

วิธีปฏิบัติ

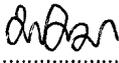
Work Instruction

เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบ
ความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ



กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

โรงพยาบาลลำพูน

รหัสเอกสาร WI-BAC-007	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19
ผู้จัดทำ	<p> (นายปิยะพงษ์ ปินตา) นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการ</p> <p>01 กพ 2564 วัน / เดือน / ปี</p>
ผู้ทบทวน	<p> (นางสาวศิริพร นันตา) ผู้จัดการวิชาการกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์</p> <p>01 กพ 2564 วัน / เดือน / ปี</p>
ผู้อนุมัติ	<p> (นายครรชิต กิติมา) ผู้จัดการคุณภาพกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์</p> <p>01 กพ 2564 วัน / เดือน / ปี</p>

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 1/24

บันทึกการแก้ไขเอกสาร

วันที่	แก้ไขครั้งที่	บันทึกการแก้ไข
8 ก.ค. 2547	0	ทบทวนโดย นายบรรเลง ปัญจบุรี - ไม่มีการแก้ไข
21 ก.ย. 2548	1	แก้ไขผู้อนุมัติ
2 ต.ค. 2549	2	ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 เม.ย.2551	3	- แก้ไขรูปแบบวิธีปฏิบัติการตามข้อกำหนด ISO 15189 และอนุมติใช้ - เปลี่ยนรหัสเอกสารจาก WI-LAB-031 เป็น WI-LAB-007 - แก้ไขผู้ทบทวน จากนักเทคนิคการแพทย์ เป็น ผู้จัดการวิชาการ - แก้ไขผู้อนุมัติ จากหัวหน้ากลุ่มงานพยาธิ เป็น ผู้จัดการคุณภาพ
15 ก.ย. 2551	4	-แก้ไขรูปแบบวิธีปฏิบัติให้เป็นไปตามข้อกำหนด ISO 15189
5 มิ.ย. 2552	5	-แก้ไขรูปแบบวิธีปฏิบัติให้เป็นไปตามข้อกำหนด ISO 15189
1 เม.ย.2553	6	ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ต.ค.2553	7	เพิ่มเติมข้อความหน้า 7/9 ข้อ 3 บรรทัดที่ 5 คำว่า “จำนวน 6 แผ่น”
1 มี.ค.2555	8	ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ส.ค.2555	9	-แก้ไขชื่อกลุ่มงานพยาธิวิทยาเป็น”กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์” เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 5/22 ข้อ 6.8 McFarland No. 0.5 -เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 6/22 ข้อ 8.2 เรื่องวิธีการทำ Direct colony Suspension -แก้ไขหน้า 7/22 ข้อ 8.3 บรรทัดที่ 2 จาก NCCLS เป็น CLSI -เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 9/22 ข้อ 8.2 เรื่องการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 2/24

บันทึกการแก้ไขเอกสาร

วันที่	แก้ไขครั้งที่	บันทึกการแก้ไข
		<ul style="list-style-type: none"> -เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 10/22 และหน้า 11/22 ข้อ 8.2 เรื่องหลักเกณฑ์การลง SENS DISK งานจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลลำพูน -เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 12/22 เรื่อง Identification of Gram-positive Cocci -เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 13/22 และหน้า 14/22 เรื่อง Identification of Fermentative Gram-negative Bacilli -เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 15/22 เรื่อง Identification of Gram-negative Bacilli H₂S Production -เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 16/22 เรื่อง Identification of Non fermentative Gram-negative Bacilli -เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 17/22 เรื่อง Identification of <i>Vibrio cholerae</i> and <i>Vibrio parahaemolyticus</i> -เพิ่มเติมรายละเอียดหน้า 18/22 ถึงหน้า 22/22 เรื่อง ตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อ Bacteria ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 3/24

บันทึกการแก้ไขเอกสาร

วันที่	แก้ไขครั้งที่	บันทึกการแก้ไข
1 ก.ย.2556	10	ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ก.ย.2557	11	<ul style="list-style-type: none"> -แก้ไขหลักเกณฑ์การลง sens disk ของเชื้อ <i>Staphylococcus</i> spp. หน้า 11/23 -แก้ไขหลักเกณฑ์การลง sens disk ของเชื้อ Gram Negative Rod , เชื้อ <i>Pseudomonas</i> spp. และเชื้อ <i>Acinetobacter</i> spp. หน้า 12/23 -แก้ไขตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อ <i>Staphylococcus</i> spp. หน้า 20/23 -แก้ไขตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อกลุ่ม Gram Negative Rod ชนิด Fermentative หน้า 21/23 -แก้ไขตารางการแปลผลการทดสอบความไวของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> และเชื้อ <i>Acinetobacter</i> spp. หน้า 22/23
1 ก.ย.2558	12	ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ส.ค.2559	13	ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ธ.ค.2559	14	<ul style="list-style-type: none"> -แก้ไขหน้า 7/23 ข้อ 8.2.3 จาก บ่มเพาะเชื้อที่ 35-37 องศาเซลเซียส เปลี่ยนเป็น บ่มเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส -แก้ไขหน้า 8/23 ข้อ 9.1 โดยเพิ่มเชื้อ <i>E.coli</i> ATCC 35218 เข้าไปอีก 1 สายพันธุ์ -แก้ไขหน้า 9/23 เพิ่มเอกสารอ้างอิง Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) 2016 -แก้ไขตารางการทดสอบความไวของเชื้อ Bacteria ต่างๆ ในหน้า 19/23 ถึง 23/23

