

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง

จำนวนแบคทีเรียที่รอดจากการถูกยับยั้ง

ตารางที่ ข-1 จำนวนแบคทีเรีย *E. coli* ATCC 25913 ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วย friedelin

สาร	จำนวนแบคทีเรีย ($\times 10^6$ โคโลนี) ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วย friedelin ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ					
	1024 (μM)	512 (μM)	256 (μM)	128 (μM)	64 (μM)	H ₂ O
friedelin	28	56	109	149	193	201
	34	57	119	151	202	203
	34	59	113	160	197	208
ค่าเฉลี่ย	32.00	57.33	113.67	153.33	197.33	204.00
S.D.	3.46	1.53	5.03	5.86	4.51	3.61
CFU/ml	3.20E+07	5.73E+07	1.14E+08	1.53E+08	1.97E+08	2.04E+08

ตารางที่ ข-2 จำนวนแบคทีเรีย *E. coli* ATCC 25913 ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยแอมพิซิลลิน

สาร	จำนวนแบคทีเรีย ($\times 10^6$ โคโลนี) ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยแอมพิซิลลิน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ					
	1024 (μM)	512 (μM)	256 (μM)	128 (μM)	64 (μM)	H ₂ O
Ampicillin	67	117	147	162	183	201
	75	113	141	159	178	203
	62	121	139	165	186	208
ค่าเฉลี่ย	68.00	117.00	142.33	162.00	182.33	204.00
S.D.	6.56	4.00	4.16	3.00	4.04	3.61
CFU/ml	6.80E+07	1.17E+08	1.42E+08	1.62E+08	1.82E+08	2.04E+08

ตารางที่ ข-3 จำนวนแบคทีเรีย *E. coli* ATCC 25913 ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยเตตราซัยคลิน

สาร	จำนวนแบคทีเรีย ($\times 10^6$ โคโลนี) ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยเตตราซัยคลิน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ					
	1024 (μM)	512 (μM)	256 (μM)	128 (μM)	64 (μM)	H ₂ O
Tetracycline	25	42	106	110	161	201
	31	48	97	110	150	203
	33	39	104	118	157	208
ค่าเฉลี่ย	29.67	43.00	102.33	112.67	156.00	204.00
S.D.	4.16	4.58	4.73	4.62	5.57	3.61
CFU/ml	2.97E+07	4.30E+07	1.02E+08	1.13E+08	1.56E+08	2.04E+08

ตารางที่ ข-4 จำนวนแบคทีเรีย *A. baumannii* ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วย friedelin

สาร	จำนวนแบคทีเรีย ($\times 10^6$ โคโลนี) ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วย friedelin ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ					
	1024 (μM)	512 (μM)	256 (μM)	128 (μM)	64 (μM)	H ₂ O
friedelin	66	81	92	182	203	283
	62	90	85	174	198	274
	70	84	87	189	209	279
ค่าเฉลี่ย	66.00	85.00	88.00	181.67	203.33	278.67
S.D.	4.00	4.58	3.61	7.51	5.51	4.51
CFU/ml	6.60E+07	8.50E+07	8.80E+07	1.82E+08	2.03E+08	2.79E+08

ตารางที่ ข-5 จำนวนแบคทีเรีย *A. baumannii* ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยแอมพิซิลลิน

สาร	จำนวนแบคทีเรีย ($\times 10^6$ โคโลนี) ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยแอมพิซิลลิน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ					
	1024 (μM)	512 (μM)	256 (μM)	128 (μM)	64 (μM)	H ₂ O
Ampicillin	81	130	109	159	243	283
	67	146	122	146	255	274
	69	129	111	151	252	279
ค่าเฉลี่ย	72.33	135.00	114.00	152.00	250.00	278.67
S.D.	7.57	9.54	7.00	6.56	6.24	4.51
CFU/ml	7.23E+07	1.35E+08	1.14E+08	1.52E+08	2.50E+08	2.79E+08

ตารางที่ ข-6 จำนวนแบคทีเรีย *A. baumannii* ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยเตตราซัยคลิน

สาร	จำนวนแบคทีเรีย ($\times 10^6$ โคโลนี) ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยเตตราซัยคลิน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ					
	1024 (μM)	512 (μM)	256 (μM)	128 (μM)	64 (μM)	H ₂ O
Tetracycline	47	105	114	181	224	283
	51	98	123	172	235	274
	42	92	118	175	219	279
ค่าเฉลี่ย	46.67	98.33	118.33	176.00	226.00	278.67
S.D.	4.51	6.51	4.51	4.58	8.19	4.51
CFU/ml	4.67E-07	9.83E+07	1.18E+08	1.76E+08	2.26E+08	2.79E+08

ตารางที่ ข-7 จำนวนแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วย friedelin

สาร	จำนวนแบคทีเรีย ($\times 10^5$ โคโลนี) ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วย friedelin ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ					
	1024 (μM)	512 (μM)	256 (μM)	128 (μM)	64 (μM)	H ₂ O
friedelin	8	47	71	92	119	183
	12	57	82	89	109	193
	10	42	79	98	116	189
ค่าเฉลี่ย	10.00	48.67	77.33	93.00	114.67	188.33
S.D.	2.00	7.64	5.69	4.58	5.13	5.03
CFU/ml	1.00E+06	4.87E+06	7.73E+06	9.30E+06	1.15E+07	1.88E+07

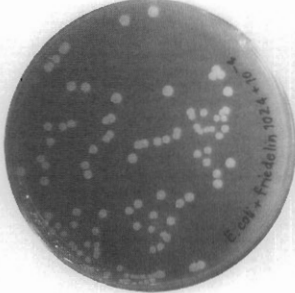
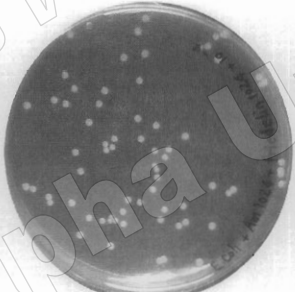
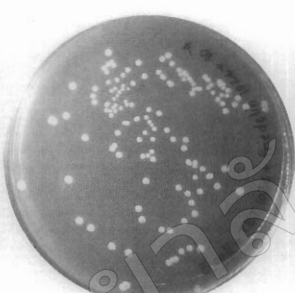
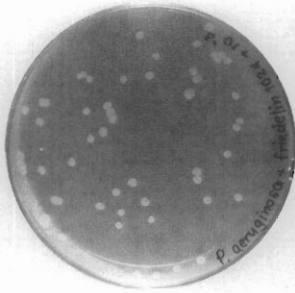
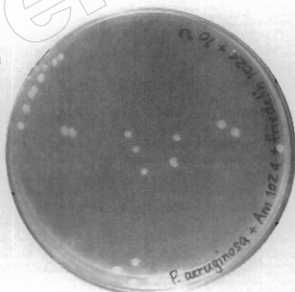
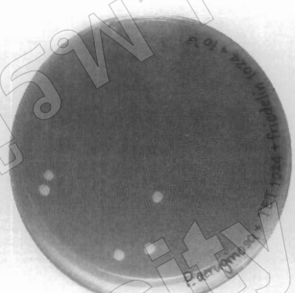
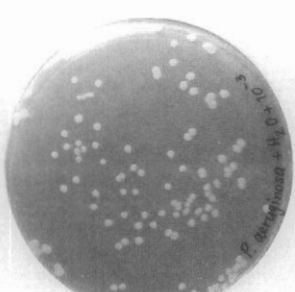
ตารางที่ ข-8 จำนวนแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยแอมพิซิลลิน

สาร	จำนวนแบคทีเรีย ($\times 10^5$ โคโลนี) ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยแอมพิซิลลิน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ					
	1024 (μM)	512 (μM)	256 (μM)	128 (μM)	64 (μM)	H ₂ O
Ampicillin	12	10	54	84	112	183
	10	12	59	92	121	193
	10	14	55	89	118	189
ค่าเฉลี่ย	10.67	12.00	56.00	88.33	117.00	188.33
S.D.	1.15	2.00	2.65	4.04	4.58	5.03
CFU/ml	1.07E+06	1.20E+06	5.60E+06	8.83E+06	1.17E+07	1.88E+07

ตารางที่ ข-9 จำนวนแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยเตตราซัยคลิน

สาร	จำนวนแบคทีเรีย ($\times 10^5$ โคโลนี) ที่รอดจากการถูกยับยั้งด้วยเตตราซัยคลิน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ					
	1024 (μM)	512 (μM)	256 (μM)	128 (μM)	64 (μM)	H ₂ O
Tetracycline	13	40	47	73	102	183
	16	35	50	75	95	193
	11	42	54	81	93	189
ค่าเฉลี่ย	13.33	39.00	50.33	76.33	96.67	188.33
S.D.	2.52	3.61	3.51	4.16	4.73	5.03
CFU/ml	1.33E+06	3.90E+06	5.03E+06	7.63E+06	9.67E+06	1.88E+07

ตารางที่ ข-10 เปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยสารต่างๆ

แบคทีเรีย	friedelin	แอมพิซิลลิน ร่วมกับ friedelin	เตตราไซคลิน ร่วมกับ friedelin	น้ำ
<i>E. coli</i> ATCC 25913				
	friedelin 1024 (10^{-4})	แอมพิซิลลิน 1024 friedelin 1024 (10^{-4})	เตตราไซคลิน 1024 friedelin 1024 (10^{-4})	น้ำ (10^{-4})
<i>P. aeruginosa</i>				
	friedelin 1024 (10^{-3})	แอมพิซิลลิน 1024 friedelin 1024 (10^{-3})	เตตราไซคลิน 1024 friedelin 1024 (10^{-3})	น้ำ (10^{-3})

ตารางที่ ๗-10 (ต่อ)

แบคทีเรีย	แอมพิซิลลิน ร่วมกับ friedelin	เตตราไซคลิน ร่วมกับ friedelin	น้ำ
<i>A. baumannii</i>	 แอมพิซิลลิน 1024 friedelin 1024 (10^{-4})	 เตตราไซคลิน 1024 friedelin 512 (10^{-4})	 น้ำ (10^{-4})

ภาคผนวก ค
การเตรียมสารเคมี

สูตรอาหาร

1. Nutrient agar

Beef extract	3	กรัม
Gelatin peptone	5	กรัม
Agar (hardydiagnostics)	15	กรัม

นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้ละลาย ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่ง
ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. Nutrient broth

Beef extract	3	กรัม
Gelatin peptone	5	กรัม

นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้ละลาย ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่ง
ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. Mueller Hinton agar

Beef extract	2	กรัม
Casein acid hydrolysate	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar (hardydiagnostics)	17.0	กรัม

นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้ละลาย ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่ง
ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. Mueller Hinton broth

Beef extract	2	กรัม
Casein acid hydrolysate	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม

นำส่วนผสมมาละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้ละลาย ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่ง
ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารเคมี

1. สารละลายยาปฏิชีวนะ

ยาแอมพิซิลลิน ความเข้มข้น 2048 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เตรียมยาโดยชั่งยา 0.3314 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นให้เข้ากัน (อาจทิ้งไว้ 1 คืนเพื่อให้ยาละลายดีขึ้น) แล้วทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองกระดาษขนาด 0.2 ไมโครเมตร (Pall corporation, USA) หลังจากนั้นดูดสารละลายมา 20.48 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1000 ไมโครลิตร ก็จะได้ยาแอมพิซิลลินที่มีความเข้มข้น 2048 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ยาเตตราซัยคลิน ความเข้มข้น 2048 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เตรียมยาโดยชั่งยา 0.4444 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นให้เข้ากัน (อาจทิ้งไว้ 1 คืนเพื่อให้ยาละลายดีขึ้น) แล้วทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองกระดาษขนาด 0.2 ไมโครเมตร (Pall corporation, USA) หลังจากนั้นดูดสารละลายมา 20.48 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1000 ไมโครลิตร ก็จะได้ยาเตตราซัยคลินที่มีความเข้มข้น 2048 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. สารละลาย friedelin

สารละลาย friedelin ความเข้มข้น 2048 ไมโครโมลาร์

การคำนวณความเข้มข้นของ friedelin

มวลโมเลกุล (MW) ของ friedelin มีค่าเท่ากับ 428 กรัมต่อโมล

ดังนั้น friedelin 428 กรัม คือ 1 โมล (น้ำ 1,000 ml)

ถ้า friedelin 0.1974 กรัม คือ $(0.1974 \times 1)/428$

$= 0.000461215$ โมล

ถ้าเติมน้ำ 1,000 ml ความเข้มข้นของ friedelin $= 0.000461215$ โมลาร์

$= 461.215 \times 10^{-6}$ โมลาร์

$= 461.215 \mu\text{M}$

ดังนั้น ความเข้มข้นของ friedelin คือ 461.215 μM ต่อน้ำ 1,000 ml

หรือ 46,121.5 μM ต่อน้ำ 10 ml

การเตรียม Master stock ของ friedelin

สาร friedelin	ละลายใน DMSO	10	ml
ได้ความเข้มข้นของ friedelin เท่ากับ	46,121.5	ไมโครโมลาร์	
เตรียม stock solution ของ friedelin ที่ความเข้มข้น 2048	ไมโครโมลาร์		
จากสูตร	$C_1 V_1 = C_2 V_2$		
	$V_1 = (C_2 V_2) / C_1$		
	$= (2048 \times 1,000) / 46,121.5$		
	$= 44.40$	ไมโครลิตร	

นั่นคือ คุณ Master stock มา 44.40 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1,000 ไมโครลิตร จะได้ stock solution ของ friedelin ที่ความเข้มข้น 2048 ไมโครโมลาร์

3. สารละลาย 0.85 % NaCl

ชั่ง NaCl	0.85	กรัม
เติมน้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

คนให้ละลายแล้วนำมาเชื้อในหม้อนิ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที