้ยงยีสต์ 3 สายพันธุ์ ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน

สรุป: การทดลองใช้วุ้นตามท้องตลาดในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (NA, Sugar assimilation media) และอาหารเลี้ยงเชื้อรา (SDA) ให้คุณภาพและการเจริญเติบโตของ

Background: Because the analytical-grade agar commonly used in microbiological laboratory is very expensive. The food-grade agar, the lower cost one, was introduced for preparation of commonly used media in attempt to reduce the cost of this purpose.

Objective: To assess the potentiality of the food grade agar in preparation of bacterial and fungal media for microbiological laboratory learning.

Methods: Eighty six strains of bacteria were cultivated on Nutrient agar (NA) and Sugar assimilation media, and twenty two fungal strains (19 molds, 3 yeasts) were cultivated on Sabouraud dextrose agar (SDA). These media were prepared by the food grade agar. The quality and quantity of these microorganism growth were compared to those of cultivation on media prepared by the analytical grade agar.

Results: All bacterial strains showed the similar characteristics and also biochemical and physiological properties whether cultivation on media prepared from food grade agar or analytical grade agar. Nine strains of molds showed no significant difference on both SDAs, while each of 5 strains on food grade agar-SDA were included in the less and better growth groups (Paired t-test, $p < 0.05$). And, three yeast strains showed no different characters on both SDAs.

Conclusion: In cultivation using bacterial media (NA, Sugar assimilation media) and fungal media (SDA) prepared by food grade agar, the main characteristics of

จุลินทรีย์เหล่านี้ไม่แตกต่างกัน น่าจะสามารถทดแทนคุณภาพดีในการเตรียมอาหารดังกล่าว สำหรับใช้ในการเรียนการสอนทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาได้

คำสำคัญ: อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย, อาหารเลี้ยงเชื้อทางจุลชีววิทยา

the tested microorganisms showed no difference when compared to those of media prepared by analytical grade agar. Therefore, the food grade agar could be employed for the laboratory learning purpose instead of the analytical grade agar.

Key word: bacterial media, microbiological media

ศรีนครินทร์เวชสาร 2550; 22(4): 376-83 • Srinagarind Med J 2007; 22(4): 376-83

บทนำ

โดยทั่วไปการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในงานการเรียนการสอนปฏิบัติการจุลชีววิทยา นิยมใช้วัตถุดิบคุณภาพดีและมีราคาแพง (Bacto agar ตรา Difco และ Bacto agar ตรา Pronadisa ราคากรัมละประมาณ 5-6 บาท) ถ้าต้องใช้อาหารในปริมาณมากๆ จะทำให้ต้นทุนในการจัดการดังกล่าวมีราคาแพงตามไปด้วยดังนั้นแนวคิดในการใช้วัตถุดิบท้องตลาดซึ่งราคาถูกกว่าประมาณ 5 เท่า มาประยุกต์ใช้ก็น่าจะสามารถช่วยลดต้นทุนของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวลงได้และเนื่องจากมีรายงานการใช้วัตถุดิบตามท้องตลาดมาประยุกต์ใช้ในงานอณูชีววิทยาได้ผลเป็นที่น่าพอใจ¹ แต่ยังไม่พบรายงานการศึกษาการประยุกต์ใช้วัตถุดิบตามท้องตลาดสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ออกแบบการทดลองเพื่อทำการวิจัยเรื่องนี้ขึ้น ณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้ เพื่อประเมินศักยภาพของวัตถุดิบตามท้องตลาดสำหรับการใช้ในการเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา สำหรับใช้ในการเรียนการสอนปฏิบัติการจุลชีววิทยา

วิธีการทดลอง

การทดลองใช้เตรียมเป็น Nutrient agar สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

เพาะเลี้ยงแบคทีเรียแกรมลบ 13 ชนิด (16 สายพันธุ์) และแบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิด (4 สายพันธุ์) โดยการ streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar plate (NA) (0.5% Peptone, 0.3% Beef extract, 1.5% agar) ซึ่ง NA ที่ใช้ จะเตรียมด้วยวัตถุดิบ 3 ชนิด ได้แก่ วัตถุดิบ Difco วัตถุดิบ Pronadisa และ วัตถุดิบโทรศัพท์ (รูปที่ 1) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหาร NA ชนิดละ 2 จานต่อเชื้อ 1 ชนิด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นศึกษา เปรียบเทียบ ลักษณะโคโลนี การติดสีแกรม รวมทั้งคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมีที่

ใช้ในการระบุชนิด^{2,3,4,5} ของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่เจริญบน NA ซึ่งเตรียมจากวัตถุดิบแต่ละชนิด

การทดลองใช้เตรียมเป็น Sugar assimilation media สำหรับทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรียแกรมบวก

เพาะเลี้ยงเชื้อ Staphylococcus aureus 56 สายพันธุ์ S. epidermidis 9 สายพันธุ์ และ Micrococcus 1 สายพันธุ์ โดยการ Stab เชื้อแต่ละสายพันธุ์ ลงในอาหารสำหรับทดสอบคุณสมบัติการใช้น้ำตาล Sugar assimilation media 2 ชนิด คือ PR-mannitol (1.6% Phenol red broth base, 1% mannitol, 0.4% agar) และ PR-glucose (1.6% Phenol red broth base, 1% glucose, 0.4% agar)^{2,3,4,5} ซึ่งเตรียมจากวัตถุดิบ Difco และ วัตถุดิบโทรศัพท์ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเปรียบเทียบผลการใช้น้ำตาลของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ในอาหารที่เตรียมจากวัตถุดิบทั้งสองชนิด

การทดลองใช้เตรียมเป็น Sabouraud dextrose agar สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อรา

สำหรับการทดลองกับยีสต์ จะเพาะเลี้ยงยีสต์ทั้ง 3 ชนิด ด้วยวิธี Streak plate technique บนอาหาร Sabouraud dextrose agar plate (SDA) (2% peptone, 4% dextrose, 1.5% agar) ที่เตรียมจากวัตถุดิบ 2 ชนิด คือ วัตถุดิบ Difco และ วัตถุดิบโทรศัพท์ ซึ่งใช้อาหารชนิดละ 2 จานต่อยีสต์ 1 ชนิด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน แล้ว เปรียบเทียบลักษณะโคโลนี จากนั้นศึกษารูปร่างเซลล์ยีสต์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ด้วยการเตรียมตัวอย่างวิธี Wet mount ด้วยสี lactophenol cotton blue⁶

ส่วนการทดลองกับราสายจะทำได้โดยเพาะเลี้ยงเชื้อราสาย 11 ชนิด (19 สายพันธุ์) ด้วยวิธี Point inoculation technique บนอาหาร SDA ที่เตรียมจากวัตถุดิบทั้ง 2 ชนิด ใช้อาหารชนิดละ 5 จานต่อเชื้อ 1 สายพันธุ์ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีตามเวลาที่กำหนด แล้ว

เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจากขนาดโคโลนีที่ได้ โดยใช้ Paired t-test, $p < 0.05$ และเปรียบเทียบลักษณะรูปร่างโครงสร้างของราสายแต่ละสายพันธุ์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์จากการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Slide culture technique^{6,7,8}

ผลการทดลอง

การทดลองใช้เตรียมเป็น Nutrient agar สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรียทั้ง 16 ชนิดให้ลักษณะโคโลนีและการติดสีแกรมที่ไม่แตกต่างกันเมื่อเลี้ยงบนอาหาร NA ที่เตรียมจากวุ้นทั้ง 3 ชนิด และเมื่อนำแบคทีเรียที่เลี้ยงบน NA ที่เตรียมด้วยวุ้นตราโทรศัพท์ ไปทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมีก็ไม่พบความแตกต่างกันในคุณสมบัติสำคัญที่ใช้ในการระบุชนิด พบแตกต่างเฉพาะการสร้างรงควัตถุของแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้น (ตารางที่ 1)

การทดลองใช้เตรียมเป็น Sugar assimilation media สำหรับทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรียแกรมบวก

แบคทีเรียกลุ่ม Gram positive cocci ทั้ง 66 สายพันธุ์ให้ผลบวกและผลลบของการทดสอบ Sugar assimilation ที่ตรงกันทุกสายพันธุ์ในอาหารที่เตรียมจากวุ้นตรา Pronadisa และตราโทรศัพท์ (100% agreement) (รูปที่ 2, 3 และ 4)

การทดลองใช้เตรียมเป็น Sabouraud dextrose agar สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อรา

จากการศึกษาอัตราเมื่อเลี้ยงในอาหารทั้งสองชนิดพบว่าในยีสต์แต่ละชนิดไม่พบความแตกต่างทั้งลักษณะโคโลนีและรูปร่างของเซลล์ (รูปที่ 5 และ 6)

เมื่อเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตจากขนาดของโคโลนีด้วยสถิติ Paired t-test, $p < 0.05$ สามารถแบ่งราสายทั้ง 19 สายพันธุ์ออกเป็นสามกลุ่ม (ตารางที่ 2) กลุ่มแรกมี 5 สายพันธุ์ที่เจริญบนอาหารที่เตรียมด้วยวุ้นตรา Difco ได้ดีกว่า (รูปที่ 7) กลุ่มที่ 2 มี 5 สายพันธุ์ซึ่งจะเจริญบนอาหารที่เตรียมด้วยวุ้นตามท้องตลาดได้ดีกว่า (รูปที่ 8) กลุ่มสุดท้ายมี 9 สายพันธุ์เจริญบนอาหารที่เตรียมด้วยวุ้นทั้งสองชนิดไม่ต่างกัน (รูปที่ 9) ส่วนการเปรียบเทียบลักษณะรูปร่างและโครงสร้างพบว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารทั้งสองชนิด ทั้ง 19 สายพันธุ์ยังคงสร้างลักษณะสำคัญในการระบุชนิดได้อย่างไม่แตกต่างกัน

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

การใช้วุ้นตราโทรศัพท์ซึ่งเป็นวุ้นทำอาหารที่มีขายตามท้องตลาดเตรียมเป็นอาหาร Nutrient agar ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการเรียนการสอนปฏิบัติการจุลชีววิทยา

จะให้คุณภาพของเชื้อแบคทีเรียทั้งลักษณะรูปร่างโครงสร้างรวมทั้งคุณลักษณะสำคัญทางสรีรวิทยาและชีวเคมีที่แทบจะไม่แตกต่างจาก Nutrient agar ซึ่งเตรียมจากวุ้นคุณภาพดี ราคาแพงที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าวุ้นตราโทรศัพท์ที่ผสมในอาหารไม่มีสารรบกวนการเจริญเติบโตหรือทำลายคุณสมบัติสำคัญของแบคทีเรียแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบและผลที่ได้นี้ก็สอดคล้องกับผลการทดลองใช้วุ้นตามท้องตลาดเตรียมเป็นอาหารทดสอบคุณสมบัติเฉพาะ สำหรับใช้ทดสอบคุณสมบัติในการใช้น้ำตาลของเชื้อแบคทีเรีย กลุ่ม Gram positive cocci ซึ่งให้ผลบวกและลบของการใช้น้ำตาลที่ไม่แตกต่างกันกับผลที่ได้จากอาหารซึ่งเตรียมจากวุ้นคุณภาพดี

ส่วนการใช้วุ้นตราโทรศัพท์เตรียมเป็นอาหาร Sabouraud dextrose agar ในการเพาะเลี้ยงเชื้อราสาย 19 สายพันธุ์ที่ใช้ในการเรียนการสอน แม้ว่าจะมีราสาย 5 สายพันธุ์ที่อัตราการเจริญเติบโตที่น้อยกว่า SDA ที่เตรียมจากวุ้นคุณภาพดี แต่ก็ยังมีราสายอีก 5 สายพันธุ์ที่ให้ผลดีกว่า รวมทั้งราสายอีก 9 สายพันธุ์ที่ให้ผลไม่แตกต่างกันในการเจริญเติบโต ซึ่งผลที่เกิดขึ้นดังกล่าวน่าจะเกิดจากทั้งคุณสมบัติเฉพาะของเชื้อราแต่ละสายพันธุ์ รวมไปถึงสารบางอย่างที่อยู่ในวุ้นทั้งสองชนิดแต่อย่างไรก็ตาม จากรูปตัวอย่างกราฟเปรียบเทียบขนาดของโคโลนีของเชื้อราสายที่ให้ผลการเติบโตต่างกันและไม่ต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 8, 9 และ 10 ขนาดของโคโลนีดังกล่าวแทบจะไม่ถือเป็นข้อได้เปรียบหรือเสียเปรียบอย่างชัดเจนจนส่งผลเสียหายต่อการนำเชื้อราดังกล่าวไปใช้ในการเรียนการสอน เพราะคุณลักษณะรูปร่างและโครงสร้างที่สำคัญที่เป็นลักษณะเฉพาะสำหรับการระบุชนิดของเชื้อราสายเหล่านี้ รวมไปถึงยีสต์ทั้งสามชนิดที่ใช้ทดสอบ ไม่มีความแตกต่างกันไม่ว่าจะเพาะเลี้ยงในอาหาร SDA ที่เตรียมจากวุ้นตราโทรศัพท์หรือวุ้นคุณภาพดี

เนื่องจาก Nutrient agar, sugar assimilation media และ Sabouraud dextrose agar เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั้งงานการเรียนการสอนและงานวินิจฉัยโรคติดเชื้อ ผลการทดลองในครั้งนี้ ได้ช่วยพิสูจน์ว่าวุ้นตามท้องตลาด สามารถใช้เตรียมอาหารเหล่านี้ได้ และให้ผลการเพาะเลี้ยงที่น่าเชื่อถือ ใกล้เคียงกับการใช้วุ้นคุณภาพดีสามารถใช้ทดแทนวุ้นคุณภาพดีที่ใช้ประจำได้

นอกจากนี้ควรมีการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้วุ้นชนิดนี้กับอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ ในลำดับต่อไป เนื่องจากราคาที่ถูกลงกว่าของวุ้นตามท้องตลาดจะสามารถช่วยลดต้นทุนของการจัดการเรียนการสอน หรือ แม้กระทั่งใช้ในงานบริการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาได้

ตารางที่ 1 แสดงคุณลักษณะของแบคทีเรีย 20 สายพันธุ์ ที่เลี้ยงบนอาหาร Nutrient agar(NA) ที่เตรียมด้วยปูน 3 ชนิด

คุณลักษณะ	<i>E. coli</i> ATCC 25922				<i>E. coli</i> สายพันธุ์ 1				<i>E. coli</i> สายพันธุ์ 2				<i>Klebsiella</i> sp.				<i>Enterobacter</i> sp.			
	NA Difco	NA Promadisa	NA ไชรศัพท์	NA ไชรศัพท์	NA Difco	NA Promadisa	NA ไชรศัพท์	NA ไชรศัพท์	NA Difco	NA Promadisa	NA ไชรศัพท์	NA ไชรศัพท์	NA Difco	NA Promadisa	NA ไชรศัพท์	NA ไชรศัพท์	NA Difco	NA Promadisa	NA ไชรศัพท์	NA ไชรศัพท์
โคไลดี	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น
การติดสีไกรมและรูปร่าง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง
TSI	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	A/AG	K/A	K/A	K/A	K/A
MI	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Lysine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
UP	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Citrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
คุณลักษณะ																				
<i>Salmonella</i> sp.				<i>Shigella</i> sp.				<i>Proteus mirabilis</i>				<i>Chromobacterium violacium</i>				<i>Serratia marcescens</i>				
โคไลดี	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น	กล่มนูน สีขาวขุ่น
การติดสีไกรมและรูปร่าง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง	แฉ่ง
TSI	K/A ⁺	K/AG ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/A ⁺	K/AG	K/AG	K/AG	K/AG
MI	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Lysine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
UP	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ตารางที่ 1 (ต่อ)

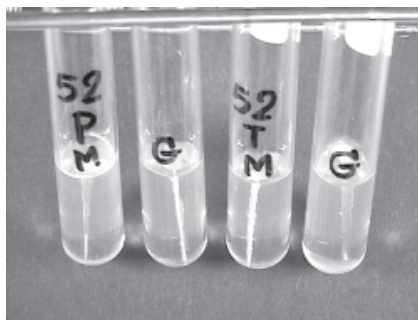
คุณลักษณะ	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853				<i>P. aeruginosa</i> สายพันธุ์ 1				<i>Burkholderia pseudomallei</i>				<i>Acinetobacter lawffei</i>				<i>A. baumannii</i>			
	NA Difco	NA Promadisa	NA โจรสัฟท์	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล
ได้ผล	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
การติดสีแกรม	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TSI	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N	K/N
MN	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10% lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OF-glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
OF-maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
คุณลักษณะ	<i>Neisseria sicca</i>				<i>Staphylococcus epidermidis</i>				<i>S. aureus</i> ATCC 25923				<i>S. aureus</i>				<i>Bacillus</i> sp.			
	NA Difco	NA Promadisa	NA โจรสัฟท์	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล	วุ้นสร้าง รงควัดสุ น้ตาล
ได้ผล	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
การติดสีแกรม และรูปร่าง	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CTA glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CTA maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CTA sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PR glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PR mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Coagulase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sach hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ตารางที่ 2 ผลการเจริญเติบโตของราสายชนิดต่างๆ บนอาหาร Sabouraud dextrose agar ที่เตรียมด้วยวุ้นสองชนิด, Paired t-test, $p < 0.05$

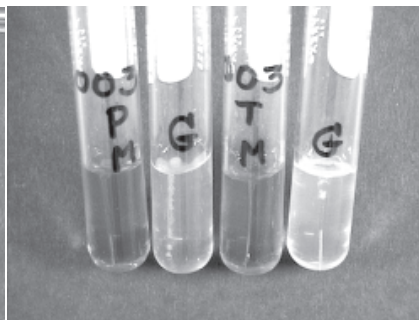
การเจริญเติบโต(เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี) บน SDA ที่เตรียมด้วย วุ้นตรา Difco ดีกว่า	การเจริญเติบโต(เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี) บน SDA ที่เตรียมด้วย วุ้นตราโทรศัพท์ดีกว่า	การเจริญเติบโต(เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี) บน SDA ที่เตรียมด้วย วุ้นทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกัน
<i>Aspergillus fumigatus</i> strain N <i>E. floccosum</i> strain O <i>Rhizopus</i> sp. strain N <i>Rhizopus</i> sp. strain O <i>T. mentagrophytes</i> strain O	<i>Epidermophyton floccosum</i> strain N <i>Microsporum gypseum</i> strain N <i>M. gypseum</i> strain O <i>Penicillium</i> sp. strain N <i>Penicillium</i> sp. strain O	<i>A. flavus</i> strain N <i>A. flavus</i> strain O <i>A. fumigatus</i> strain O <i>A. niger</i> strain N <i>A. niger</i> strain O <i>Cladosporium</i> sp. <i>Fonsecaea pedrosoi</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> strain N <i>T. rubrum</i>
รวม 5 สายพันธุ์	รวม 5 สายพันธุ์	รวม 9 สายพันธุ์



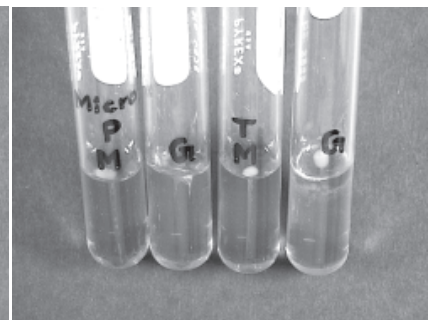
รูปที่ 1 วุ้น 3 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง Pronadisa (ซ้าย) ตราโทรศัพท์ (กลาง) Difco (ขวา)



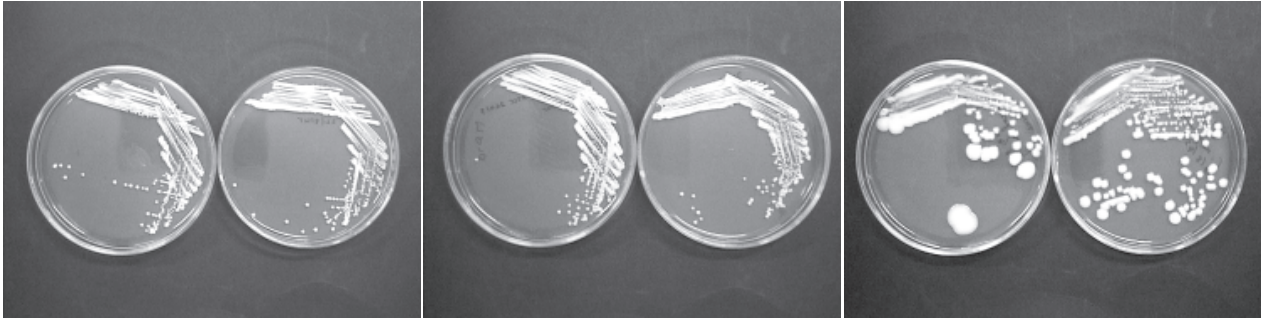
รูปที่ 2 ผล Sugar assimilation :
ของ *Staphylococcus aureus*
M(mannitol) +, G(glucose) +
P=Pronadisa, T= โทรศัพท์



รูปที่ 3 ผล Sugar assimilation
ของ *S. epidermidis*
M(mannitol) -, G(glucose) +
P=Pronadisa, T= โทรศัพท์



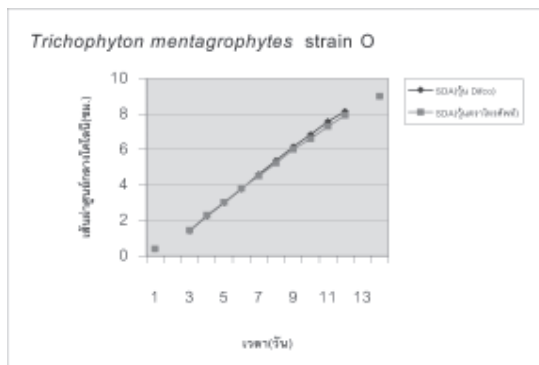
รูปที่ 4 ผล Sugar assimilation
ของ *Micrococcus* sp.
M(mannitol) -, G(glucose) -
P=Pronadisa, T= โทรศัพท์



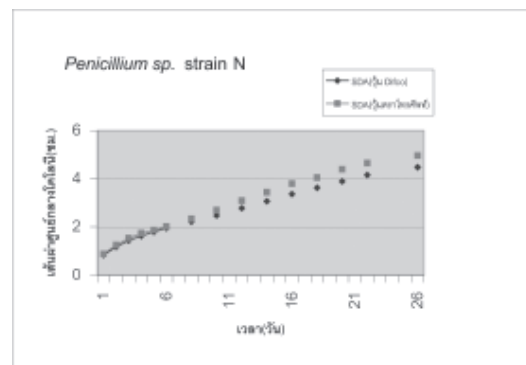
รูปที่ 5 ลักษณะโคโลนีของ *Candida albicans* บน SDA ที่เตรียมจากวุ้นตราโทรศัพท์ (ซ้าย) และ Difco (ขวา)

รูปที่ 6 ลักษณะโคโลนีของ *Candida parapsilosis* บน SDA ที่เตรียมจากวุ้นตราโทรศัพท์ (ซ้าย) และ Difco (ขวา)

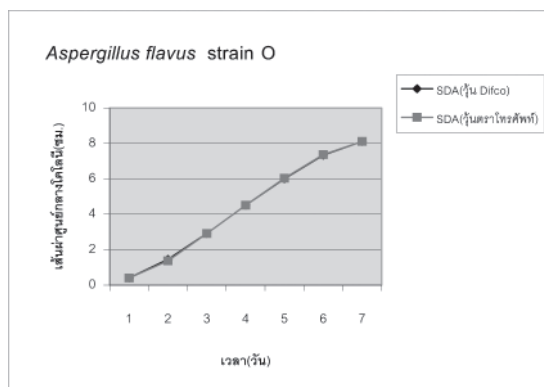
รูปที่ 7 ลักษณะโคโลนีของ *Cryptococcus neoformans* บน SDA ที่เตรียมจากวุ้นตราโทรศัพท์ (ซ้าย) และ Difco (ขวา)



รูปที่ 8 กราฟการเจริญเติบโตของ *Trichophyton mentagrophytes* strain O ในอาหาร SDA ทั้งสองชนิด แสดงผลที่ดีกว่าในอาหารเตรียมจากวุ้นตรา Difco อย่างมีนัยสำคัญ Paired t-test, $p < 0.05$



รูปที่ 9 กราฟการเจริญเติบโตของ *Penicillium sp.* strain N ในอาหาร SDA ทั้งสองชนิด แสดงผลที่ดีกว่าในอาหารที่เตรียมจากวุ้นตราโทรศัพท์ อย่างมีนัยสำคัญ Paired t-test, $p < 0.05$



รูปที่ 10 กราฟการเจริญเติบโตของ *A. flavus* strain O ในอาหาร SDA ที่เตรียมด้วยวุ้นทั้งสองชนิด, แสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ Paired t-test, $p < 0.05$

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับสนับสนุนทุนในการวิจัยบางส่วน และขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อังคณา ฉายประเสริฐ จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความอนุเคราะห์สายพันธุ์เชื้อรา

เอกสารอ้างอิง

1. จุฬารัตน์ ปริญญาติกุล, ภัทราภรณ์ ก้านสิทธิ์, วิจิตรา สุขรมย์, พรทิพย์ ปิ่นละอ, อรุณีย์ สังกา, เสกสิทธิ์ สังศิริ. การใช้ผงวุ้นไทยในงานทางชีวโมเลกุล. การประชุมวิชาการทางเทคนิคการแพทย์ครั้งที่ 27 : การวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการสู่การประยุกต์ใช้ทางคลินิก (Laboratory Investigation from lab to Clinical use). สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย. 2546: 237.
2. จริยา ชมวารินทร์, กิตติพันธุ์ เสมอพิทักษ์, นเรศ วโรภาสตระกูล. แบบที่เรียวยาวทางการแพทย์ พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2541.
3. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM. Zinsser Microbiology 20th ed. Connecticut : Prentice Hall, 1992.
4. Collee JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A. Mackie & McCartney Practical Medical Microbiology 14th ed. New York: Churchill Livingstone, 1996.
5. Borriello SP, Murray PR, Funke G. Topley & Wilson Microbiology & Microbial infection 10th ed.; Bacteriology Volume 2 Part VI Organisms and their biology. London : Hodder Arnold, 2005.
6. กิตติพันธุ์ เสมอพิทักษ์. การเพาะเลี้ยงและระบุเชื้อรา. ใน: กิตติพันธุ์ เสมอพิทักษ์, บก. วิทยาเชื้อราพื้นฐาน. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2546: 218-34.
7. Merz WG, Hay RJ. Topley & Wilson Microbiology & Microbial infection 10th ed. Medical Mycology. London: Hodder Arnold, 2005.
8. de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures/Universitat Rovira I Virgili 2000.

