

ฤทธิ์ด้านเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อจากพอลิเอทิลีนไครต์ของทุเรียน



นางสาว อัญชลี พงศ์วิวัฒนา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีวเวชเคมี ภาควิชาชีวเคมี

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-17-4307-6

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ANTISEPTIC GEL FROM DURIAN POLYSACCHARIDE

Miss Unchulee Pongwiwatana

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science program in Biomedical Chemistry

Department of Biochemistry
Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University


Academic Year 2005

ISBN 974-17-4307-6

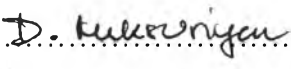
481992

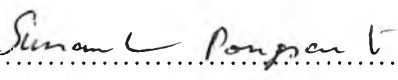
Thesis Title ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ANTISEPTIC GEL
FROM DURIAN POLYSACCHARIDE
By Miss Unchulee Pongwiwatana
Field of Study Biomedical Chemistry
Thesis Advisor Associate Professor Sunanta Pongsamart, Ph.D.
Thesis Co-advisor Associate Professor Vimolmas Lipipun , Ph.D.

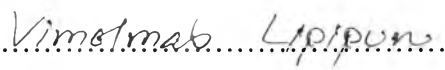
Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn
University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

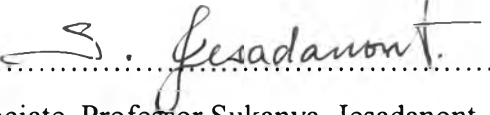

..... Dean of the Faculty of Pharmaceutical Sciences
(Associate Professor Boonyong Tantisira, Ph.D.)

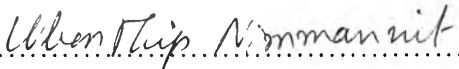
THESIS COMMITTEE


..... Chairman
(Associate Professor Duangdeun Meksuriyen, Ph.D.)


..... Thesis Advisor
(Associate Professor Sunanta Pongsamart, Ph.D.)


..... Thesis Co-advisor
(Associate Professor Vimolmas Lipipun, Ph.D.)


..... Member
(Associate Professor Sukanya Jesadanont, Ph.D.)


..... Member
(Associate Professor Ubonthip Nimmanit, Ph.D.)

อัญชูลี พงศ์วิวัฒนา: ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อจากพอลิแซ็กคาไรด์ของทุเรียน
(ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ANTISEPTIC GEL FROM DURIAN POLYSACCHARIDE)

อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ. ดร. สุรินทร์ พงษ์สามารถ, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ.ดร.วิมลมาศ
ลิปิพันธ์, 158 หน้า, ISBN 974-17-4307-6

พัฒนาผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อโดยใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากทุเรียนเป็นสารก่อเจลและยับยั้งแบคทีเรียเป็น
ตัวสำคัญ เนื่องจากค้นพบว่า เจลพอลิแซ็กคาไรด์มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 2.5% ในน้ำ การพัฒนาสูตรตำรับ
ยังใช้ tea tree oil (TTO) และ betel oil (BO) เพื่อวัตถุประสงค์สำหรับยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ทำการทดสอบความไวของจุลินทรีย์
หลายสายพันธุ์ที่ถูกยับยั้งด้วย TTO ในหลอดทดลอง พบว่า TTO มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ และรา 2 สาย
พันธุ์ จากการทดสอบความไวของจุลินทรีย์โดยเทคนิค agar diffusion method พบว่า tea tree oil ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.312
เปอร์เซ็นต์ ให้ inhibition zone เป็นวงใสมีขอบเขตที่คมชัดบนจานอาหารรุ้นต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 *Micrococcus luteus* ATCC 9341 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 *Escherichia coli*
ATCC 25922 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 *Proteus vulgaris* ATCC 13315 *Klebsiella pneumoniae*
ATCC 10031 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9721 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 และ *Candida albicans*
ATCC 10230 ตามลำดับ การทดสอบโดยเทคนิค broth macrodilution เพื่อหาปริมาณของ TTO ที่ใช้ในการยับยั้ง
เชื้อจุลินทรีย์ พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ของ TTO มีช่วงค่า 0.036%-
0.312% ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) ของ TTO มีช่วงค่า 0.078%-0.625% สามารถเตรียมตำรับ
ผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อจากสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด คือ เจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียน tea tree oil
(TTO) และ betel oil (BO) สูตรตำรับที่เตรียมได้สำเร็จและคัดเลือกไว้มี 3 สูตร คือ ผลิตภัณฑ์เจลพื้น (NO.12) ผลิตภัณฑ์
เจลระงับเชื้อที่มี TTO (NO.33) ผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อที่มี TTO ร่วมกับ BO (NO.43) การทดสอบความคงตัวของ
ผลิตภัณฑ์ (NO.12 NO.33 และ NO.43) โดยให้ผ่าน freeze-thaw cycles 6 รอบ และที่ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน
ให้ผลเป็นที่น่าพอใจ ผลิตภัณฑ์เจลมีความคงตัวดีไม่เปลี่ยนแปลง การศึกษาระยะเวลาของการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า
ผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อ NO.33 และ NO.43 สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* โดยดูจากจำนวนโคโลนีลดลงถึง 0 ได้
ภายใน 15 นาที ผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อสามารถฆ่าเชื้อรา *C. albicans* พบจำนวนโคโลนีลดลงถึง 0 ภายใน 6-24 ชั่วโมง
ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อต่อแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ และเชื้อรา 2 สายพันธุ์ โดยวิธีทดสอบความ
ไวของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค agar diffusion method พบ inhibition zone บนอาหารรุ้นเลี้ยงเชื้อกับผลิตภัณฑ์เจลระงับ
เชื้อ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อ (NO.33) ที่มี 1% TTO ผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อ (NO.35) ที่มี 1.5% TTO และผลิตภัณฑ์
เจลระงับเชื้อ (NO.43) ที่มี 1% TTO ร่วมกับ 0.2% BO แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *S.*
epidermidis, *M. luteus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *C. albicans* และ *S. cerevisiae* ได้
ดี การศึกษาแบบนอกกาย (in-vivo) โดยการประเมินความแรงของฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียจากจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ได้จาก
การแตะนิ้วบนจานเลี้ยงเชื้อทั้งก่อนและหลังการล้างมือด้วยผลิตภัณฑ์เจล (สูตร NO.33 และ NO.43) และผลิตภัณฑ์เจลพื้น
(NO.12) ผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อ NO.43 และ NO.33 แสดงให้เห็นการลดลงของจำนวนโคโลนีของเชื้อตามปกติที่อยู่บน
มือได้ดีกว่าการล้างมือด้วยน้ำประปา ความแรงของการยับยั้งแบคทีเรีย ของผลิตภัณฑ์เจลระงับเชื้อยังได้ทำการประเมิน
โดยเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ clean feel® ที่มีจำหน่าย พบว่าการลดลงของเชื้อตามปกติบนมือหลังการล้างด้วยผลิตภัณฑ์
NO.33 หรือ 43 เปรียบเทียบได้กับการใช้ clean feel®

ภาควิชา.....ชีวเคมี.....

สาขาวิชา.....ชีวเวชเคมี.....

ปีการศึกษา.....2548.....

ลายมือชื่อนิสิต.....อัญชูลี พงศ์วิวัฒนา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....สุรินทร์ พงษ์สามารถ.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....วิมลมาศ ลิปิพันธ์.....

4576628333 : MAJOR BIOMEDICINAL CHEMISTRY

KEY WORDS : *Durio zibethinus* / *Malaleuca alternifolia* / DURIAN POLYSACCHARIDE / ANTIBACTERIAL AGENT / TEA TREE OIL / BETEL OIL / ANTISEPTIC GEL

UNCHULEE PONGWIWATANA: ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ANTISEPTIC GEL FROM DURIAN POLYSACCHARIDE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUNANTA PONGSAMART, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. VIMOLMAS LIPIPUN, Ph.D., 158 pp. ISBN 974-17-4307-6

Antiseptic PG gel was developed by using durian polysaccharide gel (PG) as an active ingredient for gelling and antibacterial functions. Bactericidal activity of 2.5% w/v of PG has been explored, tea tree oil (TTO) and betel oil (BO) were also used in the formulation for antimicrobial purpose. *In vitro* activity was performed to evaluate the susceptibility of microorganisms to TTO. TTO showed inhibitory activity against 9 strains of bacteria and two strains of yeast. The susceptibility test was determined by agar diffusion method, inhibition zone of sharp and clear margin was observed on agar media with TTO at concentration 0.312% against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9721, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 and *Candida albicans* ATCC 10230, respectively. Broth macrodilution method was used to determine a quantitative antimicrobial activity of TTO. Minimal inhibitory concentrations (MICs) of TTO against microorganisms were in ranges of 0.036% to 0.312%. Minimal bactericidal concentrations (MBCs) of TTO were 0.078 % to 0.625%. The antiseptic PG-gel products were successfully prepared by using the combination of 3 antimicrobial agents, polysaccharide gel, TTO and BO. The antiseptic PG gel products including PG-gel base (NO.12), antiseptic tea tree oil-PG gel (NO.33) and antiseptic tea tree oil/betel oil-PG gel (NO.43) were successfully prepared and selected. The antiseptic PG gel products (NO.12, NO.33 and NO. 43) gave a satisfactory result of stability test, the products were unchanged after 6-temperature cycling test or storage at ambient temperature for 30 days. Time-kill study demonstrated the killing time of antiseptic gel products against represent susceptible bacteria, the colony counts of tested bacteria were declined to zero with the product NO.33 and product NO.43 within 15 min against *S. aureus* and *E. coli*. Whereas the colony counts of *C. albicans*, a represent fungi, was declined to zero with both products within 6-24 hours. Inhibitory activity of antiseptic PG gel products were evaluated against 9 strains of bacteria and two strains of yeast. The susceptibility test was determined by agar diffusion method, inhibition zone on agar media was observed. The antiseptic PG gel products including antiseptic tea tree oil-PG gel (NO.33) contained 1%TTO, antiseptic tea tree oil-PG gel (NO.35) contained 1.5%TTO and antiseptic tea tree oil/betel oil-PG gel (NO.43) contained 1%TTO with 0.2%BO, perfectly exhibited antimicrobial activity against *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *M. luteus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *C. albicans* and *S. cerevisiae*. In-vivo study was performed to evaluated antibacterial potency by observing the number of visible colonies of microorganisms released from fingers, which were inoculated on agar plates, before and after applying antiseptic PG gel products (NO.33 and NO.43) and PG-gel base (NO.12). Antiseptic PG gel NO.43 and antiseptic PG gel NO.33 showed considerable more reduction of visible colonies from hands normal flora after application than washing with tap water. Antibacterial potency of antiseptic PG gel products were also evaluated in comparison with a commercial product of clean feel[®]. The reduction of hands normal flora after application products NO.33 or 43 were comparable with clean feel[®].

Department.....Biochemistry.....

Field of study....Biomedical Chemistry..

Academic year.....2005.....

Student's signature...Unchulee Pongwiwatana

Advisor's signature...Sunanta Pongsamart

Co-advisor's signature...Vimolmas Lipipun

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my sincere gratitude and appreciation to my thesis advisor, Associate Professor Dr. Sunanta Pongsamart for her invaluable advice, guidance and encouragement throughout this study. Her patience and kindness are also deeply appreciated.

I wish to express my grateful thank to my thesis co-advisor, Associate Professor Dr. Vimolmas Lipipun, Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for her kindness, valuable advice, and encouragement throughout this research.

I also wish express deep appreciation to all members of the thesis committee for their suggestions and comments.

Thanks are also due to Chulalongkorn University and the Ministry of University Affairs for granting partial financial support to fulfill this study.

I would like to thank my friends and all staff members of Department of Biochemistry and other person whose names have not been mentioned here for their assistance and encouragement.

Finally, I would like to express my infinite thanks and deepest gratitude to my parent for their care, understanding, supporting and encouragement.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT (Thai).....	iv
ABSTRACT (English).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	ix
LIST OF FIGURES.....	x
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xiii
CHAPTER	
I. GENERAL BACKGROUND.....	1
1. INTRODUCTION.....	1
2. LITERATURE REVIEW.....	3
2.1 DISINFECTIONS, HAND WASHING AND ANTISEPTIC	3
2.2 GELLING AGENT.....	10
2.3 GELS.....	20
2.4 NATURAL MATERIALS OF ANTIMICROBIAL AGENTS	23
2.5 ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTS.....	38
II. METHODS.....	46
1. MATERIALS.....	46
2. METHODS.....	47
2.1 ISOLATION OF POLYSACCHARIDE GEL (PG)....	47
2.2 PROPERTIES OF POLYSACCHARIDE GEL (PG)...	48
2.3 PROPERTIES OF TEA TREE OIL (TTO).....	48
2.4 PREPARATION ANTISEPTIC PG GEL.....	50
2.5 STABILITY TEST OF ANTISEPTIC PG GEL PRODUCTS	53
2.6 EFFICACY OF ANTISEPTIC PG GEL.....	53
III. RESULTS.....	58
1. ISOLATION OF POLYSACCHARIDE GEL (PG).....	58
2. PROPERTIES OF POLYSACCHARIDE GEL (PG).....	58
3. PROPERTIES OF TEA TREE OIL (TTO).....	59

4. PREPARATION ANTISEPTIC PG GEL.....	68
5. STABILITY TEST OF ANTISEPTIC PG GEL PRODUCTS	68
6. EFFICACY ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE PRODUCTS ANTISEPTIC PG GEL.....	75
IV. DISCUSSION AND CONCLUSION.....	93
REFERENCES.....	104
APPENDICES.....	116
VITA.....	158

LIST OF TABLES

Table	Page
1. In-vivo studies of antiseptic PG gel product by hand washing test was performed for prevalue of CFU using the following steps arrangement.....	56
2. Compatibility test of 1% Tea tree oil (TTO) in each tested solubilizer....	62
3. Antimicrobial activity of tea tree oil against bacteria and fungi by agar diffusion method, nz = no inhibition zone	64
4. Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of tea tree oil against microorganisms.....	66
5. Formulation of PG gel base of durian polysaccharide gel (PG) TEA = Triethanolamine, DW = distilled water.....	69
6. Formulation of antiseptic PG gel contained tea tree oil (TTO) TTO = Tea tree oil, TEA = Triethanolamine, DW = distilled water.....	70
7. Formulation of antiseptic PG gel contained tea tree oil (TTO) and betel oil (BO) TTO = Tea tree oil, BO = Betel oil, TEA = Triethanolamine, DW = distilled water.....	71
8. Summary of antiseptic PG gel products after stability test.....	72
9. Antimicrobial activity of antiseptic PG gel finished products against microorganisms by agar diffusion method, nz = no inhibition zone	80
10. Antimicrobial test for all ingredients in PG gel base against microorganisms by agar diffusion method, nz = no inhibition zone	81
11. In-vivo evaluation of antiseptic potency of antiseptic gel products by hand washing test Score no: 1 = 0-50 colony, 2 = 50-100 colony, 3 = 100-200 colony, 4 = >200 colony. Data are mean \pm SD., n = 10.....	89

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. The structure of Alginic acid.....	11
2. The structure units of pectin.....	13
3. Carrageenan consists of alternating 3-linked- β -D-galactopyranose and 4-linked- α -D-galactopyranose units.....	13
4. The structure of κ -carrageenan (kappa-carrageenan)	14
5. Structural of ι -carrageenan (iota-carrageenan).....	14
6. Structural of λ -carrageenan (lambda-carrageenan).....	15
7. The structure of chitosan	17
8. Structural of Carboxymethylcellulose (CMC).....	18
9. Schematic drawing of a molecular segment of a cross-linked polyacrylic acid polymer.....	19
10. Polysaccharide gel (PG) powder product isolated from dried fruit-rinds of durian.....	60
11. Effect of concentrations of sorbitol on the apparent viscosity of polysaccharide gel (PG).....	61
12. Microbiological assay plate of tea tree oil (TTO) against <i>S. aureus</i> ATCC 6538P on MHA medium. Concentrations of tea tree oil were 5, 2.5, 1.25, 0.625, and 0.312% (v/v) and control (C) was 0.5% Tween 80... 65	65
13. MIC assay of tea tree oil by broth macrodilution method using MHB medium against <i>M. luteus</i> ATCC 9341.	67
14. Antiseptic PG gel products after freshly prepared. A= PG-gel base (NO.12), B= Tea tree oil PG-gel (NO.33), C= Tea tree oil/Betel oil-PG gel (NO.43).....	73
15. Tea tree oil PG-gel antiseptic finished product of formula NO.33 (A: after freshly prepared B: After 30 days storage at room temperature.)....	74
16. Time-kill analysis of antiseptic PG gel products against <i>S. aureus</i> ATCC 6538P, normal saline was used as a control.....	76
17. Time-kill analysis of antiseptic PG gel products against <i>E. coli</i> ATCC 25922, normal saline was used as a control.....	77

Figure	Page
18. Time-kill analysis of antiseptic PG gel products against <i>C. albicans</i> ATCC 10230, normal saline was used as a control	78
19. Microbiological assay plate against <i>B. subtilis</i> ATCC 6633 on Mueller hinton agar (MHA). A, NSS (normal saline); B, 2.5% PG, C: base PG gel (NO.12); D, 1%tea tree oil PG gel (NO.33); E, 1.5% tea tree oil PG gel (NO.35) and F, 1% tea tree oil/0.2% betel oil PG gel (NO.43).....	82
20. Microbiological assay plate against <i>C. albicans</i> ATCC 10230 on Sabouraud dextrose agar (SDA) A, NSS (normal saline); B, 2.5% PG, C: base PG gel (NO.12); D, 1%tea tree oil PG gel (NO.33); E, 1.5% tea tree oil PG gel (NO.35) and F, 1% tea tree oil/0.2% betel oil PG gel (NO.43).....	83
21. Microbiological assay plate against <i>C. albicans</i> ATCC 10230 on Sabouraud dextrose agar (SDA). A, sterile water; B, 15% propylene glycol; C, 13% Cremophore RH 40 [®] ; D, 0.5% Amerchol L-101 [®] ; E, 0.1% vitamine E acetate and F, 1.2% menthol.....	84
22. Microbiological assay plate against <i>B. subtilis</i> ATCC 6633 on Mueller hinton agar (MHA). A, sterile water; B, 15% propylene glycol; C, 13% Cremophore RH 40 [®] ;D, 0.5% Amerchol L-101 [®] ; E, 0.1% vitamine E acetate and F, 1.2% menthol.....	85
23. In-vivo studies of antiseptic PG gel finished products NO.33, 43 by hand washing test. (a) = performed by process 1; (b) = performed by process 2; (c) = performed by process 3. The colony counts were performed after incubation the inoculated MHA plates at 37°C for 24 hrs. Score no: 1 = 0 - 50 colony, 2 = 50 -100 colony, 3 = 100 – 200 colony, 4 = >200 colony.....	86

Figure	Page
24. The number of colonies of normal flora on hands inoculated by finger pressed on MHA media for 30 seconds and incubated overnight at 37°C. (A = before washing with tap water, B= after washing with tap water, C= after washing antiseptic PG gel base, D= after washing with antiseptic PG gel tea tree oil, E= after washing with antiseptic PG gel tea tree oil/betel oil).....	87
25. In-vivo evaluation of antiseptic potency by hand washing test of gel commercial product (clean feel [®]), antiseptic PG gel NO.33 and NO. 43, tap water was control. The colony counts were determined after incubation the inoculated MHA plates at 37°C for 24 hrs. Score no: 1 = 0-50 colony, 2 = 50-100 colony, 3 = 100-200 colony, 4 = >200 colony. Data are mean ± SD., n = 10 a, b = significant difference ($p < 0.05$).....	90
26. Evaluation of subject's perception of tea tree oil-PG gel products (NO.33).....	91
27. Evaluation of subject's perception of tea tree oil/betel oil-PG gel products (NO.43).....	92

LIST OF ABBREVIATIONS

ATCC	American Type Culture Collection, Maryland, USA
BO	Betel oil
BP	Brithish Pharmcopoeia
CMC	Carboxymethylcellulose
°C	degree celsius (centigrade)
CFU	colony forming unit
cps	centipoises
DMSO	dimethyl sulfoxide
DW	deionized water
e.g.	exempli gratia, for example
<i>et al.</i>	et alii, and others
g	gram (s)
HPMC	hydroxypropyl methylcellulose
ISO	International Organisation for Standardization
hr	hour
hrs	hours
kDa	kilodalton
kg	kilogram (s)
L	litre (s)
MBC	minimal bactericidal concentration
mg	milligram
MHA	mueller hinton agar
MHB	mueller hinton broth
MIC	minimal inhibitory concentration
min	minute (s)
ml	millilitre (s)
mm	millimetre (s)
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standard

NO.	number
NSS	normal saline solution
PEG	polyethylene glycol
SDA	sabouraud dextrose agar
SDB	sabouraud dextrose broth
PG	polysaccharide gel
pH	the negative logarithm of hydrogen ion concentration
qs.	make to volume
SD	standard deviation
sec	second (s)
TEA	Triethanolamine
TSA	tryptic soy agar
TSB	tryptic soy broth
TTO	Tea tree oil
USP	The United States Pharmacopeia
µg	microgram (s)
µl	microlitre (s)
w/v	weight by volume
w/w	weight by weight
%	percentage