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 4/24

บันทึกการแก้ไขเอกสาร

วันที่	แก้ไขครั้งที่	บันทึกการแก้ไข
1 ก.ย.2560	15	<p>-แก้ไขหลักเกณฑ์การลง sens disk ของเชื้อ Gram Negative Rod , เชื้อ <i>Pseudomonas spp.</i> และเชื้อ <i>Acinetobacter spp.</i> หน้า 12/25</p> <p>- เพิ่มหลักเกณฑ์การลง sens disk ของเชื้อกลุ่ม <i>Salmonella spp.</i>(Stool), <i>Shigella spp.</i>(Stool), <i>Vibrio spp.</i>, <i>Aeromonas spp.</i>, <i>Burkholderia pseudomallei</i> ,<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>, <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i> และ <i>Moraxella catarrhalis</i> หน้า 13/25</p> <p>-แก้ไขตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อกลุ่ม Gram Negative Rod ชนิด Fermentative หน้า 22/25</p> <p>-แก้ไขตารางการแปลผลการทดสอบความไวของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> และเชื้อ <i>Acinetobacter spp.</i> หน้า 23/25</p> <p>- เพิ่มตารางการแปลผลการทดสอบความไวของเชื้อกลุ่ม <i>Salmonella spp.</i>(Stool), <i>Shigella spp.</i>(Stool), <i>Vibrio spp.</i>, <i>Aeromonas spp.</i>, <i>Burkholderia pseudomallei</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>, <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i> และ <i>Moraxella catarrhalis</i> หน้า 24/55 ถึงหน้า 25/55</p>
1 ก.ย.2561	16	ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 เม.ย.2562	17	แก้ไขให้เป็นไปตามข้อกำหนดตามผลการตรวจประเมินระบบ ISO 15189:2012 และ ISO15190:2003
1 เม.ย. 2563	18	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ก.พ. 2564	19	<p>- แก้ไขชื่อทบทวนจากนางสาวกนกวรรณ ใจพิงค์ เป็นนางสาวศิริพร นันตา</p> <p>- แก้ไขชื่อผู้อนุมัติจากนายบรรเลง ปัญจบุรี เป็นนายครรชิต กิตติมา</p>

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 5/24

การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ

1. วัตถุประสงค์การทดสอบ

เป็นการตรวจวินิจฉัยและทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพโดยวิธี Kirby-Bauer เพื่อให้ทราบถึงสถานการณ์ของการติดเชื้อแบคทีเรียและความไวต่อสารต้านจุลชีพชนิดต่างๆ อีกทั้งให้เจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติได้อย่างมีหลักเกณฑ์ และอยู่ในมาตรฐานเดียวกัน ทำให้ผลการทดสอบถูกต้อง แม่นยำ เชื่อถือได้

2. นิยามและคำย่อ

-

3. หลักการทดสอบ

การตรวจวินิจฉัยวัตถุประสงค์ตรวจแต่ละชนิด จะมีขั้นตอนการตรวจที่แตกต่างกันไป ขึ้นกับชนิดของวัตถุประสงค์ตรวจ และเชื้อที่ต้องการตรวจ ซึ่งจะมีผลไปถึงการตรวจวินิจฉัยขั้นต้น การเลือกใช้อาหารเพาะเชื้อ สภาพแวดล้อมที่ต้องใช้เพาะเชื้อ และการอ่านและการแปลผลการเพาะเชื้อด้วย

Modified Kirby-Bauer method ใช้หลักการของ Disk Diffusion โดยเจือจางความขุ่นเท่ากับความขุ่นมาตรฐาน แล้วเพาะเชื้อลงบน อาหารเพาะเชื้อ นำ Disk สารต้านจุลชีพที่ทราบปริมาณมาวางบนผิววุ้น เพื่อให้สารต้านจุลชีพนั้น ซึมเข้าไปในอาหาร แล้วดูการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้น

4. คุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์

4.1. ค่าความเป็นเส้นตรง

-

4.2. ค่าความแม่นยำ

-

4.3. ค่าความถูกต้อง

-

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 6/24

4.4. ค่าความไม่แน่นอน

-

4.5. ข้อจำกัดของการทดสอบ

-

4.6. ระยะเวลาของการวัด

-

4.7. ค่าจริงของการวัด

-

4.8. ความไว

-

4.9. ความจำเพาะ

-

5. สิ่งส่งตรวจและรายละเอียดที่ต้องตรวจสอบ

เลือด น้ำไขสันหลังและน้ำจากส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ปัสสาวะ อุจจาระ เสมหะ หนอง แผล
ฝี ต่าง ๆ (QP-LAB-001)

6. ประเภทของภาชนะบรรจุและสารที่ใช้เก็บตัวอย่าง

6.1. เลือด ใส่ในขวด Hemo Culture

6.2. น้ำไขสันหลังและน้ำจากส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ใส่ในขวดปากกว้างมีฝาปิดที่สะอาดแห้งและ
ปราศจากเชื้อ ปิดฝาให้สนิท

6.3. ปัสสาวะ ใส่ในขวดปากกว้างมีฝาปิดที่สะอาดแห้ง และปราศจากเชื้อ ปิดฝาให้สนิท

6.4. อุจจาระ ใส่ขวดที่บรรจุอาหาร Cary-Blair Transport Medium

6.5. เสมหะ ล้างคอ ใส่ขวดที่บรรจุอาหาร Stuart Transport Medium

6.6. หนอง แผล ฝี ต่าง ๆ ใส่ขวดที่บรรจุอาหาร Stuart Transport Medium

ปฏิบัติตาม (QP-LAB-001)

