

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Alkaline peptone water (APW)

ส่วนประกอบต่อลิตร

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม

การเตรียม

ชั่งส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น ปรับให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร pH 8.5 นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. Thiosulfate citrate bile salt sucrose (TCBS) agar

ส่วนประกอบต่อลิตร

Yeast extract	5	กรัม
Proteose peptone No .3	10	กรัม
Oxgall	5	กรัม
Bromthymol blue	0.04	กรัม
Agar	15	กรัม
Saccharose	20	กรัม
Ferric citrate	10	กรัม
Sodium citrate	10	กรัม
Sodium thiosulfate	10	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
Thymol blue	0.04	กรัม

การเตรียม

ชั่ง TCBS agar 89 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เทใส่จานอาหารที่ปราศจากเชื้อ

3. Triple sugar iron (TSI) agar

ส่วนประกอบต่อลิตร

Beef extract	3	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Peptone	15	กรัม
Protease peptone	5	กรัม
Lactose	10	กรัม
Dextrose	1	กรัม
Sucrose	10	กรัม
Ferrous sulfate	0.2	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Sodium thiosulfate	0.3	กรัม
Agar	12	กรัม
Phenol red	0.024	กรัม

การเตรียม

ชั่ง TSI 65 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย แบ่งใส่หลอดขนาด 13x100 มิลลิลิตร ในปริมาตร 3.5 มิลลิลิตร นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

4. Lysine decarboxylase broth

ส่วนประกอบต่อลิตร

Peptone	5	กรัม
---------	---	------

Yeast extract	3	กรัม
Dextrose	1	กรัม
L-lysine	5	กรัม
Brom cresol purple	0.02	กรัม

การเตรียม

ชั่ง Lysine decarboxylase broth 14 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที เทใส่จานอาหารที่ปราศจากเชื้อ

5. Decarboxylase medium base

ส่วนประกอบต่อลิตร

Peptone	5	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Dextrose	1	กรัม
Brom cresol purple	0.02	กรัม

การเตรียม

ชั่ง Decarboxylase medium base 9 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มด้วยไฟอ่อนๆ เติม 10 กรัมของ amino acid ที่ต้องการทดสอบ ได้แก่ L-arginine.HCl หรือ L-ornithine.2HCl ปรับ pH 6.0 ด้วย 1.0 N HCl แบ่งใส่หลอดฝาเกลียวขนาด 13x100 มิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 10 นาที

6. 0 % NaCl

ชั่ง Nutrient broth 8 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยไม่ต้องเติม Sodium

chloride ต้มด้วยไฟอ่อนๆ แบ่งใส่หลอดขนาด 13x100 มิลลิลิตร ในปริมาตร 3 มิลลิลิตร
นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15
ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

7. 8 % NaCl

ชั่ง Nutrient broth 8 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร เติม Sodium chloride 80
กรัม ต้มด้วยไฟอ่อนๆ แบ่งใส่หลอดขนาด 13x100 มิลลิลิตร ในปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำ
ไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15
ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

8. Motility test medium

ส่วนประกอบต่อลิตร

Tryptose	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Agar	5	กรัม

การเตรียม

ชั่ง motility test medium 20 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้เดือด
จนวุ้นละลาย แบ่งใส่หลอดขนาด 13x100 มิลลิลิตร ในปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร นำไปเข้า
หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตา
รางนิ้ว นาน 15 นาที

9. Luria Bertani (LB) agar

ส่วนประกอบต่อลิตร

Tryptone	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Agar	15	กรัม

การเตรียม

ชั่ง LB agar 35 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้เดือดจนวุ้น
ละลายนำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความ
ดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที เทใส่จานอาหารที่ปราศจากเชื้อ

10. Luria Bertani (LB) broth

ส่วนประกอบต่อลิตร

Tryptone	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม

การเตรียม

ชั่ง LB broth 20 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่า
เชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว
นาน 15 นาที

11. Mueller Hinton broth

ส่วนประกอบต่อลิตร

Beef extract powder	2	กรัม
Acid digest of casein	17.5	กรัม
Soluble starch	1.5	กรัม

การเตรียม

ชั่ง Mueller Hinton broth 21 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มด้วยไฟ
อ่อนๆ แบ่งใส่หลอดขนาด 13x100 มิลลิลิตร ในปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปเข้าหม้อนึ่ง
ฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว
นาน 15 นาที

12. Mueller Hinton agar

ส่วนประกอบต่อลิตร

Beef infusion	300	กรัม
Casamino acids	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม

การเตรียม

ชั่ง Mueller Hinton agar 38 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้เดือดจนวุ้นละลาย แบ่งใส่หลอดฝาเกลียวขนาด 25x150 มิลลิลิตร ในปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เทใส่จานอาหารที่ปราศจากเชื้อ