หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Mahony, J.F. and Thayer, J.D. "The Gonococci". In Bacterial and Mycotic Infection of Man. ed. by R.J. Dubos, 2nd ed., 564-571, J.B. Lippincott, 1952.

2. Perine, P.L.; Schalla, W.; Sielgel, M.S.; Thornsberry, C.; Biddle, J.; Wong, K.H. "Evidence for two distinct types of pennicillinase-producing Neisseria gonorrhoeae." Lancet (1977) : 993-994.

3. พะลัง, อุไร และ องุ่น วินัพประสิทธิ์. "งานระบาดวิทยากับการควบคุมกามโรค" วารสารชมรมแพทย์ทางกามโรค. ประจำปี พ.ศ.2522 : 76-83.

4. Report of the Chief Medical Officer of the Department of Health and Service Security for the Year 1973. "Sexually transmitted diseases." British Journal of Veneral Disease. 51 (1975) : 64-68.

5. Groschel, D.H.M. and Portnoy, B.L. "Neisseria infections." In Bacterial, Mycotic, and Parasitic Infections, ed. by Balow, A. and Hausler, W.J. Jr., 6th ed. Interdisciplinary Books & Periodicals for the Professional & the Layman. 529-550, 1981.

6. Lennette, E.H.; Spaulding, E.H.; Traunt, J.P. Manual of Clinical Microbiology, 2nd. 52-54, Washington, D.C., 1974.

7. Deacon, W.E.; Peacock, W.L.; Freeman, E.M.; Harris, A. "Identification of Neisseria gonorrhoeae by means of fluorescent antibodies." Proceedings Social

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Experimental Biological Medicine 101. (1959) : 322-325

8. Deacon, W.E.; Peacock, W.L. Jr.; Freeman, E.M.; Harris, A.D.; Bunch, W.L.Jr. "Fluorescent antibody tests for detection of the gonococcus in women." Public Health Reports. 75(2). (1960) : 125-129.

9. Deacon, W.E. "Fluorescent antibody methods of Neisseria gonorrhoeae identification." Bulletin Organization Mona Santa. Bulletin World. 41th Organization 24. (1961) : 349-355.

10. Lind, I. "Identification of Neisseria gonorrhoeae by means of fluorescent antibody technique." Acta Pathological Microbiology Scandinavian 70. (1967) : 613-629.

11. Ashton, F.E.; Lettch, R.A.; Perry, M.B.; Wallace, R.; Diena, B.B. "Hen fluorescein-labelled gonococcal lipopolysaccharide antibody in the delayed fluorescent antibody technique for the confirmation of Neisseria gonorrhoeae." Journal of Clinical Microbiology 9(3). (1979) : 323-328.

12. Hanna, N.F.; Robinson, D.T.; Csonka, G.W.; Harris, J.R.W.; Al-Sowaych, I.A. "One-step staining of Neisseria gonorrhoeae in urethral discharge by methyl green-pyronin." British Journal of Veneral Disease. 56 (1980) : 227-9.

13. Spagna, V.A.; Prior, R.B.; Perkins, R.L. "Rapid presumptive diagnosis of gonococcal urethritis in men by limulus lysate test." *British Journal of Veneral Disease*. 55 (1979) : 179-182.

14. Jawetz, E.; Melnick, J.L.; Adelberg, E.A. *Review of Medical Microbiology*. 14th ed., 205-207. Lange Medical Publications Maruzen Asia (Ptc.) Ltd., 1980.

15. Dey, N.Y. *Medical Bacteriology*. 6th ed. 213-219. Allied Agency, 1970.

16. Kellogg, D.S.Jr.; Peacock, W.L.Jr.; Deacon, W.E.; Brown, L.; Pirkle, C.I. "*Neisseria gonorrhoeae* I. Virulence genitically linked to clonal variation." *Journal Bacteriology*. 85 (1963) : 1274-79.

17. Kellogg, D.S.Jr.; Coken, I.R.; Norins, L.C.; Schoeter, A.L.; Reising, G. "*Neisseria gonorrhoeae* II. Colonial variation and pathogenecity during 35 months in vitro." *Journal Bacteriology*. 96 (1968) : 596-605.

