

## ภาคผนวก ก

## ผลการวิเคราะห์แบคทีเรียทางห้องจุลชีววิทยา

ตารางภาคผนวก 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total bacterial counts) ของลูกบิดประตูห้องแยกผู้ป่วย จำแนกตามแผนกหอผู้ป่วย

แผนกหอผู้ป่วย	Swab ลูกบิดประตู ครั้งที่	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของลูกบิดประตูห้องแยก (CFU ต่อ 4 ตารางนิ้ว)	
		ลูกบิดประตูด้านนอก	ลูกบิดประตูด้านใน
อายุรกรรม	1	100	100
	2	800	300
	3	250	250
	4	40	0
	5	280	640
	6	840	1,400
	7	600	360
	8	880	160
	9	160	80
	10	320	280
	11	100	200
	12	0	0
	13	200	9,200
	14	280	2,340
	15	0	720
	16	200	120
	17	160	40
	18	120	0
	19	120	80
	20	200	120
	21	300	500
	22	550	400
	23	80	80
	24	120	200
	25	9,600	760
	26	40	160
	27	120	0
	28	160	80
	29	400	320
	30	500	320

ตารางภาคผนวก 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total bacterial counts) ของลูกบิดประตูห้องแยกด้านนอก และด้านใน แยกตามแผนกหอผู้ป่วย (ต่อ)

แผนกหอผู้ป่วย	Swab ลูกบิดประตู ครั้งที่	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของลูกบิดประตูห้องแยก (CFU ต่อ 4 ตารางนิ้ว)	
		ลูกบิดประตูด้านนอก	ลูกบิดประตูด้านใน
หัตถกรรม	1	0	200
	2	1,600	800
	3	100	550
	4	400	160
	5	0	960
	6	1,200	1,040
	7	400	160
	8	0	2,300
	9	100	100
	10	80	80
	11	560	40
	12	120	200
	13	1,040	120
	14	160	0
	15	0	600
	16	100	250
	17	400	520
	18	250	400
	19	80	160
	20	200	240
	21	100	250
	22	1,800	400
	23	200	960
	24	3,440	1,440
	25	240	460
	26	240	2,320
	27	1,080	740
	28	200	560
	29	40	480
	30	40	440

ตารางภาคผนวก 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total bacterial counts) ของลูกบิดประตูห้องแยกด้านนอก และด้านใน แยกตามแผนกหอผู้ป่วย (ต่อ)

แผนกหอผู้ป่วย	Swab ลูกบิดประตู ครั้งที่	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของลูกบิดประตูห้องแยก (CFU ต่อ 4 ตารางนิ้ว)	
		ลูกบิดประตูด้านนอก	ลูกบิดประตูด้านใน
ผู้ป่วยหนัก	1	100	0
	2	100	0
	3	100	100
	4	100	100
	5	100	300
	6	200	1,200
	7	520	200
	8	2,160	760
	9	80	360
	10	80	480
	11	320	1,000
	12	240	40
	13	280	800
	14	40	200
	15	80	240
	16	100	0
	17	0	0
	18	0	0
	19	100	300
	20	100	350
	21	280	200
	22	360	80
	23	120	80
	24	800	40
	25	40	40
	26	160	40
	27	280	80
	28	80	40
	29	160	80
	30	200	160

ตารางภาคผนวก 2 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Staphylococcus* ของลูกบิดประตูห้องแยกผู้ป่วย จำแนกตามแผนกหอผู้ป่วย

แผนกหอผู้ป่วย	Swab ลูกบิดประตู ครั้งที่	ปริมาณของเชื้อ <i>Staphylococcus</i> ลูกบิดประตูห้องแยก (CFU ต่อ 4 ตารางนิ้ว)	
		ลูกบิดประตูด้านนอก	ลูกบิดประตูด้านใน
อายุรกรรม	1	100	100
	2	800	300
	3	250	250
	4	40	0
	5	280	640
	6	840	1,400
	7	600	360
	8	880	160
	9	160	80
	10	320	280
	11	100	200
	12	0	0
	13	200	9,200
	14	280	2,240
	15	0	600
	16	200	120
	17	160	40
	18	120	0
	19	120	80
	20	200	120
	21	300	500
	22	550	400
	23	80	80
	24	120	200
	25	6,000	480
	26	40	160
	27	120	0
	28	160	80
	29	400	320
	30	500	320

