

ผลงานวิชาการฉบับเต็ม (Full paper)

การประยุกต์ใช้สารยับยั้ง ACLT มาป้ายบน Chocolate agar
เพื่อยับยั้งจุลชีพตัวอื่นที่ไม่ใช่เป้าหมายของโรคติดต่อ
ทางเพศสัมพันธ์

ของ

นายพงศธร แสงประเสริฐ

ผลงานวิชาการเพื่อเลื่อนขั้นแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง

นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ

ตำแหน่งเลขที่ ๓๕๔๒

ส่วนราชการ กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์

กรมควบคุมโรค

บทคัดย่อ

โรคหนองในเป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่อยู่อันดับต้น ๆ ของประเทศไทย โดยวิธีมาตรฐานของการวินิจฉัยโรคหนองในนั้นคือการเพาะเชื้อ ซึ่งการเพาะเลี้ยงเชื้อหนองในนั้นจะใช้อาหารชื่อว่า Modified Thayer-Martin agar และชุดทดสอบทางชีวเคมีแบบพิเศษที่ไม่เหมือนการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป ซึ่งเป็นข้อจำกัดหนึ่งของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่ไม่มี Modified Thayer-Martin agar สำรองไว้ในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากด้วยจำนวนผู้ป่วยโรคนี้มีอัตราป่วยที่น้อยกว่าถ้าเทียบกับกลุ่มโรคอื่น แต่ปัจจุบันศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ได้มีการเตรียมสารยับยั้งการเจริญจุลชีพตัวอื่นที่ไม่ใช่เป้าหมายของโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ คือสาร ACLT ที่ใส่ลงไปในขณะที่ผลิตอาหาร Modified Thayer-Martin agar แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาการป้ายสาร ACLT บนหน้าอาหาร Chocolate agar เพื่อเปลี่ยนคุณสมบัติให้คล้าย Modified Thayer-Martin agar การศึกษานี้จึงศึกษาประสิทธิภาพ ค้นหาความเข้มข้น และปริมาตร ของสาร ACLT ที่เหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้ โดยผลการศึกษาพบว่า ACLT inhibitor 1.5% ที่ปริมาตร 150 μ l และ ACLT inhibitor 2% ที่ปริมาตร 100 μ l เหมาะสมต่อการนำมาใช้ป้ายบนหน้าอาหาร Chocolate agar ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานประจำห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

คำสำคัญ: หนองใน, ACLT, Modified Thayer-Martin agar

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยสำเร็จและสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งของ แพทย์หญิงรสพร กิตติเยวมาลย์ หัวหน้าศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือ สนับสนุน ส่งเสริมการพัฒนางานวิจัยทางห้องปฏิบัติการ ตลอดจนการเล็งเห็นถึงความสำคัญของงานวิจัยเพื่อนำผลที่ได้มาวางแผนพัฒนาการดำเนินงานต่อไป จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

นอกจากนี้ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.รัตนา ลาวัณย์ อาจารย์คณะเทคนิคการแพทย มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษาเกี่ยวกับกระบวนการศึกษาวิจัย

นายพงศธร แสงประเสริฐ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(1)
กิตติกรรมประกาศ	(2)
สารบัญ	(3)
สารบัญตาราง	(5)
สารบัญภาพ	(6)
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	(7)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 โรคหนองใน	3
2.2 โครงสร้างเซลล์ของเชื้อ N. gonorrhoeae	3
2.3 การก่อโรคของเชื้อ N. gonorrhoeae	4
2.4 อาการและอาการแสดงของโรคหนองใน	5
2.5 การรักษาโรคหนองในชนิดไม่มีภาวะแทรกซ้อน (Uncomplicated gonorrhea)	5
2.6 การรักษาโรคหนองในชนิดภาวะแทรกซ้อน	6
2.7 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ	7
2.8 Modified Thayer Martin Media (MTM)	8
2.9 ACLT inhibitors	9
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	10
3.1 ขั้นตอนการผลิต ACLT inhibitors	10
3.2 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (ตามแนวทางของ Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI M22)	11
3.3 ขั้นตอนการป้าย ACLT inhibitors บน Chocolate agar และ ลงเชื้อมาตรฐาน (ตามแนวทางของ Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI M22)	12
3.4 ชุดควบคุมคุณภาพ	14
3.5 การอ่านและแปลผลการเจริญของเชื้อ	15

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	16
4.1 การเพาะเชื้อมาตรฐาน 5 ชนิด จากการป้าย ACLT inhibitors 1% ลงบน Chocolate agar	16
4.2 การเพาะเชื้อมาตรฐาน 5 ชนิด จากการป้าย ACLT inhibitors 1.5% ลงบน Chocolate agar	19
4.3 การเพาะเชื้อมาตรฐาน 5 ชนิด จากการป้าย ACLT inhibitors 2% ลงบน Chocolate agar	22
4.4 การเพาะเชื้อมาตรฐาน 5 ชนิด บน Chocolate agar (CA) และ Modified Thayer-Martin agar (MTM)	26
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	27
รายการอ้างอิง	28

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 รายชื่อเชื้อมาตรฐาน	11
3.2 การแปลผลการเจริญของเชื้อจุลชีพ	15
4.1 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 50 μ l บน Chocolate agar	16
4.2 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 100 μ l บน Chocolate agar	17
4.3 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 150 μ l บน Chocolate agar	18
4.4 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 200 μ l บน Chocolate agar	18
4.5 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 50 μ l บน Chocolate agar	20
4.6 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 100 μ l บน Chocolate agar	20
4.7 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 150 μ l บน Chocolate agar	21
4.8 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 200 μ l บน Chocolate agar	22
4.9 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 50 μ l บน Chocolate agar	23
4.10 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 100 μ l บน Chocolate agar	24
4.11 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 150 μ l บน Chocolate agar	24
4.12 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 200 μ l บน Chocolate agar	25
4.13 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน จาก Chocolate agar (CA) และ Modified Thayer- Martin agar (MTM)	26

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Neisseria gonorrhoeae</i> จากการย้อมสีแกรม	3
2.2 แสดงลักษณะโครงสร้างเซลล์ของเชื้อ <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	4
2.3 แสดงลักษณะการ streak เป็นรูปตัว Z บนองหรือสารคัดหลั่งจากผู้ป่วย แล้วป้ายลงบน MTM หรือ Bangrak I Media	8
2.4 แสดงการ Spread plate	12
2.5 แสดงการ Streak plate 4 ระบาย	12

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

สัญลักษณ์/คำย่อ

คำเต็ม/คำจำกัดความ

C. albicans

Candida albicans

CLSI

Clinical and Laboratory Standards
Institute

CO₂

Carbon dioxide

E. coli

Escherichia coli

MIC

minimum inhibitory concentration

MTM

Modified Thayer-Martin

N. gonorrhoeae

Neisseria gonorrhoeae

P. mirabilis

Proteus mirabilis

S. epidermidis

Staphylococcus epidermidis

บทที่ 1

บทนำ

โรคหนองใน (Gonorrhea) เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่บริเวณในท่อปัสสาวะ ช่องคลอด ปากมดลูก ทวารหนัก ตาและคอ¹ ซึ่งเป็น 1 ใน 5 ของโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ (Sexually transmitted diseases: STDs) ที่มีการติดตามและรายงานอัตราการป่วยทั่วทั้งประเทศไทยโดยกองระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค ซึ่งพบว่ามีอัตราการป่วยที่สูงที่สุดของโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์² โดยโรคหนองในนี้เกิดจากการติดเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*³ ซึ่งจัดเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปกลมคล้ายรูปไตหรือรูปถั่วอยู่เป็นคู่ (Gram negative diplococci) เซลล์มีขนาดประมาณ 0.6-1.5 ไมครอน และเป็นเชื้อที่มีความสำคัญคือเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เจริญยาก (fastidious bacteria) โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญประมาณ 35-37 องศาเซลเซียส เชื้อไม่สามารถทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปได้นาน และต้องการอาหารเพาะเชื้อพิเศษคือ Thayer-Martin agar (TM) เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นและสารสนับสนุนการเจริญของเชื้อ โดยต้องมีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ที่จำเป็นในการเจริญ

การวินิจฉัยโรคหนองในนั้นจะทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *N. gonorrhoeae* ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง (Reference method) และเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดีกว่าวิธีการอ่านผลจาก Gram's stain แต่วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อจะค่อนข้างซับซ้อนและยากกว่าเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ เพราะเชื้อ *N. gonorrhoeae* เป็นเชื้อที่ต้องการอาหารพิเศษ และ CO₂ ประมาณ 5% ในการเจริญ และต้องมีความชื้นเพียงพอ อาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถใช้ในการเพาะเลี้ยงได้ดี เช่น Chocolate agar ซึ่งส่วนใหญ่ใช้ในการ subculture แต่ในกรณีที่ต้องการเพาะเลี้ยงเชื้อจากหนองหรือสารคัดหลั่งในผู้ป่วยจำเป็นต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะ เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการออก เช่น Thayer Martin agar (TM)⁴ นั้นมียาปฏิชีวนะทั้งหมด 4 ชนิด คือ Nystatin ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา, Colistin ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง, Vancomycin ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบรูปแท่งบางสายพันธุ์ และ Trimethoprim ยับยั้งการเจริญ *Proteus* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีการเจริญแบบกระจายหรือแผ่

ปัจจุบัน Thayer Martin agar (TM) นั้นมีการพัฒนาโดยมีการปรับสูตรหรือชนิดของยาปฏิชีวนะ โดยคุณสมบัติเบื้องต้นของการยับยั้งแบคทีเรียยังเหมือนเดิม แต่เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ขึ้นและเหมาะสมกับการใช้งาน จึงเรียกอาหารสูตรใหม่ที่ปรับนี้ว่า Modified Thayer Martin agar (MTM) ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนยา Nystatin มาเป็น Amphotericin B เนื่องจากยา Nystatin ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ได้ ที่เป็นเชื้อก่อโรคทางช่องคลอดของผู้หญิง หรือการเปลี่ยนยา Vancomycin มาเป็น Lincomycin เนื่องจากการสูญเสียเชื้อ *N. gonorrhoeae* ที่ไวต่อยา Vancomycin ดังนั้นสูตรยาปฏิชีวนะที่

เหมาะสมสำหรับการผลิต Modified Thayer Martin agar (MTM) คือ Amphotericin B, Colistin, Lincomycin และ Trimethoprim (ACLT inhibitors)

จากการสำรวจการใช้ Modified Thayer Martin agar (MTM) ในการเพาะเชื้อ *N. gonorrhoeae* โดยใช้แบบสอบถามผ่าน google form พบว่า หน่วยงานเครือข่าย ซึ่งประกอบด้วย สำนักงานป้องกันและควบคุมโรค และโรงพยาบาล นั้นไม่ได้ใช้ Modified Thayer Martin agar (MTM) เนื่องจากข้อจำกัดของราคาที่แพงและปริมาณอัตราการป่วยโรคหนองในน้อยถ้าเทียบกับโรคอื่น ๆ เช่น เบาหวานและความดัน เป็นต้น ดังนั้นจึงมีเพียงอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Chocolate agar ซึ่งประสิทธิภาพในการเพาะเชื้อ *N. gonorrhoeae* ต่ำกว่า Modified Thayer Martin agar (MTM) และการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Chocolate agar ไม่เป็นไปตามมาตรฐานของห้องปฏิบัติการกำหนด โดยผู้วิจัยยังไม่พบการวิจัยในการประยุกต์ใช้สารยับยั้ง ACLT มาป้ายให้กระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Chocolate agar เพื่อเปลี่ยนให้มีคุณสมบัติคล้าย Modified Thayer Martin agar (MTM) ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ในการดำเนินงานประจำและเป็นไปตามมาตรฐาน

โดยการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ของการวิจัยดังนี้

1. เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสาร ACLT inhibitors ที่นำมาป้ายให้กระจายบน chocolate agar
2. เพื่อหาปริมาณและความเข้มข้นของสาร ACLT inhibitors ที่เหมาะสมเมื่อนำมาป้ายให้

