กรมควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี	วิธีปฏิบัติงาน : การตรวจเพาะเชื้อหนองใน (GC Culture) และการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อหนองใน	รหัส WI-AIDS/STI-005 วันที่ประกาศใช้ 18 ธันวาคม 2566 แก้ไขครั้งที่ 04 หน้าที่ 1 จาก 21
กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี	ผู้จัดทำ : ผู้จัดการวิชาการงานโรคติดเชื้อวัณโรคแฝง งานอณูชีววิทยาฯ	ผู้อนุมัติ: หัวหน้ากลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค

ผู้จัดทำ ..... (ทนพญ.สุดารัตน์ กิ่งผา)
ตำแหน่ง ผู้จัดการวิชาการงานโรคติดเชื้อวัณโรคแฝง งานอณูชีววิทยา งานโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ โรคติดต่อนำโดยแมลง และงานโรคอุบัติใหม่ อุบัติซ้ำ

ผู้ทบทวน ..... (ทนพญ.โสภิตา โสพิลา)
ตำแหน่ง ผู้จัดการวิชาการงานตรวจหาระดับเซลล์ซีดีสี่งานโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์

ผู้อนุมัติ ..... (ดร.ทนพญ.วิภาวี แสนวงษา)
ตำแหน่ง หัวหน้ากลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

บันทึก การประกาศใช้ / การแก้ไข / ทบทวน

วัน/เดือน/ปี	ประกาศใช้ / การแก้ไข / ทบทวน	รายละเอียด	ผู้จัดทำ/ผู้ทบทวน
01/06/2563	ประกาศใช้ครั้งแรก	-	พรนิภา
07/05/2564	ทบทวนเอกสารคุณภาพ ประจำปี 2564	ทบทวนและไม่มีการแก้ไข	พรนิภา
18/10/2564	แก้ไขครั้งที่ 01	จากผลการตรวจประเมินรับรองมาตรฐานสากลISO15189:2012, 15190:2003 -แก้ไขหัวข้อ WI จาก 15 หัวข้อ เป็น 17 หัวข้อ	โสภิตา
22/06/2565	แก้ไขครั้งที่ 02	แก้ไขหัวข้อเอกสารตามข้อกำหนด ISO 15189 จาก 17 ข้อ เป็น 20 ข้อ	โสภิตา/ พรนิภา
19/05/2566	แก้ไขครั้งที่ 03	-ทบทวนวิธีการปฏิบัติและแก้ไขให้สอดคล้องกับการปฏิบัติงานจริง -เปลี่ยนแปลงชื่อผู้จัดทำ จากนางสาวโสภิตา โสพิลา เป็น นางสาวสุดารัตน์ กิ่งผา และผู้ทบทวน จาก นางสาวพรนิภา สายธนู เป็น นางสาวโสภิตา โสพิลา	สุดารัตน์ / โสภิตา
18/12/2566	แก้ไขครั้งที่ 04	หน้า 17) ทบทวนวิธีการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อ	สุดารัตน์ / โสภิตา

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ	4
2. หลักการและวิธีการที่ใช้ในการทดสอบ	4
3. ความไวและความจำเพาะของการตรวจวิเคราะห์	4
4. ประเภทหรือชนิดของตัวอย่าง	4
5. การเตรียมผู้ป่วย	5
6. ภาชนะบรรจุหรือสารที่ใช้เก็บตัวอย่าง	5
7. เครื่องมืออุปกรณ์และน้ำยาที่ใช้	5
8. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย	5
9. ขั้นตอนการสอบเทียบ	5
10. วิธีปฏิบัติงาน	6
11. วิธีการควบคุมคุณภาพ	16
12. ข้อจำกัดและสิ่งรบกวนของการตรวจวิเคราะห์	18
13. ค่าความไม่แน่นอนของการวัด	18
14. ค่าอ้างอิง	18
15. การรายงานผล / การคำนวณผล	18
16. คำแนะนำกรณีผลไม่อยู่ในช่วงการวัด	18
17. ค่าวิกฤต	18
18. การแปลผล	19
19. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวน	21
20. เอกสารที่เกี่ยวข้อง / เอกสารอ้างอิง	21

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

วิธีปฏิบัติงาน (Work Instruction)
เรื่อง การตรวจเพาะเชื้อหนองใน (GC Culture) และการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อหนองใน

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ

อธิบายขั้นตอนการเตรียมอาหารที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* และพิสูจน์ความไวยาของเชื้อหนองใน รวมทั้งการทดสอบการปนเปื้อนและคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เพื่อใช้เป็นแนวทางมาตรฐานของห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อได้อย่างถูกต้องเพื่อผลการตรวจที่มีประสิทธิภาพน่าเชื่อถือ ทำให้การปฏิบัติงานมีคุณภาพและเป็นมาตรฐานเดียวกัน

2. หลักการและวิธีการที่ใช้ในการทดสอบ

หนองในเป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่พบได้บ่อย อาการมักรุนแรงและชัดเจน จนผู้ป่วยต้องมาพบแพทย์ หากทิ้งไว้ไม่รักษาอาการดีขึ้นได้เองเล็กน้อยแต่ตัวโรคยังคงเป็นอยู่ และทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนตามมาได้ ได้แก่ ภาวะมีบุตรยากทั้งหญิงและชาย ปวดท้องน้อยเรื้อรัง และการตั้งครรภ์นอกโพรงมดลูก

โรคหนองใน (Gonorrhea) เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ที่ชื่อ *Neisseria gonorrhoeae* ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในน้ำอสุจิและสารน้ำในช่องคลอด จึงถ่ายทอดผ่านทางการมีเพศสัมพันธ์เป็นหลัก และสามารถถ่ายทอดได้บ้างโดยการสัมผัสโดยตรง เช่น ทารกที่คลอดผ่านทางช่องคลอดของมารดาที่ติดเชื้อ ทำให้เกิดการติดเชื้อที่เยื่อบุตา

นอกจากนี้เชื้อหนองในยังสามารถพบที่เซลล์ของปากมดลูก ท่อปัสสาวะ ทวารหนักและช่องคลอดได้อีกด้วย ในสตรี เชื้อสามารถแพร่จากช่องคลอดไปทวารหนักได้เองโดยไม่จำเป็นต้องมีเพศสัมพันธ์ทางทวารหนัก สำหรับการมีเพศสัมพันธ์โดยการใช้มือหรือนิ้วช่วย ยังไม่มีหลักฐานชัดเจนว่าทำให้เกิดการถ่ายทอดเชื้อได้ กิจกรรมต่อไปนี้ ไม่ทำให้เกิดการถ่ายทอดเชื้อหนองใน ได้แก่ กอด จูบ ใช้ห้องน้ำหรือผ้าเช็ดตัวร่วมกัน การใช้สระว่ายน้ำร่วมกัน การใช้ห้องน้ำ หรือการใช้แก้วน้ำ จาน ชามร่วมกัน

3. ความไว และความจำเพาะของการตรวจวิเคราะห์

ขึ้นกับตำแหน่งและปริมาณเชื้อหนองใน พบว่าการตรวจที่บริเวณคอจะมีความแม่นยำน้อยที่สุด อย่างไรก็ตาม ไม่มีการตรวจใดให้ผล 100 % ดังนั้นหากท่านยังคงมีอาการอยู่ ทั้งที่ผลการตรวจทุกอย่างเป็นลบ แนะนำให้มาตรวจติดตามเพื่อประเมินซ้ำอีกครั้ง ในทางกลับกัน หากท่านไม่มีอาการแต่ผลตรวจของท่านเป็นบวก อาจเนื่องจาก คู่นอนของท่าน ผลเป็นบวก แนะนำให้พาคู่นอนมาตรวจด้วย

4. ประเภทหรือชนิดของตัวอย่าง

4.1 Vagina swab

4.2 Endocervix swab

4.3 Pus from Urethra

4.4 Pharynx swab (MSM)

4.5 Rectum swab

4.6 Abscess swab

4.7 Eye swab (กรณีเด็กติดจากแม่ขณะคลอด)

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

5. การเตรียมผู้ป่วย

-

6. ภาชนะบรรจุหรือสารที่ใช้เก็บตัวอย่าง

- Streak specimens on Bangrak I media
- Streak specimens on Chocolate agar

7. เครื่องมือ อุปกรณ์และน้ำยาที่จำเป็น

7.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ และอาหารสำหรับทดสอบพิสูจน์เชื้อ
7.2 Loop
7.3 ตะเกียงไฟฟ้าสำหรับเผา loop
7.4 BSC class II
7.5 Incubator and candle jar
7.6 Autoclave and spore test
7.7 Water bath
7.8 กล้องจุลทรรศน์
7.9 30 %H_2O_2
7.10 1% Oxidase
7.11 สารละลาย กลูโคส มอลโตส ซูโครส
7.12 หลอดทดลอง
7.13 Cefinase disk
7.14 Forcep / Sterile swab

8. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย

1. สวมใส่ PPE ที่เหมาะสม ทุกครั้งที่ต้องปฏิบัติงานกับสิ่งส่งตรวจผู้ป่วย

2. สวมถุงมือทุกครั้งเมื่อทำการทดสอบตัวอย่างผู้ป่วย ที่อาจจะมีโอกาสสัมผัสกับเลือดหรือน้ำเหลืองของผู้ป่วยได้ (โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าหากมือเป็นแผลหรือถลอก) และต้องล้างมือด้วยสบู่หรือน้ำยาฆ่าเชื้อก่อนใส่ถุงมือและหลังถอดถุงมือด้วยทุกครั้ง

3. ทำความสะอาดพื้นที่ก่อนและหลังการปฏิบัติงานกับสิ่งส่งตรวจ ด้วย 70 % Alcohol และแช่อุปกรณ์ เช่น Tip ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ Pose-crezol (เตรียมทุกวัน 1 ซอง ต่อ น้ำ 1 ลิตร) ก่อนทิ้งเป็นขยะติดเชื้อ

4. เครื่องมือเครื่องใช้ที่จะต้องสัมผัสกับเลือดหรือน้ำเหลืองของผู้ป่วย หลังทำการตรวจวิเคราะห์ต้องเช็ดและทำความสะอาดด้วย 70 % Alcohol

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ

-

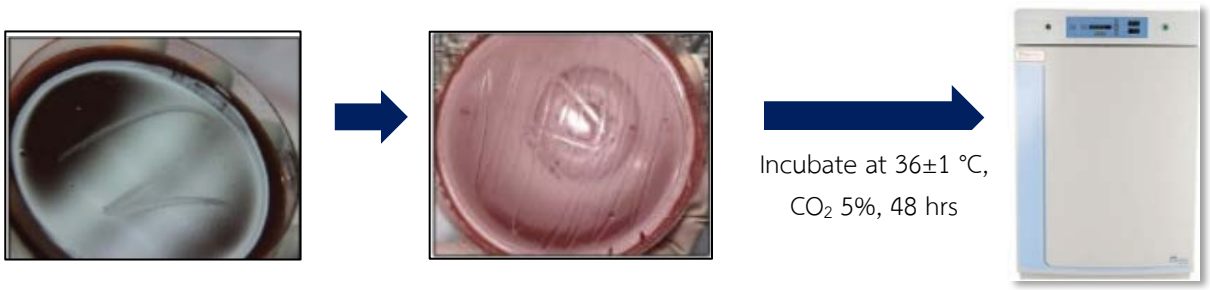
เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

10. วิธีปฏิบัติงาน

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงและยืนยันเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*.

10.1 Prepare specimens

1. Streak specimens on Bangrak I media Streak รูปตัว Z (male) กรณีส่งตรวจเป็น female ให้แบ่งครึ่ง plate (U / C)
2. Cross streak specimen
3. Incubate at 36±1 ℃ ที่ CO_2 5% เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง



10.2 Presumtive test

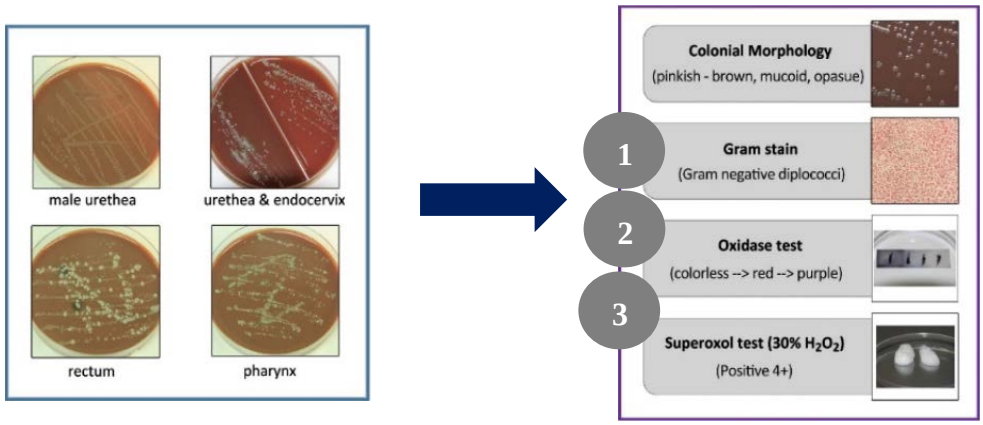
1. นำ Colony จาก male urethea ,urethea&endocervix (U/C) หรือ rectum, pharynx plate ที่เป็น pure colony มาทดสอบ ต่อไปนี้

ลักษณะ Colonial Morphology (pinkish-brown, mucoid,opaqge)

1.1 Gram stain (Gram negative diplococci)

1.2 Oxidase test (purple - black)

1.3 Superoxol test (30%H_2O_2) (Positive3+,4+)



10.3 Subculture

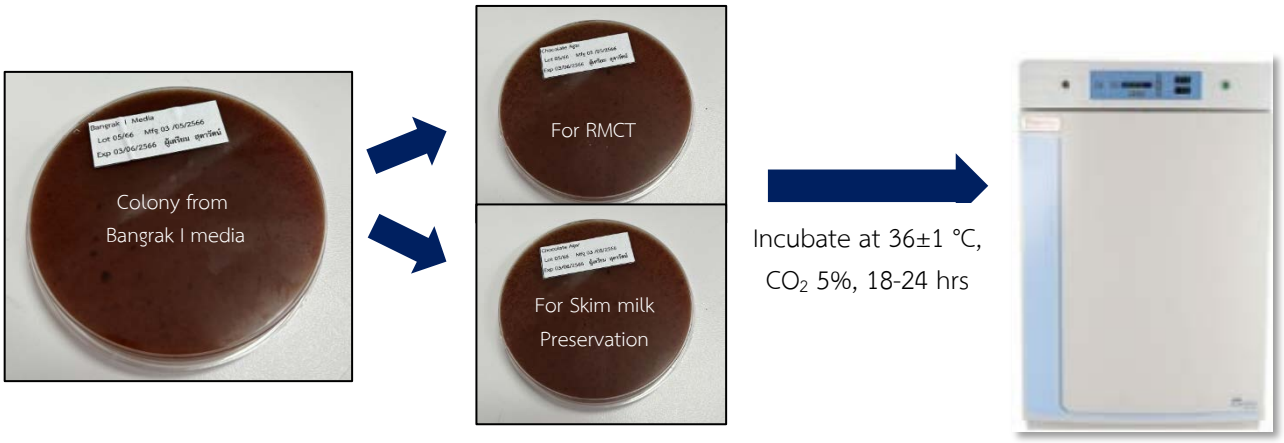
1. นำ colony isolate จาก Bangrak I media มา subculture ลง chocolate agar 2 plate เพื่อใช้สำหรับ

1.1 plate 1 เพื่อทดสอบการหมักน้ำตาลของ ***N. gonorrhoeae*** (RMCT) ซึ่งเป็นการทดสอบที่ใช้แยกระหว่าง ***N.gonorrhoeae*** กับ N. species อื่นๆ

1.2 Plate 2 สำหรับเก็บเชื้อลง Skim milk (1 tube AST testing , 1 tube for preservative) เชื้อที่เก็บที่ -70°C อยู่ได้ 10 ปี เชื้อที่เก็บที่ -20°C อยู่ได้ 3 ปี

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

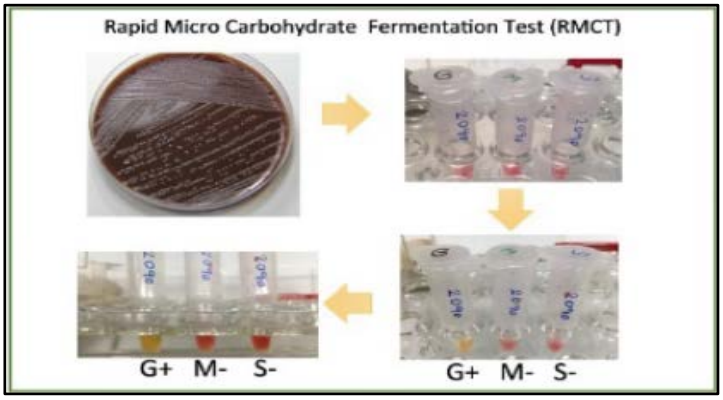
2. นำ chocolate agar 2 plate นำเข้าเครื่อง incubator ที่ 36±1°C ที่ CO_2 5% เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (ประมาณ 20 ชั่วโมงเชื้อ growth สูงสุด , ที่ 24 ชั่วโมง เชื้อจะเหนียวและตายได้)



10.4 Confirmation and Preservation

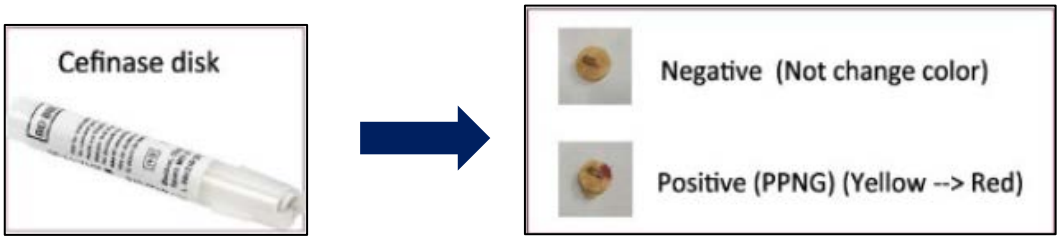
ทดสอบการ Ferment น้ำตาล 4 ชนิด (Rapid Micro Carbohydrate Fermentation Test (RMCT) กรณีทดสอบ Biochem ควรเลือกทำจาก chocolate agar plate ที่ colony isolate โดยเขี่ยเชื้อจาก CA plate ประมาณ 1 loop ใส่ลงใน aliquot tube น้ำตาลทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ Glucose, Lactose, Maltose และ Sucrose (ประมาณ 200µl) Vortex 1 รอบเพื่อให้เชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำเข้าเครื่อง incubator 4 ชั่วโมง แล้วอ่านผลการเปลี่ยนสี น้ำตาลจากสีชมพูส้ม เปลี่ยนเป็น สีเหลือง แสดงว่าเกิดการ ferment

***N. gonorrhoeae* จะสามารถ ferment เฉพาะน้ำตาล glucose เท่านั้น**



ß-lactamase test

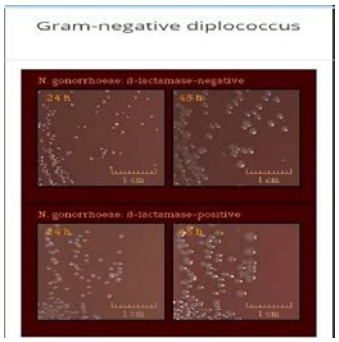
การทดสอบ ß-lactamase เป็นการทดสอบว่าเชื้อมีการดื้อยา penicillin หรือไม่ ทดสอบโดยหยด DW ลงที่ Cefinase disk _1 หยด แล้วเขี่ยเชื้อประมาณ 1/2 loop ลงบน disk สังเกตว่า disk ยา มีการเปลี่ยนสี จากเดิมสีขาว เป็น สีชมพู-แดง แสดงว่าเชื้อมีการสร้าง enzyme ß-lactamase



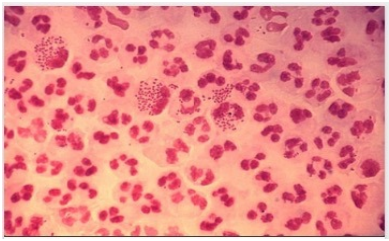
เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

Gram stain

เกลี่ยเชื้อ (smear) บนสไลด์ให้กระจายเป็นฟิล์มบางๆ ไม่ให้หนาแน่นมากเกินไปและปล่อยให้แห้งในอากาศ (air dry) นำไปย้อมสีแกรม ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์



N. gonorrhoeae พบ gram negative diplococci แบคทีเรียรูปร่างกลมอยู่เป็นคู่ คล้ายเล็ดถั่ว (coffee bean shape)



Oxidase Test

การทดสอบ oxidase test ทดสอบโดยการหยดน้ำยา 1% Oxidase ลงในกระดาษกรองให้พอเปียกเล็กน้อย เขี่ยเชื้อประมาณ 1/2 loop ขีดลงบนกระดาษ สังเกตการณ์เปลี่ยนสีที่กรดาษกรอง

Oxidase-positive

Positive ⇒ เปลี่ยนม่วงเข้ม-สีดำ
Negative ⇒ ไม่เปลี่ยนสี

Superoxal test

เขี่ยเชื้อ 1 loop ลงบน slide หยดน้ำยา 30%H_2O_2 1 หยด สังเกตการเกิดปฏิกิริยา การเกิดฟองฟู่

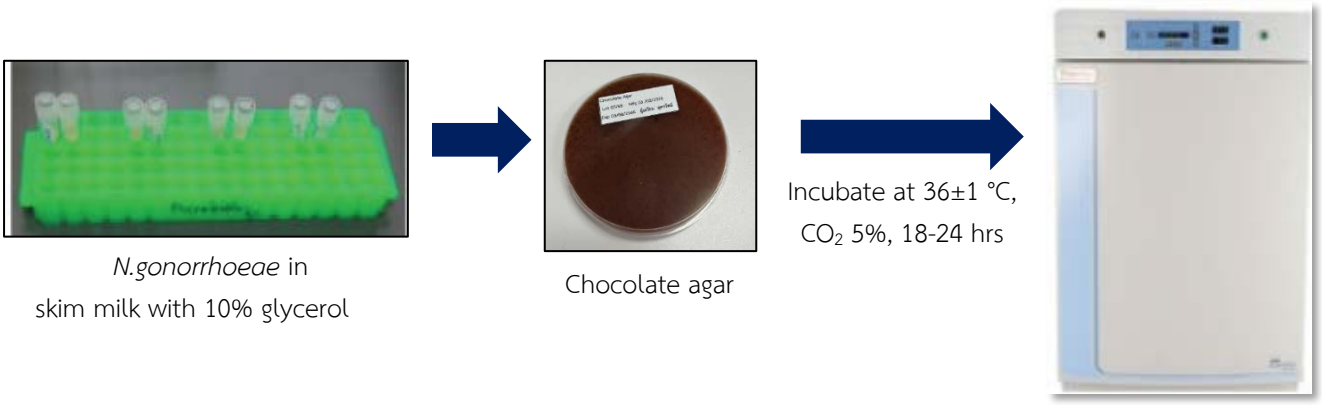
4+ = เกิดฟองฟู่แรง
Negative = ไม่เกิดฟองฟู่

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

10.5 ขั้นตอนการทดสอบ Antimicrobial susceptibility test (AST)

1. Subculture

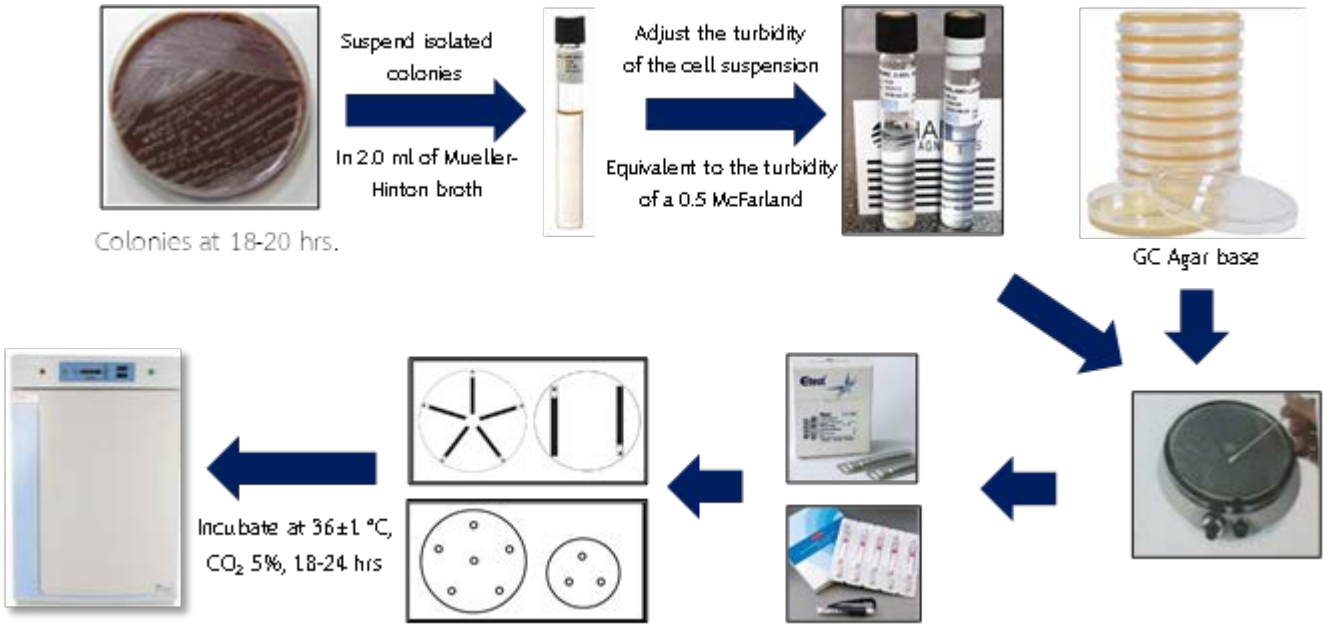
นำเชื้อ *N. gonorrhoeae* ที่เก็บที่ Skim milk (10% glycerol) มา streak ลงบน chocolate agar plate แล้วนำไปบ่มในตู้ incubate 36±1°C ที่ CO_2 5% เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง



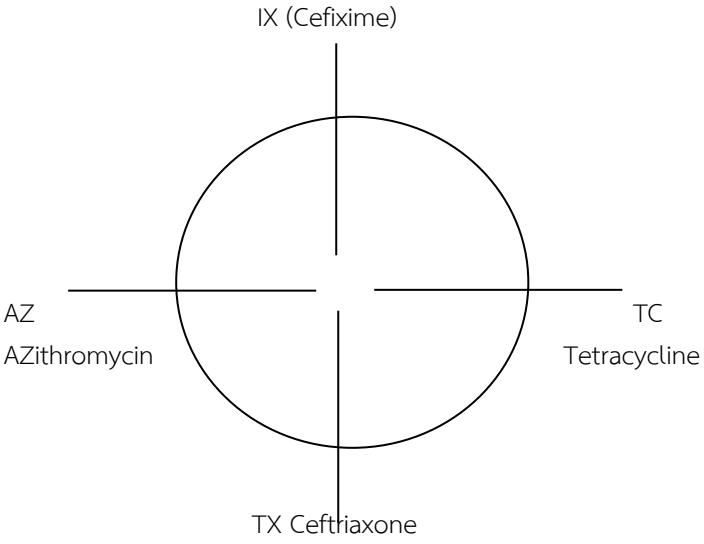
2. Prepare suspention and inoculation

2.1 นำเชื้อ colony ที่ได้จาก CA plate ที่เวลา 18-24 ชั่วโมง ประมาณ 1/2 loop มาใส่ลงใน Tryptic soy broth (2ml.) ให้ได้ความขุ่นเข้มข้นเทียบกับค่าความขุ่นมาตรฐาน 0.5 Mcfarland นำไป streak ลงใน GC agar base ต้อง streak ลง plate ภายใน 15 นาที หลังจากนำเชื้อลง Tryptic soy broth (2ml.) เนื่องจากเชื้ออาจมีการเจริญเติบโตขึ้นทำให้ความขุ่นไม่ได้ตามมาตรฐาน streak เสร็จวาง plate ทิ้งไว้ 5 นาที แล้ว วาง disk ยา (ข้อควรระวัง Ceftriaxone (TX) และ Cefixime (IX) ไม่ควรวางคู่กันใน plate เนื่องจาก Zone ของทั้งคู่กว้างมาก ยากต่อการอ่านผล)

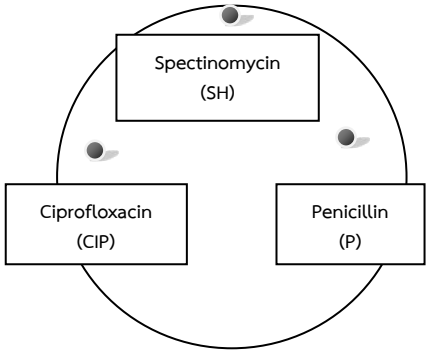
2.2 นำเข้าตู้อบที 3-5 % ใน CO_2 นาน 18-24 ชั่วโมง



รูปแบบการวาง Disk ยา แบบ E-test



รูปแบบการวาง Disk ยา แบบ Disk



3. การอ่านผล

3.1 ตรวจดู Colonies ของเชื้อที่ทดสอบบนจานอาหารหลังเข้าตู้อบนาน 18-24 ชั่วโมง มีการเจริญเพียงพอหรือไม่ ตรวจสอบความคมชัดและจุดที่ชัดเจนของเชื้อที่ถูกยับยั้งในรูปลักษณะวงกลมรีคล้ายรูปไข่หรือรูปใบไม้

3.2 การอ่านค่า MIC ให้อ่าน (end point) ตรงบริเวณกลมรีตัดกับตัวเลขบน scale ของแผ่น E-test

3.3 การอ่านค่า MIC ที่ถูกต้องแน่นอน ควรดูบริเวณที่เชื้อถูกยับยั้งเป็นรูปวงกลมรีติดกับตัวเลขบน scale ทั้งสองข้าง ถ้าตัดตรงกันให้อ่านค่าตรงจุด scale ถ้าไม่ตรงกันให้อ่านตัวเลขที่อยู่สูงกว่า

3.4 ถ้าจุดตัดของเชื้อที่ถูกยับยั้งอยู่ตรงกึ่งกลางหรืออยู่ระหว่างตัวเลขด้านบนและด้านล่างให้อ่านค่า MIC ของตัวเลขด้านบน

3.5 บางครั้งอาจจะเกิด colonies ขนาดเล็กหรือใหญ่ของเชื้อที่ทดสอบ จำนวน 1-2 colonies หรือมากกว่า เจริญอยู่บริเวณเหนือ Ellipse ใกล้จุดตัดให้อ่านค่าตรงจุด colonies นั้น

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

การอ่านผล Disk **การอ่านผล E test**

Interpretive Categories		Zone Inhibition Diameters (nearest whole mm)				Equivalent MIC (µg/ml)			
		ATCC49226	S	I	R	ATCC49226	S	I	R
Penicillin	10 units	26-34	≥47	27-46	≤26	0.25-1	≤0.06	0.12-1	≥2
Ceftriaxone*	30 µg	39-51	≥35	-	-	0.004-0.016	≤0.25	-	-
Cefixime*	5 µg	37-45	≥31	-	-	0.004-0.03	≤0.25	-	-
Tetracycline	30 µg	30-42	≥38	31-37	≤30	0.25-1	≤0.25	0.5-1	≥2 (≥16 TRNG)
Ciprofloxacin	5 µg	48-58	≥41	28-40	≤27	0.001-0.008	≤0.06	0.12-0.5	≥1
Spectinomycin	100 µg	23-29	18	15-17	14	Aug-32	≤32	64	≥128
Azithromycin**			-	-	-	0.25-1	≤1 (WT)		≥2 (NWT)
Gentamycin***			-	-	-		≤4	8-16	≥32

Do IQC everytime at least 1 strain; ATCC49266. If IQC within range can read results of test.

S = Susceptible

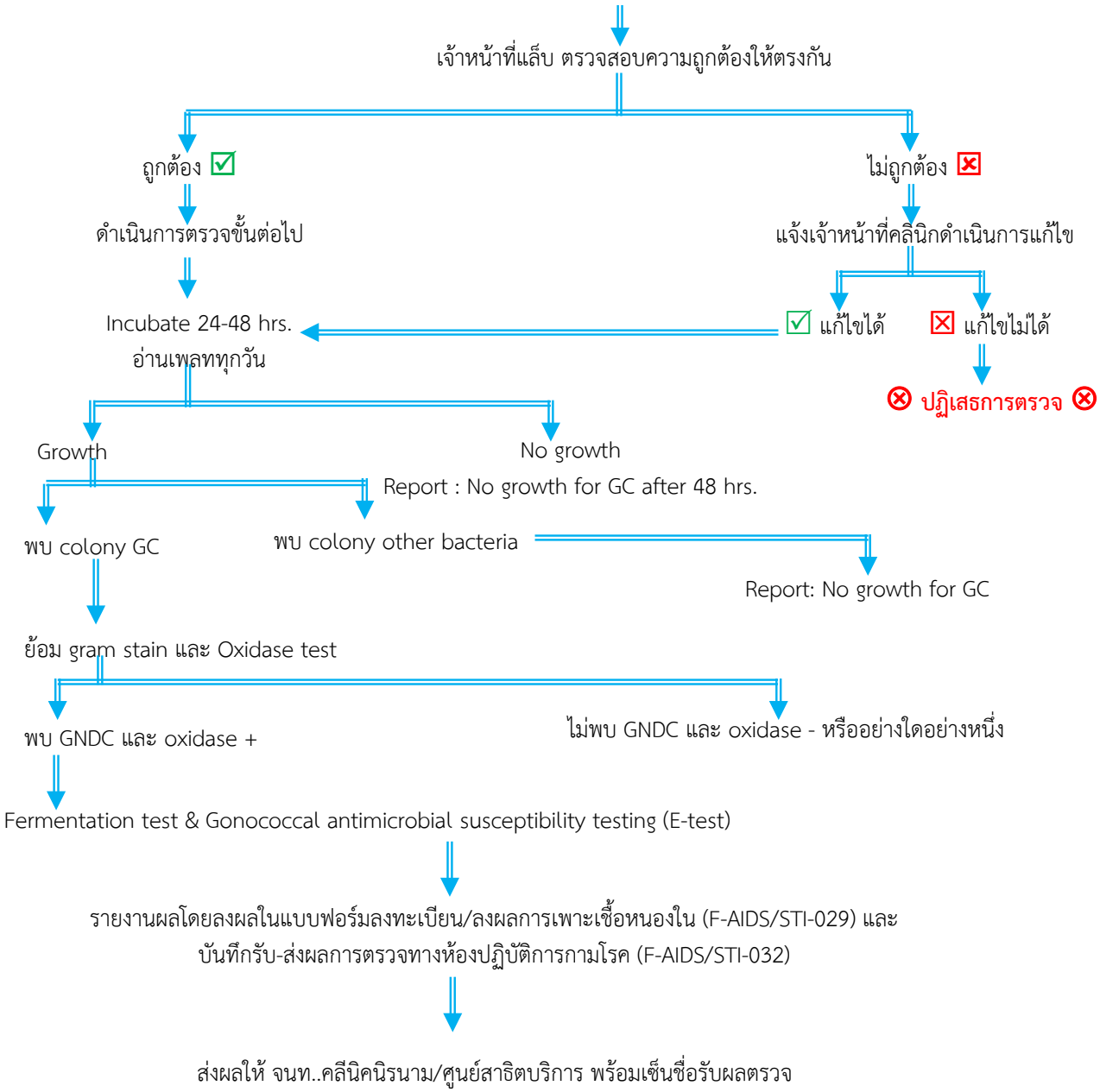
I = Intermediate

R = Resistant

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อหนองในศูนย์สาธิต

เจ้าหน้าที่คลินิกนิรนามนำ BI plate ที่ steak สิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยใส่ใน candle jar แล้วนำมาเก็บใส่ ใน Incubator ที่ห้องปฏิบัติการ ส่วนใบขอตรวจเก็บใส่ในกล่องรับใบขอตรวจทางห้องปฏิบัติการโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์



รายงานผลโดยลงผลในแบบฟอร์มลงทะเบียน/ลงผลการเพาะเชื้อหนองใน (F-AIDS/STI-029) และบันทึกรับ-ส่งผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการกามโรค (F-AIDS/STI-032)

ส่งผลให้ จนท..คลีนิคนิรนาม/ศูนย์สาธิตบริการ พร้อมเซ็นชื่อรับผลตรวจ

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

วิธีดำเนินการเมื่อได้รับเชื้อหนองในมาตรฐาน ATCC 49226

เชื้อมาตรฐานจากบางรัก

↓

1. Sub culture ลง chocolate agar ครั้งที่ 1 จำนวน 2-3 plates แล้วอบเพาะเชื้อ 24-48 hrs.

↓

2. Sub culture ลง chocolate agar ครั้งที่ 2 จำนวน 10-20 plates แล้วอบเพาะเชื้อ 24-48 hrs.

↓

3. เก็บเชื้อที่ได้จากการ sub culture ครั้งที่ 2 ใส่ใน skim milk (1 plate/1 หลอด skim milk)

↓

4. เก็บหลอด skim milk ที่มีเชื้อมาตรฐานที่ -20 ^{0}C หรือ -70 ^{0}C (เก็บได้นาน 1 ปี)

การนำมาเชื้อใช้งาน

นำเชื้อมาตรฐานในข้อ 4 มา Sub culture ใน chocolate agar ครั้งที่ 1 (ยังใช้งานไม่ได้) แล้วอบเพาะเชื้อ 24-48 hrs.

↓

Sub culture ใน chocolate agar ครั้งที่ 2 แล้วอบเพาะเชื้อ 24-48 hrs.

↓

นำมาใช้งานได้

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อหนองใน

1. ขั้นตอนการเตรียม Bangrak I Media ปริมาตร 1 ลิตร

1.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องชั่งละเอียด
2. Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร 2 ขวด
3. เครื่อง autoclave
4. water bath
5. GC agar base
6. Hemoglobin
7. Distilled water
8. Bangrak I enrichment 5.0 ml.
9. 25%dextrose 5.0 ml.
10. ACLT Inhibitor ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

1.2 วิธีทำ

1. ชั่ง GC Medium Base 36 g ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 480 มิลลิลิตร
2. ชั่ง Hemoglobin 10 g ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ทำให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้การเครื่องเขย่า นาน 1-2 ชม.
3. Autoclave ที่ 120 °C 15lb นาน 15 นาที นำมาลดอุณหภูมิที่ 50-56 °C ใน water bath นาน 1 ชั่วโมง
4. เมื่ออุณหภูมิลดลง ที่ 56°Cผสม Enrichment และ 25% Dextrose ให้เข้ากันใน GC Medium Base flask
5. เติม 1% ACLT inhibitor ใส่ใน GC Medium Base flask ผสมให้เข้ากัน

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

6. เติม Hemoglobin ลงใน GC Medium Base flask ผสมให้เข้ากัน
7. ใช้เครื่องบรรจุ ดูดลง Sterile Petri dish ให้ได้ปริมาตร 20 ml/plate
8. ตั้งไว้จนอาหารแข็งตัวดี ประมาณ 2 ชั่วโมง ติดสติกเกอร์ วันที่เตรียม ชื่ออาหาร และผู้เตรียม เก็บใส่ตู้เย็นที่ 2-8°c เก็บได้นาน 30 วัน

2. ขั้นตอนการเตรียม Chocolate Agar ปริมาตร 1 ลิตร

2.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องชั่งละเอียด
2. Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร 2 ขวด
3. เครื่อง autoclave
4. water bath
5. GC agar base
6. Hemoglobin
7. Distilled water
8. Bangrak I enrichment 5.0 ml.
9. 25%dextrose 5.0 ml.

2.2 วิธีทำ

1. ชั่ง GC medium base 36g ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 1,000ml เติมน้ำกลั่น 490ml
2. ชั่ง Hemoglobin 10 g ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ทำให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้การเครื่องเขย่า นาน 1-2 ชม.
3. Autoclaveที่121°C 1lb นาน 15 นาที นำมาลดอุณหภูมิที่ 50-56°C ใน water bath นาน 1 ชั่วโมง
4. เมื่ออุณหภูมิลดตามที่ต้องการ ผสม Enrichment และ 25% Dextrose ให้เข้ากันใส่ใน GC Medium Base flask
5. เติม Hemoglobin ลงใน GC Medium Base flask ผสมให้เข้ากัน
6. ใช้เครื่องบรรจุ ดูดลง Sterile Petri dish ให้ได้ปริมาตร 20 ml/plate
7. ตั้งไว้จนอาหารแข็งตัวดี ประมาณ 2 ชั่วโมง ติดสติกเกอร์ วันที่เตรียม ชื่ออาหาร และผู้เตรียม เก็บใส่ตู้เย็นที่ 2-8°c เก็บได้นาน 30 วัน

3. ขั้นตอนการเตรียม GC Agar 1 +% growth supplement ปริมาตร 1 ลิตร

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องชั่งละเอียด
2. Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร 1 ขวด
3. เครื่อง autoclave
4. water bath
5. GC agar base
6. Distilled water
7. Bangrak I enrichment 5.0 ml.
8. 25%dextrose 5.0 ml.

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

3.2 วิธีทำ

1. ชั่ง 36 g GC Medium BaseErlenmeyer flask ขนาด 1,000 ml
2. เติมน้ำกลั่น 990 ml ทำให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้การเครื่องเขย่า นาน 1-2 ชม.
3. นำ GC Medium Base เข้า Autoclave ที่ °121C 15lb นาน นาที 15
4. นำ GC Medium Base flask มาลดอุณหภูมิที่ 55°C ใน water bath นาน 1 hr.
5. ผสม Enrichment และ 25% Dextrose ให้เข้ากันใส่ใน GC Medium Base flask
6. ใช้เครื่องบรรจุ ดูดลง Sterile Petri dish ให้ได้ปริมาตร 20 ml/plate
7. ตั้งไว้จนอาหารแข็งตัวดี ประมาณ ชั่วโมง 2 ติดสติกเกอร์ วันที่เตรียม ชื่ออาหาร และผู้เตรียม เก็บใส่ตู้เย็นที่ 2-8°c เก็บได้นาน 30 วัน

4. การเตรียม skim milk (10%glycerol+10%skim milk) สำหรับเก็บเชื้อหนองใน

4.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. Skim milk 5 g
2. DW 45 ml
3. Glycerol 5 ml
4. Screw cap tube ขนาด 2 ml
5. Auto pipette & filter tip

4.2 วิธีทำ

1. ขวด skim milk 5 g
2. เติมน้ำกลั่น (DW) 45 ml
3. เติม glycerol 5 ml คนให้เข้ากัน
4. แบ่งใส่ screw cap tube 1 ml ปิดฝาแบบหลวมๆ จะได้ประมาณ 50 vials
5. นำเข้าอบใน autoclave (121 °c 15 lb.) นาน 15 นาที
6. ปิดฝาหลอดให้แน่น เก็บไว้ที่ตู้เย็น (4-8 ^{0}C) ได้นาน 1-2 เดือน
7.

5. การเตรียม Tryptic soy broth

5.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. ขวด Tryptic soy Broth
2. DW 100 ml
3. tube ฝาสีดำ
4. Auto pipette & filter tip

5.2 วิธีทำ

1. ชั่ง Tryptic soy broth 10 g. เติมน้ำกลั่น 240 ml.นำ flask เข้า Autoclave ที่ °121C 15 lb 15 นาที
2. ใช้ Auto pipette ดูดลง tube ฝาดำ ให้ได้ปริมาตร 2 ml/tube
3. ติดสติกเกอร์ วันที่เตรียม ชื่ออาหาร และผู้เตรียม เก็บใส่ตู้เย็นที่ 2-8°c เก็บได้นาน 30 วัน

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

6. การเตรียม Oxidase test

6.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. น้ำยา 1% Oxidase 0.05 g
2. DW 5 ml
3. Syring ขนาด 5ml

6.2 วิธีทำ

1. นำน้ำยา 1% Oxidase ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
2. ใช้ syring ดูดน้ำกลั่น (DW) 5 ml ผสมให้เข้ากัน
3. กรองให้น้ำยามีสีใส หรือใช้สำลีอุดขวดก่อนใช้
4. เก็บไว้ที่ตู้เย็น อุณหภูมิ 2-8 ^{0}C ได้นาน 2 สัปดาห์ ถึง 1 เดือน

7. การเตรียม 30% superoxol test (30% H_2O_2)

7.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. Ready to use
2. เก็บไว้ที่ตู้เย็น อุณหภูมิ 2-8 ^{0}C ได้นาน 1 ปี

ระยะเวลาการเก็บสิ่งส่งตรวจหลังตรวจวิเคราะห์

- plate เพาะเชื้อ ทิ้งขยะในถังติดเชื้อ หลังจากอ่านผล 48 ชม.
- เชื้อหนองใน ใน skimmilk แช่ที่ อุณหภูมิ -20 °C เก็บนาน 3 ปี

11. วิธีการควบคุมคุณภาพ

11.1 การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal quality control: IQC)

<u>การทดสอบการปนเปื้อนของอาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

- นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ 1-2 จานใส่ตู้อบเพาะเชื้อ 35-37 °c นาน 24 ชั่วโมง ให้สังเกตบนหน้าอาหารมีการเจริญเติบโตของเชื้ออื่นๆหรือไม่หากมีเชื้ออื่นขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียม อาหารเลี้ยงเชื้อทั้งชุดใช้ไม่ได้

-บันทึกการทดสอบคุณภาพอาหารในแบบบันทึกการทดสอบการปนเปื้อนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อหนองใน (F-AIDS/STI-036)

- กรณีพบการปนเปื้อน (contamination) ให้ทิ้งอาหารที่เตรียมของรอบนั้นทั้งหมด โดยทิ้งลงในถังขยะติดเชื้อ และกำจัดตามแนวทางใน วิธีปฏิบัติเรื่อง คู่มือความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ (WI-LAB-004)

<u>การทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อหนองใน</u>

ทุกครั้งที่เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อหนองใน ต้องมีการทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เชื้อหนองในมาตรฐาน (ATCC 49226) หรือที่ผ่านการพิสูจน์แล้วว่าเป็นเชื้อหนองใน มา streak ลง plate อาหารที่เตรียมได้ จำนวน 1 plate จากนั้นนำไปอบเพาะเลี้ยงที่ตู้ incubator 35-37 °c นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้นอ่านผลการทดสอบ โดยหากพบการเจริญของเชื้อหนองใน และไม่มีการปนเปื้อนของเชื้ออื่น แสดงว่าสามารถใช้อาหาร lot นั้นได้ แต่หากไม่พบการเจริญของเชื้อหนองใน แสดงว่าคุณภาพอาหาร lot นั้นไม่ผ่าน ให้ทิ้งอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ lot นั้น แล้วเตรียมใหม่ บันทึกการทดสอบดังกล่าวในแบบบันทึกการทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อหนองใน (F- AIDS/STI-036)

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

การตรวจสอบประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อประกอบด้วย

1. **การตรวจสอบทางเคมี**

   การใช้แถบกระดาษกาวที่มีสารเคมีเคลือบไว้ (Autoclave tape) ติดที่ห่ออุปกรณ์ หรืออุปกรณ์ในขั้นตอนการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำ และสังเกตปฏิกิริยาที่เกิดการเปลี่ยนแปลงบนแถบกระดาษกาวจากไม่มีสีเป็นสีดำ บ่งชี้ว่าอุปกรณ์ได้ผ่านกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว ขั้นตอนการตรวจสอบดังแผนภูมิ

2. **การตรวจสอบทางชีวภาพ**

   การใช้ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biological indicator) หรือ spore test ซึ่งสามารถทำการตรวจสอบดังแผนภูมิ

แผนภูมิที่ 1 การตรวจสอบประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อโดยเครื่อง autoclave

ทดสอบโดย autoclave tape

วัสดุ อุปกรณ์ ที่ต้องการทำให้ปราศจากเชื้อ

↓

ติด autoclave tape ทุกครั้ง

↓

อ่านผลหลัง autoclave

1. เปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีดำ แสดงว่าอุปกรณ์นั้นปราศจากเชื้อ สามารถใช้อุปกรณ์ในรอบนั้นได้
2. ไม่เปลี่ยนสี แสดงว่าไม่ปราศจากเชื้อ ให้ตรวจสอบหาสาเหตุและแก้ไข เช่น ระยะเวลาที่ใช้ไม่เหมาะสม อุณหภูมิไม่สูงพอ การห่ออุปกรณ์ไม่เหมาะสม การบรรจุอุปกรณ์เข้าเครื่องไม่ถูกต้อง และให้ทำการ autoclave ใหม่โดยสามารถใช้เครื่องเดิม หรือเครื่องใหม่ได้

↓

บันทึกแบบบันทึกการใช้งานเครื่อง Autoclave และการทำ Spore test (Bacillus stearothermophilus) F-LAB-024

ทดสอบโดย spore test

นำ spore test เข้าเครื่อง autoclave จำนวน 1 หลอดพร้อมอุปกรณ์ทดสอบอาทิตย์ละ 1 ครั้ง โดยวางในชั้นล่างของเครื่องนึ่งบริเวณที่อยู่เหนือช่องระบายน้ำ

↓

หลังการ autoclave เสร็จสิ้นนำหลอด spore test ออกจากเครื่อง autoclave ปล่อยให้เย็นลงประมาณ 10 นาที

↓

กดหัวหลอด spore test และบีบด้านข้างหลอด เพื่อให้ media และแผ่นกระดาษกรองที่มีเชื้อมาตรฐานสัมผัสกัน ทั้งที่เข้าเครื่อง autoclave(หลอดทดสอบ) และ ไม่ได้เข้าเครื่อง autoclave (หลอดควบคุม) จำนวน 1 หลอด

↓

นำหลอด spore test ทั้ง 2 หลอด ไป incubate ที่อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

อ่านผลหลัง autoclave

1. สีของหลอดทดสอบเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง แสดงว่ามีเชื้อเจริญ ผลการทำให้ปราศจากเชื้อไม่มีประสิทธิภาพ อุปกรณ์ในชุดนั้นๆ ไม่ปราศจากเชื้อ จะต้องทำการ autoclave ใหม่
2. สีของหลอดทดสอบเป็นสีม่วงเช่นเดิม แสดงว่าไม่มีเชื้อเจริญ ผลการทำให้ปราศจากเชื้อมีประสิทธิภาพ สามารถใช้อุปกรณ์ในรอบนั้นๆ ได้

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

3. หลอดควบคุมต้องมีการเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองจึงถือว่าการทดสอบนั้น สมบูรณ์

↓

บันทึกผลในบันทึกแบบบันทึกการใช้งานเครื่อง Autoclave และการทำ Spore test (Bacillus stearothermophilus) F-LAB-024

11.2 การควบคุมคุณภาพภายนอก (External Quality Assurance; EQA)

เข้าร่วม interlaboratory comparison กับ กลุ่มงานวิจัยและพัฒนาทางชันสูตร กลุ่มบางรักโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ปีละ 2 ครั้งๆละ 2 ตัวอย่าง

12. ข้อจำกัดและสิ่งรบกวนของการตรวจวิเคราะห์

การวินิจฉัยว่าเป็น โรคหนองใน หรือไม่นั้น แพทย์จะนำหนอง หรือปัสสาวะ มาตรวจ PCR จากนั้นจะนำมาย้อมหาเชื้อ และนำไปเพาะเชื้อ เพื่อตรวจสอบ ทั้งนี้แพทย์จะนำการตรวจหาโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ โรคอื่น ๆ ร่วมด้วย

ผู้ชาย : ในผู้ชายที่เป็น หนองใน จะมีอาการปัสสาวะขัดอย่างรุนแรง และมีหนองสีเหลืองข้น ไหลออกมาจากท่อปัสสาวะ มักเกิดอาการหลังรับเชื้อไปแล้ว 2-5 วัน ถ้าไม่รักษาอาจทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อน เช่น ลุกลามไปยังต่อมลูกหมาก ทำให้ต่อมลูกหมากอักเสบ อัณฑะอักเสบ ฯลฯ ซึ่งทำให้เป็นหมันได้

ผู้หญิง : ในผู้หญิงที่เป็น หนองใน ส่วนใหญ่จะไม่มีอาการ จนกระทั่ง 10 วันไปแล้ว จะมีอาการตกขาว มีกลิ่นเหม็น ปัสสาวะแสบขัด เพราะเกิดการอักเสบที่ท่อปัสสาวะ และปากมดลูก ถ้าไม่รีบรักษาเชื้อโรคจะลุกลาม ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อน เช่น ต่อมบาร์โธลินอักเสบ เป็นฝีบวมโต การอักเสบในอุ้งเชิงกราน ปีกมดลูกอักเสบ การอุดตันของท่อรังไข่ ซึ่งทำให้เป็นหมันหรือตั้งครรภ์นอกมดลูกได้ นอกจากนี้ หากหญิงมีครรภ์เป็น โรคหนองใน เวลาคลอดอาจทำให้เด็กทารกติดเชื้อเกิดอาการตาอักเสบได้ และหากรักษาไม่ทัน จะทำให้เด็กตาบอดได้

13. ค่าความไม่แน่นอนของการวัด

-

14. ค่าอ้างอิง

No Growth

15. การรายงานผล / การคำนวณผล

No Growth = ไม่พบเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*

Growth = พบเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* ทดสอบ Drug susceptibility ต่อ

16. คำแนะนำกรณีผลไม่อยู่ในช่วงการวัด

-

17. ค่าวิกฤติ

-

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

18. การแปลผล

ตารางการแปลผลการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อ N. gonorrhoeae (CLSI guideline 2019 M100)

ตารางที่ 1 ตารางอ่านค่า Zone

การอ่านผล Disk การอ่านผล E test

Interpretive Categories		Zone Inhibition Diameters (nearest whole mm)				Equivalent MIC (µg/ml)			
		ATCC 49226	S	I	R	ATCC 49226	S	I	R
Penicillin (P / PG)	10 Units	26-34	≥47	27-46	≤26	0.25-1	≤0.06	0.12-1	≥2
Ceftriaxone* (CRO /TX)	30 µg	39-51	≥35	-	-	0.004-0.016	≤0.25	-	-
Cefixime* (CFM / IX)	5 µg	37-45	≥31	-	-	0.004-0.03	≤0.25	-	-
Tetracycline (TE / TC)	30 µg	30-42	≥38	31-37	≤30	0.25-1	≤0.25	0.5-1	≥2 (>=16 TRNG)
Ciprofloxacin (CIP / CI)	5 µg	48-58	≥41	28-40	≤27	0.001-0.008	≤0.06	0.12-0.5	≥1
Spectinomycin (SH / -)	100 µg	23-29	18	15-17	14	Aug-32	≤32	64	≥128
Azithromycin** (AZM /AZ)			-	-	-	0.25-1	≤1 (WT)		≥2(NWT)
Gentamycin***			-	-	-		≤4	8-16	≥32

*** Do IQC everytime at least 1 stain; ATCC49226. If IQC within range can read results of test***

<u>หมายเหตุ</u>

* Ceftriaxone และ Cefixime เป็นยาที่พบการดื้อยาน้อยมาก หากทดสอบ disk diffution แล้วพบว่าได้ขนาด zone ของยา Ceftriaxone และ Cefixime น้อยกว่า 35 และ 31 ตามลำดับ หรือค่า MIC มากกว่า 0.25 ให้ตรวจซ้ำ ถ้าเหมือนเดิมให้รายงานเป็น nonsusceptible (NS) แล้วส่งเชื้อมาเก็บไว้ยังส่วนกลาง เพื่อทำการตรวจสอบ/วิจัยต่อไป (ทั้งนี้ในประเทศไทยยังไม่เคยพบการรายงานการเริ่มดื้อยา) "NS" ของยาดังกล่าวมาก่อน)

** Azithromycin ใช้แปลผลเมื่อขนาดยาที่ใช้รักษาคือ 1 g และรักษาร่วมกับยาตัวอื่น เช่น Ceftriaxone

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

ตารางที่ 2 ตารางการทดสอบทางชีวเคมี ของเชื้อ *Neisseria* spp

Species	Acid From*					Nitrate Reduction	Poly-saccharide form Sucrose	DNase	Superoxol	Pigment	Colistin Resistance
	G	M	S	F	L						
N.gonorrhoeae	+	-	-	-	-	-	-	-	Strong (4+)	-	R
N.gonorrhoeae subspecies kochii	+	-	-	-	-	-	-	-	Strong (4+)	-	R
N. meningitidis	+	+	-	-	-	-	-	-	Weak (1+)to strong (4+)	-	R
N. lactamica	+	+	-	-	+	-	-	-	Weak (1+)to strong (3+)	+	R
N. polysaccharea	+	+	-	-	-	-	+	-	Weak (1+)to strong (3+)	-	R
	G	M	S	F	L						
N. cinerea	-	-	-	-	-	-	-	-	Weak (2+)	-	(R)
N. flavescens	-	-	-	-	-	-	+	-	Weak (2+)	+	S
N. mucosa	+	+	+	+	-	+	+	-	Weak (2+)	d	S
N. subflava biovar subflava	+	+	-	-	-	-	-	-	Weak (2+)	+	S
N. subflava biovar flava	+	+	-	+	-	-	-	-	Weak (2+)	+	S
N. subflava biovar perflava	+	+	+	+	-	-	+	-	Weak (2+)	+	(R)
N. sicca	+	+	+	+	-	-	+	-	Weak (2+)	-	S
N. elongata	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	S
M. catarrhalis	-	-	-	-	-	+	-	+	Weak (1+) to strong (3+ to 4+)	-	(R)
K. denitrificans	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	R

***Acid form; G=Glucose, M=Maltose, S=Sucrose, F= Frutose และ L=Lactose**

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

อาหารที่ใช้ในการเพาะเชื้อต้องเติมสารส่งเสริมการเจริญของเชื้อ เช่น chocolate agar สำหรับการเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจต้องใช้ selective media เช่น Bangrak I media หรือ Modifiled Thayer-Martin medium เชื้อต้องการคาร์บอนไดออกไซด์ 5-10% และความชื้น ในการอบเพาะเชื้ออุณหภูมิที่ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีบน chocolate agar หรือ Bangrak I media มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.6-1 mm ลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ สีเทาและวาวแสง นำโคโลนีที่เจริญบนอาหาร เพาะเชื้อย้อมสีแกรม ติดสี Gram negative diplococci การทดสอบทางชีวเคมี เชื้อให้ผลบวกต่อ Oxidase, Superoxol test และทดสอบการใช้น้ำตาล Glucose,Maltose, Sucrose และ Lactose เชื้อหนองในจะย่อยน้ำตาล Glucose ชนิดเดียว สำหรับน้ำตาล Maltose, Sucrose และ Lactose เชื้อไม่สามารถย่อยได้

19. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวน

- อาหารเลี้ยงเชื้อไม่ได้คุณภาพ
- ความขุ่นของเชื้อ ขุ่นหรือ จางกว่าตัวเทียบมาตรฐาน

20. เอกสารที่เกี่ยวข้อง / เอกสารอ้างอิง

20.1 ใบขอส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ (STIs Lab)	(F-AIDS/STI-034)
20.2 แบบฟอร์มลงทะเบียน ลงผล การเพาะเชื้อหนองใน	(F-AIDS STI-029)
20.3 แบบบันทึกผลการควบคุมคุณภาพภายใน IQC งาน STI อาหารเลี้ยงเชื้อหนองใน	(F-AIDS/STI-036)
20.4 บันทึกรายละเอียดการผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อหนองใน	(F-AIDS STI-044)
20.5 แบบบันทึกรับ-ส่ง ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ	(F-AIDS/STI-032)
20.6 คู่มือการชันสูตรโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กลุ่มโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค	(SD-AIDS/STI-004)
20.7 วิธีปฏิบัติคู่มือความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ	(WI-LAB-004)
20.8 แบบบันทึกการใช้งานเครื่อง Autoclave และการทำ Spore test (Bacillus stearothermophilus)	(F-LAB-024)

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต