

ภาคผนวก

การเตรียม 0.5 McFarland standard

เตรียมจาก 1% Sulfuric acid 99.5 ml ผสมกับ 1.175% Barium chloride 0.5 ml จากนั้นใส่หลอดฝาเกลียว เก็บไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่ง 0.5 McFarland standard มีปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 CFU/ml

การเตรียม Wagner's reagent

ซึ่ง Iodine 1.27 g ผสมกับ Potassium iodide 2 g ละลายในน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร 100 ml

การเตรียม Marme's reagent

ซึ่ง potassium iodide 20 g และ cadmium iodide 10 g ละลายในน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร 100 ml

การเตรียม Dragendorff's reagent

ประกอบด้วย bismuth subnitrate 8 g, nitric acid 20 ml และ potassium iodide 27.2 g ละลายในน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร 100 ml

การเตรียม Mayer's reagent (Potassium Mercuric Iodine TS)

ซึ่ง mercuric chloride 1.36 g และ potassium iodide 5 g ละลายในน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร 100 ml

การเตรียม Kedde's reagent

ซึ่ง 3,5-dinitrobenzoic acid 2 g ละลายใน ethanol ให้ครบปริมาตร 100 ml

การเตรียม Raymond's reagent

ซึ่ง *p*-dinitrobenzene 2 g ใน ethanol ให้ครบปริมาตร 100 ml

การเตรียม Iridoid's reagent

ประกอบด้วย glacial acetic acid 10 ml รวมกับ 2% copper sulfate 1 ml และ conc. hydrochloric acid 0.5 ml

ภาพผนวกที่ 1 ภาพแสดงโครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบแก่นฝางด้วย alcohol และ fraction ที่ 1-5

C คือ สารสกัดหยาบแก่นฝางด้วย alcohol

1-5 คือ fraction ที่ 1-5 ตามตารางที่ 15 หน้า 91

Stationary phase : Silica gel 60 GF₂₅₄

Solvent system : n-hexane-ethyl acetate (1:4)

Detection : UV lamp 254 nm

late lactose fermenter ดังนั้นเพื่อความรวดเร็ว ในการทดสอบความสามารถในการ ferment น้ำตาล lactose ของพวก late lactose fermenter จึงต้องอาศัยการทดสอบ ONPG โดยอาศัย หลักที่ว่า สาร ortho-nitrophenyl-beta-galactopyranoside (ONPG) ซึ่งถูกย่อยได้โดย เอนไซม์ β -galactosidase เช่นเดียวกับ lactose นั้นสามารถผ่านผนังเซลล์เข้าไปในตัวเชื้อ แบคทีเรียได้ง่ายโดยไม่ต้องอาศัยเอนไซม์ permease เชื้อแบคทีเรียที่มีแต่เอนไซม์ β -galactosidase ก็จะย่อยสาร ONPG ให้ galactose และ orthonitrophenyl ซึ่งเป็นสารสี เหลือง

วิธีทดสอบ

1. inoculate เชื้อที่ทดสอบลงใน 1 % Peptone broth
2. ใส่แผ่นทดสอบ ONPG ลงใน 1% Peptone broth เขย่าให้เข้ากัน
3. incubate ที่ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. สังเกตการเปลี่ยนสีของ broth

การแปลผล

- ผลบวก : broth เปลี่ยนเป็นสีเหลืองภายใน 20 นาที-24 ชั่วโมง
 ผลลบ : broth ไม่เปลี่ยนเป็นสีเหลือง

ตารางภาคผนวก 1 ผลการทดสอบความไวของยาด้านจุลินทรีย์ และสารสกัดพืชสมุนไพรต่อเชื้อ *S. flexneri* ที่แยกมาจากผู้ป่วย

ลำดับที่	Code ร.พ.	Code เชื้อ	serotype	อายุ	ampicillin	gentamicin	norfloxacin	nalidixic acid	TMP-SMZ	ค่าเสถียร W	ผง A	ผง W	ผสมคิง A	ผสมคิง W	น้ำมันราชสีห์ A	ลูกโตใบ A	ลูกโตใบ W	หัว A	หัว W	กานพลู A	กานพลู W	fraction ที่ 2
1	1089	F1	2a	53	R	S	S	S	R	1.00	0.50	2.00	0.50	0.25	1.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.25
2	1097	F2	2a	81	S	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	1.00	0.50	0.25	1.00	1.00	0.25
3	1100	F3	var x	5 ด	S	S	S	S	R	1.00	0.50	2.00	0.50	0.25	2.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.25
4	1102	F4	2b	28	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.25
5	1105	F5	3a	34	S	S	S	S	R	1.00	0.50	2.00	0.50	0.50	2.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.25
6	1111	F6	2b	14	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	1.00	0.50	0.25	1.00	1.00	0.25
7	1112	F7	2b	9	R	S	S	S	R	1.00	0.50	2.00	0.50	0.25	1.00	0.50	1.00	0.50	0.50	0.50	1.00	0.25
8	1115	F8	2a	2	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.25
9	1124	F9	2a	4	R	I	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.25
10	1126	F10	3a	22	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.50	2.00	1.00	1.00	0.25	0.50	1.00	1.00	0.25
11	1141	F11	2b	2	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.50	1.00	0.50	1.00	0.50	0.50	0.50	1.00	0.25
12	1150	F12	2b	1	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.25
13	1154	F13	2b	8	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	0.50	1.00	0.25	0.50	0.50	1.00	0.25
14	1160	F14	2b	14	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	0.50	1.00	0.50	0.25	0.50	1.00	0.25
15	1171	F15	2b	9	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	0.50	1.00	0.25	0.50	0.50	1.00	0.25

ตารางภาคผนวก 1 (ต่อ)

ลำดับที่	Code ร.พ.	Code ไข้	serotype	อายุ	ampicillin	gentamicin	norfloxacin	nalidixic acid	TMP-SMZ	ค่าแอสดW	ผงA	ผง W	ผงอติสูง A	ผงอติสูง W	น้ำนมราซสีหน้า	ดูก็ได้ A	ดูก็ได้ W	หน้า A	หน้า W	กางพดู A	กางพดู W	fraction ที่ 2
16	1172	F16	2b	4	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.25
17	2	F17	2b	8	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	1.00	1.00	0.50	0.25	0.50	1.00	0.50	0.25
18	3	F18	2b	10	R	S	S	S	R	1.00	0.50	0.50	0.50	0.25	2.00	1.00	0.50	0.50	0.50	1.00	0.50	0.25
19	5	F19	2b	4	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	0.50	0.50	0.50	1.00	0.50	0.25
20	6	F20	2b	17	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	0.50	0.50	0.25	1.00	0.50	0.25
21	7	F21	2b	42	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.25	2.00	1.00	0.50	0.50	0.50	1.00	0.50	0.25
22	8	F22	2b	41	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.50	0.50	2.00	2.00	1.00	0.50	0.50	2.00	1.00	0.25
23	10	F23	2b	7	R	S	S	S	R	1.00	0.50	1.00	0.25	0.50	2.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.12

หมายเหตุ A = สารสกัดด้วย alcohol W = สารสกัดด้วย น้ำ

ตารางภาคผนวก 2 ผลการทดสอบความไวของยาต้านจุลินทรีย์และสารสกัดพืชสมุนไพรต่อเชื้อ *S. sonnei* ที่แยกมาจากผู้ป่วย

ลำดับที่	coders. no.	code เชื้อ	อายุ	ampicillin	gentamicin	norfloxacin	nalidixic acid	TMP-SMZ	ค่าเขต W	ผง A	ผง W	สมอตุ้ง A	สมอตุ้ง W	น้ำมันราชสีห์ A	ลูกใต้ใบ A	ลูกใต้ใบ W	หว่า A	หว่า W	กานพลู A	กานพลู W	fraction ที่ 2
1	1051	S1	6	S	S	S	R	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
2	1053	S2	7	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
3	1064	S3	5	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
4	1078	S4	5	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
5	1083	S5	4	S	S	S	S	R	2.00	1.00	1.00	>4.00	>4.00	4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	4.00	0.50
6	1096	S6	1	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
7	1101	S7	9	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
8	1103	S8	3	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
9	1104	S9	30	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
10	1106	S10	6	S	S	S	S	S	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
11	1109	S11	5	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	4.00	4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
12	1110	S12	1	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
13	1114	S13	26	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
14	1117	S14	1	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
15	1119	S15	3	I	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50

ตารางภาคผนวก 2 (ต่อ)

ลำดับที่	coders. no.	codeชื่อ	อายุ	ampicillin	gentamicin	norfloxacin	nalidixic acid	TMP-SMZ	ค่าเฉลี่ย W	นางา	นางว	สมมติงา	สมมติงว	น้ำหนักสารอิน A	สูงต่ำง A	สูงต่ำงว	หวา A	หวา W	กานพงา	กานพงว	fraction ที่ 2
16	1122	S16	24	S	S	S	S	R	4.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
17	1125	S17	2	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
18	1127	S18	5	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
19	1133	S19	4	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	4.00	4.00	4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
20	1135	S20	1	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	4.00	2.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
21	1136	S21	60	S	S	S	S	R	4.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
22	1140	S22	71	R	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
23	1143	S23	1	I	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
24	1145	S24	7	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
25	1146	S25	7	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	4.00	2.00	2.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
26	1147	S26	12	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
27	1149	S27	3	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
28	1153	S28	1	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
29	1156	S29	21	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
30	1157	S30	71	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50

ตารางภาคผนวก 2 (ต่อ)

ลำดับที่	codes .W.	codes.ชื่อ	อายุ	ampicillin	gentamicin	norfloxacin	nalidixic acid	TMP-SMZ	ค่าเบสตัว W	ผง A	ผง W	สมอตัว A	สมอตัว W	น้ำนมราชสีห์ A	ลูกโตใบ A	ลูกโตใบ W	หว่า A	หว่า W	กานพลู A	กานพลู W	fraction ที่ 2
31	1162	S31	2	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
32	1163	S32	1	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
33	1165	S33	1	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
34	1166	S34	3	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
35	1167	S35	1	S	S	S	S	R	4.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
36	1168	S36	1	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
37	1169	S37	2	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
38	1173	S38	1	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
39	1	S39	10	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	4.00	>4.00	4.00	>4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	>4.00	0.50
40	4	S40	18	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50
41	9	S41	18	S	S	S	S	R	2.00	1.00	2.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	2.00	4.00	4.00	>4.00	0.50

หมายเหตุ A = สารสกัดด้วย alcohol W = สารสกัดด้วย น้ำ