

การจัดการความรู้ (KM)		One-Point Lesson (บทเรียนหนึ่งประเด็น)			
ชื่อเรื่อง	การเพิ่มจำนวนและเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรีย <i>Streptococcus pneumoniae</i>	เลขที่เอกสาร		8/2566	
		วันที่รายงาน		31 มีนาคม 2566	
ประเภท	☐ ความรู้ทั่วไป ☒ ปัญหาและการแก้ไข ☐ การต่อยอดปรับปรุง	สาขาวิชาโรคติดเชื้อ อาคาร 1 ชั้น 8 โทร 022011774	หัวหน้าภาควิชา	หัวหน้าสาขาวิชา	ผู้จัดทำ*
			ศ.นพ.อนันต์นิตย์ วิสุทธิพันธ์	ผศ.นพ.ชนเมธ เดชะแสนศิริ	น.ส.ชมภูณัฐ กลิ่นมัลย์

ปัญหาและที่มา

Streptococcus pneumoniae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มีขนาดเล็ก มักพบอยู่เป็นคู่ (Diplococci) เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) ค่อนข้างเจริญเติบโตช้า ต้องการสารอาหารและสภาวะเพิ่มเติมในการเจริญ (Fastidious bacteria) ปัจจุบันมีมากกว่า 90 สายพันธุ์⁽¹⁾ เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคหุ้ชั้นกลางอักเสบ ปอดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และติดเชื้อในกระแสเลือดโดยเฉพาะในเด็ก ผู้ป่วยเรื้อรัง และผู้สูงอายุ⁽²⁾ มักพบปัญหาการเจริญช้าซึ่งส่งต่อการเตรียม culture สำหรับการเก็บรักษาในระยะยาวและพื่อนนำไปใช้หรือศึกษาในอนาคต การเก็บรักษาแบคทีเรี้นั้นมีหลายวิธี ซึ่งวิธีที่ง่าย ประหยัด แต่ยังคงประสิทธิภาพคือการแช่แข็งโดยการเติมสารป้องกันการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียจากการเกิดผลึกแช่แข็ง (Cryoprotectant) เพื่อคงสภาพจุลินทรีย์ที่มีชีวิต

วัตถุประสงค์

เพื่อเพิ่มอัตราการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus pneumoniae* และเก็บรักษาที่ยาวนานพื่อนนำไปศึกษา

ขั้นตอน

1. Subculture เพื่อกระตุ้นการเจริญของเชื้อ ด้วยวิธี cross streak เชื้อ *S. pneumoniae* ที่ผ่านการแยกให้บริสุทธิ์แล้วลงบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Human Blood agar บ่มจนเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะเห็นโคโลนีเดี่ยวปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 1)

2. นำ Loop ที่ปราศจากเชื้อและโคโลนีเดี่ยวของเชื้อด้วยวิธีปลอดเชื้อ (Sterile technique) ลงหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Tryptic soy broth และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มี CO₂ โดยไม่ต้องเขย่าหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 - 6 ชั่วโมง จนกระทั่งเห็นลักษณะขุ่นในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (รูปที่ 2)

3. ผสมกลีเซอรอลที่ปราศจากเชื้อกับแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวในอัตราส่วน 1 : 1

4. แบ่งลงหลอดพลาสติกที่ปราศจากเชื้อขนาดเล็กปริมาตร 200

ไมโครลิตรต่อ 1 หลอด

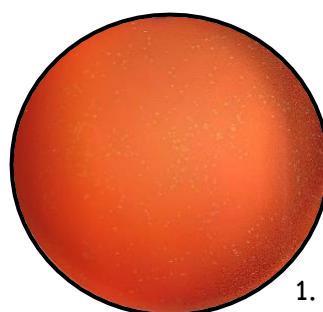
5. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส

ผลลัพธ์ที่เป็นประโยชน์

สามารถนำวิธีการเพิ่มจำนวนและการเก็บรักษาไปปรับใช้กับแบคทีเรียชนิดอื่นได้

หมายเหตุหรือข้อจำกัด

กรณีทีแบคทีเรียเป็นชนิดที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญอาจต้องเปลี่ยนวิธีจากการบ่มอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวในสภาวะที่มี CO₂ เป็นการบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



1.



2.

รูปที่ 1 ลักษณะโคโรนี *S. pneumoniae* บน Human blood agar

รูปที่ 2 ลักษณะการเจริญของ *S. pneumoniae* ใน Tryptic soy broth

ที่มา : ภาควิชาจุลมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี

ผลการนำไปใช้	วันที่												
	ผู้ถ่ายทอด												
	ผู้รับการถ่ายทอด												

เอกสารอ้างอิง

1. Engholm DH, Kilian M, Goodsell DS, Andersen ES, Kjaergaard RS. A visual review of the human pathogen *Streptococcus pneumoniae*. FEMS Microbiol Rev. 2017;41(6):854-79.
2. Mitchell AM, Mitchell TJ. *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors and variation. Clin Microbiol Infect. 2010;16(5):411-8.