

การเตรียม Potato dextrose broth

วัสดุ

1. มันฝรั่ง จำนวน 200 กรัม
2. Glucose จำนวน 20 กรัม
3. น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

นำมันฝรั่งที่ปอกเปลือกแล้วหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดเท่าๆ กัน นำไปต้มในน้ำกลั่น ในอัตราส่วนมันฝรั่ง 200 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดนาน 15 นาที แล้วกรองแยกส่วนน้ำออกมา เติม glucose ลงไปจำนวน 20 กรัม นำไปต้มให้ glucose ละลาย หลังจากนั้นนำไปนึ่งอบไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

การเตรียม RPMI-Glucose Agar ([http:// www.mycology.adelaide.edu.au/mycology/myc](http://www.mycology.adelaide.edu.au/mycology/myc))

วัสดุ (สำหรับเตรียม RPMI-Glucose Agar 100 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้น 10x)

1. MOPS จำนวน 34.53 กรัม
2. RPMI-1640 จำนวน 10.4 กรัม
3. Glucose จำนวน 18 กรัม
4. Agar granulated จำนวน 15 กรัม
5. Deionised water
6. น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. นำ MOPS ผสมกับ RPMI-1640 และ Glucose ละลายใน deionised water ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 10x) ให้เข้ากัน แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง milipore ที่มีรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร
2. นำ Agar granulated ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มให้วุ้นละลาย แล้วนำไปนึ่งอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที
3. นำสารละลายจากข้อ 1 ผสมกับวุ้นที่หั่นเป็นหลอดในอัตราส่วน 1:10 แล้วนำไปใช้ในการทดลอง

การเตรียม RPMI-Glucose Medium

วัสดุ

1. RPMI-1640 จำนวน 1.04 กรัม
2. MOPS จำนวน 1.73 กรัม
3. Glucose จำนวน 2 กรัม
4. Deionised water

วิธีการเตรียม

1. นำ RPMI-1640 ผสมกับ Glucose ละลายใน Deionised water ปริมาตร 80 มิลลิลิตร
2. นำ MOPS ละลายใน Deionised water ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จะให้ความเข้มข้น 0.165 M
3. ปรับ pH ของสารละลาย RPMI ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ให้ได้ pH 7.0 ด้วย MOPS (0.165 M) แล้วเติม Deionised water ให้ครบ 100 มิลลิลิตร นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง millipore ที่มีรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร

การเตรียม Oatmeal cereal agar (Jessup *et al.*, 2000)

วัสดุ

1. ข้าวโอ๊ต 100 กรัม
2. Agar granulated 15 กรัม
3. น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

นำข้าวโอ๊ต 100 กรัม บดในน้ำกลั่น กรองแยกส่วนน้ำออกมา เติม bacto agar 15 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนวุ้นละลายแล้วนำไปนึ่งอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปนึ่งอบไอน้ำที่อุณหภูมิและความดันเดียวกันซ้ำอีกครั้ง

การเตรียมแผ่นยา Amphotericin B

ผสมน้ำกลั่นไร้เชื้อปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในขวดยาที่มี Amphotericin B ผง 50 มิลลิกรัม จะได้ยาที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เจือจางยาต่อให้ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ไมโครปิเปตดูดมา 10 ไมโครลิตร หยอดลงตรงกลางแผ่น disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ทิ้งไว้ให้แห้ง จะได้แผ่นยาที่มีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อแผ่น