บรรณานุกรม

เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ ชูนสุข และ สงคราม เหลืองทองคำ,"การแพร่กระจายของวิบริโอ พาราฮีโมลัยติคัส ในน่านน้ำไทย ผลการสำรวจปี 2521-2524, การสัมนาครั้งที่ 2 การวิจัยคุณภาพน้ำ และ คุณภาพทรัพยากรสิ่งมีชีวิตในน่านน้ำไทย, หน้า 255-261, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2524 .

นิพนธ์ อุดมสันติสุข, ทุม บุนนาค, สมใจ เหรียญประยูร และ นราทร ธรรมบุตร, " การระบาดของโรคท้องร่วงจากเชื้อ Vibrio parahaemolyticus กรุงเทพมหานคร," จุฬาลงกรณเวชสาร, 20(3), 209-211, 2519.

ประกอบ บุญไทย," อหิวาหตกโรค," วารสารโรคติดต่อ, 3(1), 12-20, 2520.

สงคราม เหลืองทองคำ, เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ ชูนสุข, "การสำรวจหาเชื้อวิบริโอในสัตว์ทะเล," การสัมนาครั้งที่ 3 การวิจัยคุณภาพน้ำ และ คุณภาพทรัพยากรสิ่งมีชีวิตในน่านน้ำไทย, หน้า 436-443 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2527.

Anderson, J.I.W., and D.A. Conroy, "Vibrio Disease in Marine Fish," A Symposium on Disease of Fishes and Shellfish (Snieszko, S.F. ed), pp. 266-272, American Fischries Society, Washington D.C., 1970.

Attena, G., M. Grasso, and G. Olivien, "Isolation of Vibrio alginolyticus from Ear Suppurative Secretion," IG MOD., 80(3), 371-376, 1983.

Baross, J., and J. Liston, "Occurence of Vibrio parahaemolyticus and Related Hemolytic Vibrios in Marine Environment of Washington state," Appl Microbiol., 20(2), 179-186, 1970.

Bartley, C.H., and L.W. Slanetz, "Occurence of Vibrio haemolyticus in Estuarine Waters and Oysters of New Hamshire,"J.Appl. Microbiol., 21(5), 965-966, 1971.

Baumann, P., L. Baumann, and M. Mandel, "Taxonomy of Marine Bacteria: The Genus Beneckea," J. Bacteriol., 107, 268-294, 1971a.

Baumann, P., L. Baumann, M. Mandel, and R.D. Allen, "Taxonomy of Marine Bacteria: Beneckea nigripulchritudo sp. n.," J. Bacteriol., 108, 1380-1383, 1971b.

Baumann, P., L. Baumann, S.S Bang, and M.J. Woolkalis, "Reevuluation of The Taxonomy of Vibrio, Beneckea, and Photobacterium : Abolition of the Genus Beneckea," Curr. Microbiol., 4, 127-132, 1980.

Baumann, P., A.L. Furniss, and J.V. Lee, "Genus I Vibrio," Bergey's Mannual of Determination Bacteriology, Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons, eds.), 9 th ed, pp. 518-538, 1984.

Blake, P.A., M.M. Merson, R.E. Weaver, D.G. Hollis, and P.C. Heublein, "Disease Caused by a Marine Vibrio Clinical Characteristics and Epidermiology," N. Engl. J. Med., 300, 1-5, 1979.

Chart, H., "Multiflagellate Variants of Vibrio anguillarum", J. Gen. Microbiol., 129 , 2193-2197, 1983.

Colwell, R.R., and R.Y. Morita, "Reisoltaion and emendation of Description of Vibrio marinus(Russell) Ford," J. Bacteriol., 88, 831-837, 1964.

Colwell, R.R., "Polyphasic Taxonomy of the Genus Vibrio: Numerical Taxonomy of Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, and Related Vibrio species," J. Bacteriol., 104 (1), 410-433, 1970.

Colwell, R.R., "Genetic and Phenetic Classification of Bacteria," Adv. Appl. Microbiol., 16, 137-175, 1973.

Colwell, R.R., and S.W. Joseph, " Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus and other Vibrios: Occurence and Distribution on Chesapeake Bay," Science., 198, 394-396, 1977.

Cowan, S.T., "Manual for The Identification of Medical Bacteria," pp, 127-229, Cambridge University, New York, 1974.

Disalvo, L.H., J. Blecka, and R. Zebal, "Vibrio anguillarum and Lethal Motility in a California Coastal Shellfish Hatchery," Appl and Env. Microbiol., 35(1), 219-221, 1973.

Davis, B.R., G.R. Fanning, J.M. Madden, A.G. Sterigerwalt, H.B. Bradford, H.L. Smith, and D. Brenner, "Characterization of Biochemically Atypical Vibrio cholerae Strains and Designation of a New Pathogenic species, Vibrio mimicus," J. Clin, Microbiol., 14(6), 631-639, 1981.

El-Sahn, M.A., A.A. El-banna, and A.M. El-Tabey Schehata, "Occurence of Vibrio parahaemolyticus in Selected Marine Invertebrates, Sediment and Sea Water around Alexandria, Egypt," Can. J. Microbiol., 28, 1261-1264, 1982.

Fujino, T., J. Okuno, D. Nakada, A. Aoyama, K. Fukai, T. Mukai, and T. Ueho, "On the Bacteriological examination of Shirasu-Food Poisoning," Med. J. Osaka Univ., 4, 299-304, 1953.

Furniss, A.L., J.V. Lee, and T.J. Donovan, "Group F, a New Vibrio," Lancet ii., 565-566, 1977.

Fitzgerald, J.M., "Classification of Luminous Bacteria from the Light Organ of The Australian Pinnecone fish Cleidopus gloriamaris," Arch . Microbiol., 112, 153-156, 1977.

Harbell, S.C., H.O. Hodgins, and M.H. Schiewe, "Studies on the Pathogenesis of Vibriosis in Salmon Oncorhynchus kisutch (Walbaum)," J. Fish Diseases., 2, 391-404, 1979.

Harwood, C.S., "Beneckea gazogenes sp nov., a red, Facultatively Anaerovic, Marine Bacterium," Curr. Microbiol., 1, 233-238, 1977.

Hazelbavel, G.L., and J.S. Parkinson, "Bacterial Chemotaxis," (Reissig, J.L. ed), pp. 89-90, Chapman & Hall, London, 1977.

Hickman-Branner, F.W., J.J. Farmer III, D.G. Hollis, G.R. Fanning, A.G. Sterigerwalt, R.E, Weaver and D.J. Brenner, " " Identification of Vibrio hollisae sp. nov. from Patients with Diarrhea," J. Clin Microbiol., 15(3), 395-401, 1982.

Hickman-brenner, F.W., D.J. Brenner, A.G. Steigerwalt, M. Schreiber, S.D. Holmberg, L.M. Baldy, C.S. Lewis, N.M. Pickens, and J.J. Farmer III, " Vibrio fluvialis and Vibrio furnissii Isolated from a Stool Sample of one Patient," J.Clin. Microbiol., 20(1), 125-127, 1984.

Kaneko, T., and R.R, Colwell, "Ecology of Vibrio parahaemolyticus in Chesapeake Bay," J. Bacteriol., 113, 24-32, 1973.

Kaper, J., H. Lockman, R.R. Colwell, and S.W. Joseph, "Ecology, serology, and Enterotoxin Production of Vibrio cholerae in Chesapeake Bay," Appl and Env. Microbiol., 37(1), 91-103, 1979.

Krantz, G.E., R.R.Colwell, and T.E. Lovelace, "Isolation of Vibrio parahaemolyticus from Diseased Blue Crabs, (Collincetus sapidus) in Chesapeake Bay," Science., 164,1286-1287, 1969)

Kuchner, D.J., "Life in High Salt and Solute Concentrations: Holophic Bacteria," Microbial Life in Extreme Environments(D.J. Kushner, ed.), pp. 317-368, Academic, New York, 1978.

Lam, S., and E.Monteiro, "Isolation of Mucoid Vibrio parahaemolyticus Stranis," J. Clin. Microbiol., 19(1), 87-88, 1984.

Larsen, J.L., A.F. Sarid and I. Dasgaard, "Occurence of Vibrio parahaemolyticus and Vibrio alginolyticus in Marine and Estruaine Bathings Areas in Danish Coast," Zentralbl Bakteriol. Hug. Abt. 1 Orig. Reihe B., 173, 338-345, 1981.

Larsen, J.L., and S. Mellergaard, "Agglutination Typing of Vibrio anguillarum Isolates from diseased fish and from the environment," Appl and Env. Microbiol., 47(6), 1261-1265, 1984.

Hollis, D.G., R.E. Weaver, C.N. Baker, and C. Thornsbery, "Halophilic Vibrio species Isolated from Blood Cultures," J. Clin. Microbiol., 3, 425-431, 1976.

Hood, M.A., G.E. Ness, G.E. Rodrick, and N.J. Blake, "Effect of storage on Microbial Loads of Two Commercially Important Shellfish Species, Crassostrea virginica and Mercenaria campechniensis," Appl and Env. Microbiol., 45(4), 1221-1228, 1983

Hugh, R., and E. Leifson, "Taxonomic Significance of Fermentative Versus Oxidative Metabolism of Carbohydrates by Various Gram negative Bacteria," J. Bacteriol., 66, 24, 1953.

Huq, M.I., A.K.M.J. Alam, J.J. Brenner, and G.K. Morris, "Isolation of Vibrio-like Group, EF-6 from Patients with Diarrhea, " J. Clin, Microbiol., 11(6), 621-624, 1980.

Johnson, J.M., W.A. Andes, and G. Glasser, "Vibrio vulnificus A Gastronomic Hazard, " JAMA., 249(13),1756-1757, 1980.

Johnson, D.E., L. Weinberg, J. Ciarkowhki, P.A. West, and R.R. Colwell, "Wound Infection Caused by Kanagawa negative Vibrio parahaemolyticus," J. Clin. Microbiol., 20(4), 811-814, 1984.

Kampelmacher, E.H., D.A.A. Mossel, L.M. Van Noorle Jansen, and V. Vincentie, " A Survey on the Occurence of Vibrio parahaemolyticus on Fish and Shellfish, Marketed in the Netherlands," J. Huq. Camb., 68, 189-196, 1970.

Lee, J.V., P. Shread, A.L. Furniss, and T.N. Bryant, "Taxonomy and Description of Vibrio fluvialis sp nov. (Synonym Group F Vibrios, Group EF-6)," J. Appl. Bacteriol., 50, 73-94, 1981.

Macfaddin, J.F., "Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 2 nd ed. 1982.

McNicol, L.A., S.P. De, J.B. Kaper, P.A. Wsest,and R.R. Colwell "Numerical Taxonomy of Vibrio cholerae and Related Species Isolated from Areas that are Endermic and Nonendermic for Cholera," J. Clin. Microbiol., 17(6), 1102-1113, 1983.

Merkerl, J.R., E.D. Traganza, B,B. Mukherjee, T.B. Griffin, and J.M. Prescott, "Proteolytic activity and general Characteristics of a Marine Bacterium, Aeromonas proteolytica sp n.," J. Bacteriol., 87, 1227-1233, 1964.

Miyamoto, Y., K. Nakamura, and K. Takizawa, "Pathogenic Halophiles, Proposals of a New Genus "Oceanomonas" and of the Amended Species Names," Jap. J. Microbiol., 5, 477-486, 1961.

Miyamoto, Y., T. Kato, Y. Obara, S. Akiyama, K. Takizawa and S. Yamai, "In Vitro Hemolytic Characterisric of Vibrio parahaemolyticus: Its Close Correlation with Human Pathogenicity," J. Bacteriol., 100, 1147-1149, 1969.

Nealson, K.H., and J.W. Hastings, "Bacterial Bioluminescence: Its Control and Ecological Significance," Microb. R. 43, 496-518, 1979.

Nishibuchi, M., N.C. Roberts, H.B. Bradford Jr, and R.J. Seidler, "Broth Medium for Enrichment of Vibrio fluvialis from the Environment," Appl and Env. Microbiol., 46(2), 425-429, 1983.

Oliver, J.D., R.A. Warner, D.R. Cleland, "Distribution and Ecology of Vibrio vulnificus and Other Lactose-fermenting Vibrios in Coastal Waters of the Southern United States," Appl and Env. Microbiol., 44(6), 1404-1414, 1982.

Oliver, J.D., R.A.Warner, and D.R. Cleland, "Distribution of Vibrio vulnificus and Other Lactose Fermenting Vibrios in Marine Environment," Appl and Env. Microbiol., 45(3), 985-998, 1983.

Poole, M.D., and J.D. Oliver, "Experimental Pathogenicity and Mortality in Ligated Ileal Loop Studied of Newly Reported Halophilic Lactose-Positive Vibrio Species," Infect Immun., 20, 126-129, 1978.

Prociv, P., " Vibrio alginolyticus in Western Australia," Med. J. Aust., 2, 296, 1978.

Reichelt, J.L., P. Baumann, and L. Baumann, "Study of Genetic Relationships Among Marine Species of the Genera Benckea and Photobacterium by Means of in Vitro DNA/DNA Hybridization," Arch, Microbiol., 110,101-120, 1976.

Rubin, S.J., and R.C. Tilton, "Isolation of Vibrio alginolyticus from Wound Infection," J. Clin. Microbiol., 2(6),556-558, 1975.

Sakazaki, R., S, Iwanami, and H. Fukumi, "Studies on the Enteropathogenic Facltatively Halophiclic Bacteria, Vibrio parahaemolyticus. I Morphological, Cultural and Biochemical Properties and Its Taxonomic Position," Jpn. J. Med. Sci. Biol., 16, 161-188, 1963.

Sakazaki, R., K. Tamu a, T. Kato, Y. Obara, S. Yamai, and K. Hobo, "Studies on the Enteropathogenic, Facultative Holophilic Bacteria, Vibrio parahaemolyticus III. Enteropathogenicity," Jpn. J. Med. Sci. Biol., 21, 325-331, 1968 a.

Sakazaki, R., "Halophilic Vibrio Infection," Jpn, J. Med. Sci. Biol., 21(5), 313-324, 1968 b.

Sakazaki, R., and A. Balows,"Genera Vibrio, Plesiomonas, and Aeromonas," The Prokaryotes A Handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria,(Moriver, P.S., H. Stolp, H.G. Truper, A. Balows, and H.G. Shleger, eds.) pp. 1272-1301, Springer-Verlag, New York, 1981.

Sayler, G.S., J.D. Nelson, Jr, A. Justice, and R.R. Colwell, "Incidence of Salmonella spp., Clostridium botulinum and Vibrio parahaemolyticus in and Estuary," Appl and Env. Microbiol., 31(5), 723-730, 1976.

Schandevyl,,P., E.V. Dyck, and P. Piot, "Halophilic Vibrio Species from Seafish in Senegal," Appl and Env. Microbiol., 48(1), 236-238, 1984.

Schmidt, U., H. Chrnel., and C. Cobbs, "Vibrio alginolyticus Infections in Human," J. Clin. Microbiol., 10(1),666-668, 1979.

Seidler, R.J., D.A. Allen, R.R. Colwell. S.W. Jonson, and O.P. Daily, "Biochemical Characteristic and Virulence of Environmental Group F Bacteria Isolated in the United States,""Appl and Env. Microbiol., 40, 715-720, 1980.

Shewan, J.M., and M. veron, "Genus I vibrio," Bergey's Mannual of Determinative Bacteriology, (Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons, eds.) 8 th ed, pp. 340-345, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1974.

Sneath, P.H.A., "Computer Taxonomy," Method in Microbiology, (Norris, J.R., and D.W. Ribbons, eds.), Vol.7, pp.29-98, Academic, 1972.

Sokal, R.R., and C.D. Michener,""A Statistical Method for Evaluating Systematic relationship," Univ. Kansas Bull., No. 38, pp. 1049-1438, 1958.

Spira, W.H., P.J. Fedorka-Cray, "Purification of Enterotoxin from Vibro mimicus that Appear to be Identical to Cholera Toxin," Infect. Immun., 45(3), 679-684, 1984.

Tacket, C.A., F. Hickman, G.V. Pierce, and L.F. Mendosa, "Diarrhea associated with Vibrio fluvialis in the United States," J. Clin Microbiol., 16(5), 991-992, 1982.

Tamura, K., S Shinadu, and L.M. Prescott, "Vibrio agar: A New Plating Medium for Isolation of Vibrio cholerae," Jpn. J. Med. Sci. Biol., 24, 125-127, 1971.

Thompson, C.A., and C. Vanderzant, "Effect of Processing, Distribution and Storage on Vibrio parahaemolyticus and Bacterial Count of Oysters (Crassostrea virginica)," J.Food Sci., 41, 123-127, 1976.

Tison, D.L., M. Nishibuchi, J.D. Greenwood and R.J. Seidler, "Vibrio vulnificus Biogroup 2: New Bigroup Pathogenic for Eels," Appl and Env. Microbiol., 44(3), 640-646, 1982.

Tison, D.L., and M.T. Kelly, "Vilurence of Vibrio vulnificus Strains from Marine Environments," Appl and Env. Microbiol., 51(5), 1004-1006, 1986.

Ventosa, A., E. Quesada, F. Rodriguez-Valera, F. Ruiz-Verrguero, and A. Ramos-Cormenzana, "Numerical Taxonomy of Moderately Halophilic Gram-negative rods," J. Gen. Microbiol., 128, 1959-1968, 1982.

West, P.A., and J.V. Lee, "Ecology of Vibrio Species, Incluing Vibrio cholerae, in Natural Waters of Kent, England," J. Appl. Bacteriol., 435-448, 1982.

West, P.A., and R.R. Colwell, "Identification and Classification of Vibrionaceae--An Overview," Vibrios in the Environment., John Wiley & Sons, Inc., New York, 1984.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การย้อมสี

Gram ' s Staining method Reagents ประกอบด้วย

1. Crystal Violet Solution
2. Iodine Solution
3. Counterstain

Crystal Violet Solution

ส่วนผสม

Crystal violet (85-90% dye content)	2	g.
Ethyl alcohol 95%	20	ml.
Ammonium oxalate	0.8	g.
Distilled water	80	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย Crystal Violet ลงใน Alcohol และ Ammonium oxalate ลงในน้ำกลั่น ก่อนใช้จึงผสมสารทั้งสองเข้าด้วยกัน

Iodine Solution

ส่วนผสม

Iodine	1	g.
Potassium Iodide	2	g.
Distilled water	100	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมลงในน้ำกลั่น และคนจนกว่าละลายหมด

Safranin O solution

ส่วนผสม

Ethyl alcohol	10	ml.
Safranin O	0.25	g.
Distilled water	100	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย safranin O ลงใน Ethyl alcohol แล้วค่อยๆ เติมน้ำกลั่น จนปริมาตรครบ 100 มล.

การย้อมสี gram (Gram staining Method)(Hucker's modification) Elliot et al.(1978) ปฏิบัติดังต่อไปนี้

ก ป้ายเชื้อเล็กน้อยบนสไลด์ หยดด้วยน้ำกลั่น เกลี่ยให้ทั่วสไลด์ปล่อยให้แห้ง และลนไฟ 2-3 ครั้ง เพื่อให้เชื้อติดกับสไลด์

ข หยด crystal violet ลงบนสไลด์นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ

ค หยดสารละลายไอโอดีนลงไปทิ้งไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ

ง หยด alcohol 95% นาน 30 วินาที ถึง 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ

จ ย้อมด้วย Safranin O solution นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ ซับให้แห้ง

ฉ ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ดูการติดสี และ รูปร่างของ cell เชื้อ Marine Vibrios จะติดสีแดง มีรูปร่างเป็นแท่ง หรือ โค้งงอเล็กน้อย

Flagella stain (Forbes, 1981)

ส่วนผสม

ส่วนที่ 1

Basic fuchsin	0.4	g.
Acid fuchsin	0.2	g.
Tannic acid	0.2	g.
Aluminum ammonium sulfate	0.5	g.

ส่วนผสมที่ 2

Alcohol 95%	2	ml.
glycerol	0.5	ml.
Tris(Hydroxymethyl)aminomethane	7.5	ml.

Tris(Hydroxymethyl)aminomethane(tris) buffer pH 7.6

มีส่วนผสมดังนี้

Solution A: 0.2 M Tris(Hydroxymethyl) aminomethane 50 ml.

Solution B: 0.2 M HCl 38.4 ml.

วิธีการเตรียม Tris buffer

ค่อยๆเติม solution A ลงใน solution B แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 200 ml. ด้วยน้ำกลั่น จะได้ Tris buffer ที่มี pH 7.6

วิธีการเตรียม Flagella stain

นำส่วนผสมที่ 1 และ 2 ในหลอดเกลียว เขย่าด้วย Voltex mixer นานประมาณ 3-5 นาที แล้ว centrifuge ที่ 2,500 rpm. นาน

วิธีการย้อม

การย้อมสี Flagella (Rapid flgella staining)

Forbes (1981) ปฏิบัติการดังต่อไปนี้

ก. แตะเชื้อ Marine Vibrios ที่ทำการเพาะเลี้ยงใน 3% NB ที่ 37°C นาน 24 ชั่วโมง โดยใช้ loop ลงบนสไลด์ ปล่อยให้แห้ง

ข. ย้อมด้วยสี Flagella stain ประมาณ 1 มล. นาน 1 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ล้างด้วยน้ำ

ค. ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ สังเกตดู Flagella จะติดสีม่วง เช่นเดียวกับ cells

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารที่ใช้ในการทดสอบเชื้อ Vibrios เตรียมตามวิธีการของ Cowan (1974) & Poonsuk (1978).

Blood agar

ส่วนผสม

Beef extract	3	g.
Peptone	5	g.
Agar	15	g.
Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ต้มให้เดือด เทลงในขวดปริมาณ 200 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ก่อนจะใช้นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 45 - 50°C เติมเลือดแกะ 10 มล. เขย่าให้เข้ากัน เทใส่ petridish 15 มล. อบให้หน้าแห้ง

Broth sugar

ส่วนผสม

Beef extract	3	g.
Peptone	10	g.
Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.
Bromthymol blue(0.2 aq. sol.)	15	ml.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่น และ ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 7.1 - 7.2 เติม indicator แบ่งใส่ขวดแก้วขวดละ 200 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ก่อนใช้เติม carbohydrates ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 12 ชนิด ได้แก่ adonitol, arabinose Cellobiose, dulcitol, inocitol, lactose, meizitose, melibiose sorbitol, sorbose, raffinose, xylose แต่ละชนิดลงใน BS ให้เป็น 1% เขย่าให้เข้ากัน จึงเทใส่หลอดแก้วที่ sterile แล้วประมาณ 2 มล. ส่วน carbohydrates ที่ต้องการตรวจสอบ gas ด้วย มี 9 ชนิด ได้แก่ fructose galactose, glucose, glycerol, maltose, mannitol, mannoce saccharose และ starch โดยเตรียมให้มีความเข้มข้นเป็น 1 % แล้วเทใส่หลอดขนาดเล็ก ที่มี durham tube คว่ำอยู่ จึงนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

Casein agar

ส่วนผสมที่ 1

Powder milk	100	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีเตรียม

ละลายนมผงในน้ำกลั่น เทใส่ขวดปริมาณ 100 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

ส่วนผสมที่ 2

Sterile Nutrient agar, double strength 1000 ml.

วิธีการเตรียมอาหารเพื่อการทดสอบ

เทนมผงที่ฆ่าเชื้อแล้ว 100 มล. ผสมกับ NA double

strength ที่ละลาย และนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 100 มล. เทใส่ petridish 15 มล.

Decarboxylase medium (Falkow' s, 1958)

ส่วนผสม

Peptone	5	g.
Yeast extract	3	g.
Glucose	1	g.
Distilled water	1000	ml.
Bromcresol purple, 0.2% sol.	10	ml.

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ปรับสภาพความเป็นกรดด่าง ให้เป็น 6.7 แล้วเติม indicator solution จึงเทใส่ขวดปริมาณ 200 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

วิธีเตรียมอาหารก่อนการทดสอบ

เติม amino acid ที่ต้องการทดสอบคือ

1. L-arginine hydrochloride 0.5 %
2. L-lysine hydrochloride 0.5 %
3. L-ornithine hydrochloride 0.5 %

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ก่อนใช้เติม amino acid แต่ละชนิดลงไปใน base medium แต่ละขวด แล้วเทใส่ หลอดแก้วเล็กที่ sterile แล้ว ประมาณ 2 มล.

DNase test medium

สูตร อาหารสำเร็จของ Difco

Bacto-tryptone	20	g.
Deoxyribonucleic acid	2	ml.
Sodium chloride	5	g.
Bacto agar	15	g.

วิธีการเตรียม

ละลายอาหารสำเร็จนี้ 42.0 g. ในน้ำ 1 ลิตร ต้มให้ละลาย ปรับ pH ที่ 7.3 นำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ก่อนใช้ นำมาละลาย แล้วอุ่นที่อุณหภูมิ 45°C เทใส่ petridish ที่ sterile แล้ว

Gelatin agar

ส่วนผสม

Gelatin	4	g.
Distilled water	50	g.
Nutrient agar	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย Gelatin ในน้ำกลั่น และเติมใน Nutrient agar ที่ละลายแล้ว ผสมให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ 121°C นาน 15 นาที เทใส่ petridish ที่ sterile แล้ว

Gluconate broth (Shaw & Clarke, 1955)

ส่วนผสม

Peptone	1.5	g.
Yeast extract	1	g.
Dipotassium hydrogen phosphate	1	g.
Potassium gluconte	40	g.
Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่น ปรับความเป็นกรดด่าง ให้เป็น 7.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 20 นาที

หมายเหตุ

สามารถใช้ sodium gluconate 37.25 g. แทน potassium-gluconate ได้

Glucose phosphate medium (MR-VP broth)

ส่วนผสม

Glucose	5	g.
Peptone	5	g.
Dipotassium hydrogenphosphate	5	g.
Distilled water	100	ml.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7.5 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 115 °C นาน 20 นาที เทใส่หลอด ขนาดเล็กที่ sterile แล้ว หลอดละประมาณ 2 มล.

Hippurate agar (Modified from Hajna & Damon, 1934)

ส่วนผสม

Magnesium sulphate	0.2	g.
Ammonium dihydrogenphosphate	1	g.
Di potassium hydrogenphosphate	1	g.
Sodium hippurate	3	g.
Sodium chloride	5	g.
Agar	20	g.
Distilled water	1000	ml.
Phenol red, 0.2% soln.	5	g.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ในน้ำกลั่น ปรับความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 6.8 - 7.0 แล้วเติม indicator นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 115°C นาน 20 นาที เทใส่หลอดที่ sterile แล้ววาง slant

Hugh and Leifson 's OF medium (Hugh & Leifson, 1953)

ส่วนผสม

Peptone	2	g.
Dipotassium hydrogen phosphate	0.3	g.
Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.
Bromthymol blue(0.2% aq. solution)	15	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสม ลงในน้ำเกือก ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.1 แล้วเติม indicator นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ 115°C นาน 20 นาที

วิธีการเตรียมอาหารก่อนการทดสอบ

เติม sterile glucose ให้มีความเข้มข้นเป็น 1 % ลงใน base media ที่อุณหภูมิให้ละลาย 40 -50°C ผสมให้เข้ากัน จึงเทใส่หลอดที่ sterile แล้ว หลอดละ 5 มล.

Lecithovitellin agar (LV agar)

ส่วนผสมที่ 1

Egg-yolk saline (Lecithovitellin solution)

Egg yolk	1	
Normal saline	40	ml.

วิธีการเตรียม

ผสมไข่แดง ในน้ำกลั่นให้เข้ากันดี โดยผสมในขวดแก้ว เพื่อช่วยตีไข่ให้ละเอียด เทใส่หลอดเกลียวหลอดละ 20 มล.

ส่วนผสมที่ 2

Nutrient agar	200	ml.

วิธีการเตรียมอาหารก่อนการทดสอบ

Nutrient agar	200	ml.
Lecithovitellin solution	20	ml.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการเตรียม

ละลาย NA แล้วทิ้งให้อุ่นประมาณ 45°C เท Lecitho-vitellin solution ลงไปเขย่าให้เข้ากันดี แล้วเทใส่ petridish ประมาณ 15 มล.

Marine agar

สูตรอาหารสำเร็จของ Difco

วิธีการเตรียม

ละลาย Marine agar 55.1g.ในน้ำ 1 ลิตร ต้มให้เดือด ปรับ pH 7.6 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ก่อนใช้ นำมาละลาย แล้วอุ่นที่อุณหภูมิ 45°C เทใส่ petridish ที่ sterile แล้

Medium for carbon utilization test

ส่วนผสม

Sodium chloride	5	g.
Magnesium sulphate heptahydrate	0.2	g.
Diammonium hydrogenphosphate	1	g.
Potassium dihydrogen phosphate	0.5	g.
Organic acid (Sodium salt)	2	g.
Agar	20	g.
Distilled water	1000	ml.
Phenol red, 0.2% solution	4	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ในน้ำกลั่น ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 6.8 แล้วจึงเติม indicator solution นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 20 นาที วาง slant

หมายเหตุ

Organic acids ที่ใช้ในการทดสอบนั้นมีทั้งสิ้น 18 ชนิด ได้แก่ sodium acetate, m-hydroxybenzoic acid, sodium citrate, sodium formate, fumarate, sodium pyrrvate, sodium succinate, sodium malonte, sodium(D+)Tartrate, sodium oxalate, sodium butylate, n-valeric aceid, sodium lactate, sodium DL-malate, L-glutamic acid sodium salt, L-serine, L-proline, L-histidine.

Mueller Hinton medium (MHA)

สูตรอาหารสำเร็จของ

วิธีการเตรียม

ละลาย MHA 38 g.ในน้ำ 1 ลิตร ต้มให้เดือด ปรับ pH ที่ 7.3 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 112 °C นาน 10 นาที ก่อนใช้นำมาละลาย แล้วอุ่นที่อุณหภูมิ 45 - 50°Cเทใส่ petridish ที่ sterile แล้ว

Nitrate broth

ส่วนผสม

Beef extract	3	g.
Peptone	5	g.
Potassium nitrate	1	g.

Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ในน้ำกลั่น เทใส่หลอดที่บรรจุ durham tube นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 115°C นาน 20 นาที

Nutrient agar

ส่วนผสม

Beef extract	3	g.
Peptone	5	g.
Agar	15	g.
Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้ว ปรับความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 7.0 เทใส่ขวดปริมาณ 200 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

Nutrient broth (vary pH)

ส่วนผสม

Beef extract	3	g.
Peptone	5	g.
Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่น ปรับความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 3,4,4,5,5,7,10,11, 12 ตามลำดับ เทใส่หลอดเกลียวขนาดเล็ก หลอดละ ประมาณ 2.5 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

Nutrient broth (vary % NaCl)

ส่วนผสม

Beef extract	3	g.
Peptone	5	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่น ปรับความเป็นกรด-ด่าง 7.0 เทใส่ขวดปริมาณ 200 มล. เติม sodium chloride ให้มีความเข้มข้นเป็น 0.5%,1%,3%,6%,8%,10%,11% ตามลำดับ เทใส่หลอดเกลียวขนาดเล็ก หลอดละประมาณ 2.5 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 15 นาที

O-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside broth (ONPG)(Lowe, 1962)

ส่วนผสมที่ 1

ONPG	6	g.
0.01 M-Na_2HPO_4	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย ONPG(o-nitrophenyl-β-galactopyranoside)

ใน phosphate soln. ที่มีความเป็นกรด-ด่าง 7.5 ณ อุณหภูมิห้อง นำไปฆ่าเชื้อ โดยการกรอง

ส่วนผสมที่ 2

Peptone	10	g.
Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ปรับความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 7.2-7.4 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 115 °C นาน 20 นาที

วิธีการเตรียมอาหารก่อนการทดสอบ

ส่วนผสมที่ 1

ONPG solution	250	ml.

ส่วนผสมที่ 2

Peptone water	750	ml.

วิธีเตรียม

เติม ONPG solution ใน peptone water แบบ aseptic เทใส่หลอดที่ sterile แล้ว หลอดละประมาณ 2.5 มล.

Peptone salt dilution fluid (PSD)

ส่วนผสม

Peptone	1	g.
Sodium chloride	8.5	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมด มาละลายในน้ำกลั่น 1000 มล. ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง เป็น 7.0 แล้วใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มล. และขวดแก้วขวดละ 90 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

Peptone water

ส่วนผสม

Peptone	10	g.
Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ในน้ำกลั่น ปรับความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 7.2-7.4 นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 115°C นาน 20 นาที ก่อนใช้เทใส่หลอดขนาดเล็ก ที่ฆ่าเชื้อแล้ว หลอดละ 3 มล.

Potassium cyanide broth(Modified from Moller, 1954)

ส่วนผสม

Peptone	3	g.
Potassium dihydrogenphosphate	0.225	g.
Disodium hydrogenphosp hate	5.64	g.
Sodium chloride	5	g.
Distilled water	1000	ml.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่น เทใส่ขวดปริมาณ 200 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 115°C นาน 20 นาที เวลาจะใช้เติม 0.5%KCN 3 มล. ผสมให้เข้ากัน เทใส่หลอดเกลียวขนาดเล็กที่ sterile แล้ว หลอดละประมาณ 1 มล.

หมายเหตุ

media นี้ สามารถเก็บที่อุณหภูมิ4°C ภายใน 4 สัปดาห์

Simons' citrate agar

ส่วนผสม

Sodium chloride	5	g.
Magnesium sulfate heptahydrate	0.2	g.
Ammonium dihydrogen phosphate	1	g.
Potassium monohydrogen phosphate	1	g.
Sodium citrate dihydrate	2	g.
Bromthymol blue(0.2% soln.)	40	ml.
Agar	15	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 6.8 ซึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ก่อนใช้ละลายแล้วอุ่นที่อุณหภูมิ 45-50°C เทใส่หลอดแก้วที่ sterile แล้ว เอียงทำเป็น slant ปล่อยไว้จนแข็ง

starch agar

ส่วนผสม

Potato starch	10 g.	g.
Distilled water	50	g.
Nutrient agar	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายแป้งในน้ำกลั่น 50 ml. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ก่อนใช้ละลาย Nutrient aagar ที่ฆ่าเชื้อแล้ว อุ่นที่อุณหภูมิ 45°C ผสมกับสารละลายแป้ง เขย่าให้เข้ากันดี เทใส่ petridish ละ 15 มล.

Thiosulfate-citrate-bile salt-sucrose agar (TCBS)

ส่วนผสม

Yeast extract	5	g.
Peptone	10	g.
Sucrose	20	g.
Sodium Thiosulphate pentahydrate	10	g.
Sodium citrate dihydrate	10	g.
Sodium cholate	3	g.
Ox-gall	5	g.
Sodium chloride	3	g.
Ferric citrate	1	g.
Bromthymol blue(0.2% soln.)	4	ml.
Agar	15	g.
Diatilles water	980	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมลงในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ ทำให้เย็น ปรับสภาพ ความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 8.6 เทใส่ขวดก่อนใช้ต้องละลาย แล้วทำให้อุ่นที่อุณหภูมิ 45-50°C เทใส่ Petridish ละ15 มล.

Triple sugar iron (TSI)

ส่วนผสม

Beef extract	3	g.
Yeast extract	3	g.
Peptone	20	g.
Glucose	1	g.
Lactose	10	g.
Sucrose	10	g.
Ferrous sulphate heptahydrate	0.2	g.
Sodium chloride	5	g.
Sodium thiosulphate pentahydrate	0.3	g.
Agar	20	g.
Distilled water	1000	ml.
Phenol red, 0.2 % soln.	12	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ในน้ำกลั่น เติม indicator solution ปรับสภาพ ความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15นาที อุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 45°C เทใส่หลอดแก้วที่ sterile แล้ว วางเอียงให้เกิด slant ทิ้งไว้จนแข็ง

Tween 80 medium (Seirra, 1957)

ส่วนผสมที่ 1

Base media

Peptone	10	g.
Sodium chloride	5	g.
Calcium chloride monohydrate	0.1	g.
Agar	20	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่น ที่ต้มจนเดือด ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.4 แบ่งใส่ขวดๆละ 200 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 20 นาที

ส่วนผสมที่ 2

Tween 80	10	ml.

วิธีการเตรียม

แบ่ง Tween 80 ใส่หลอดเกลียวขนาดเล็ก หลอดละ 2 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 20 นาที

วิธีการเตรียมอาหารก่อนการทดสอบ

ส่วนผสมที่ 1

Base media	200	ml.

ส่วนผสมที่ 2

Tween 80	2	ml

นำสารผสมที่ 1 มาต้มให้ละลาย อุ่นที่อุณหภูมิ 45 -50°C จึงเท

Tween 80 ลงไป เขย่าให้เข้ากัน เทใส่ petridish ละ 15 มล.

Tyrosine agar (Gordon & Smith, 1955)

ส่วนผสม

Peptone	5	g.
Beef extract	3	g.
Agar	20	g.
Distilled water	1000	ml.
L-tyrosine	5	g.

วิธีการเตรียม

เตรียม Nutrient agar เป็น base medium แล้วเติม L-tyrosine ผสมให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวดๆละ 200 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 15 นาที เทใส่ petridish ละ 15 มล.

Urea media (Christensen, 1946)

ส่วนผสม

ส่วนที่ 1

Peptone	1	g.
Sodium chloride	5	g.
Potassium dihydrogen phosphate	2	g.
Phenol red (0.2% soln.)	6	ml.
Agar	20	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีการเตรียม

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด ปรับสภาพความเป็น-

กรด-ด่าง ให้เป็น 6.8 แบ่งใส่ขวดละ 200 มล. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

ส่วนที่ 2 Glucose solution

Glucose	50	g.
Distilled water	1000	ml.

วิธีเตรียม

ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วย Millipore filter เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5°C

วิธีการเตรียมอาหารเพื่อการทดสอบ

ส่วนที่ 1

ละลายแล้วอุ่นที่อุณหภูมิ 45-50°C	200	มล.

ส่วนที่ 2

Glucose solution	0.4	มล.

ส่วนที่ 3

Urea solution	20	มล.

เขย่าให้เข้ากัน เทใส่หลอดแก้วขนาดเล็ก วางเอียงให้เกิด slant ทิ้งไว้จนแข็ง เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5°C

ภาคผนวก ค

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบลักษณะทางชีวเคมีบางประการ ของแบคทีเรีย เตรียมโดยใช้วิธีการของ Elliot et al.(1978) และ Poonsuk(1978) ดังต่อไปนี้

Acid merculic chloride (Fraser, 1926)

ส่วนผสม

Merculic chloride	12	g.
Distilled water	80	g.
HCl. conc	16	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย Merculic chloride ด้วยน้ำ แล้วค่อยๆเติมกรด เขย่าให้เข้ากัน จนกระทั่งสารละลายอิ่มตัว

Benedict 's qualitative solution

ส่วนผสม

Sodium citrate	17.3	g.
Sodium carbonate anhydrous	10	g.
Cuprous sulphate pentahydrate	1.73	g.
Distilled water	100	ml.

ละลาย Sodium citrate และ Sodium carbonate ในน้ำกลั่น 100 มล. ,ละลาย copper sulphate ในน้ำกลั่น 20 มล. เติมลงในสารละลายข้างต้น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล.

Cytochrome oxidase reagents

1. 1% naphthol sol เตรียมโดยการใช้ ∝ -naphthol 1 กรัม ละลายใน absolute alcohol 100 มล.

2. Phenylene-diamine solution เตรียมโดยใช้ N,N,-dimethyl-p-phenylene-diamine dihydrochloride 1 กรัม ลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร เขย่าเก็บในตู้เย็น

Hydrogen peroxide

H_2O_2., 3% aq. soln. (10 volume)

Kovacs' reagent

ส่วนผสม

p-dimethylaminobenzaldehyde	5	g.
Amyl alcohol	75	ml.
HCl.conc .	25	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย aldehyde ใน alcohol แล้วจึงนำไปผสมกับ HCl. conc.

Lugol ' s iodide solution

ส่วนผสม

Iodine	5	g.
Potassium iodide	10	g.
Distilled water	100	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย Potassium iodide และ Iodine ในน้ำกลั่น 10 ml. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้เป็น 100 มล. เวลาจะใช้นำมาทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น 5 เท่า

Methyl red solution

ส่วนผสม

Methyl red	0.04	g.
Ethanol	40	ml.
Distilled water	100	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย methyl red ใน ethanol แล้วจึงเติมน้ำกลั่นลงไปให้มีปริมาตร 100 มล.

Nitrate test reagents

Solution A

ส่วนผสม

Sulfanilic acid	1	g.
Acetic acid (5N aq. soln.)	125	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย Sulfanilic acid อย่างช้าๆ ลงใน acetic acid จนหมด

Solution B

ส่วนผสม

∝ -Naphthylamine	0.5	g.
Acetic acid (5 N aq. soln.)	100	ml.

วิธีการเตรียม

ละลาย ∝ -Naphthylamine ลงใน acetic acid อย่างช้าๆ

Voges-Proskauer test reagent

ประกอบด้วย

1. 5% ∝ -Naphthol solution เตรียมโดยใช้ 5 g. ละลายใน Absolute alcohol 100 ml.
2. 40% Potassium hydroxide solution เตรียมโดยใช้ Potassium hydroxide 40 g. ละลายในน้ำกลั่น 100 ml.

Test papers (sensitivity)

O/129

1. sterile filter paper disks มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6-8 mm.
2. O/129 solution

ส่วนผสม O/129 solution

2,4-diamino-6,7-di-idopropyl pteridine phosphate

	0.1	g.
Acetone	100	ml.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการเตรียม

แช่ filter paper ลงใน O/129 solution เททิ้ง แล้ว
ทำให้แห้งที่ 37°C เก็บไว้ใน Screw-capped ขนาดเล็ก ที่อุณหภูมิ 4°C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพัชรี อังกุระ เกิดปี พ.ศ. 2503 จ. กรุงเทพมหานคร สำเร็จปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต เกียรตินิยมอันดับ 2 เมื่อปี พ.ศ. 2525 จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย