

ภาคผนวก ก.

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Alkaline peptone water (APW)

ส่วนประกอบต่อลิตร

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

การเตรียม : ผสมส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ปรับ pH ให้ได้

9.2 นำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

2. Luria Bertani (LB) Agar

ส่วนประกอบต่อลิตร

Yeast extract	10	กรัม
Tryptone	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

การเตรียม : ชั่ง LB agar 35 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มพออุ่นละลาย อย่าให้เดือดมาก นำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที เทใส่จานอาหารที่ปราศจากเชื้อ

หมายเหตุ : เติม NaCl เพิ่ม 5 กรัม (1%NaCl) ในการเลี้ยงเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

3. Luria Bertani (LB) broth

ส่วนประกอบต่อลิตร

Yeast extract	10	กรัม
---------------	----	------

Tryptone	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

การเตรียม : ชั่ง LB broth 20 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มด้วยไฟอ่อนๆ นำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

หมายเหตุ : เติม NaCl เพิ่ม 5 กรัม (1%NaCl) ในการเลี้ยงเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

4. Lysine decarboxylase broth (LDC)

ส่วนประกอบต่อลิตร

Peptone	5	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Dextrose	1	กรัม
L-lysine	5	กรัม
Bromthymolblue	0.2	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

การเตรียม : ชั่ง LDC 14 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ใส่หลอดทดลองหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

หมายเหตุ : เติม NaCl เพิ่ม 10 กรัม (1%NaCl) ในการเลี้ยงเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

5. Motility test medium

ส่วนประกอบต่อลิตร

Tryptose	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Agar	5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

การเตรียม : ชั่ง motility test medium 20 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ใส่หลอดทดลองหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

หมายเหตุ : เติม NaCl เพิ่ม 5 กรัม (1%NaCl) ในการเลี้ยงเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

6. 1% peptone

ส่วนประกอบต่อลิตร

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

การเตรียม : ชั่งส่วนประกอบทั้งหมด ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

7. Thiosulfate citrate bile salt sucrose (TCBS) agar

ส่วนประกอบต่อลิตร

Yeast extract	5	กรัม
Proteose peptone No .3	10	กรัม
Oxgall	5	กรัม
Bromthymolblue	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
Thymolblue	0.04	กรัม

น้ำกลั่น

1

ลิตร

การเตรียม : ชั่ง TCBS agar 89 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนวุ้นละลาย ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เทใส่จานอาหารปราศจากเชื้อ

8. 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
น้ำกลั่น	1	ลิตร

การเตรียม: ชั่ง TSI 65 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนวุ้นละลาย ใส่หลอดทดลองหลอดละ 3.5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

หมายเหตุ : เติม NaCl เพิ่ม 5 กรัม (1%NaCl) ในการเลี้ยงเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

9. Urea agar base

ส่วนประกอบต่อลิตร

Pancreatic digest of gelatin	1	กรัม
------------------------------	---	------

Dextrose	1	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Urea	20	กรัม
Potassium phosphate	2	กรัม
Phenol red	0.012	กรัม

การเตรียม: ชั่ง urea agar base 29 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อโดยการกรอง จากนั้นละลาย agar 15 กรัมในน้ำ 900 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ปล่อยให้ อุณหภูมิ agar ลดลงเหลือ 45-55 องศาเซลเซียส จึงเติม 100 มิลลิลิตร ของ urea agar base แล้วนำไปเทใส่หลอดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหลอดละ 3.5 มิลลิลิตร

หมายเหตุ : เติม NaCl เพิ่ม 5 กรัม (1%NaCl) ในการเลี้ยงเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*