บทที่ 4

การทดลอง

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

4.1 การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองนี้ใช้ผ้ากอซและสำลีนำมัยจากองค์การเภสัชกรรม ซึ่งตัวอย่างทั้งสองชนิดนั้นผลิตในห้องปราศจากเชื้อ (Aseptic) โดยการนำผ้ากอซม้วนใหญ่มาตัดให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดตามต้องการ แล้วแบ่งใส่ถุงพลาสติกถุงละ 25 ชิ้น รวม 4 ถุงเล็กเป็น 1 ถุงใหญ่ ในถุงใหญ่จะมีผ้ากอซชิ้นเล็กๆ 100 ชิ้น ในจำนวน 100 ชิ้นนี้จะเก็บมาเป็นตัวอย่างในการทดลอง 1 ชิ้น เก็บรวมทั้งหมด 280 ชิ้นมาเป็นตัวอย่างในการทดลอง

ส่วนตัวอย่างสำลีก็ผลิตโดยนำสำลีม้วนขนาด 1 ปอนด์ มาแบ่งเป็นก้อนกลมๆ แล้วปั่นด้วยเครื่องให้เป็นก้อนกลมเล็กๆ ขนาดเท่าๆ กันตามต้องการ แล้วบรรจุถุงพลาสติกถุงละ 25 ชิ้น รวมถุงเล็ก 2ถุงเป็นถุงใหญ่ 1 ถุง ดังนั้นในหนึ่งถุงใหญ่จะมีสำลี 50 ชิ้น ใน 50 ชิ้นนี่จะเก็บมาเป็นตัวอย่างในการทดลอง 1 ชิ้น จะเก็บมาทั้งหมด 280 ชิ้น มาเป็นตัวอย่างในการทดลอง

4.2 เครื่องมือในการทดลอง

4.2.1 กรรไกรสำหรับแบ่งผ้ากอซและสำลีออกเป็นสองส่วน พร้อมทั้งตัดถุงบรรจุด้วย

4.2.2 ตะเกียงอัลกอฮอล์สำหรับเผา loop และกรรไกรเพื่อทำลายเชื้อ และป้องกันการ contaminate จากเชื้ออื่นขณะทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อ

4.2.3 Loop สำหรับ inoculate เชื้อ

4.2.4 จาน (Petridish) สำหรับใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

I15508250

4.2.5 ตู้อุดตร้าไวโอเลท สำหรับป้องกันเชื้ออื่นที่ไม่ต้องการ contaminate ขณะทดลอง

4.2.6 ตู้เลี้ยงเชื้อทั้งแบบใช้ออกซิเจน และไม่ใช้ออกซิเจน สำหรับเลี้ยงเชื้อแบบ aerobic and anaerobic

4.2.7 อาหารในการเลี้ยงเชื้อใช้ Tryptic Soy Agar ของ Difco

4.3 การอาบรังสี

4.3.1 อาบรังสีกับผ้ากอซตัวอย่างโดยใช้ปริมาณรังสี 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6 และ 2.5 Mrad โดยใช้ตัวอย่าง dose ละ 40 ตัวอย่าง อีก 40 ตัวอย่างไม่อาบรังสีเพื่อศึกษา initial contamination รวมทั้งสิ้นเป็นตัวอย่าง 280 ตัวอย่าง นำตัวอย่างภายหลังอาบรังสีและที่ไม่ได้อาบรังสีมาศึกษาชนิด และปริมาณของเชื้อ โดยแยกศึกษาเป็นพวกที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต และพวกที่เจริญโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต กับเชื้อรา

4.3.2 อาบรังสีกับสำลีตัวอย่างโดยใช้ปริมาณรังสี 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6 และ 2.5 Mrad โดยใช้ตัวอย่าง dose ละ 40 ตัวอย่าง อีก 40 ตัวอย่างไม่อาบรังสีเพื่อศึกษา initial contamination รวมทั้งสิ้นเป็นตัวอย่าง 280 ตัวอย่าง นำตัวอย่างภายหลังอาบรังสีและที่ไม่ได้อาบรังสีมาศึกษาชนิด และปริมาณของเชื้อ โดยแยกศึกษาเป็นพวกที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต และพวกที่เจริญโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิตกับเชื้อรา

4.4 การเพาะเชื้อ

เมื่อแบ่งตัวอย่างและอาบรังสีได้ตามขนาดรังสีที่ต้องการแล้วนำมาทดลองดังนี้

4.1.1 ถุงผ้ากอซที่ไม่ได้อาบรังสีนำมาเพาะเชื้อเพื่อหาจำนวนเริ่มต้นและชนิดของเชื้อที่พบบนผ้ากอซดังนี้

เตรียมเครื่องมือทุกชิ้นให้พร้อมหมายถึงเครื่องมือที่ใช้ในการทดลองทุกชิ้นต้องปราศจากเชื้ออื่นเจือปน นำถุงพลาสติกที่บรรจุผ้ากอซมา 1 ชิ้นแบ่งออกสองส่วนเท่า ๆ กัน โดยส่วนหนึ่งใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ 1 จานแล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ (อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่คือ Tryptic Soy Agar) ลงไปพอท่วมผ้ากอซตัวอย่าง เพื่อเลี้ยงเชื้อที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต ส่วนอีกส่วนหนึ่งนั้นใส่ในจานเลี้ยงเชื้ออีกจานหนึ่งเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงพอท่วมผ้ากอซ เช่นเดียวกัน เพื่อเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจน ในการดำรงชีวิต โดยนำจานเลี้ยงเชื้อที่มีผ้ากอซใส่อาการเลี้ยงเชื้อแล้วใส่ใน anaerobic jar แล้วนำทั้งสองจานนั้นเข้าตู้เลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำอย่างเดียวกันทั้งหมด 40 ชิ้น แล้วดูผลใน 48 ชม. เพื่อที่จะดู colony ที่แยกออกมาเดี่ยว ๆ จะได้นำไปทำให้เป็นเชื้อที่บริสุทธิ์ต่อไป และบันทึกจำนวนเชื้อไว้ และดูผลซ้ำอีกครั้งหนึ่งโดยปล่อยจานเลี้ยงเชื้อไว้ในตู้เลี้ยงเชื้ออีก 14 วันการนับจำนวนนับทั้ง aerobic and anaerobic bacteria กับเชื้อรา รวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย ผลจำนวนครั้งสุดท้ายนี้จะใช้เป็นจำนวนของเชื้อที่จะนำเอาไปวิจารณ์ผลอีกต่อไป

สำหรับตัวอย่างสำลีที่จะหาจำนวนเชื้อเริ่มต้น ก็นำถุงสำลีที่ไม่ได้อาบรังสีมาทำการเพาะเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับตัวอย่างผ้ากอซ โดยแบ่งสำลีออกเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดยอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต อีกส่วนหนึ่งก็เพาะเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดยไม่อาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต ทำเหมือนกันทั้ง 40 ชิ้น นำเข้าตู้เลี้ยงเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ดูผลใน 48 ชม. สังเกตุดูโคโลนีเดี่ยว ๆ แยกมาทำเชื้อให้บริสุทธิ์เพื่อแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนนับทั้ง aerobic and anaerobic bacteria กับเชื้อราโดยนับจากจานเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้ออีก 14 วันรวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย จำนวนนี้จะนำไปวิจารณ์ผลต่อไป

4.4.2 ถุงตัวอย่างผ้ากอซที่อาบรังสี 0.8 Mrad แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อดังนี้

ตัวอย่างผ้ากอซทั้ง 40 ชิ้น แต่ละชิ้นนำมาแบ่งออกเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งสำหรับเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดยอาศัยออกซิเจน ในการดำรงชีวิต และอีกส่วนหนึ่งสำหรับเพาะเลี้ยง เชื้อที่เจริญเติบโตโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต ทำเหมือนกันทั้ง 40 ชิ้น กรึ่งหนึ่ง (40 จานเลี้ยงเชื้อ) ใส่ใน anaerobic jar แล้วนำทั้งหมด (80 จานเลี้ยงเชื้อ) เข้าตู้เลี้ยงเชื้อ 37 องศาเซลเซียส ดูผลใน 48 ชม. สังเกตุดูโคโลนีเดี่ยว ๆ นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์เพื่อแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนนับทั้ง aerobic and anaerobic bacteria กับเชื้อราโดยนับจากจานเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่เก็บไว้ในตู้เชื้ออีก 14 วัน รวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย ซึ่งจำนวนเชื้อนี้จะนำไปวิจารณ์ผลต่อไป

ส่วนตัวอย่างสำลีที่อาบรังสี 0.8 Mrad ก็ทำเช่นเดียวกันกับตัวอย่างผ้ากอซ แล้วดูผลใน 48 ชม. เพื่อนำโคโลนีเดี่ยว ๆ ไปทำเชื้อบริสุทธิ์สำหรับแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนก็นับจากจานเลี้ยงเชื้อที่เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้ออีก 14 วันรวมทั้งโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย เป็นผลที่จะนำไปวิจารณ์ต่อไป

4.4.3 ถุงตัวอย่างผ้ากอซที่อาบรังสี 1.0 Mrad แล้ว นำมาเพาะเลี้ยงเชื้อดังนี้

ตัวอย่างผ้ากอซทั้ง 40 ชิ้น แต่ละชิ้นนำมาแบ่งออกเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดย อาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต และอีกส่วนหนึ่งสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต ทำเหมือนกันทั้ง 40 ชิ้น กรึ่งหนึ่ง (40 จานเลี้ยงเชื้อ) ใส่ใน anaerobic jar แล้วนำทั้งหมด (80 จานเลี้ยงเชื้อ) เข้าตู้เลี้ยงเชื้อ 37 องศาเซลเซียส ดูผลใน 48 ชม. สังเกตุดูโค โลนีเดี่ยว ๆ นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์เพื่อแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนนับจากจานเลี้ยงเชื้อ ครั้งแรกโดยเก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้ออีก 14 วัน รวมกับโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย ซึ่งจำนวนเชื้อนี้จะนำไปวิจารณ์ผลต่อไป

ส่วนสำลีตัวอย่างที่อาบรังสี 1.0 Mrad ก็ทำเช่นเดียวกับตัวอย่างผ้ากอซ แล้วดูผลใน 48 ชม. เพื่อนำโคโลนีเดี่ยว ๆ ไปทำเชื้อบริสุทธิ์สำหรับแยกชนิดต่อไป

การนับจำนวนเชื้อนับทั้ง aerobic and anaerobic bacteria กับเชื้อราโดยนับจากจานเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้ออีก 14 วัน รวมกับโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย ซึ่งเป็นผลที่จะนำไปวิจารณ์ต่อไป

4.4.4 ถุงตัวอย่างผ้ากอซที่อาบรังสี 1.2 Mrad แล้ว นำมาเพาะเลี้ยงเชื้อดังนี้

ตัวอย่างผ้ากอซทั้ง 40 ชิ้น แต่ละชิ้นนำมาแบ่งออกเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งเลี้ยงเชื้อที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต อีกส่วนหนึ่งสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต ทำเหมือนกันทั้ง 40 ชิ้น กรึ่งหนึ่ง (40 จานเลี้ยงเชื้อ) ใส่ใน anaerobic jar แล้วนำทั้งหมด (80 จานเลี้ยงเชื้อ) เข้าตู้เลี้ยงเชื้อ 37 องศาเซลเซียส ดูผลใน 48 ชม. เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว ๆ ไปทำเชื้อบริสุทธิ์สำหรับแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนนับทั้ง aerobic and anaerobic bacteria กับเชื้อรา โดยนับจากจานเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้ออีก 14 วัน รวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วยเป็นผลที่จะนำไปวิจารณ์ต่อไป

4.4.5 ถุงตัวอย่างผ้ากอซที่อาบรังสี 1.4 Mrad แล้วนำมาเพาะเชื้อดังนี้

ตัวอย่างผ้ากอซทั้ง 40 ชิ้น แต่ละชิ้นนำมาแบ่งออกเป็นสองส่วนเท่า ๆ กันส่วนหนึ่งสำหรับเลี้ยงเชื้อที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต และอีกส่วนหนึ่งสำหรับเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต ทำเหมือนกันทั้ง 40 ชิ้น กรึ่งหนึ่ง (40 จานเลี้ยงเชื้อ) สำหรับใส่ใน anaerobic jar แล้วนำทั้งหมด (80 จานเลี้ยงเชื้อ) เข้าตู้เลี้ยงเชื้อ 37 องศาเซลเซียส ดูผลใน 48 ชม. เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว ๆ ไปทำเชื้อบริสุทธิ์สำหรับแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนนับทั้ง aerobic and anaerobic bacteria กับเชื้อราโดยนับจากจานเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้อ 14 วัน รวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย เป็นผลที่จะนำไปวิจารณ์ต่อไป

ส่วนสำลีตัวอย่างทั้ง 40 ชิ้นที่อาบรังสี 1.4 Mrad แล้วก็ทำเช่นเดียวกับตัวอย่างผ้ากอซ แล้วดูผลใน 48 ชม. เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว ๆ ไปทำเชื้อบริสุทธิ์สำหรับแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนนับทั้ง aerobic and anaerovic bacteria กับเชื้อราโดยนับจากจานเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้อ 14 วัน รวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย

4.4.6 ถุงตัวอย่างผ้ากอซที่อาบรังสี 1.6 Mrad แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อดังนี้

ตัวอย่างผ้ากอซทั้ง 40 ชิ้น แต่ละชิ้นนำมาแบ่งเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งสำหรับเพาะเลี้งเชื้อที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต และส่วนหนึ่งสำหรับเชื้อที่เจริญเติบโตโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต ทำเหมือนกันทั้ง 40 ชิ้น ครึ่งหนึ่ง (40 จานเลี้ยงเชื้อ) ใส่ใน anaerobic jar แล้วนำทั้งหมด (80 จานเลี้ยงเชื้อ) เข้าตู้เลี้ยงเชื้อ 37 องศาเซลเซียส ดูผลใน 48 ชม. เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว ๆ ไปทำเชื้อบริสุทธิ์สำหรับแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนนับทั้ง aerobic and anerobic bacteria กับเชื้อรา โดยนับจากจานเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้อ 14 วันรวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย เป็นผลที่จะนำไปวิจารณ์ต่อไป

ส่วนสำลีตัวอย่างทั้ง 40 ชิ้นที่อาบรังสี 1.6 Mrad แล้วก็ทำเช่นเดียวกับตัวอย่างผ้ากอซ แล้วดูผลใน 48 ชม. เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว ๆ ไปทำเชื้อบริสุทธิ์สำหรับแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนนับทั้ง aerobic and anaerobic bacteria กับเชื้อรา โดยนับจากจานเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้อ 14 วัน รวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย เป็นผลที่จะนำไปวิจารณ์ผลต่อไป

4.4.7 ถุงตัวอย่างผ้ากอซที่อาบรังสี 2.5 Mradแล้วนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อดังนี้

ตัวอย่างผ้ากอซทั้ง 40 ชิ้น แต่ละชิ้นนำมาแบ่งออกเป็นสองส่วนเท่า ๆ กันส่วนหนึ่งสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดยอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต และอีกส่วนหนึ่งสำหรับเลี้ยงเชื้อที่เจริญเติบโตโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนในการดำรงชีวิต ทำเหมือนกันทั้ง 40 ชิ้น ครึ่งหนึ่ง (40 จานเลี้ยงเชื้อ) ใส่ใน anaerobic jar แล้วนำ

ทั้งหมด (80 จานเลี้ยงเชื้อ) เข้าตู้เลี้ยงเชื้อ 37 องศาเซลเซียส ดูผลใน 48 ชม. เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว ๆ ไปทำเชื้อบริสุทธิ์สำหรับแยกชนิดต่อไป การนับจำนวนนับทั้ง aerobic and anaerobic bacteriaกับเชื้อราโดยนับจากจานเลี้ยงเชื้อครั้งแรกที่เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้อ 14 วัน รวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วยเป็นผลที่จะนำไปวิจารณ์ต่อไป.

สำหรับตัวอย่างสำลีที่อาบรังสี 2.5 Mradนั้นก็ทำเช่นเดียวกันกับตัวอย่างผ้ากอซเพื่อหาจำนวนเชื้อที่เจริญโดยอาศัยออกซิเจนช่วยในการเจริญเติบโต กับหาจำนวนเชื้อที่เจริญเติบโตโดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนในการเจริญเติบโต โดยทำเหมือนกันทั้ง 40 ตัวอย่างครั้งหนึ่ง 40 จานเลี้ยงเชื้อใส่ใน anaerobic jar แล้วนำทั้งหมด (80 จานเลี้ยงเชื้อ) เข้าตู้เลี้ยงเชื้อ 37 องศาเซลเซียส ดูผลใน 48 ชม. เพื่อแยกดูโคโลนี ที่แยกออกมาเดี่ยว ๆ นำไปทำ pure culture ในการทดลองอื่น ๆ ต่อไป และนับผลครั้งสุดท้ายใน 14 วันรวมกับจำนวนโคโลนีที่นำไปทำเชื้อบริสุทธิ์ด้วย และตัวเลขนี้ถือว่าเป็นจำนวนโคโลนีที่ถือว่าเป็นจำนวนเชื้อที่จะนำไปวิจารณ์ผลต่อไป

4.5 แยกเชื้อ (Isolation)

4.5.1 เมื่อเชื้อเจริญแล้ว 48 ชม. จากตัวอย่างผ้ากอซที่ไม่ได้อาบรังสี 40 ตัวอย่าง จะนำเชื้อที่ได้จากการสังเกตุว่าแยกออกมาเป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ ที่เกิดจากเพาะเลี้ยงจากผ้ากอซตัวอย่างที่ยังไม่ได้อาบรังสีมา streak plate ใหม่บน Tryptic Soy Agar เช่นเดิม นำเข้าตู้เลี้ยงเชื้อ 37 องศาเซลเซียสพร้อมทั้งชนิด aerobic และ anaerobic ดูผลใน 24 ชม. บันทึกผลสังเกตุดูว่าลักษณะโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อในแต่ละ plate เหมือนกันหรือไม่ถ้าไม่เหมือนกันจะทำการ streakซ้ำอีกครั้งหนึ่งจนแน่ใจว่าใน plate นั้นมีโคโลนีชนิดเดียว แล้วนำไปย้อม Gram และทดลองในด้านอื่นๆ ต่อไป

ส่วนผ้ากอซตัวอย่างอื่นที่อาบรังสี 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 และ 2.5 Mrad หลังจากดูผล 48 ชม. ทุกชิ้น รวม 240 ตัวอย่าง แล้วจะนำโคโลนีเดี่ยว ๆ ที่สังเกตุพบมาทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์(pure culture) ดูใหม่ทุกตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบว่าเป็นชนิดเดียวกันกับที่พบบนผ้ากอซตัวอย่างที่ไม่ได้อาบรังสีหรือไม่ พบว่าเหมือนกันจะนับเข้าด้วยกันแล้วนำไปวิจารณ์ผลต่อไป

4.5.2 สำหรับตัวอย่างสำลีที่ไม่ได้อาบรังสีจากจำนวน 40 ตัวอย่างก็นำมาแยกหาเชื้อที่มีเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิดที่สังเกตุพบ พอแยกเป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ ก็นำมาแยกเชื้อเพื่อให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์และสังเกตุดูลักษณะโคโลนี (ที่แตกต่างกันเพื่อบันทึกและนำไปวิจารณ์ผลต่อไป)

ส่วนสำลีตัวอย่างอื่นที่อาบรังสี 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 Mrad หลังจากดูผล 48 ชม. แล้วทุกชิ้น รวม 240 ตัวอย่าง จะนำมาแยก pure cultured เพื่อสังเกตุโคโลนีแตกต่างกันอย่างไร มีเป็นชนิดใดที่เหลือจากการอาบรังสีแล้วเป็นจำนวนเท่าไรก็จะนำมาวิจารณ์ผลต่อไป

4.6 การทดลองเพื่อทดลองว่าเป็นเชื้อชนิดเดียวกันหรือไม่

เมื่อได้สังเกตุดูได้ลักษณะโคโลนีเหมือนกันแล้วจะนำผลจาก pure culture ที่ได้จากการ streak plate ภายใน 24 ชม. นำมาทดลองดังนี้

I ย้อม Gram's ดูว่าเป็น Gram positive หรือ Gram negative

II ดู motility ของทุก ๆ เชื้อที่พบแตกต่างกันโดยสังเกตุจาก flagella และการเคลื่อนไหว

III ดู shape ว่าเป็น rod หรือ cocci

IV ดูการ fermentation กับน้ำตาลพวก glucose, lactose, dextrose

V ดูการ hydrolyse starch

VI ดูการเปลี่ยนแปลงทางด้าน biochemical เช่น Indol test, Methyl red test, V.P.test และดูการละลาย gelatin เป็นต้น ซึ่งจะแยกได้ว่าเป็นพวก fecal type หรือ non fecal type และพวก pathogenic กับ non pathogenic ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

การทดลองนี้จะนำมาทดสอบวิธีละ 10 โคโลนีที่เหมือนกันทำซ้ำกัน 3 ครั้ง ทุก ๆ โค โลนีที่เหมือนกัน และทำทั้งตัวอย่างที่ไม่ได้อาบรังสีกับที่อาบรังสี 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6 และ 2.5 Mrad ด้วย พร้อมกันทั้งตัวอย่างผ้ากอซและสำสี เพื่อจะได้เปรียบเทียบว่าเป็นเชื้อที่พบบนผ้ากอซและสำสีตัวอย่างชนิดเดียวกันหรือไม่ เพื่อสำหรับนำไปวิจารณ์ผลต่อไป