ตารางภาคผนวก 2 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Staphylococcus* ของลูกบิดประตูคานนอกและคานใน แยก ตาม  
แผนกหอผู้ป่วย (ต่อ)

แผนกหอผู้ป่วย	Swab ลูกบิดประตู ครั้งที่	ปริมาณของเชื้อ <i>Staphylococcus</i> ลูกบิดประตูห้องแยก (CFU ต่อ 4 ตารางนิ้ว)	
		ลูกบิดประตูคานนอก	ลูกบิดประตูคานใน
ศัลยกรรม	1	0	200
	2	1,600	800
	3	100	550
	4	400	160
	5	0	960
	6	1,200	1,040
	7	400	160
	8	0	2,300
	9	100	100
	10	80	80
	11	560	40
	12	120	200
	13	960	0
	14	160	120
	15	0	600
	16	100	250
	17	80	360
	18	250	400
	19	80	160
	20	200	240
	21	100	250
	22	1,800	400
	23	200	960
	24	3,440	1,440
	25	120	360
	26	240	1,520
	27	1,080	740
	28	200	560
	29	40	480
	30	40	440

ตารางภาคผนวก 2 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Staphylococcus* ของลูกบิดประตูด้านนอกและด้านใน แยก ตาม  
แผนกหอผู้ป่วย (ต่อ)

แผนกหอผู้ป่วย	Swab ลูกบิดประตู ครั้งที่	ปริมาณของเชื้อ <i>Staphylococcus</i> ลูกบิดประตูห้องแยก (CFU ต่อ 4 ตารางนิ้ว)	
		ลูกบิดประตูด้านนอก	ลูกบิดประตูด้านใน
ผู้ป่วยหนัก	1	100	0
	2	100	0
	3	100	100
	4	100	100
	5	100	300
	6	200	1,160
	7	520	200
	8	2,080	760
	9	80	360
	10	80	480
	11	320	1,000
	12	240	40
	13	280	800
	14	40	200
	15	80	240
	16	100	0
	17	0	0
	18	0	0
	19	100	300
	20	100	350
	21	280	200
	22	360	80
	23	120	80
	24	800	40
	25	40	40
	26	160	40
	27	280	200
	28	80	40
	29	160	80
	30	200	160

## ภาคผนวก ข

## วัสดุและอุปกรณ์การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

## 1. วัสดุและอุปกรณ์

## 1.1 วัสดุ

## 1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

- Nutrient agar (Merck : Germany)
- Blood agar (Merck : Germany)
- MacConkey agar (Merck : Germany)
- Simmons citrate agar (Merck : Germany)
- SIM medium (Merck : Germany)
- Triple sugar iron agar (Merck : Germany)
- Urea agar (Merck : Germany)
- Brain heart infusion broth (Difco : U.S.A.)
- Trypticase soy broth (Difco : U.S.A.)
- Mueller hinton agar (Merck : Germany)
- PR base medium (Merck : Germany)
- OF base medium (Merck : Germany)

## 2. สารเคมี

- แอลกอฮอล์ นำเชื้อ 70% (วิทยาศาสตร์)
- Plasma
- Potassium dihydrogen phosphate (Merck : Germany)
- NaOH
- $MgSO_4$
- แผ่นยา oxacillin

## 3. วัสดุสำหรับห้องปฏิบัติการ

- น้ำกลั่น (distilled water)
- แก๊ส
- ไม้พันสำลี

- กระดาษฟอยล์ (aluminum foil)
- Autoclave tape

## 1.2 อุปกรณ์

เครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้วิจัยในครั้งนี้ ประกอบด้วยอุปกรณ์ที่ใช้ในการสวอป (swab) ลูกบิดประตูและอุปกรณ์ทางการวิเคราะห์แบคทีเรียดังนี้

### 1. อุปกรณ์สวอป (swab) ลูกบิดประตู

- หลอดแก้วบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ (culture tube) พร้อมฝาพลาสติก บรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ 10 มิลลิลิตร ที่ปราศจากเชื้อ

- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner)
- กระจกน้ำแข็งสำหรับรักษาอุณหภูมิตัวอย่าง

### 2. อุปกรณ์ทางด้านแบคทีเรียวิทยา

- เครื่องนับโคโลนี (colony counter), รุ่น cc-2
- หม้อนึ่งอັคไอ (autoclave), Tomy SS 325 : Japan
- ตู้บ่มเชื้อ (incubator), Mermert
- ตู้เย็น (refrigerator), Samsung SR-V39
- เครื่องอ่างน้ำ (water bath), Mermert
- ตู้อบความร้อน (hot air sterilizing oven), Contherm
- เตาไฟฟ้าพร้อมระบบแม่เหล็ก (hot plate/ magnetic stirrer), Framo รุ่น M21/1
- ตู้ปลอดเชื้อ, Super clean รุ่น 120 BSB, DWYer : U.S.A.
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง, Mettler toledo รุ่น AB 204 : Switzerland
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง, Mettler toledo รุ่น PB 1502 : Switzerland
- เครื่องดูดสารละลายอัตโนมัติ ขนาด 10 มิลลิลิตร, Nichiro model 2100 DG
- เครื่องเขย่าอัตโนมัติ (touch mixer), Fisher scientific รุ่น 231 : U.S.A.
- ห่วงเช็ยเชื้อ (wire loop) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร
- เข็มเช็ยเชื้อ (needle)
- จานเลี้ยงเชื้อ (petri dish)
- หลอดทดลอง (test tube) พร้อมจุกพลาสติก
- ที่วางหลอดทดลอง (rack)
- ปิเปต (pipet)
- capillary pipet



- forcep
- แท่งแก้วรูปตัววี (V)
- 0.5 McFarland's standard
- ปากกาเขียนฉลากบนเครื่องแก้ว
- ไม้บรรทัด
- เครื่องแก้วชนิดต่าง ๆ

## ภาคผนวก ค

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารตรวจสอบทางชีวภาพ  
(ภาควิชาพยาธิวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2543)

## 1. Nutrient agar (NA)

## Reagent

- |                    |         |
|--------------------|---------|
| 1. Nutrient agar   | 23 กรัม |
| 2. Distilled water | 1 ลิตร  |

## Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันค้มให้ละลายนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที รอให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงเทลง plate งานละประมาณ 20 มิลลิลิตร รอให้อาหารเย็นตัวและแข็งลง

## 2. Blood agar (BA)

## Reagent

- |                    |               |
|--------------------|---------------|
| 1. Blood agar base | 20 กรัม       |
| 2. Agar            | 2.5 กรัม      |
| 3. Distilled water | 500 มิลลิลิตร |

## Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันค้มให้ละลาย นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที รอให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แช่ไว้ใน water bath 50 - 55 องศาเซลเซียส เดิมเดือคคน 25 มิลลิลิตร mix ให้เข้ากัน จึงเทลง plate งานละประมาณ 20 มิลลิลิตร รอให้อาหารเย็นตัวและแข็งลง

## 3. Brain heart infusion broth

## Reagent

- |                                     |               |
|-------------------------------------|---------------|
| 1. Brain heart infusion broth (BBL) | 23 กรัม       |
| 2. Distilled water                  | 100 มิลลิลิตร |

#### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันค้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลอง (13\*100 มม.) หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

#### 4. Mueller Hinton agar

##### Reagent

- |                        |         |
|------------------------|---------|
| 1. Mueller hinton agar | 38 กรัม |
| 2. Distilled water     | 1 ลิตร  |

##### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันค้มให้ละลาย นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที รอให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงเทลง plate งานละประมาณ 20 มิลลิลิตร

#### 5. Phenol red basal medium (PR)

##### Reagent

- |                              |               |
|------------------------------|---------------|
| 1. PR basal medium           | 1.7 กรัม      |
| 2. Agar                      | 0.3 กรัม      |
| 3. Distilled water           | 100 มิลลิลิตร |
| 4. น้ำตาล (glucose/mannitol) | 1 กรัม        |

##### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันค้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลอง (13\*100 มม.) หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร ปิดจุก นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 110 องศาเซลเซียส 10 นาที

##### หมายเหตุ

ถ้าเป็น PR glucose ก็เติมน้ำตาล glucose และถ้าเป็น PR mannitol ก็เติมน้ำตาล mannitol ลงไป

## 6. Plasma (coagulase test)

### Preparation

เตรียม trypticase soy broth tube ละ 15 มิลลิลิตร เข้า autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เติม plasma 5 มิลลิลิตร ต่อ media 1 tube แบ่งใส่หลอดทดลอง (13\*100 มม.) หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร (sterile tube)

## 7. MacConkey agar

### Reagent

1. MacConkey agar	25 กรัม
2. Agar	1.5 กรัม
3. Distilled water	500 มิลลิลิตร

### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันต้มให้ละลาย นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที รอให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แช่ไว้ใน water bath 50 - 55 องศาเซลเซียส จึงเทลง plate งานละประมาณ 20 มิลลิลิตร รอให้อาหารเย็นตัวและแข็งลง

## 8. OF base medium

### Reagent

1. OF base medium	0.94 กรัม
2. น้ำตาล glucose	1 กรัม
3. Distilled water	100 มิลลิลิตร

### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลอง (13\*100 มม.) หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร ปิดจุก นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 110 องศาเซลเซียส 10 นาที

### 9. Lysine iron agar

#### Reagent

- |                     |               |
|---------------------|---------------|
| 1. Lysine iron agar | 6.6 กรัม      |
| 2. Distilled water  | 200 มิลลิลิตร |

#### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลอง (13\*100 มม.) หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที วาง slant

### 10. Simmons citrate agar

#### Reagent

- |                         |               |
|-------------------------|---------------|
| 1. Simmons citrate agar | 4.9 กรัม      |
| 2. Distilled water      | 200 มิลลิลิตร |

#### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลอง (13\*100 มม.) หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที วาง slant

### 10. Triple sugar iron agar (TSI)

#### Reagent

- |                           |               |
|---------------------------|---------------|
| 1. Triple sugar iron agar | 13 กรัม       |
| 2. Distilled water        | 200 มิลลิลิตร |

#### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลอง (13\*100 มม.) หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที วาง slant

## 11. Urea agar

### Reagent

1. Urea agar base	20 มิลลิลิตร
2. Distilled water	180 มิลลิลิตร
3. Agar	3 กรัม

### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ใส่ Urea agar base ผสมให้เข้ากัน เทใส่ sterile tube ขนาด 13\*100 มิลลิลิตร หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร วาง slant

หมายเหตุ urea agar base เตรียมจาก media 58 กรัม เติม distilled water 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ไม่ต้อง autoclave ไม่ต้องต้ม กรองใส่ flask โดยใช้เครื่องกรองและ flask sterile เก็บในตู้เย็น

## 12. SIM medium

### Reagent

1. SIM	6 กรัม
2. Distilled water	200 มิลลิลิตร

### Preparation

ซั่งอาหารตามสูตร ละลายด้วย distilled water ผสมให้เข้ากันต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลอง (13\*100 มม.) หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที