

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Nutrient agar (NA)

Beef extract	3	g
Peptone	5	g
Agar	15	g
น้ำกลั่น	1,000	ml

เติมน้ำกลั่น 1,000 mm ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง

Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 lbf/in² นาน 15 นาที

2. Nutrient Broth (NB)

Beef extract	3	g
Peptone	5	g
น้ำกลั่น	1,000	ml

เติมน้ำกลั่น 1,000 mm ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง

autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 lbf/in² นาน 15 นาที

3. Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef infusion	30	g
Casein acid hydrolysate	17.5	g
Starch	1.5	g
Agar	17.5	g
น้ำกลั่น	1,000	ml

เติมน้ำกลั่น 1,000 mm ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง

autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 lbf/in² นาน 15 นาที

4. ขั้นตอนการเตรียมกระดาษจุ่มสารสกัด (paper disc)

นำ paper disc (กระดาษกรอง No. 5) เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm ใส่ปิเปตอร์ ปิดฝาด้วยกระดาษฟอยด์ให้สนิท แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 lbf/in² นาน 15 นาที

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลาย McFarland standard No. 0.5

สารละลาย McFarland standard No. 0.5 จัดทำขึ้นเพื่อใช้เปรียบเทียบความขุ่นมาตรฐานของการเพาะเชื้อแบคทีเรียสำหรับการทดสอบความไว ซึ่งสารละลาย McFarland standard No. 0.5 สามารถเทียบได้กับจำนวนแบคทีเรีย 10^8 CFU/ml

ส่วนประกอบของ McFarland standard No. 0.5

Conc.H ₂ SO ₄ 1%	995.00 ml
BaCl ₂ .2H ₂ O 1 %	5.00 ml

อุปกรณ์และสารเคมี

1. BaCl₂
2. Conc.H₂SO₄
3. หลอดทดลอง
4. ปิเปต
5. ขวดปรับปริมาตร
6. เครื่องชั่ง

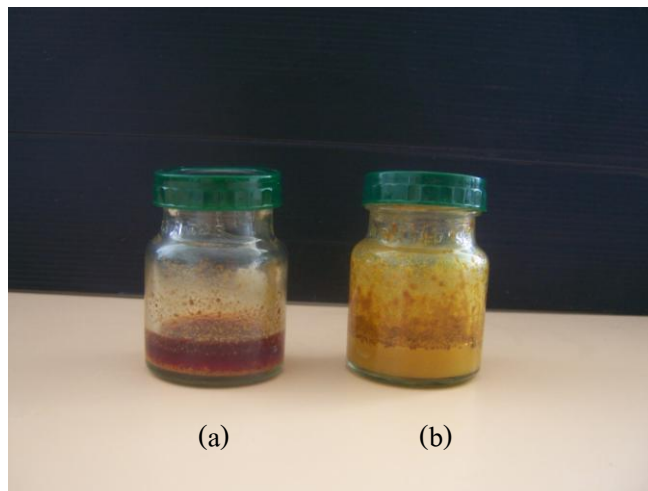
วิธีการเตรียม

1. ตู Conc.H₂SO₄ มา 10 ml ใส่ในปิเปตอร์ แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 L
2. ชั่งสาร BaCl₂ 1 g ใส่ในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 ml
3. นำสารละลายในข้อ 1 ปริมาตร 995 ml และสารละลายข้อ 2 ปริมาตร 5 ml มาผสมและคนให้เข้ากัน
4. นำสารละลาย McFarland standard No. 0.5 ที่ได้จากข้อ 3 มาบรรจุใส่หลอดฝาเกลียวปิดฝาให้สนิทกันการระเหย แล้วเก็บในที่มืด ที่อุณหภูมิ 2- 30 °C
5. ก่อนใช้งานต้องเขย่าเป็นเนื้อเดียวกัน
6. ควรตรวจสอบความขุ่นทุกเดือน อายุการใช้งานสามารถใช้ได้นานถึง 6 เดือน

ภาคผนวก ค

ลักษณะของสารสกัดและสารละลาย McFarland standard No. 0.5

ภาพที่ ผ-1 สารสกัดจากกิ่งสารภี (a) และดอกสารภี (b)



ภาพที่ ผ-2 สารละลาย McFarland standard No. 0.5