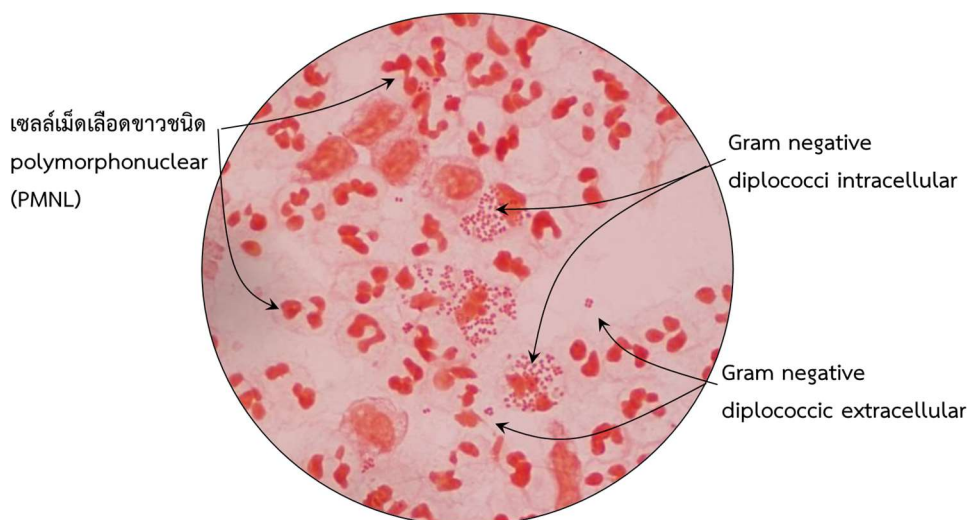
กระจายบน chocolate agar

บทที่ 2

วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคหนองใน

โรคหนองใน (Gonorrhea) เป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ (Sexually transmitted diseases: STDs) ที่เกิดจากการติดเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* ที่บริเวณเยื่อเมือกในท่อปัสสาวะ ช่องคลอด ปากมดลูก ทวารหนัก ตาและคอ¹ ซึ่งจัดเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปกลมคล้ายรูปไตหรือรูปกล้วยอยู่เป็นคู่โดยหันด้านเว้าเข้าหากัน (Gram negative diplococci)³ เซลล์มีขนาดประมาณ 0.6-1.5 ไมครอน จัดเป็นเชื้อกลุ่ม aerobe และเป็นเชื้อที่เจริญยาก (fastidious bacteria) โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญประมาณ 35-37 องศาเซลเซียส เชื้อไม่สามารถทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปได้นาน และต้องการอาหารเพาะเชื้อพิเศษคือ Modified Thayer-Martin (MTM) agar เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นและสารสนับสนุนการเจริญของเชื้อ เชื้อนี้จัดอยู่ในกลุ่ม capnophilic bacteria โดยบรรยากาศที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จำเป็นในการเจริญ เชื้อไม่สามารถทนต่อความแห้งและความเย็น ไม่สามารถเคลื่อนที่



ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะของเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae* จากการย้อมสีแกรม

2.2 โครงสร้างเซลล์ของเชื้อ *N. gonorrhoeae*

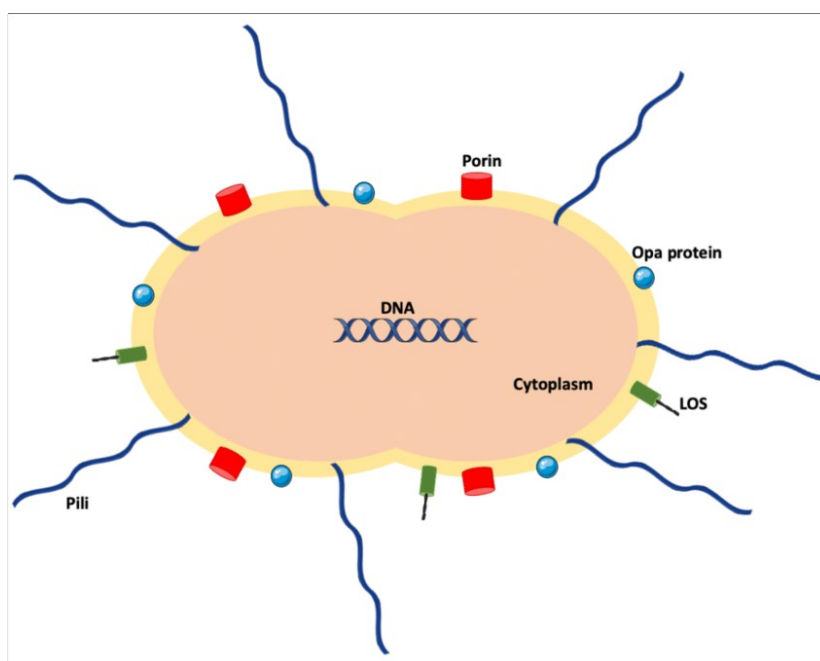
Pili มีลักษณะคล้ายเส้นขนที่ยื่นจากชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ผ่านผนังเซลล์ออกสู่ภายนอก และช่วยในการเกาะติดเซลล์เจ้าบ้านของเชื้อ

Por (Porin protein) เป็นโปรตีนที่ประกอบขึ้นเป็นช่องทางผ่านเข้า-ออกของสารในชั้นผนังเซลล์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ PorA และ PorB ซึ่งช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อถูกทำลายภายในเซลล์เจ้าบ้าน โดยยับยั้งการรวมตัวของ Phagosome และ Lysosome

Opa (Opacity protein) เป็นโปรตีนที่พบอยู่ในชั้นผนังเซลล์ มีหน้าที่ช่วยในการเกาะกลุ่มระหว่างเซลล์ของเชื้อ และการเกาะติดของเชื้อกับเซลล์เจ้าบ้าน

Rmp (Reduction-modifiable protein) เป็นโปรตีนที่สัมพันธ์กับโปรตีน Por และร่วมประกอบเป็นช่องทางผ่านเข้า-ออกของสาร

Lipooligosaccharide (LOS) เชื้อไม่มีส่วน O-antigen ในโครงสร้างของ Lipopolysaccharide (LPS) ที่พบในเชื้อแกรมลบทั่วไป



ภาพที่ 2.2 แสดงลักษณะโครงสร้างเซลล์ของเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*

2.3 การก่อโรคของเชื้อ *N. gonorrhoeae*

N. gonorrhoeae มีความจำเพาะที่เซลล์ columnar epithelium ที่บริเวณเยื่อเมือกบุผิวของระบบสืบพันธุ์ เช่น บริเวณปากมดลูกและท่อปัสสาวะเชื้อสร้างปัจจัยก่อโรคหลายชนิด แต่ไม่พบการสร้าง exotoxin การติดเชื้อเริ่มจากการเข้าเกาะติดกับเซลล์เยื่อบุผิวโดยอาศัย pili ซึ่งเป็นปัจจัยก่อโรคที่สำคัญ แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ pili สามารถยับยั้งการเกาะติดเซลล์ของ pili ได้ โปรตีน Opa ช่วยให้เชื้อเกาะติด

เซลล์เยื่อผิวได้ดีขึ้นและทำให้เชื้อถูกนำเข้าสู่ภายในเซลล์ได้โดยขบวนการ phagocytosis โปรตีน Por อาจช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อถูกทำลายภายในเซลล์ โดยยับยั้งการรวมตัวของ phagosome และ lysosome นอกจากนี้โปรตีน PorA ยังมีฤทธิ์ต้านการทำลายเชื้อ โดยขบวนการ serum killing จากปัจจัยที่อยู่ในซีรัม เช่น compliment ทำให้สายพันธุ์ที่สร้างโปรตีน PorA มักสัมพันธ์กับการติดเชื้อลุกลาม และผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของระบบ compliment มีอัตราเสี่ยงสูงในการเกิดโรคติดเชื้อตามระบบ แม้ว่าเชื้อมีกลไกต่อต้านการถูกทำลาย เมื่อถูกนำเข้าสู่ภายในเซลล์ แต่ไม่ถูกจัดเป็นเชื้อก่อโรคภายในเซลล์ เนื่องจากเชื้อไม่สามารถดำรงชีวิตและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนภายในเซลล์ เชื้อจะผ่านออกจากเซลล์เยื่อผิวไปยังเนื้อเยื่อชั้นล่าง และก่อให้เกิดการติดเชื้อ

2.4 อาการและอาการแสดงของโรคหนองใน

2.4.1 ลักษณะทางคลินิกในผู้ชาย

ส่วนใหญ่ มีอาการปัสสาวะแสบขัดและมีหนองออกจากท่อปัสสาวะ บางรายอาจมีอาการน้อยหรือมีมูกปน ประมาณร้อยละ 10 อาจไม่มีอาการ

ผู้ชายที่ใช้ปากกับอวัยวะเพศชาย (oral sex) โดยไม่ใช้ถุงยางอนามัยอาจติดเชื้อโรคหนองในที่ลำคอได้ ผู้ชายที่ใช้ปากกับอวัยวะเพศหญิง อาจติดเชื้อโรคหนองในที่ลำคอได้เช่นกัน แต่พบอุบัติการณ์ของโรคต่ำกว่า ส่วนการติดเชื้อในทวารหนักมักไม่ค่อยมีอาการ

2.4.2 ลักษณะทางคลินิกในผู้หญิง

ส่วนใหญ่ไม่ปรากฏอาการ หากมีอาการ จะพบ ตกขาวผิดปกติ ปัสสาวะแสบขัด ปวดท้องน้อย ตรวจพบการอักเสบที่ท่อปัสสาวะ ปากมดลูก หรือ ช่องทวารหนัก การวินิจฉัยโรคหนองในในผู้ป่วยหญิงจึงจำเป็นต้อง อาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นหลัก

การใช้ปากร่วมเพศ (oral sex) โดยไม่ใช้ถุงยางอนามัยอาจติดเชื้อโรคหนองในที่ช่องคอได้ ส่วนใหญ่ไม่มีอาการ เช่นเดียวกับการติดเชื้อทางทวารหนัก

ในหญิงตั้งครรภ์ที่ติดเชื้อหนองในที่บริเวณปากมดลูกและช่องคลอดอาจทำให้ทารกแรกคลอดติดเชื้อได้จากการคลอดผ่านช่องคลอด และทำให้เกิดเยื่อตาอักเสบ (ophthalmia neonatorum) หากไม่ได้รับการรักษาอาจทำให้ทารกตาบอดได้

2.5 การรักษาโรคหนองในชนิดไม่มีภาวะแทรกซ้อน (Uncomplicated gonorrhea)

Ceftriaxone 500 มิลลิกรัม ฉีดเข้ากล้ามเนื้อครั้งเดียว (ในเด็กน้ำหนักตัวน้อยกว่าหรือเท่ากับ 45 กิโลกรัม ให้ยา ขนาด 50 mg/น้ำหนักตัว 1 kg (ไม่เกิน 250 mg) ฉีดเข้า กล้ามเนื้อครั้งเดียว) โดยทั้งหมดต้องร่วมกับให้การรักษา โรคหนองในเทียมร่วมด้วย

การรักษาทางเลือก Cefixime 400 มิลลิกรัม กินครั้งเดียว ให้ในกรณีที่ไม่สามารถฉีดยาได้ หรือ Gentamicin 160-240 mg ฉีดเข้ากล้ามเนื้อหรือฉีดเข้าทางหลอดเลือด ครั้งเดียว ให้ในกรณีแพ้ยา cephalosporins (ให้ผลการตอบสนองไม่ด้นักในรายที่ติดเชื้อหนองในที่ช่องคอ และไม่มีหลักฐานเพียงพอในการรักษาหนองในที่ทวารหนัก)

2.6 การรักษาโรคหนองในชนิดภาวะแทรกซ้อน

2.6.1 ภาวะแทรกซ้อนเฉพาะที่ (local complicated gonorrhea)

2.6.1.1 ในผู้ป่วยชาย

(1) ลักษณะ

- การอักเสบของท่อปัสสาวะส่วนหลัง (posterior urethritis)
- ท่อพีกอสุจิอักเสบ (epididymitis) และลูกอัณฑะอักเสบ (orchitis) เป็นภาวะที่ค่อนข้างรุนแรง เพราะอาจทำให้เกิดการตีบตันของท่อ epididymis ในกรณีที่เป็นทั้งสองข้างอาจทำให้เป็นหมันได้

- ฝีของต่อมข้างปากท่อปัสสาวะ (paraurethral duct abscess)
- ฝีบริเวณรอบท่อปัสสาวะ (periurethral abscess)
- ฝีที่ต่อมคาวเปอร์ (Cowper's gland abscess)

(2) การรักษา

- ให้การรักษาเหมือนหนองในชนิดไม่มีภาวะแทรกซ้อน แต่ให้ยาต่อเนื่องอย่างน้อย 2 วัน หรือจนกว่าจะหาย

2.6.1.2 ในผู้ป่วยหญิง

(1) ลักษณะ

- ฝีของต่อมบาร์โธลิน (Bartholin's abscess) ซึ่งเป็นภาวะแทรกซ้อน ที่พบบ่อยที่สุด
- ฝีที่ปีกมดลูกและรังไข่ (tubo-ovarian abscess)
- อักเสบเชิงกรานอักเสบ (pelvic inflammatory disease; PID)

(2) การรักษา

- ให้การรักษาเหมือนหนองในชนิดไม่มีภาวะแทรกซ้อน แต่ให้ยาต่อเนื่องอย่างน้อย 2 วัน หรือจนกว่าจะหาย

2.6.2 ภาวะแทรกซ้อนแพร่กระจาย (disseminated gonococcal infection; DGI) เกิดจากเชื้อแพร่กระจายไปตามกระแสเลือด

2.6.2.1 ลักษณะ

- มีอาการปวดข้อ (arthralgia) ต่อมาเกิดการอักเสบของข้อ (arthritis) อาจเกิดข้อเดียว หรือ หลายข้อย้ายตำแหน่งได้ (migratory polyarthritis) ข้อที่พบได้บ่อยคือ ข้อมือ หรือข้อเท้า อาจพบที่ข้อศอก หรือข้อเข่าได้

- รอยโรคที่ผิวหนังซึ่งเกิดจากการอักเสบที่เส้นเลือดของผิวหนัง (septic vasculitis) รอยโรคที่พบได้บ่อยคือ ตุ่มหนองอยู่บนฐานสีแดง สามารถ พบการตายของเนื้อเยื่อบริเวณกลางรอยโรคได้ (necrotic pustule) มักพบการกระจายของรอยโรคบริเวณมือเท้า และ แขนขาส่วนปลาย โดยรอยโรคบริเวณมือและเท้าอาจมีอาการเจ็บ แต่รอยโรคบริเวณ บริเวณอื่นมักไม่มีอาการคันหรือเจ็บ

- ในผู้หญิง อาจเป็นสาเหตุของการตั้งครรภ์นอกมดลูก (ectopic pregnancy) หรือเป็นหมันได้

2.6.2.2 การรักษา

การรักษา ควรรับไว้รักษาในโรงพยาบาลและให้การรักษา ดังนี้

กรณีมีจุดเลือดออกใต้ผิวหนัง (petechiae) หรือตุ่มหนอง (pustule) ที่ ผิวหนัง, ปวดข้อ (arthralgia), ข้ออักเสบ (septic arthritis), เอ็นและเยื่อข้อ ข้ออักเสบ (tenosynovitis) ให้ใช้ยา Ceftriaxone 1-2 g ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ วันละ 1 ครั้ง จนอาการดีขึ้น แล้วเปลี่ยนเป็นยากิน (cefixime 400 mg วันละ 2 ครั้ง) รวมระยะเวลา ในการรักษาอย่างน้อย 7 วัน ให้รักษาโรคหนองในเทียมร่วมด้วย และคู่เพศสัมพันธ์ควรได้รับการประเมินการติดเชื้อและรักษา

กรณีที่มีเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) ร่วมด้วย ให้ใช้ยา Ceftriaxone 1-2 g ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ทุก 12 ชั่วโมง นาน 10-14 วัน ให้รักษาโรคหนองในเทียมร่วมด้วย และคู่เพศสัมพันธ์ควรได้รับการประเมินการติดเชื้อและรักษา

กรณีที่มีเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (endocarditis) ร่วมด้วย ให้ใช้ยา Ceftriaxone 1-2 g ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ทุก 12 ชั่วโมง นานอย่างน้อย 4 สัปดาห์ ให้การรักษาหนองในเทียมร่วมด้วย และคู่เพศสัมพันธ์ควรได้รับการประเมินการติดเชื้อและรักษา

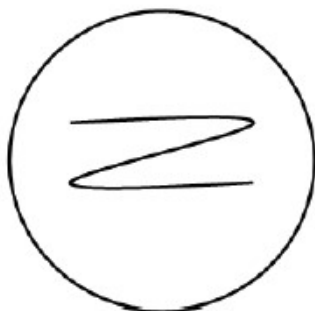
2.7 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *N. gonorrhoeae* นั้นถือเป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง (Reference method) ในการวินิจฉัยโรคหนองใน ซึ่งเป็นวิธีที่ถูกต้องและแม่นยำกว่าวิธีการอ่านผลจาก Gram's stain แต่วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อจะค่อนข้างซับซ้อนกว่าเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ เพราะเชื้อ *N. gonorrhoeae* เป็นเชื้อที่ต้องการอาหารพิเศษในการเจริญ และในบรรยากาศที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อต้องมีความชื้นเพียงพอ มีปริมาณ CO₂ (5%) ซึ่ง

ส่วนใหญ่ใช้ในการ subculture ในกรณีที่ต้องการเพาะเลี้ยงเชื้อจากหนองหรือสารคัดหลั่งในผู้ป่วย จำเป็นต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะ เพื่อยับยั้งเชื้ออื่นๆ ที่ไม่ต้องการออกก่อน เช่น Modified Thayer Martin Media (MTM) นั้นมียาปฏิชีวนะทั้งหมด 4 ชนิด คือ Amphotericin B, Colistin, Lincomycin และ Trimethoprim (ACLT inhibitors)

การเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วย

สามารถเก็บหนองหรือสารคัดหลั่งจากผู้ป่วยชายและผู้ป่วยหญิง ได้จาก ท่อปัสสาวะ (urethra), ช่องคลอด (vagina), ปากมดลูก (endocervix), คอ (pharynx), ทวารหนัก (rectum), ฝี (abscess) และ เยื่อบุตา (conjunctival) เป็นต้น ขึ้นกับ ตำแหน่งที่มีความเสี่ยง โดยเก็บหนองหรือสารคัดหลั่งจากผู้ป่วยแล้วป้ายลงบน MTM หรือ Bangrak I Media เป็นรูปตัว Z และนำส่งห้องปฏิบัติการทันที ในกรณีที่ไม่สามารถส่งส่งตรวจบน plate ได้โดยตรงให้ใช้ transport medium เช่น Stuart หรือ Amies และนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 6 ชั่วโมง ซึ่งสามารถเก็บรักษาสภาพในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-8 °C ได้ก่อนนำส่ง



ภาพที่ 2.3 แสดงลักษณะการ streak เป็นรูปตัว Z หนองหรือสารคัดหลั่งจากผู้ป่วย แล้วป้ายลงบน MTM หรือ Bangrak I Media

2.8 Modified Thayer Martin Media (MTM)

Modified Thayer Martin Media (MTM)⁵ เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด selective medium ที่ใช้แยกเชื้อพวก gonococci โดยเฉพาะ ที่มีคุณสมบัติพิเศษคือสามารถยังเชื้อประจำถิ่น (normal flora) จำพวกแบคทีเรียและเชื้อราได้ ทำให้เชื้อ *Neisseria* spp. ที่เจริญยากอยู่แล้วนั้นเจริญได้ง่ายขึ้น โดยใน Modified Thayer Martin Media (MTM) มียาปฏิชีวนะที่ใส่ลงไปคือ Amphotericin B, Colistin, Lincomycin และ Trimethoprim หรือเรียกสั้น ๆ ว่า ACLT inhibitors

2.9 ACLT inhibitors

ACLT inhibitors คือชื่อย่อตัวหน้าของยาปฏิชีวนะที่ใส่ลงไปในการเลี้ยงเชื้อ Modified Thayer Martin Media (MTM) โดยมี Amphotericin B, Colistin, Lincomycin และ Trimethoprim

- Amphotericin B มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
- Colistin มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบเป็นส่วนใหญ่ ยกเว้น *Neisseria* spp. และ แกรมลบบางตัว เช่น *Legionella*
- Lincomycin มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก
- Trimethoprim มีคุณสมบัติยับยั้งการ swarming ของ *Proteus* spp.

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 ขั้นตอนการผลิต ACLT inhibitors

3.1.1 ผลิต ACLT inhibitors 1%

3.1.1.1 ชั่ง Trimethoprim 600 mg ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 2000 ml เติม Deionized Water 1053.8 ml ทำให้ปราศจากเชื้อโดย Autoclave ที่ 121°C 15 lb นาน 15 min แล้ว ทำให้เย็นลง ที่อุณหภูมิ 50-56°C

3.1.1.2 ใช้ Deionized Water 10 ml ผสมลงใน Amphotericin B 50 mg เขย่าให้ละลาย

3.1.1.3 ใช้ Deionized Water 135 ml ผสมลงใน Colistin 916 mg เขย่าให้ละลาย

3.1.1.4 เติม Amphotericin B 10 ml, Colistin 135 ml, Lincomycin 1.2 ml (360 mg) ผสมลงใน Trimethoprim 1053.8 ml รวมเป็น ACLT inhibitor 1200 ml

3.1.2 ผลิต ACLT inhibitors 1.5%

3.1.2.1 ชั่ง Trimethoprim 900 mg ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 2000 ml เติม Deionized Water 1053.8 ml ทำให้ปราศจากเชื้อโดย Autoclave ที่ 121°C 15 lb นาน 15 min แล้ว ทำให้เย็นลง ที่อุณหภูมิ 50-56°C

3.1.2.2 ใช้ Deionized Water 10 ml ผสมลงใน Amphotericin B 75 mg เขย่าให้ละลาย

3.1.2.3 ใช้ Deionized Water 135 ml ผสมลงใน Colistin 1374 mg เขย่าให้ละลาย

3.1.2.4 เติม Amphotericin B 10 ml, Colistin 135 ml, Lincomycin 1.8 ml (540 mg) ผสมลงใน Trimethoprim 1053.8 ml รวมเป็น ACLT inhibitor 1200 ml

3.1.3 ผลิต ACLT inhibitors 2%

3.1.3.1 ชั่ง Trimethoprim 900 mg ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 2000 ml เติม Deionized Water 1053.8 ml ทำให้ปราศจากเชื้อโดย Autoclave ที่ 121°C 15 lb นาน 15 min แล้ว ทำให้เย็นลง ที่อุณหภูมิ 50-56°C

3.1.3.2 ใช้ Deionized Water 10 ml ผสมลงใน Amphotericin B 75 mg เขย่าให้ละลาย

3.1.3.3 ใช้ Deionized Water 135 ml ผสมลงใน Colistin 1374 mg เขย่าให้ละลาย

3.1.3.4 เติม Amphotericin B 10 ml, Colistin 135 ml, Lincomycin 1.8 ml (540 mg) ผสมลงใน Trimethoprim 1053.8 ml รวมเป็น ACLT inhibitor 1200 ml

3.2 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (ตามแนวทางของ Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI M22)

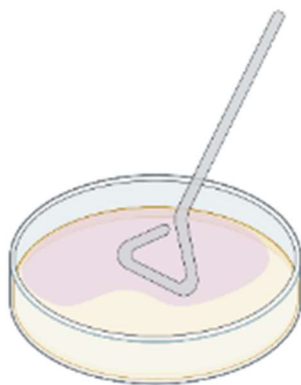
3.2.1 เตรียมเพาะเชื้อมาตรฐาน 5 ชนิด ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 รายชื่อเชื้อมาตรฐาน

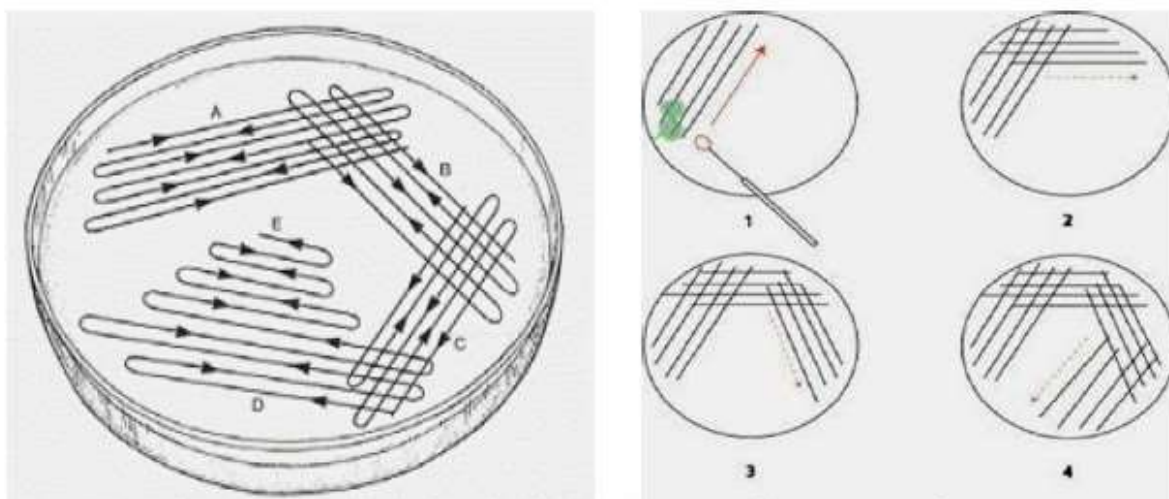
เชื้อมาตรฐาน	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 43069
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

3.2.2 ปรับความขุ่นเชื้อ 0.5 McFarland โดยเชื้อมาตรฐานที่เพาะไว้ลง Mueller Hinton Broth ทั้ง 5 ชนิด

3.3 ขั้นตอนการป้าย ACLT inhibitors บน Chocolate agar และ ลงเชื้อมาตรฐาน (ตามแนวทางของ Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI M22)



ภาพที่ 3.1 แสดงการ Spread plate



ภาพที่ 3.2 แสดงการ Streak plate 4 ระบาย

3.3.1 ทดสอบ ACLT inhibitors 1% ลงบน Chocolate agar โดยใช้ปริมาตรดังนี้

- หยด ACLT inhibitors 50 µl จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล
- หยด ACLT inhibitors 100 µl จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล
- หยด ACLT inhibitors 150 µl จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล
- หยด ACLT inhibitors 200 µl จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล

3.3.2 ทดสอบ ACLT inhibitors 1.5% ลงบน Chocolate agar โดยใช้ปริมาตรดังนี้

- หยด ACLT inhibitors 50 µl จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล
- หยด ACLT inhibitors 100 µl จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล
- หยด ACLT inhibitors 150 µl จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล

- หยด ACLT inhibitors 200 μ l จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล

3.3.3 หยดสาร ACLT inhibitors 2% ลงบน Chocolate agar โดยใช้ปริมาตรดังนี้

- หยด ACLT inhibitors 50 μ l จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล
- หยด ACLT inhibitors 100 μ l จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล
- หยด ACLT inhibitors 150 μ l จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล
- หยด ACLT inhibitors 200 μ l จำนวน 50 plates พร้อม Spread ให้กระจายทั่วหน้าอาหาร ดังภาพที่ 3.1 รอให้แห้งประมาณ 15 นาที แล้ว streak เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล

3.4 ชุดควบคุมคุณภาพ

3.3.1 ชุดควบคุมบวก (Positive control)

- Streak เชื้อมาตรฐานบน Chocolate agar เป็น 4 ระบาย ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล

3.3.1 ชุดควบคุมลบ (Negative control)

- Streak เชื้อมาตรฐานบน Modified Thayer-Martin เป็น 4 ระนาบ ดังภาพที่ 3.2 โดยจะ streak เชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 10 plates บ่มเพาะเชื้อ 24 ชั่วโมง และอ่านผล

3.5 การอ่านและแปลผลการเจริญของเชื้อ ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การแปลผลการเจริญของเชื้อจุลชีพ

ผลการเพาะเชื้อ	แปลผล
เชื้อขึ้น 4 ระนาบ	Numerous
เชื้อขึ้น 3 ระนาบ	Moderate
เชื้อขึ้น 2 ระนาบ	Few
เชื้อขึ้น 1 ระนาบ	Rare
เชื้อไม่ขึ้น	No growth

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การเพาะเชื้อมาตรฐาน 5 ชนิด จากการป้าย ACLT inhibitors 1% ลงบน Chocolate agar

การเพาะเชื้อ *N. gonorrhoeae* ATCC 43069 ผลการเจริญ เป็น Numerous ทั้ง 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 1% 50 μ l และ 100 μ l สำหรับ ACLT inhibitors 1% ที่ 150 μ l และ 200 μ l นั้นการเจริญ ยังมีทั้งแบบ Numerous และ Moderate

การเพาะเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้แค่ 2 plates จาก 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 1% 200 μ l แต่สำหรับการป้าย ACLT inhibitors 1% ที่ 50 μ l 100 μ l และ 150 μ l ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เลย

การเพาะเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญได้เลยที่การป้าย ACLT inhibitors 1% ในทุกปริมาณที่ทดลอง

การเพาะเชื้อ *P. mirabilis* ATCC 43071 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมด 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 1% 150 μ l และ 200 μ l แต่สำหรับการป้าย ACLT inhibitors 1% ที่ 100 μ l สามารถยับยั้งได้ 5 plates จาก 10 plates และที่ปริมาตร 50 μ l ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เลย

การเพาะเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมด 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 1% 150 μ l และ 200 μ l แต่สำหรับการป้าย ACLT inhibitors 1% ที่ 50 μ l และ 100 μ l สามารถยับยั้งได้ 2 plates จาก 10 plates

ตารางที่ 4.1 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 50 μ l บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 50 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Numerous	Rare	Moderate	Rare	Rare
2	Numerous	Rare	Moderate	Rare	Rare
3	Numerous	Rare	Moderate	Rare	No growth
4	Numerous	Rare	Moderate	Rare	No growth
5	Numerous	Rare	Moderate	Rare	No growth
6	Numerous	Rare	Moderate	Rare	No growth

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 50 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
7	Numerous	Rare	Moderate	Rare	No growth
8	Numerous	Rare	Moderate	Rare	No growth
9	Numerous	Rare	Moderate	Rare	No growth
10	Numerous	Rare	Rare	Rare	No growth

ตารางที่ 4.2 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 100 μ l บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 100 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Numerous	Rare	Moderate	Rare	Rare
2	Numerous	Rare	Moderate	Rare	Rare
3	Numerous	Rare	Moderate	Rare	No growth
4	Numerous	Rare	Moderate	Rare	No growth
5	Numerous	Rare	Few	Rare	No growth
6	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth
7	Numerous	Rare	Rare	No growth	No growth
8	Numerous	Rare	Rare	No growth	No growth
9	Numerous	Rare	Rare	No growth	No growth
10	Numerous	Rare	Rare	No growth	No growth

ตารางที่ 4.3 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 150 μ l บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 150 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Moderate	Rare	Moderate	No growth	No growth
2	Moderate	Rare	Few	No growth	No growth
3	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth
4	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth
5	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth
6	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth
7	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth
8	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth
9	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth
10	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth

ตารางที่ 4.4 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 200 μ l บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 200 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Moderate	No growth	Few	No growth	No growth
2	Moderate	No growth	Few	No growth	No growth
3	Moderate	Rare	Few	No growth	No growth
4	Moderate	Rare	Few	No growth	No growth
5	Moderate	Rare	Few	No growth	No growth
6	Moderate	Rare	Few	No growth	No growth

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1% 200 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
7	Moderate	Rare	Few	No growth	No growth
8	Moderate	Rare	Few	No growth	No growth
9	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth
10	Numerous	Rare	Few	No growth	No growth

4.2 การเพาะเชื้อมาตรฐาน 5 ชนิด จากการป้าย ACLT inhibitors 1.5% ลงบน Chocolate agar

การเพาะเชื้อ *N. gonorrhoeae* ATCC 43069 ผลการเจริญ เป็น Numerous ทั้ง 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 50 μ l 100 μ l และ 150 μ l

การเพาะเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมด 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 150 μ l และ 200 μ l แต่สำหรับการป้าย ACLT inhibitors 1.5% ที่ 50 μ l และ 100 μ l สามารถยับยั้งได้ 8 plates จาก 10 plates

การเพาะเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมด 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 150 μ l และ 200 μ l แต่สำหรับการป้าย ACLT inhibitors 1.5% ที่ 100 μ l สามารถยับยั้งได้ 8 plates จาก 10 plates และที่ปริมาตร 50 μ l ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เลย

การเพาะเชื้อ *P. mirabilis* ATCC 43071 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมด 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 150 μ l และ 200 μ l แต่สำหรับการป้าย ACLT inhibitors 1.5% ที่ 50 μ l และ 100 μ l สามารถยับยั้งได้ 2 plates จาก 10 plates

การเพาะเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมดที่การป้าย ACLT inhibitors 1.5% ในทุกปริมาตรที่ทดลอง

ตารางที่ 4.5 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 50 μ l บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 50 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Numerous	Rare	Rare	Rare	No growth
2	Numerous	Rare	Rare	Rare	No growth
3	Numerous	No growth	Rare	Rare	No growth
4	Numerous	No growth	Rare	Rare	No growth
5	Numerous	No growth	Rare	Rare	No growth
6	Numerous	No growth	Rare	Rare	No growth
7	Numerous	No growth	Rare	Rare	No growth
8	Numerous	No growth	Rare	Rare	No growth
9	Numerous	No growth	Rare	No growth	No growth
10	Numerous	No growth	Rare	No growth	No growth

ตารางที่ 4.6 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 100 μ l บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 100 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Numerous	Rare	Rare	Rare	No growth
2	Numerous	Rare	Rare	Rare	No growth
3	Numerous	No growth	No growth	Rare	No growth
4	Numerous	No growth	No growth	Rare	No growth
5	Numerous	No growth	No growth	Rare	No growth

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% <u>100 µl</u> บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
6	Numerous	No growth	No growth	Rare	No growth
7	Numerous	No growth	No growth	Rare	No growth
8	Numerous	No growth	No growth	Rare	No growth
9	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
10	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth

ตารางที่ 4.7 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 150 µl บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% <u>150 µl</u> บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
2	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
3	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
4	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
5	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
6	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
7	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
8	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
9	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
10	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth

ตารางที่ 4.8 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 200 µl บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 1.5% 200 µl บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Moderate	No growth	No growth	No growth	No growth
2	Moderate	No growth	No growth	No growth	No growth
3	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
4	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
5	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
6	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
7	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
8	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
9	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
10	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth

4.3 การเพาะเชื้อมาตรฐาน 5 ชนิด จากการป้าย ACLT inhibitors 2% ลงบน Chocolate agar

การเพาะเชื้อ *N. gonorrhoeae* ATCC 43069 ผลการเจริญ เป็น Numerous ทั้ง 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 2% 50 µl และ 100 µl

การเพาะเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมด 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 2% 100 µl 150 µl และ 200 µl แต่สำหรับการป้าย ACLT inhibitors 2% ที่ 50 µl สามารถยับยั้งได้ 8 plates จาก 10 plates

การเพาะเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมด 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 2% 100 µl 150 µl และ 200 µl แต่สำหรับการป้าย ACLT inhibitors 2% ที่ 50 µl สามารถยับยั้งได้ 7 plates จาก 10 plates

การเพาะเชื้อ *P. mirabilis* ATCC 43071 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมด 10 plates จากการป้าย ACLT inhibitors 2% 100 μ l 150 μ l และ 200 μ l แต่สำหรับการป้าย ACLT inhibitors 2% ที่ 50 μ l สามารถยับยั้งได้ 4 plates จาก 10 plates

การเพาะเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งหมดที่การป้าย ACLT inhibitors 2% ในทุกปริมาตรที่ทดลอง

ตารางที่ 4.9 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 50 μ l บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 50 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Numerous	Rare	Rare	Rare	No growth
2	Numerous	Rare	Rare	Rare	No growth
3	Numerous	No growth	Rare	Rare	No growth
4	Numerous	No growth	No growth	Rare	No growth
5	Numerous	No growth	No growth	Rare	No growth
6	Numerous	No growth	No growth	Rare	No growth
7	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
8	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
9	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
10	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth

ตารางที่ 4.10 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 100 μ l บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 100 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
2	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
3	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
4	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
5	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
6	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
7	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
8	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
9	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
10	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth

ตารางที่ 4.11 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 150 μ l บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 150 μ l บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Moderate	No growth	No growth	No growth	No growth
2	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
3	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
4	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
5	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
6	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% <u>150 µl</u> บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
7	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
8	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
9	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
10	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth

ตารางที่ 4.12 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% 200 µl บน Chocolate agar

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน โดยการป้าย ACLT inhibitors 2% <u>200 µl</u> บน Chocolate agar					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	Moderate	No growth	No growth	No growth	No growth
2	Moderate	No growth	No growth	No growth	No growth
3	Moderate	No growth	No growth	No growth	No growth
4	Moderate	No growth	No growth	No growth	No growth
5	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
6	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
7	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
8	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
9	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth
10	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth

4.4 การเพาะเชื้อมาตรฐาน 5 ชนิด บน Chocolate agar (CA) และ Modified Thayer-Martin agar (MTM)

ตารางที่ 4.13 ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน จาก Chocolate agar (CA) และ Modified Thayer-Martin agar (MTM)

ผลการเพาะเชื้อมาตรฐาน จาก Chocolate agar (CA) และ Modified Thayer-Martin agar (MTM)					
No.	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
Control Positive (CA)	Numerous	Numerous	Numerous	Numerous	Numerous
Control Negative (MTM)	Numerous	No growth	No growth	No growth	No growth

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ประเมินประสิทธิภาพของสารยับยั้ง ACLT ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ตัวอื่นที่ไม่ใช่เป้าหมายของโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ได้สำหรับการเลือกใช้ทดสอบการเพาะเลี้ยงเชื้อ *N. gonorrhoeae* จากสิ่งส่งตรวจผู้รับบริการด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ได้ดี

การเลือกใช้สาร ACLT inhibitor แต่ละความเข้มข้นและปริมาตรในการป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Chocolate agar นั้นมีผลต่อการยับยั้งเชื้อแตกต่างกันออกไป ดังนี้ 1. การยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 จากการป้าย ACLT inhibitor 1% ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้เลย แต่ ACLT inhibitor 1.5% ปริมาตร 150 µl และ 200 µl และ ACLT inhibitor 2% ปริมาตร 150 µl และ 200 µl สามารถยับยั้งได้ดี 2. การยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 12228 จากการป้าย ACLT inhibitor 1% ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้เลย แต่ ACLT inhibitor 1.5% ปริมาตร 150 µl และ 200 µl และ ACLT inhibitor 2% ปริมาตร 150 µl และ 200 µl สามารถยับยั้งได้ดี 3. การยับยั้งเชื้อ *P. mirabilis* ATCC 43071 จากการป้าย ACLT inhibitor 1% และ 1.5% สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่ปริมาตร 150 µl และ 200 µl สำหรับ ACLT inhibitor 2% สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่ปริมาตร 100 µl 150 µl และ 200 µl 4. การยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 จากการป้าย ACLT inhibitor 1% สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่ปริมาตร 150 µl และ 200 µl และ จากการป้าย ACLT inhibitor 1.5% และ 2% สามารถยับยั้งเชื้อได้ทุกปริมาตรของการทดลอง สำหรับการเจริญของเชื้อ *N. gonorrhoeae* ATCC 43069 นั้น จากการป้าย ACLT inhibitor 1% เหมาะสมต่อการเจริญที่ปริมาตร 50 µl และ 100 µl ACLT inhibitor 1.5% เหมาะสมต่อการเจริญที่ปริมาตร 50 µl 100 µl และ 150 µl และ ACLT inhibitor 2% เหมาะสมต่อการเจริญที่ปริมาตร 50 µl และ 100 µl การเลือกใช้สาร ACLT inhibitor ที่ปริมาตรที่มากขึ้น เช่น 200 µl อาจมีผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อ *N. gonorrhoeae* เนื่องจากความเข้มข้นก็เป็นปัจจัยหนึ่งของการเจริญเติบโต ดังนั้น การเลือกสาร ACLT inhibitor มาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Chocolate agar ที่เหมาะสมคือ ACLT inhibitor 1.5% ที่ปริมาตร 150 µl หรือ ACLT inhibitor 2% ที่ปริมาตร 100 µl ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ตัวอื่นที่ไม่ใช่เป้าหมายของโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ได้ทั้งหมดและเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *N. gonorrhoeae*

การศึกษานี้สามารถนำสาร ACLT inhibitor ไปประยุกต์ใช้ในงานประจำสำหรับการเพาะเชื้อหนองในตามหน่วยงานที่มีห้องจุลชีววิทยาที่มีข้อจำกัดเรื่องอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Modified Thayer-Martin agar (MTM) ได้

รายการอ้างอิง

1. รสพร กิตติเยาวมาลย์ และคณะ. แนวทางการดูแลรักษาโรคหนองใน พ.ศ. 2562. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟิกแอนด์ดีไซน์; 2562
2. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ระบบรายงานการเฝ้าระวังโรค 506 (National Disease Surveillance: Report 506). 2018.Available from:
http://www.boe.moph.go.th/boedb/surdata/506wk/y61/d38_5261.pdf
3. ภัทรชัย กิริตสิน. ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ วี.เจ.พรินต์ติ้ง; 2551
4. I. PHILLIPS, D. HUMPHREY, A. MIDDLETON, C. S. NICOL. Diagnosis of gonorrhoea by culture on a selective medium containing vancomycin, colistin, nystatin and trimethoprim (VCNT) A comparison with Gram-staining and immuno uorescence. British journal of venereal diseases 1972; 48 : 287-292.
5. Modified Thayer-Martin Agar
from:https://microbeonline.com/thayer-martin-agar-composition-preparation-uses-colony-characteristics/#Culture_and_Isolation