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 7/24

7. เครื่องมือและน้ำยาที่ใช้

- 6.1 Tryptic soy broth
- 6.2 loop
- 6.3 Mueller Hinton Agar plate
- 6.4 เครื่อง Antimicrobial disk dispenser
- 6.5 ไม้พันสำลี
- 6.6 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี
- 6.7 แผ่นสารต้านจุลชีพ
- 6.8 McFarland No. 0.5

8. วิธีการสอบเทียบ

-

9. วิธีการตรวจวิเคราะห์

9.1 การตรวจวินิจฉัย

- การลง Biochemical ในการแยกเชื้อ

1. เชื้อกลุ่ม GRAM POSITIVE COCCI

Staphylococcus ลง Coagulase 1 % PR Manital , 1 % PR Glucose

β-streptococcus ลง Bacitracin , Pigment medium , Bile esculin และ

6.5%NaCl

α-streptococcus ลง Optochin , Bile esculin และ 6.5%NaCl

γ-streptococcus ลง Bile Esculin และ 6.5%NaCl

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 8/24

2. เชื้อกลุ่ม GRAM NEGATIVE ROD

Non-lactose ferment

ลง TSI, MIL, Citrate , Urea OF- Glucose
OF- Maltose, OF- Lactose และ 10%

Lactose

Lactose Ferment

ลง TSI, MIL, Citrate, Urea และ Malonate

ปฏิบัติตาม SD-BAC-001 บทที่ 4 การตรวจวินิจฉัยเชื้อกลุ่มต่างๆ หน้า 47-130

9.2 การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ

- ใช้วิธี Direct colony suspension โดยใช้ Loop และส่วนยอดของแต่ละโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะเหมือนกัน จำนวน 3-5 โคโลนีลงในหลอดที่บรรจุ Tryptic soy broth 2-5 มิลลิลิตร ปรับให้ได้ความขุ่นเท่ากับความขุ่นมาตรฐาน McFarland No.0.5
- ใช้ไม้ปั่นสำลีปราศจากเชื้อจุ่มลงใน broth บิดไม้ปั่นสำลีภายในข้างหลอดให้หมาดๆ ป้ายบนผิวหน้าของ Mueller Hinton Agar (เชื้อกลุ่ม Streptococcus ป้ายบน Sheep blood Mueller agar)
โดยลากเส้นผ่านกึ่งกลาง แล้วป้ายเป็นเส้นตั้งฉากผ่านเส้นที่ลากไว้ ถัดๆ ให้ทั่วผิวหน้าแล้วหมุนจานเพาะเลี้ยงเชื้อทำมุม 60 องศา ป้าย 3 ระบาย เพื่อให้เชื้อกระจายสม่ำเสมอ ทั่วผิวหน้าแล้วป้ายรอบจานเพาะเชื้อ ปล่อยให้เชื้อแห้งภายใน 3-5 นาที จึงวางแผ่นสารต้านจุลชีพบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเครื่อง Antimicrobial Disk Dispenser
- บ่มเพาะเชื้อที่ 35-37 องศาเซลเซียส (เชื้อกลุ่ม Streptococcus บ่มเพาะที่ 35-37 องศาเซลเซียสในบรรยากาศ 5 %CO₂) เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 9/24

9.3 การอ่านผล

นำผลที่อ่านได้จากการวัด Inhibition Zone ของเชื้อที่ทดสอบ แปลผลกับตารางมาตรฐานของ CLSI ว่าเป็นเชื้อไวต่อสารจุลชีพ ไวปานกลาง หรือคือต่อสารต้านจุลชีพ

Susceptible = S = แบคทีเรียที่ถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยสารต้านจุลชีพ ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าที่มีในเลือด เมื่อให้ยาด้วยขนาดปกติ

Intermediate Susceptible = I = แบคทีเรียที่ถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วยสารต้านจุลชีพ ซึ่งต้องใช้ปริมาณสูงกว่าปกติ โดยเพิ่มขนาดสารต้านจุลชีพได้โดยไม่เกิดอันตราย

Resistance = R = แบคทีเรียที่ไม่สามารถถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้ด้วยสารต้านจุลชีพ

10. วิธีการควบคุมคุณภาพ

10.1 การควบคุมคุณภาพ โดยใช้เชื้อมาตรฐาน เลือกใช้เชื้อมาตรฐานชนิดใดขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อแบคทีเรียและสารต้านจุลชีพที่ทดสอบ เพื่อให้การควบคุมคุณภาพมีประสิทธิภาพ และเป็นที่น่าเชื่อถือมากขึ้นควรเลือกเชื้อมาตรฐานมากกว่า 1 สายพันธุ์ เช่น *E.coli* ATCC 25922 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *E.coli* ATCC 35218 ทำการควบคุมคุณภาพกับเชื้อมาตรฐานทุกสัปดาห์

10.2 ควบคุมคุณภาพโดยองค์การภายนอก ร่วมกับสำนักงานห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีละ 3 ครั้ง

11. สิ่งรบกวนการทดสอบ

-

12. หลักการของวิธีการคำนวณผล รวมทั้งความไม่แน่นอนของการวัด

-

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 10/24

13. คำอ้างอิงในคนปกติ

-

14. ขอบเขตของค่าของผู้ป่วยที่รายงาน

-

15. ค่าวิกฤต

-

16. การรายงานและการแปลผลการทดสอบ

-

17. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย

ปฏิบัติตามหลักสากลในการปฏิบัติงานเกี่ยวกับ โรคติดเชื้อ

18. สิ่งที่ต้องเป็นสาเหตุของความแปรปรวน

19. เอกสารอ้างอิง (Reference)

- SD-BAC-001 (คู่มือการปฏิบัติงานแบคทีเรีย สำหรับ โรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป) บทที่ 4 การตรวจวินิจฉัยเชื้อกลุ่มต่างๆ หน้า 47-130
- Clinical Laboratory Standard Institute(CLSI) 2019

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 11/24

การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ

Organism	Agar	Inoculum method	Incubation	
			Length(Hrs.)/ Temp.(°C)	Atmosphere
Enterobacteriaceac	MHA	DCS/GM	16-18 / 35±2	Ambient air
<i>P. aeruginosa</i> and <i>Acinetobacter</i> species	MHA	DCS/GM	16-18 / 35±2	Ambient air
<i>Staphylococcus</i> species	MHA	DCS	20-24 / 35±2	Ambient air
<i>Streptococcus</i> species	BMHA	DCS	20-24 / 35±2	5% CO ₂
<i>Haemophilus</i> species	HTM	DCS	16-18 / 35±2	5% CO ₂
<i>N. gonorrhoeae</i>	GC	DSC	20-24 / 36±1	5% CO ₂

MHA : Mueller-Hinton agar

BMHA : Mueller-Hinton agar with 5% sheep blood

HTM : Haemophilus Test Medium

GC : GC agar base + 1% defined growth supplement

DCS : direct colony suspension

DCS/GM : direct colony suspension or growth method

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่เรียดต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 12/24

หลักเกณฑ์การลง SENS DISC

งานจุลชีวะวิทยาคลินิก กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลลำพูน

เชื้อ <i>α-Streptococcus</i> ลง	DA = Clindamycin E = Erythromycin LEV = Levofloxacin OX = Oxacillin SXT = Trimethoprim/Sulfamethoxazole ลง Optochin เพื่อ Identify <i>S.pneumoniae</i> {Inhibition Zone \geq 14 mm.}
เชื้อ Streptococcus spp. β-Hemolytic group ลง	DA = Clindamycin E = Erythromycin P = Penicillin ลง Bacitracin เพื่อ Identify Streptococcus group A {พบ Inhibition Zone}
เชื้อ Enterococcus spp. ลง	AM = Ampicillin P = Penicillin CIP = Ciprofloxacin(urine) CN = Gentamicin (high level) VA = Vancomycin
เชื้อ Staphylococcus spp. ลง	FOX = Cefoxitin DA = Clindamycin E = Erythromycin FOS = Fosfomycin SXT = Trimethoprim/Sulfamethoxazole VA = Vancomycin(MIC)
เชื้อ Gram Negative Rod ลง	AK = Amikacin AMC = Amoxicillin-clavulanic acid CTX = Cefotaxime or CRO = Ceftriaxone CAZ = Ceftazidime ETP = Ertapenem MEM = Meropenem CN = Gentamicin CIP = Ciprofloxacin TZP = Piperacillin/tazobactam F= Nitrofurantoin(urine) สำหรับเชื้อ <i>E.coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> และ <i>Proteus spp.</i> ลง Cefotaxime with clavulanic acid และ Ceftazidime with clavulanic acid เพื่อ Identify ESBL Enzyme
เชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ลง	AK = Amikacin CAZ = Ceftazidime CIP = Ciprofloxacin CN = Gentamicin IMP = Imipenem MEM = Meropenem TZP = Piperacillin/tazobactam
เชื้อ <i>Acinetobacter spp.</i> ลง	AK = Amikacin CAZ = Ceftazidime CIP = Ciprofloxacin IMP = Imipenem MEM = Meropenem TZP = Piperacillin/tazobactam

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 13/24

หลักเกณฑ์การลง SENS DISC

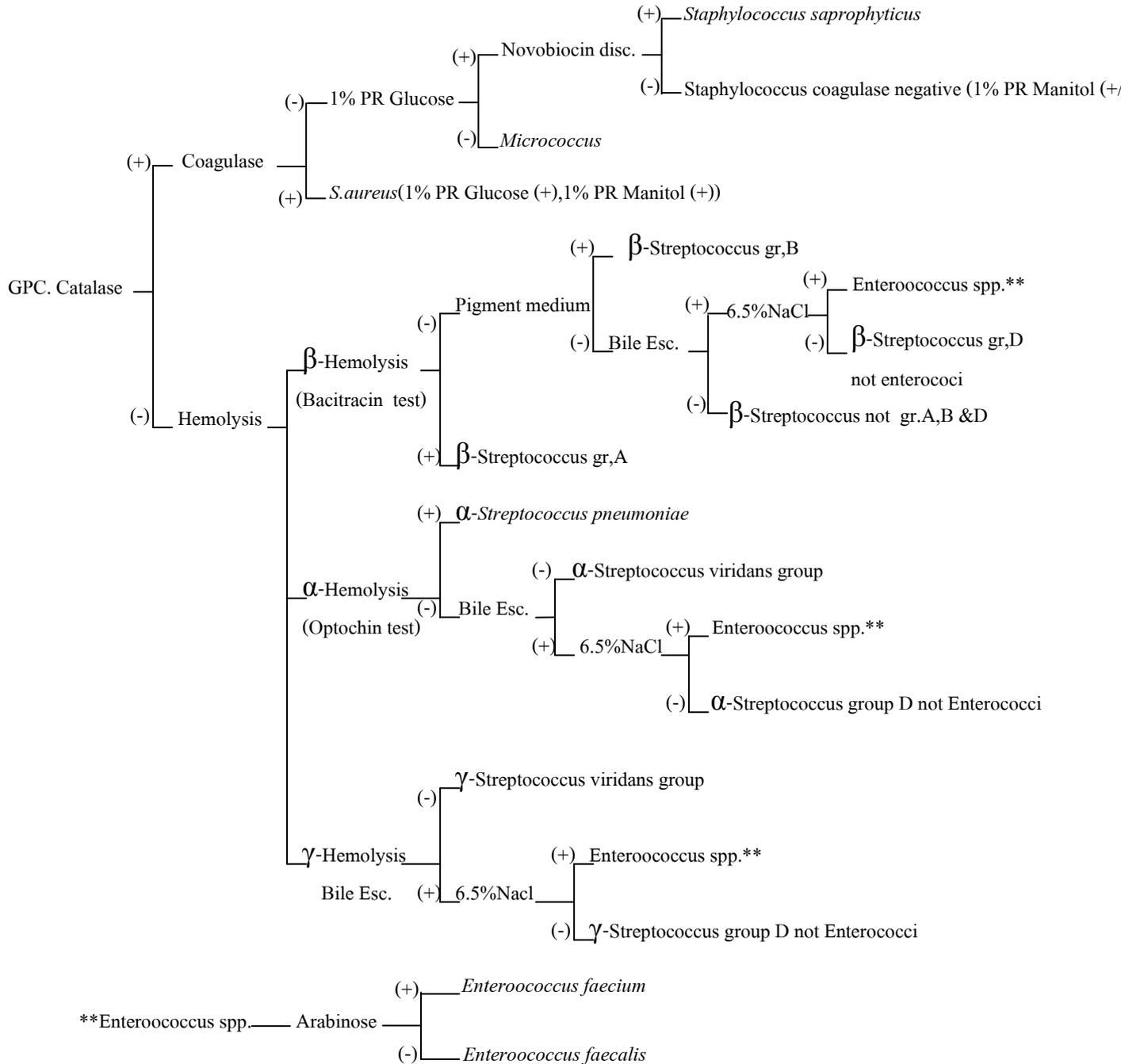
งานจุลชีวะวิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน

<i>Salmonella</i> spp. (Stool)	ลง	AM = Ampicillin	CIP = Ciprofloxacin	SXT = Trimethoprim/Sulfamethoxazole
<i>Shigella</i> spp. (Stool)	ลง	AM = Ampicillin	CIP = Ciprofloxacin	SXT = Trimethoprim/Sulfamethoxazole
เชื้อ <i>Vibrio</i> spp.	ลง	AM = Ampicillin	AMC = Amoxicillin-clavulanic acid	CTX = Cefotaxime CIP = Ciprofloxacin
เชื้อ <i>Vibrio cholerae</i>	ลง	AM = Ampicillin	SXT = Trimethoprim/Sulfamethoxazole	CN = Gentamicin
เชื้อ <i>Aeromonas</i> spp.	ลง	CRO = Ceftriaxone	CIP = Ciprofloxacin	SXT = Trimethoprim/Sulfamethoxazole
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	ลง	LEV = Levofloxacin	SXT = Trimethoprim/Sulfamethoxazole	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ลง	CRO = Ceftriaxone	CIP = Ciprofloxacin	
<i>Haemophilus influenzae</i>	ลง	AM = Ampicillin	AMC = Amoxicillin-clavulanic acid	CTX = Cefotaxime or CRO = Ceftriaxone
<i>Moraxella catarrhalis</i>	ลง	AMC = Amoxicillin-clavulanic acid	SXT = Trimethoprim/Sulfamethoxazole	CIP = Ciprofloxacin

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 14/24

Identification of Gram-positive Cocci

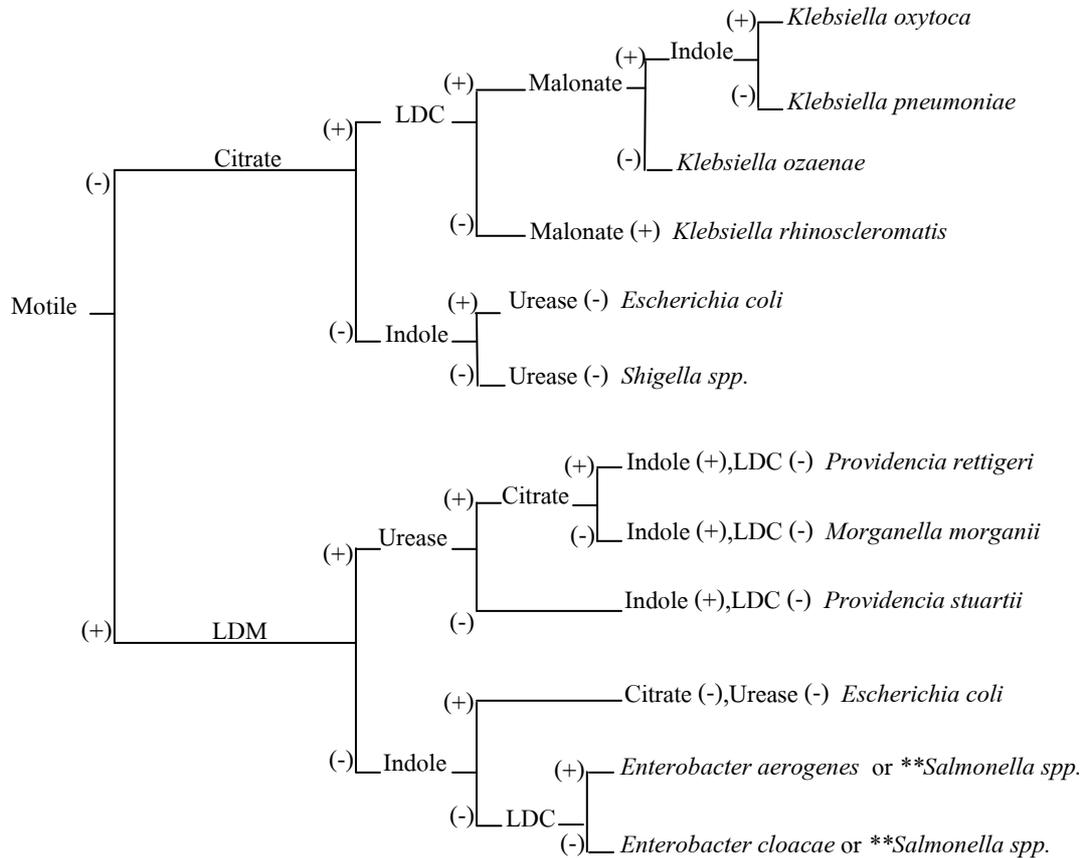


เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่เรียกต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 15/24

Identification of Fermentative Gram-negative Bacilli

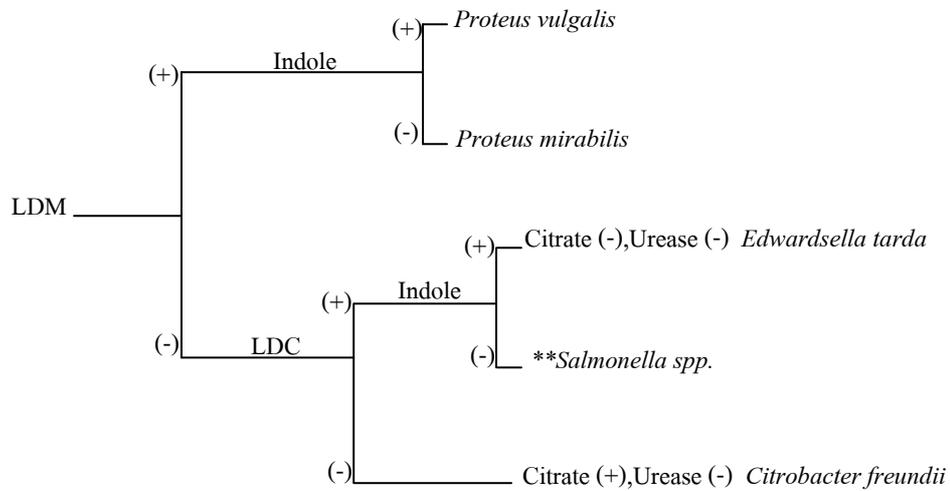
TSI : K/A,K/AG,A/A and A/AG



	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่เรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 16/24

Identification of Gram-negative Bacilli H₂S Production

TSI : A/A⁺, A/AG⁺, K/A⁺, K/AG⁺



	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่เรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 17/24

Identification of Non fermentative Gram-negative Bacilli

TSI: K/N,N/N and A/N

	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.fluorescens</i>	<i>P.putida</i>	<i>P.pseudomallei</i>	<i>P.mallei</i>	<i>P.cepacia</i>	<i>P.stutzeri</i>	<i>P.putrefaciens</i>	<i>P.alcaligenes</i>	<i>A.baumannii</i>	<i>A.lwoffii</i>
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Motility	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
OF Glucose	+	+	+	+	+/ (+)	+	+	+/ (+)	-	+/-	-/-
OF Maltose	-	-/+	-/+	+	(+)	+	+	-/+/(+)	-	-	-
10% Lactose	-/+	-/+	-/+	+	NT	+	-	-	-	+	-
Urease	+/-	-/+	+/-	-/+	-/+	-/+	-/+	-	-/+	+/-	-(+)
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	-	+/-	+(-)	-(+)
Growth at 42°C	+	-	-	+	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+(-)

+ 90%หรือมากกว่า ให้ผลบวกภายใน 2 วัน

+/(+) ส่วนใหญ่ให้ผลบวกภายใน 2 วันแต่มีบางสายพันธุ์อาจให้ผลบวกภายใน 3 วันหรือมากกว่า

- 90%หรือมากกว่า ให้ผลลบ

+/- ส่วนใหญ่ให้ผลบวก

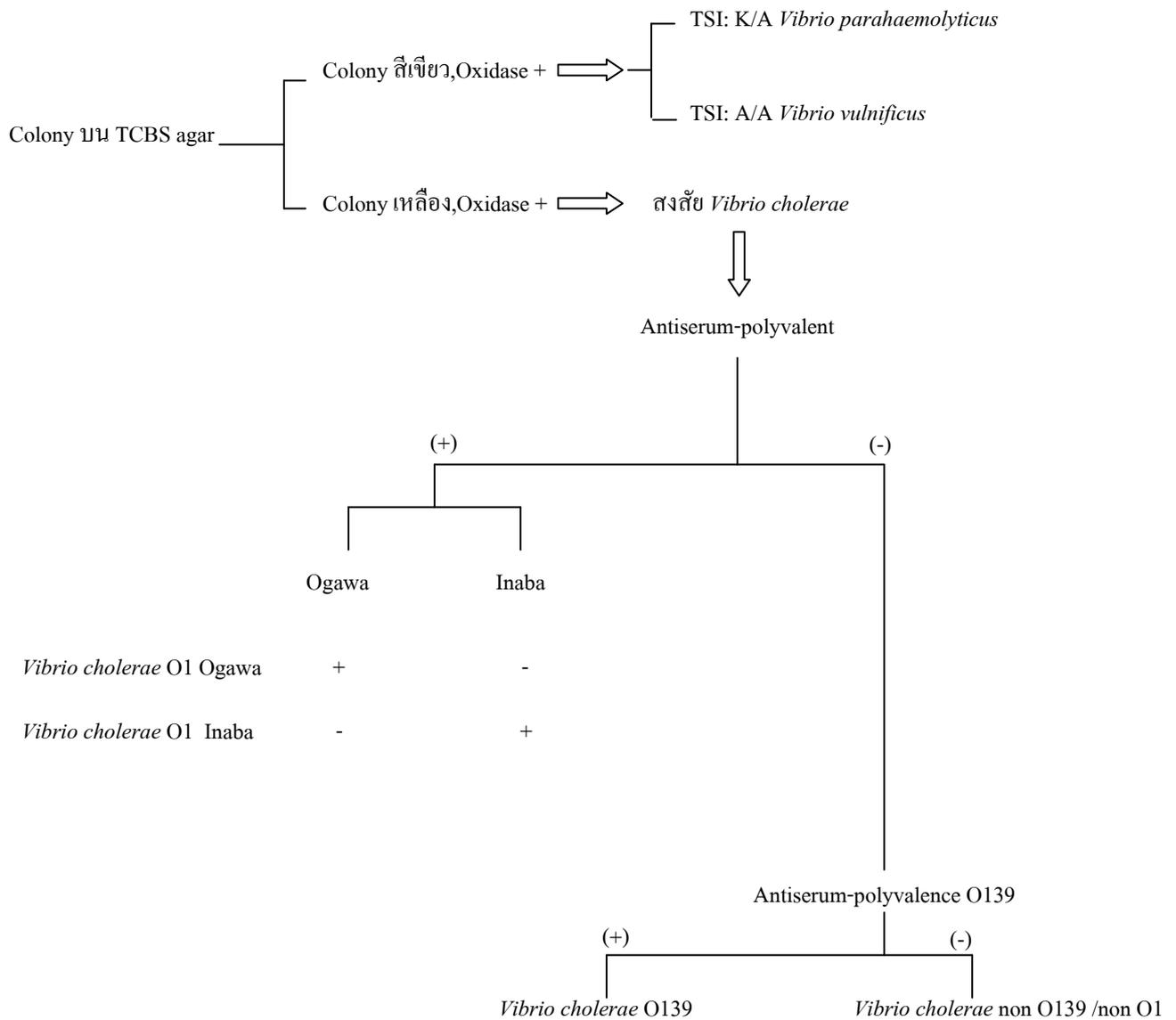
-/+ ส่วนใหญ่ให้ผลลบ

NT ไม่ได้ทำการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่เรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 18/24

Identification of *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio vulnificus*



เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่เรียกต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 19/24

ตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อ Bacteria ต่างๆ

งานจุลชีวะวิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

โรงพยาบาลลำพูน

Bacteria กลุ่มต่างๆ	Antimicrobial Agent	Disk content	Zone Diameter ,Nearest Whole mm.		
			Resistance(R)	Intermediate(I)	Susceptible(S)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Clindamycin	2 µg	≤ 15	16-18	≥ 19
	Erythromycin	15 µg	≤ 15	16-20	≥ 21
	Levofloxacin	5 µg	≤ 13	14-16	≥ 17
	Oxacillin	1 µg	-	-	≥ 20
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 15	16-18	≥ 19
<i>Streptococcus spp.</i> β-Hemolytic group	Clindamycin	2 µg	≤ 15	16-18	≥ 19
	Erythromycin	15 µg	≤ 15	16-20	≥ 21
	Penicillin	10 units	-	-	≥ 24
<i>Enterococcus spp.</i>	Ampicillin	10 µg	≤ 16	-	≥ 17
	Penicillin	10 units	≤ 14	-	≥ 15
	Ciprofloxacin(urine)	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21
	Gentamicin	120 µg	≤ 6	7-9	≥ 10
	Vancomycin	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 20/24

ตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อ Bacteria ต่างๆ
งานจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์
โรงพยาบาลลำพูน

Bacteria กลุ่มต่างๆ	Antimicrobial Agent	Disk content	Zone Diameter ,Nearest Whole mm.		
			Resistance(R)	Intermediate(I)	Susceptible(S)
กลุ่ม <i>Staphylococcus</i> spp.	Cefoxitin(<i>S.aureus</i> and <i>S.lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 21	-	≥ 22
	Cefoxitin(<i>S.coagulase-negative</i>)	30 µg	≤ 24	-	≥ 25
	Clindamycin(except urine)	2 µg	≤ 14	15-20	≥ 21
	*Fosfomycin	50 µg	≤ 13	14-19	≥ 20
	Erythromycin	15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16
	Vancomycin(MIC)		≥ 16	4-8	≤ 2

***Insert from manufacturer(Meiji)**

หมายเหตุ

การทดสอบหาการดื้อยา Clindamycin ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของยา Erythromycin สามารถทำได้โดยการวางดิสก์ยา Erythromycin ใกล้กับดิสก์ยา Clindamycin (ระยะห่างระหว่างขอบถึงขอบ 15-20 ม.ม. สำหรับการทดสอบเชื้อ Staphylococci และ 12 ม.ม.สำหรับ *Streptococcus* spp. β-Hemolytic group) เชื้อที่ให้ Inhibition zone ของ Clindamycin ด้านที่ติดกับ Erythromycin แบบแคบลง มองเห็นเป็นตัวอักษร D คือเชื้อที่เกิดจากการดื้อ Clindamycin แบบเหนี่ยวนำ(inducible Clindamycin resistance) ให้รายงานว่าเป็น Clindamycin ถึงแม้ว่าผลการทดสอบจะไวต่อดิสก์ยา Clindamycin ก็ตาม

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่เรียกต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 21/24

ตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อ Bacteria ต่างๆ
 งานจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์
 โรงพยาบาลลำพูน

Bacteria กลุ่มต่างๆ	Antimicrobial Agent	Disk content	Zone Diameter ,Nearest Whole mm.		
			Resistance(R)	Intermediate(I)	Susceptible(S)
กลุ่ม Enterobacteriaceae	Amikacin	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≤ 13	14-17	≥ 18
	Cefotaxime	30 µg	≤ 22	23-25	≥ 26
	Ceftazidime	30 µg	≤ 17	18-20	≥ 21
	Ceftriaxone	30 µg	≤ 19	20-22	≥ 23
	Ertapenem	10 µg	≤ 18	19-21	≥ 22
	Meropenem	10 µg	≤ 19	20-22	≥ 23
	Gentamicin	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 21	22-25	≥ 26
	Piperacillin/tazobactam	100/10 µg	≤ 17	18-20	≥ 21
	Nitrofurantoin(urine)	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17

สำหรับเชื้อ *E.coli* ,*Klebsiella* spp. และ *Proteus* spp. ละ Cefotaxime with clavulanic acid และ Ceftazidime with clavulanic acid เพื่อ Identify ESBL Enzyme

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 22/24

ตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อ Bacteria ต่างๆ
 งานจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์
 โรงพยาบาลลำพูน

Bacteria กลุ่มต่างๆ	Antimicrobial Agent	Disk content	Zone Diameter ,Nearest Whole mm.		
			Resistance(R)	Intermediate(I)	Susceptible(S)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Amikacin	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
	Ceftazidime	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18
	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 18	19-24	≥ 25
	Gentamicin	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
	Imipenem	10 µg	≤ 15	16-18	≥ 19
	Meropenem	10 µg	≤ 15	16-18	≥ 19
	Piperacillin/tazobactam	100/10 µg	≤ 14	15-20	≥ 21
<i>Acinetobacter spp.</i>	Amikacin	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
	Ceftazidime	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18
	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21
	Imipenem	10 µg	≤ 18	19-21	≥ 22
	Meropenem	10 µg	≤ 14	15-17	≥ 18
	Piperacillin/tazobactam	100/10 µg	≤ 17	18-20	≥ 21

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่เรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 23/24

ตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อ Bacteria ต่างๆ

งานจุลชีวะวิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

โรงพยาบาลลำพูน

Bacteria กลุ่มต่างๆ	Antimicrobial Agent	Disk content	Zone Diameter ,Nearest Whole mm.		
			Resistance(R)	Intermediate(I)	Susceptible(S)
<i>Salmonella spp.</i> (Stool)	Ampicillin	10 µg	≤ 13	14-16	≥ 17
	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 20	21-30	≥ 31
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16
<i>Shigella spp.</i> (Stool)	Ampicillin	10 µg	≤ 13	14-16	≥ 17
	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 21	22-25	≥ 26
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16
<i>Vibrio spp.</i>	Ampicillin	10 µg	≤ 13	14-16	≥ 17
	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≤ 13	14-17	≥ 18
	Cefotaxime	30 µg	≤ 22	23-25	≥ 26
	Gentamicin	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16
<i>Vibrio cholerae</i>	Ampicillin	10 µg	≤ 13	14-16	≥ 17
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16
<i>Aeromonas spp.</i>	Ceftriaxone	30 µg	≤ 19	20-22	≥ 23
	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-007
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 19	หน้า 24/24

ตารางการแปลผลการทดสอบความไวของ เชื้อ Bacteria ต่างๆ

งานจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

โรงพยาบาลลำพูน

Bacteria กลุ่มต่างๆ	Antimicrobial Agent	Disk content	Zone Diameter ,Nearest Whole mm.		
			Resistance(R)	Intermediate(I)	Susceptible(S)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Levofloxacin	5 µg	≤ 13	14-16	≥ 17
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Ceftriaxone	30 µg	-	-	≥ 35
	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 27	28-40	≥ 41
<i>Haemophilus influenza</i>	Ampicillin	10 µg	≤ 18	19-21	≥ 22
	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≤ 19	-	≥ 20
	Cefotaxime	30 µg	-	-	≥ 26
	Ceftriaxone	30 µg	-	-	≥ 26
	Ciprofloxacin	5 µg	-	-	≥ 21
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≤ 23	-	≥ 24
	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-12	≥ 13

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต