

ภาคผนวก ก

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมตัวอย่างและสารเคมีในการทดลองที่ 1

1. น้ำสำหรับเจือจาง (diluent)

วัตถุประสงค์การใช้

- ตรวจวิเคราะห์ทั่วไป

น้ำยาสำหรับเจือจาง

- Peptone 0.1%

2. การเตรียมตัวอย่างหนังหมู

ใช้ปากคีบจุ่มแอลกอฮอล์ลงไฟจับหนังสุกร แล้วใช้กรรไกรจุ่มแอลกอฮอล์ลงไฟตัดหนังสุกรให้มีขนาด 21 x 30 cm. (ขนาดเท่ากระดาษ A4) จำนวน 3 แผ่น/ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำหนังสุกรมาแช่แอลกอฮอล์ 70% ใช้ปากคีบจุ่มแอลกอฮอล์ลงไฟจับหนังสุกร มาฟึ่งไว้บนตะแกรงให้แห้งสนิท แล้วนำมาใส่ถาดโฟม นำหนังสุกรที่ได้มาฆ่าเชื้อโดยการฉายรังสี UV ในตู้ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar flow) ด้านละ 15 นาที ให้ทั้ง 2 ด้าน

3. วิธีการทำให้ตัวอย่างเจือจาง (Serial dilution)

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

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

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

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

5) นำเชื้อตัวอย่างที่เจือจางแล้วไปทำต่อในข้อ 4

4. วิธีการ Pour plate

1) นำอาหาร TSA-YE มาหลอม แล้วปล่อยให้เย็นลงประมาณ 45 °C

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

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

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

5. การตรวจผล

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

2) การคำนวณจำนวนโคโลนี

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



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

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการทดลองใช้อาหาร TSA-YE และ TSB-YE

- 1) เตรียมอาหาร TSA-YE จำนวน 10 ขวด/ 1 ชั่วโมง ขวดละ 300 ml ใส่ในขวดขนาด 500 ml

$$\begin{array}{llll} \text{ใช้ TSB ; น้ำกลั่น} & 1000 \text{ ml} & \text{จะใช้ TSB} & 30 \text{ g} \\ \text{ถ้าใช้น้ำกลั่น} & 300 \text{ ml} & \text{จะใช้ TSB} & \frac{30 \times 300}{1000} = 9 \text{ g} \end{array}$$

$$\begin{array}{llll} \text{ใช้ YE ; น้ำกลั่น} & 100 \text{ ml} & \text{จะใช้ YE} & 0.5 \text{ g} \\ \text{ถ้าใช้น้ำกลั่น} & 300 \text{ ml} & \text{จะใช้ YE} & \frac{0.5 \times 300}{100} = 1.5 \text{ g} \end{array}$$

$$\begin{array}{llll} \text{ใช้ Agar ; น้ำกลั่น} & 100 \text{ ml} & \text{จะใช้ YE} & 1.5 \text{ g} \\ \text{ถ้าใช้น้ำกลั่น} & 300 \text{ ml} & \text{จะใช้ YE} & \frac{1.5 \times 300}{100} = 4.5 \text{ g} \end{array}$$

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

$$\begin{array}{llll} \text{ใช้ TSB ; น้ำกลั่น} & 1000 \text{ ml} & \text{จะใช้ TSB} & 30 \text{ g} \\ \text{ถ้าใช้น้ำกลั่น} & 10 \text{ ml} & \text{จะใช้ TSB} & \frac{30 \times 10}{1000} = 0.3 \text{ g} \end{array}$$

$$\begin{array}{llll} \text{ใช้ YE ; น้ำกลั่น} & 100 \text{ ml} & \text{จะใช้ YE} & 0.5 \text{ g} \\ \text{ถ้าใช้น้ำกลั่น} & 10 \text{ ml} & \text{จะใช้ YE} & \frac{0.5 \times 10}{100} = 0.05 \text{ g} \end{array}$$

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

$$\begin{array}{llll} \text{ใช้ Peptone ; น้ำกลั่น} & 100 \text{ ml} & \text{จะใช้ Peptone} & 0.1 \text{ g} \\ \text{ถ้าใช้น้ำกลั่น} & 1000 \text{ ml} & \text{จะใช้ Peptone} & \frac{0.1 \times 1000}{100} = 1 \text{ g} \end{array}$$

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

ใช้ Peptone ; น้ำกลั่น 100 ml จะใช้ Peptone 0.1 g

ถ้า น้ำกลั่น 99 ml จะใช้ Peptone $\frac{0.1 \times 99}{100} = 0.099 \text{ g}$

100

วิธีการเตรียมตัวอย่างและสารเคมีในการทดลองที่ 2

1. น้ำสำหรับเจือจาง(diluent)

วัตถุประสงค์การใช้

-ตรวจวิเคราะห์ทั่วๆไป

น้ำยาสำหรับเจือจาง

-NaCl 0.85%

2. การเตรียมสุกร

คัดเลือกสุกรขุนอายุประมาณ 6 เดือน งดอาบน้ำก่อนทำการทดลอง และขณะทำการทดลอง สุ่มแบ่งพื้นที่บนผิวหนังสุกร โดยเลือกพื้นที่บริเวณหลัง แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ขนาดประมาณ กระดาษ A4

3. วิธีการทำให้ตัวอย่างเจือจาง (Serial ditution)

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

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

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

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

5) นำเชื้อตัวอย่างที่เจือจางแล้วไปทำต่อในข้อ 4

4. วิธีการ Pour plate

1) นำอาหาร PCA มาหลอม แล้วปล่อยให้เย็นลงประมาณ 45°C

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

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

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

5. การตรวจผล

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

2) การคำนวณจำนวนโคโลนี

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

นิยมรายงานเป็น CFU (colony forming unit) ต่อ g หรือ ml

เช่น ที่ความเจือจาง 10^{-4} นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ยได้ 89.5 ดังนั้นจำนวนโคโลนีเท่ากับ 89.5×10^4 CFU/g. (กัญจนและคณะ, 2547)

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

6.1) วิธีการตรวจหา Coliform

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

2) นำหลอดดังกล่าวไปบ่มที่ 35 °C นาน 24-48 ชั่วโมง

3) ตรวจผลโดยดูหลอดที่เกิดฟองแก๊สใน fermentation tube

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

5) นำหลอดดังกล่าวไปบ่มที่ 35 °C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง

6) ตรวจผลหลอด BGLB ที่มีฟองแก๊สเกิดขึ้น

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

6.2) วิธีการตรวจวิเคราะห์ *E.coli*

1) ถ่ายเชื้อ 1 loop จากหลอด LST ที่มีฟองแก๊สลงในอาหาร EC broth

2) นำหลอดดังกล่าวไปบ่มที่ $45.5 \pm 0.02^{\circ}\text{C}$ นาน 48 ± 2 ชั่วโมง

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

4) นำหลอดดังกล่าวไปบ่มที่ 35 °C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง

5) โคโลนีของ *E.coli* จะมีลักษณะสีตรงกลางหรืออาจไม่มีก็ได้

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

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

การทดสอบ Biochemical test (IMvic test)

1) ทดสอบ Indole

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

2) ทดสอบ MR-VP

ถ่ายเชื้อจาก PCA Slant ลงในอาหาร MR-VP บ่มที่ 35 °C นาน 24±2 ชั่วโมง แล้ว แบ่งเป็น 2 ส่วน

2.1) ทดสอบ methyl red reaction โดยเติมสารละลาย methyl red 5 หยด ลงใน สารละลายเชื้อ โดยผลบวกจะให้สีแดง ผลลบจะให้สีเหลือง

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

3) ทดสอบ citrate

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

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

e. เตรียมอาหาร EMB จำนวน 1 ขวด ขวดละ 300 ml

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

f. เตรียมอาหาร Tryptophane broth จำนวน หลอด ขวดละ 2 ml

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

g. เตรียมอาหาร MR-VP จำนวน หลอด ขวดละ 2 ml

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

h. เตรียมอาหาร Koser citrate broth จำนวน หลอด ขวดละ 2 ml

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

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

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

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

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

หมายเหตุ : การเตรียม NaCl 0.85 % 10^{-1} จำนวน 15 หลอด/1 ชั่วโมง หลอดละ 10 ml
 10^{-2} - 10^{-8} จำนวน 135 หลอด/1 ชั่วโมง หลอดละ 9 ml

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

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

ภาคผนวก ข

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาต่างๆต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* ทั้งหมดบนหนังสุกรในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ผ่านยาเตร้าฟเวอโรโซล และยาเบตาดีน

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

เวลา(นาที)	จำนวนจุลินทรีย์													
	Control							Tetravet Aerosol(T1)						
	จำนวน เต็ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม
	จำนวน เต็ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม	จำนวน จุ่ม
0	10 ⁻¹	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300
	10 ²	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300
	10 ³	59,24	42,38	37,46	4,61	4,10x10 ⁴	4,61	142,176	60,78	201,219	60,70	2,00x10 ⁴	4,30	133,118
	10 ⁴	10,10	5,3	33,26	5,16	1,45x10 ⁵	5,16	2,11	2,11	29,25	11,26	6,70x10 ⁴	4,83	22,22
	10 ⁵	0,0	0,0	5,4	4,50x10 ⁵	5,65	5,65	1,0	1,0	3,21	2,6	1,73x10 ⁵	5,24	7,3
5	10 ⁻¹	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300
	10 ²	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300
	10 ³	59,47	181,166	29,35	4,63	4,25x10 ⁴	4,63	8,7	134,110	11,10	11,10	2,30x10 ³	3,36	0,0
	10 ⁴	6,8	24,20	13,18	3,75x10 ⁵	5,57	5,57	1,0	20,18	1,4	1,00x10 ⁵	5,00	3,94	0,0
	10 ⁵	2,0	4,1	2,1	2,00x10 ⁵	5,30	5,30	0,0	3,3	0,0	3,00x10 ⁵	5,48	0,0	0,0
60	10 ⁻¹	50,82	>300,>300	>300,>300	6,60x10 ²	2,82	2,82	1,2	>300,>300	163,172	163,172	1,68x10 ³	3,22	0,0
	10 ²	9,22	138,150	143,207	1,60x10 ⁴	4,20	4,20	1,1	>300,>300	147,141	147,141	1,44x10 ⁴	4,16	0,0
	10 ³	1,1	35,90	75,110	7,75x10 ⁴	4,89	4,89	0,0	207,215	117,108	117,108	8,09x10 ⁴	4,90	0,0
	10 ⁴	0,0	2,3	17,17	9,75x10 ⁴	4,99	4,99	0,0	22,39	32,30	32,30	3,08x10 ⁵	5,49	0,0
	10 ⁵	0,0	0,0	2,2	2,00x10 ⁵	5,30	5,30	0,0	18,4	2,2	2,2	6,50x10 ⁵	5,81	0,0
360	10 ⁻¹	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	102,98	4,2	14,18	14,18	9,50x10 ¹⁰	1,98	0,0
	10 ²	168,107	>300,>300	258,241	1,94x10 ⁴	4,29	4,29	45,41	1,0	5,8	5,8	2,48x10 ³	3,39	0,0
	10 ³	52,37	>300,>300	122,117	8,23x10 ⁴	4,92	4,92	5,3	0,0	6,6	6,6	5,00x10 ³	3,70	0,0
	10 ⁴	2,0	116,105	101,107	1,08x10 ⁶	6,03	6,03	0,2	0,0	1,1	1,1	1,50x10 ⁴	4,17	0,0
	10 ⁵	0,1	12,8	7,11	9,50x10 ⁵	5,98	5,98	0,0	0,0	2,0	2,0	2,00x10 ⁵	5,30	0,0
720	10 ⁻¹	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300	>300,>300
	10 ²	53,38	>300,>300	>300,>300	4,55x10 ³	3,66	3,66	68,85	263,236	254,264	254,264	2,54x10 ⁴	4,41	0,0
	10 ³	5,4	132,110	186,>300	1,21x10 ⁵	5,08	5,08	26,10	29,43	110,104	110,104	2,70x10 ⁴	4,43	0,0
	10 ⁴	0,0	51,39	79,57	5,65x10 ⁵	5,75	5,75	3,0	5,3	36,33	36,33	3,50x10 ⁴	4,54	0,0
	10 ⁵	0,0	8,6	16,9	9,75x10 ⁵	5,99	5,99	0,0	0,2	8,5	8,5	4,25x10 ⁵	5,63	0,0

1.18

2

0.1

1.0

0.0

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาต่างต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ร่วมทั้งหมดบนผิวหนังสัตว์มีกระดูกสันหลังในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่พ่นยาเตร้าวาทแออร์ โรซอด และยาเบตาดีน

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

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