18. Jephcott, A.E. and Reyn, A. "*Neisseria gonorrhoeae*. Colony variation I." *Acta Pathological Microbiology Scandinavian*. 79 (1971) : 609.

19. WHO Technical Report Service. "*Neisseria gonorrhoeae* and Gonococcal infection" (1978) : 7-23.

20. Siegel, M.; Olsen, D.; Critchlow, C.; Buchaman, T.M. "Gonococcal pili : Safety and immunogenicity in human and antibody function in vitro." *Journal of Infectious Disease* 145(3) (1982) : 300-310.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

21. Sandstrom, E., and Danielsson, D. "Serology of Niesseria gonorrhoeae. Classification by co-agglutination." Acta Pathological Microbiology Scandinavian. SectionB. Microbiology Immunology. 88(1) (1980) : 27-38

22. Holston, J.L.Jr.; Hosty, T.S.; Martin, J.E. Jr. "Evaluation of the bag-CO_2 -generating-tablet method for isolation of Neisseria gonorrhoeae." American Journal of Clinical Pathology 62 (1974) : 558-562.

23. Brown, J.D. "Modified transport and growth medium for the cultivation of Neisseria gonorrhoeae." British Journal of Venereal Disease. 50 (1974) : 199-201.

24. Symington, D.A. "Improved transport system for Neisseria gonorrhoeae in clinical specimens." Journal of Clinical Microbiology. 2(6) (1975) : 498-503.

25. Jephcott, A.E.; Bhattacharyya, M.N.; Jackson, D.H. "Improved transport and culture system for the rapid diagnosis of gonorrhoea" British Journal of Venereal Disease. 52(1976) : 250-252.

26. Short, H.B.; Clark, V.L.; Kellog, D.S. Jr.; Young. F.E. "Anaerobic survival of clinical isolates and laboratory strains of Neisseria gonorrhoeae : Use in transfer and storage." Journal of Clinical Microbiology. 15(5) (1982) : 915-919.

27. Thayer, J.D. and Martin, J.E. "A selective medium for the cultivation of Neisseria gonorrhoeae and N. meningitidis." Public Health Reports. 7(9) (1964) : 49-57.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

28. Thayer, J.D. and Martin, J.E. "Improved medium selective for cultivation of Neisseria gonorrhoeae and N. meningitidis." Public Health Reports. 8(6) (1966) : 559-561.

29. Martin, J.E.; Billing, T.E.; Hackney, J.F.; Thayer, J.D. "Primary isolation of Neisseria gonorrhoeae with a new commercial medium." Public Health Reports. 82(4) (1967) : 361-363.

30. Faur, Y.C.; Weisburd, M.H.; Wilson, M.E.; May, P.S. "A new medium for the isolation of pathogenic Neisseria (NYC medium) I. Formulation and comparisions with standard media." Health Laboratory Science. 10 (1973) : 44-54.

31. Martin, J.E.Jr. and Lewis, J.S. "Anisomycin : Improved antimycotic activity in modified Thayer-Martin Medium." Public Health Laboratory. 35 (1977) : 53-62.

32. Granato, P.A.; Schneible-Smith, C.; Weiner, L.B. "Use of New York City medium for improved recovery of Neisseria gonorrhoeae from clinical specimen." Journal of Clinical Microbiology. 13 (1981) : 963-968.

33. Lawton, W.D. and Koch, L.W. "Comparison of commercially available New York City medium and Martin-Lewis medium for recovery of Neisseria gonorrhoeae from clinical specimens." Journal of Clinical Microbiology. 16(4) (1982) : 754-755.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

34. Bronson, J.E.; Holmberg, I.; Nygren, B.; Seeberg, S. "Vancomycin sensitive strains of Neisseria gonorrhoeae. A problem for the diagnostic laboratory." British Journal of Venereal Disease. 49 (1973) : 452-453.

35. Taylor, E. and Phillips, I. "Assessment of a selective medium for the isolation of Neisseria gonorrhoeae." British Journal of Venereal Disease. 55 (1979) : 183-185.

36. Mardh, P.A.; Martensser, D.; Soltesz, L.V. "An effective, simplified medium for the culture of Neisseria gonorrhoeae." Sexual Transmitted Disease. 3(1) (1978) : 10-13.

37. Carlson, B.L.; Haley, M.S.; Delly, J.R.; McCormack, W.M. "Evaluation of the Phadebact test for identification of Neisseria gonorrhoeae." Journal of Clinical Microbiology. 15(2) (1982) : 231-234.

38. Young, H. and McMillan, A. "Rapidity and reliability of gonococcal identification by coagglutination after culture on modified New York City medium." British Journal of Venereal Disease. 58 (1982) : 109-112.

39. Donald, W.H. "Assessment of the Till-U-Test GC slide." British Journal of Venereal Disease. 56(2) (1980) : 81-82.

40. Burrows, W. Textbook of Microbiology, 20th ed. 453-460. W.B. Saunders Company. 1973.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

41. Holmes, K.K.; Johnson, D.W.; Throstle H.J. "An estimate of the risk of men acquiring gonorrhea by sexual contact with infected females." American Journal of Epidermiology. 91 (1970) : 170-4.

42. Davis, B.D.; Dulbecco, R.; Eisen, H.N.; Ginoberg, H.S. Microbiology, 3rd ed. 636-643. Harper International Edition, 1980.

43. Braude, A.I. Microbiology. 329-332. Saunders Company, 1982.

44. Biddle, J.W.; Swenson, J.M.; Thronsberry, C. "Disc agar diffusion antimicrobial susceptibility tests with beta-lactamase producing *Neisseria gonorrhoeae*." The Journal of Antibiotics. 31(4) (1978) : 352-357.

45. Phillips, I. "Beta-lactamase producing, penicillin-resistant gonococcus." Lancet. (1976) : 656-658.

46. สุวรรณมาลิก, สุภัทร. "Sensitivity of penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* (PPNG) to spectinomycin and thiamphenicol." วารสารชมรมแพทย์ทางกามโรค ประจำปี 2524 : 8-14.

47. Lancaster, D.J.; Berg, S.W.; Harrison, W.O.; Ockermann, K.O. "Treatment of penicillin-resistant gonorrhea with cefotaxime." Drug Therapy, 11 supplement. (1981) : 87-90.

48. Khan, M.Y.; Siddiqui, Y.; Gruninger, R.P. "Comparative in-vitro activity of selected new beta-lactam antimicrobial against *Neisseria gonorrhoeae*."

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

49. ลีลารัศมี, อมร และ ประสิทธิ์ อัศวโภคี. "เชื้อหนองในที่ผลิต Penicillinase (PPNG)." จุลสารชมรมแพทย์โรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย 2(4) (252() : 167-172.

50. ไตรสุภา อำนวย "วิธีการระบาดวิทยาช่วยควบคุมโรคหนองในได้ผลดีหรือไม่" วารสารกรมการแพทย์และอนามัย. 1 (2516) : 364-369.

51. Brown, S.T. and McMill, T. "Treatment of acute gonococcal urethritis in Bangkok, Thailand." British Journal of Veneral Disease. 50 (1970) : 298.

52. Brooks, G.F.; Darrow, W.W.; Day, J.A. "Repeated gonorrhea : An analysis of importance and risk factors." Journal of Infectious Disease. 137 (1978) : 161-169.

53. Smeltzer, M.P.; Curran, J.W.; Brown, S.T.; Pass, J. "Accuracy of presumptive criteria for culture diagnosis of Neisseria gonorrhoeae in low-prevalance populations in women." Journal of Clinical Microbiology, 11(5) (1980) : 485-487.

54. Phillips, I.; Humphrey, D.; Middleton, A.; Nicol, C.S. "Diagnosis of gonorrhoea by culture on a selective medium containing vancomycin, colistin, nystatin and trimethoprim (VCNT). A comparison with Gram stainning and immunofluorescence." British Journal of Venereal Disease. 48 (1972) : 287-292.

55. McMillan, A. and Pattman, R.S. "Evaluation of urethral culture for Neisseria gonorrhoeae in the routine investigation of men attending a STD clinic."

British Journal of Venereal Disease. 55 (1979) :

56. Exner, A.C.; Shinners, E.N.; Pace, P.J.; Catlin, B.W. "Auxotypes and antibacterial resistance to gonococci with differing susceptibilities to vancomycin." British Journal of Venereal Disease. 58 (1982) : 166-175.

57. Lucas, J.B.; Price, E.V.; Thayer, J.D.; Schroeter, A. "Diagnosis and treatment of gonorrhea in female." New England Medical Journal. 276 (26) (1967) : 1454-1459.

58. Westbrook, W.G. "Delay and inhibition of Neisseria gonorrhoeae in vitro : Relationship of delayed incubation, penicillinse producing, urine culture and self-treatment." British Journal of Venereal Disease. 56 (1980) : 83-87.

59. Arko, R.J.; Finley-Price, K.G.; Wong, K.H.; Johnson, S.R.; Reising, G. "Identification problem of Neisseria gonorrhoeae cultures bystandard and experimental tests." Journal of Clinical Microbiology. 15(3) (1980) : 435-438.

60. Shtibel, R. "Non-beta-lactamase producing Neisseria gonorrhoeae highly-resistance to penicillin." Lancet i (1980) : 39.

61. Lind, I. "Methodologic aspects of routine procedurestor identification of Neisseria gonorrhoeae by immunofluorescence." Annals New York Academy of Science. (1974) : 400-405.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

62. Thin, R.N.T.; Williams, I.A.; Nicol, C.S. "Direct and delayed methods of immunofluorescent diagnosis of gonorrhoea in women." British Journal of Venereal Disease. 47 (1970) : 27-30.

63. Catlin, B.S. and Reyn, A. "Neisseria gonorrhoeae isolated from disseminated and localised infections in pre-penicillin era." British Journal of Venereal Disease. 58 (1982 : 158-165.

64. McMillan, S.; McNeillage, G.; Young, H.; Bain, S.S.R. "Detection of antigonococcal Ig A in cervical secretions by indirect immunofluorescence : An evaluation as a diagnostic test." British Journal of Venereal Disease. 56 (1980) : 223-226.

65. Rufli, T. "Identification of Neisseria gonorrhoeae in the routine venerological laboratory. Comparative study of coagglutination, direct immunofluorescence, and sugar fermentation reaction." British Journal of Venereal Disease. 56 (1980) : 144-147.

66. Anand, C.M. and Kadis, E.M. "Evaluation of the Phadebact Conococcus Test for confirmatory of Nisseria gonorrhoeae." Journal of Clinical Microbiology. 2(1) (1980) : 15-17.

67. Lewis, S.J. and Martin, J.E.Jr. "Evaluation of the Phadebact Gonococcus Test, a coagglutination procedure for confirmatory of Neisseria gonorrhoeae." Journal of Clinical Microbiology. 11(2) (1980) : 153-156.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

68. Warner, P.F.; Zubrzyoki, L.J.; Chila, M. "Polygenes and modifier genes for tetracycline and penicillin resistance in Neisseria gonorrhoeae." Journal of General Microbiology. 117(1) (1980) : 103-110.

69. Peacock, W.L. "Method for preparing Neisseria gonorrhoeae fluorescent antibody conjugate." Public Health Reports. 85(8) (1980) : 733-738.

70. Shannon, R.; Hedges, J.; Edwards, R.J. "Distribution of levels of penicillin resistant among freshly isolated strains of Neisseria gonorrhoeae. Application of a novel sensitivity assay" British Journal of Venereal Disease. 51 (1975) : 246-250.

71. Wilkinson, A.E. "Indirect fluorescence test for the detection of antigonococcal antibodies." British Journal of Venereal Disease. 51 (1975) : 28-30.

72. Helstad, A.G. and Bruns, M.K. "Rapid laboratory identification of Neisseria gonorrhoeae by coagglutination." Journal of Clinical Microbiology. 11(6) (1980) : 753-754.

73. Buchanan, R.E.; Gibbons, N.E.; Cowan, S.T.; Halt, J.G.; Liston, J.; Murray, R.G.E.; Niven, C.F.; Ravin, A.W.; Stainer, R.Y. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. (1974) Baltimore : Williams and Wilkins Company.

74. Baron, E.S. and Saz, A.K. "Effect of types of media on the production of acid from glucose by so-called glucose-negative strains of Neisseria gonorrhoeae." Journal of Clinical Microbiology. 3(3) (1976) : 330-333.

75. Jaffle, H.W.; Biddle, J.W.; Thornsberry, C.; Johnson, R.E.; Kaufman,R.E.; Reynolds, G.H.; Weisner, P.J. "National gonorrhoea therapy monitoring study : In vitro antibiotic susceptibility and its correlation with treatment results." The New England Journal of Medicine. 294(1) (1976) : 5-9.

76. Noble, R.C.; Orange, A.P.; Michel, M.F.; Stolz, E. "Relationship of the interval between infections and the similarity of gonococcal strains in recurrent gonorrhoea." British Journal of Venereal Disease. 56 (1980) : 31-34.

77. Ashford, W.A.; Golash, R.G.; Hemming, V.G. "Penicillinase-producing Neisseria gonorrhoeae." Lancet. (1976) : 657-658.

78. Heckels, J.E. "The surface properties of Neisseria gonorrhoeae : To-pographical distribution of the outer membrane protine antigens." Journal of General Microbiology. 108 (1978) : 213-219.

79. Young, D.C.T. and Prytula, A. "Rapid micro-carbohydrate test for Neisseria gonorrhoeae." Journal of Clinical Microbiology. 8 (1978) : 643-647.

80. Graves, J.O. and Mayer, L.A. "Neisseria confirmation by an enriched, bicarbonate-containing carbohydrate medium." Journal of Clinical Microbiology. 8 (1978) : 525-528.

81. Amies, C.R. "A modified formula for the population of Stuart's transport medium." Cannada Journal of Public Health. 58 (1967) : 296-300.

82. Reyn, A. "Recent developments in the laboratory diagnosis of gonococcal infections." Bulletin World Health Organization. 40 (1969) : 245-255.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

1. การย้อมสีแบบแกรม

A. Modified Hucker's crystal violet

Solution A

Crystal violet (certified)	2	g.
Ethyl alcohol, 95 %	20	ml.

Solution B

Ammonium oxalate	0.8	g.
Distilled water	80.0	ml.

ผสมสารละลาย A และสารละลาย B เก็บไว้ 24 ชั่วโมงก่อนใช้ แล้วกรองใส่ในขวด

B. Gram's iodine

Iodine	1	g.
Potassium iodide	2	g.
Distilled water	300	ml.

ปั่นไอโอดีนแห้งและโปแตสเซียมไอโอไดในเครื่องปั่น เติมน้ำทีละน้อย ปั่นให้เข้ากัน รินสารละลายใส่ในขวดสีชาพร้อมกับน้ำกลั่นที่เหลือ เขย่าให้เข้ากัน

C. Decolorizers

Acetone	100	ml.
95 % ethyl alcohol	100	ml.

ผสมเอซิโตนและเอทหิลแอลกอฮอล ในปริมาณที่เท่า ๆ กัน

D. Counterstain

Stock solution

Safranine 0 (certified)	2.5	g.
Ethyl alcohol, 95 %	100.0	ml.

Working solution

Stock solution	10	ml.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Distilled water	90	ml.

<u>วิธีการย้อมสี</u> 1. ย้อมสีคริสตอลไวโอเลตบนรอยสเมีย ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างสีออกด้วยน้ำ

2. ย้อมด้วยสารละลายไอโอดีน ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างสีออกด้วยน้ำ

3. ล้างสีออกด้วยเอซิโตน-แอลกอฮอล จนสีม่วงของคริสตอลไวโอเลตหลุดหมด

4. ย้อมด้วยสีซาฟรานินเป็นเวลา 10 นาที ล้างสีออกด้วยน้ำ

2. Oxidase Reagent

<u>Stock solution</u>

ละลาย 1gm. ของ tetramethyl-paraphenylent-diammonium dihydrochloride ($C_{10}H_{18}Co_2N_2$) ในน้ำกลั่น 3.5 มล. และเติมเอทหานอล (96% v/v) จนได้ 100 มล. เก็บสารละลายไว้ในที่มืด

เมื่อจะนำมาใช้ ให้ผสม stock solution 1 ส่วนในน้ำกลั่น 2 ส่วน

3. Cystine-tryptic digest agar (CTA)-base medium สำหรับ carbohydrate degradation สำหรับ <u>Neisseria Gonorrhoeae</u>

<u>ส่วนประกอบของ base medium</u> (g/l ของน้ำกลั่น)

Cystine	0.5	g.
Trypticase peptone	20.0	g.
Agar	15.0	g.
Sodium chloride	5.0	g.
Sodium sulfite	0.5	g.
Phenol red	0.017	g.

<u>การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

1. ละลายส่วนประกอบต่าง ๆ ในน้ำกลั่น
2. ผสมให้เข้ากันและต้มโดยแกว่งเสมอ ๆ จนกระทั่งสารประกอบละลายหมด
3. ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีนึ่งด้วยความดันไอน้ำ 10 ปอนด์/ตร.นิ้ว ที่อุณหภูมิ 115-118° ซ. เป็นเวลา 15 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ทำให้เย็นลงที่ 50° ซ.
5. เติมสารละลายคาร์โบไฮเดรท (เช่น กลูโคส มัลโตส และซูโครส) ปริมาตร 20% (w/v) โดยวิธีการปราศจากเชื้อ เพื่อให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 2% ของคาร์โบไฮเดรท
6. ปรับความเป็นกรดเป็นด่าง ให้ได้ 7.3
7. ถ่ายใส่ในหลอดที่มีจุกเกลียว โดยวิธีการปราศจากเชื้อ
8. วางให้มีเดียแข็ง
9. เก็บไว้ที่ 4° ซ. โดยปิดจุกหลอดให้แน่น

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. Thayer-Martin Medium

A. GC Agar base

Pancreatic digest of casein USP	7.5	g.
Peptic digest of animal tissue USP	7.5	g.
or other peptone	(15.0	g.)
Corn starch	1.0	g.
Dipotassium phosphate	4.0	g.
Monopotassium phosphate	1.0	g.
Sodium chloride	5.0	g.
Agar	10.0	g.
Distilled water	1.0	litre

GC Agar base ที่ปราศจากเชื้อ, double strength 100 ml นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอที่ 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว อุณหภูมิ 121° ซ. เป็นเวลา 15 นาที

B. Hemoglobin, 2% aqueous, 100 ml. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอที่ 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว อุณหภูมิ 121 . ซ. เป็นเวลา 15 นาที

C. Antibiotic inhibitors โดยใช้ vancomycin 300 mg.; colistin 750 mg. และ nystatin 1,250 units

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

D. Chemical enrichment ที่ใช้ได้แก่ IsoVitalex

Vitamin B_{12}	0.010	g.
1-Glutamin	10.000	g.
Adenine	1.000	g.
Guanine hydrochloride	0.030	g.
p-Aminobenzoic acid	0.013	g.
1-Cystine	1.100	g.
Dextrose	100.000	g.
Diphosphophyridine nucleotide oxidized (coenzyme)	0.250	g.
Cocarboxylase	0.100	g.
Ferric nitrate	0.020	g.
Thiamine hydrochloride	0.003	g.
Cysteine hydrochloride	25.900	g.
Distilled water	1,000	litre

<u>วิธีเตรียม</u> ผสมสารละลาย A และ B ที่ปราศจากเชื้อ ทิ้งให้เย็นลงที่ 50° ซ. เติมยาปฏิชีวนะ และ IsoVitalex ลงไป ผสมให้เข้ากัน เหลงในจานเพาะเชื้อ

5. <u>Stuart's transport medium</u>

Agar	4.00	g.
Distilled water	1.00	litre

ทำให้ร้อนจนกระทั่งละลาย แล้วเติมสารดังต่อไปนี้ขณะร้อน

Sodium chloride	3.00	g.
Potassium chloride	0.20	g.
Disodium phosphate, anhydrous or	1.15	g.
disodium phosphate $12H_2O$	(2.90	g.)
Monopotassium phosphate	0.20	g.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Sodium thioglycollate	1.00	g.
Calcium chloride, 1% aqueous freshly prepared	10.00	ml.
Magnesium chloride $6H_2O$, 1% aqueous	10.00	ml.

Final pH 7.3

1. เขย่าให้เข้ากันจนละลาย เติมผงถ่าน (Pharmaceutical Neutral Charcoal) ลงไป 10 กรัม
2. เทน้ำยา 5-6 มล. ลงในหลอดจุกเกลียว ขนาด 13 x 100 มม. เขย่าให้ผงถ่านเข้ากันตลอด
3. นึ่งฆ่าเชื้อโดยความดันไอที่อุณหภูมิ 121 ° ซ. นาน 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เก็บไว้ในตู้เย็น

6. Cephalosporin solution

(สำหรับทดสอบ Beta lactamase)

วิธีเตรียม

ละลาย cephalosporin ใน 0.05 M KH_2Po_4 pH 7.0 โดยให้ได้ความเข้มข้น 500 mg./ml

วิธีเตรียม 0.05 M KH_2Po_4 pH 7.0

ส่วนประกอบ	KH_2Po_4	6.8	g.
	Distilled water	1.000	litre

ปรับ pH ด้วย K_2HPO_4 (ที่ทำเป็น saturate)

7. Composition of a solid medium (GAB) for *Neisseria gonorrhoeae*

GC agar base (BBL)	25	g.
Unialgas agar (Unialgas, Lisbon, Portugal)	25	g.
IsoVitalex (BBL)	3,3	ml.
Horse blood (local slaughter house)	85	ml.
Pig serum (local slaughter house)	1000	ml.

Trimethoprim (Roche)	5.4	mg.
Polymyxin B (NOVO)	25,000	I.U.
Distilled water	1.000	ml.

ผสม GC agar base และ unialgas agar ในน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อโดยความดันไอที่ 121° ซ. 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เติมเลือดม้าลงไป คงอุณหภูมิที่ 80° ซ. เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้เลือดคล้ำ ทิ้งไว้ให้เย็นลงที่ 50° ซ. เติมซีรั่มหมู แล้วเติม IsoVitalex ลงไปขณะอุณหภูมิ 50-52° ซ. จากนั้นเติม trimethoprim และ polymyxin B เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อ เก็บไว้ใช้ได้อย่างมากที่สุด 3 วัน ที่ 4° ซ. ก่อนใช้นำจานเพาะเชื้อมาทำให้แห้งที่ 37° ซ. เป็นเวลา 20 นาที และใช้ภายในเวลา 24 ชม.

ยาปฏิชีวนะที่ใช้ให้ละลายในน้ำกลั่น โดยมีความเข้มข้นของ trimethoprim lactate 500 mg/ml และ polymyxinB 10,000 IU/ml สารละลายของยานี้จะต้องเตรียมทุก ๆ 2 อาทิตย์ และเก็บไว้ในตู้เย็นจนกว่าจะใช้

8. Chocolate agar

ใช้ Blood agar base ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้

Heart infusion agar		
Beef heart muscle, infusion form	375	g.
Tryptose or thiotone peptic digest of animal tissue USP	10	g.
Sodium chloride	5	g.
Agar	15	g.
Distilled or demineralized water	1	litre

pH 7.3 or pH 6.8

นึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ความดันไอที่ 121° ซ. เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นลงที่ 50° ซ. และเติม 5% ของ defribinated blood และทำให้ร้อนที่ 80° ซ. เป็นเวลา 15 นาที หรือจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นสีน้ำตาล

9. <u>Phosphate buffer saline</u> (PBS)

A. Concentrated Stock Solution

$Na_2HPo_4 \cdot 12H_2O$	31.03	g.
$NaH_2Po_4 \cdot 2H_2O$	2.0316	g.
NaCl	85.0	g.
Distilled water	1.000	ml.

B. Working Solution PBS (0.01 M, pH 7.2)

Concentrated Stock Solution	100	ml.
Distilled water to	1,000	ml.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

เรืออากาศโทหญิง พิมพา รุ่งนพคุณ เกิดวันที่ 13 สิงหาคม พ.ศ.2498 ที่กรุงเทพมหานคร จบปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปี พ.ศ.2521

ปัจจุบันทำงานในตำแหน่งนายทหารสัญญาบัตร แผนกจุลชีววิทยา กองพยาธิกรรม โรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช กรมแพทย์ทหารอากาศ กระทรวงกลาโหม

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย