

การตรวจพิสูจน์เชื้อคลินิคัลแกรมลบแบบซีลโล โดยวิธีรวดเร็ว*

สุชาติ ปันยัสสี** ประสิทธิ์ ธราวิชิตกุล*** และ เนตร สุวรรณภททาสัน**

บทคัดย่อ ได้ตรวจพิสูจน์เชื้อคลินิคัลแกรมลบแบบซีลโล 560 สายพันธุ์ โดยวิธีทดสอบทางชีวเคมี ซึ่งสามารถอ่านผลได้รวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมง โดยเฉพาะเชื้อลงบนอาหารที่เตรียมขึ้น 12 ชนิด อ่านผลเมื่อเพาะพักเชื้อในตู้บ่ม 37 °C ครบ 4 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าสามารถให้ผลการตรวจพิสูจน์เชื้อตรงกับวิธีมาตรฐานที่ชักันประจำ (Conventional method) ถึง 543 สายพันธุ์ หรือเท่ากับร้อยละ 96.96 มีเพียง 17 สายพันธุ์ หรือร้อยละ 3.04 ที่ให้ผลการตรวจพิสูจน์ไม่ตรงกัน ได้แก่ เชื้อ *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* เชื้อละ 4 สายพันธุ์, *Enterobacter sakazakii*, *Aeromonas hydrophilia* และ *Arizona hinshawaii* เชื้อละ 2 สายพันธุ์ และ *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* และ *Citrobacter diversus* เชื้อละ 1 สายพันธุ์ ตามลำดับ การทดสอบที่ให้ผลต่างกันคือ H₂S, Malonate, Bile esculin และ DNase อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาผลการตรวจพิสูจน์ในระดับ genus พบว่า ผลการตรวจถูกต้องตรงกับวิธีมาตรฐานร้อยละ 98.57 หรือเท่ากับ 552 สายพันธุ์ (คำรหัส : แบบซีลโล, แกรมลบ, ตรวจพิสูจน์) วารสารเทคนิคการแพทย์ ปีที่ 22 ฉบับที่ 2 เดือนพฤษภาคม 2532 หน้า 83-93

Abstract Rapid Identification of Clinical Gram Negative Bacilli. Punjaisri S, Tharavichitkul P and Suwankrughasn N.

Clinical gram-negative bacilli 560 isolates were identified by biochemical rapid method (4 hours). The organisms were inoculated on all the set of 12 media and the results were recorded after incubated for 4 hours. From rapid identification, the percent agreement with the conventional identification was 96.96 (543/560 isolates). There were 17 isolates or 3.04% misidentified. They were 4 isolates of each *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, 2 isolates of each *Enterobacter sakazakii*, *Aeromonas hydrophilia*, 2 isolates of each *Arizona hinshawaii* and 1 isolate of each *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* and *Citrobacter diversus* respectively. The tests that showed misidentifications were H₂S production, malonate, bile esculin and DNase. However, percent agreement raised to 98.57 (552/560 isolates) when the determination was performed on genus level only. (Key word : bacilli, gram negative, rapid identification) Bull Chiang Mai AMS 1989; 22: 83-93

- * ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปี 2532
- ** ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์
- *** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

งานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาด้วยทั่วไปในปัจจุบัน การตรวจพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อนั้น ยังคงนิยมใช้การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีของเชื้ออยู่ ซึ่งถ้าต้องการตรวจให้ได้ผลการพิสูจน์ที่แม่นยำ ก็จำเป็นต้องอาศัยปฏิกิริยาชีวเคมีหลายๆ อย่างมาประกอบ ดังนั้น ในบางกรณี การที่จะพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียบางชนิด จึงต้องใช้เวลาในการตรวจพิสูจน์ วิธีมาตรฐานที่ใช้กันอยู่ประจำ (Conventional method) จำเป็นต้องใช้เวลานานอย่างน้อยที่สุด 18-24 ชั่วโมง (1) ในการเพาะเลี้ยง และต้องเสียเวลาในการพิสูจน์เชื้อประมาณ 2-3 วัน จากการล่าช้าดังกล่าวนี้ ผู้ป่วยติดเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผู้ที่มีเชื้อ ในกระแสโลหิต (Bacteremia หรือ Septicemia) หรือติดเชื้อในน้ำไขสันหลัง (Meningitis) จะเป็นผู้ที่ได้รับผลกระทบมากที่สุด เนื่องจากผู้ป่วยดังกล่าวจะมีอาการที่รุนแรงและเฉียบพลัน โอกาสเสียชีวิตมีมาก หากได้รับการรักษาที่ทันท่วงทีไม่ทันการ อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วย septicemia มีถึงประมาณ 60-80% หากมีอาการช็อคร่วมด้วย (2) เชื้อแบคทีเรีย ที่เป็นสาเหตุสำคัญของอาการช็อคในผู้ป่วย ได้แก่ เชื้อแกรมลบแบซิลไล (Gram negative bacilli) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารพิษ (Toxin) ทำให้อวัยวะเสียชีวิตได้ ตัวอย่างเชื้อแกรมลบแบซิลไล ได้แก่ *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.* และ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นต้น (3) จากสถิติของการแยกเชื้อจากสิ่งส่งตรวจ ที่เป็นเลือด ของโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ ในปี พ.ศ. 2527 และ 2528 พบว่า เชื้อในกลุ่มแกรมลบแบซิลไลที่ตรวจพบได้มากที่สุดตามลำดับ ได้แก่ *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* (4) ซึ่งเชื้อในกลุ่มแกรมลบแบซิลไลเหล่านี้ เป็นเชื้อที่สามารถเจริญได้ดีและรวดเร็ว ดังนั้น

หากสามารถลดระยะเวลาในการทดสอบลง โดยให้แพทย์ได้รับผลการตรวจภายใน 4 ชั่วโมง เพื่อให้การรักษาพยาบาลผู้ป่วยได้ ถูกต้อง จำเพาะเจาะจง ทันการ จะทำให้อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยโรคติดเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Septicemia หรือ meningitis ลดลง ดังนั้น จึงเป็นที่ยอมรับ และเข้าใจ ถึงความสำคัญ และประโยชน์อันเด่นชัดของการตรวจพิสูจน์เชื้อที่รวดเร็วว่ามีประโยชน์ต่อแพทย์ในการใช้เป็นแนวทางในการตัดสินใจ ให้การรักษาผู้ป่วย อย่างถูกต้องทันเวลา ไม่ต้องรอผลการตรวจพิสูจน์เชื้อตามแบบที่ใช้กันประจำในปัจจุบัน นับว่ามีคุณค่าต่อชีวิตผู้ป่วยเป็นอย่างมาก จากการศึกษาค้นคว้างานเอกสารต่างๆ (5-14) พบว่าในต่างประเทศ ได้เห็นความสำคัญของการศึกษาในเรื่องนี้เป็นอย่างมาก และได้มีการพยายาม พัฒนาวิธีการตรวจพิสูจน์เชื้อ โดยเฉพาะแกรมลบแบซิลไลนี้ ให้มีประสิทธิภาพดี และทำได้สะดวกยิ่งขึ้น สามารถผลิตเพื่อจำหน่ายเป็นชุดน่ายาสำเร็จรูป (Kit) ในนามเครื่องหมายการค้าต่างๆ หลายชนิด ซึ่งชุดน่ายาสำเร็จรูปดังกล่าว มีราคาแพงเกินความสามารถของงบประมาณ ที่จะสั่งซื้อเข้ามาใช้ในงานประจำวันในในประเทศไทย ดังนั้น ผู้รายงานจึงมีความคิดที่จะศึกษาวิธีการตรวจพิสูจน์เชื้อแกรมลบแบซิลไลให้ได้ผลรวดเร็วโดยการเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีขึ้นเองและยังหวังว่าจะสามารถปรับปรุงการทดสอบ ให้เป็นรูปแบบของชุดน่ายาสำเร็จรูป เพื่อทดแทนการนำเข้า จากต่างประเทศด้วย

วัสดุและวิธีการ

Rapid method : เพาะเชื้อแกรมลบแบซิลไลที่ได้จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา งานปฏิบัติการกลาง โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ ให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์ (pure culture) จากนั้น กระจายเชื้อในน้ำกลั่นประมาณ 1-2 มล. ในหลอดทดลองขนาด 13 x 100 มม. ให้ได้ความขุ่นเทียบเท่ากับ Mc Farland เบอร์ 2 ซึ่งจะมี

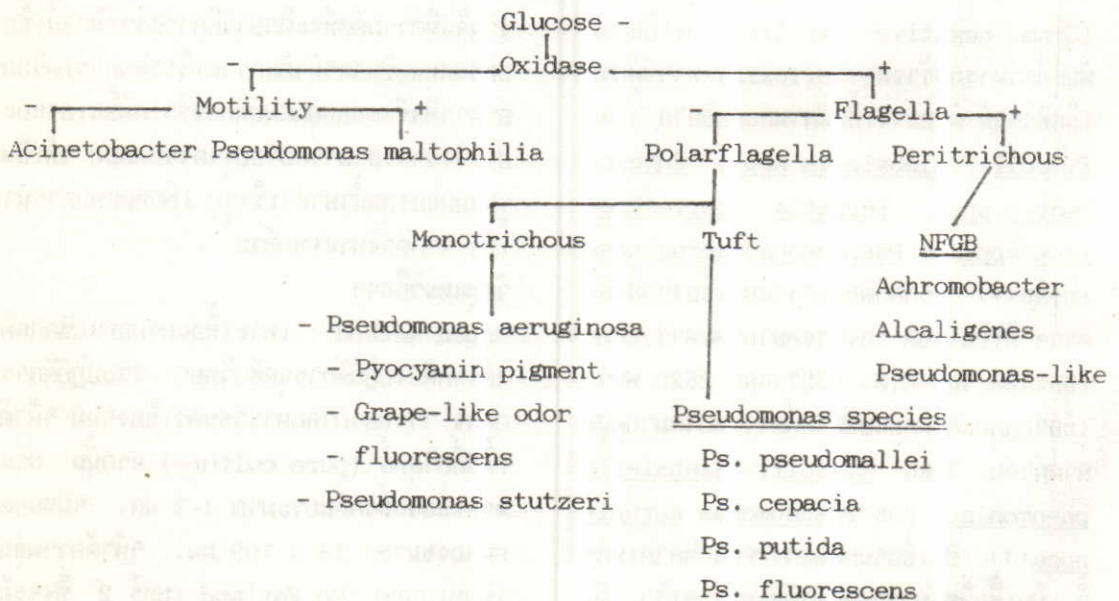
เชื้อหนาแน่นประมาณ 6×10^8 CFU/มล. จากนั้น หยดเชื้อลงทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีกับอาหารที่เตรียมขึ้นจากสตรอาหาร ที่สามารถอ่านผลการทดสอบได้รวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงได้ 12 ชนิด ชนิดที่เป็นอาหารเหลวมี 6 ชนิด เตรียมหลอดละ 0.5 มล. คือ Peptone broth (Indole), Lysine decarboxylase (LDC), Ornithine decarboxylase (ODC), O-nitrophenyl beta D.galactopyranoside (ONPG), Malonate, Glucose ชนิดที่เป็นของแข็ง เตรียมประมาณหลอดละ 3 มล. มี 5 ชนิด คือ Bile esculin (BE), Sulfide-indole-motile (SIM), Urea, 6.5% NaCl, Phenylalanine deaminase และชนิดที่เป็นอาหารแข็ง ใส่จานเลี้ยงเชื้อ (petri dish) คือ Dnase

เชื้อแต่ละชนิด จะทดสอบกับอาหารทั้ง 12 ชนิดนี้พร้อมกัน สำหรับอาหาร glucose, LDC, ODC นั้นเมื่อ inoculate เชื้อลงไปแล้วต้องทำให้อยู่ในภาวะไร้อากาศ (Anerobe) โดยคลุม

ผิวหน้าอาหารด้วยพาราฟิน หรือ mineral oil เพื่อป้องกันการเกิดผลบวกปลอมที่เกิดจากปฏิกิริยา oxidation⁽¹⁵⁾ ในการทดสอบ DNase นั้นจะทำการ inoculate โดยตรงจากโคลิ้นของเชื้อ สำหรับอาหาร SIM นั้นใช้ pasteur pipette ดูดเชื้อแล้วแทงลง (Stab) ไปในอาหารให้ลึกประมาณ 0.5 ซม. แล้วค่อยๆ บดยเชื้อลงไป ในบางครั้ง การดผล motile อาจไม่ชัดเจน จึงต้องทำการดสด (wet mount) เพื่อยืนยันด้วย ในบางกรณีอาจต้องเพิ่มการทดสอบ oxidase หรือ catalase หรือในกลุ่มเชื้อ nonfermentative gram negative bacilli อาจต้องใช้การย้อม flagella ช่วยในการพิสูจน์เชื้อด้วย เพาะเชื้อไว้ที่ 37° ซ นาน 4 ชั่วโมง นำมาอ่านผล พิสูจน์ชนิดของเชื้อโดยตรวจสอบ ผลของปฏิกิริยา ทางชีวเคมีแต่ละชนิด เทียบกับแผนผังแบบที่สร้างขึ้น (Key 1 - 6) เปรียบเทียบผลการพิสูจน์เชื้อโดยวิธีรวดเร็วนี้กับวิธีที่ใช้ประจำว่าถูกต้องตรงกันหรือไม่

แผนผังการตรวจพิสูจน์เชื้อแกรมลบแบบซีลโลโดยวิธีรวดเร็ว

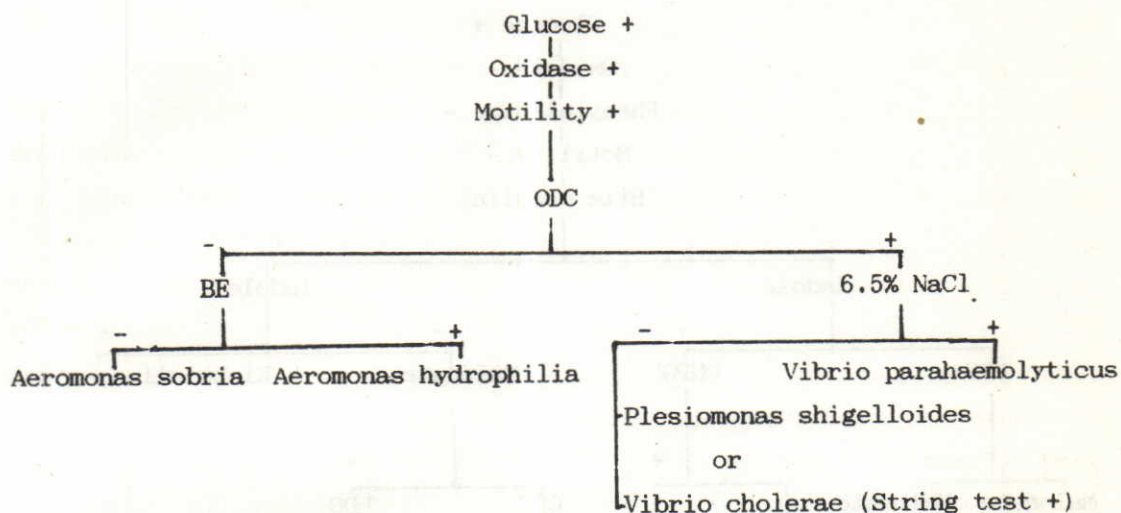
(Key 1)



- = negative ; + = positive ; NFGB = nonfermentative gram-negative bacilli

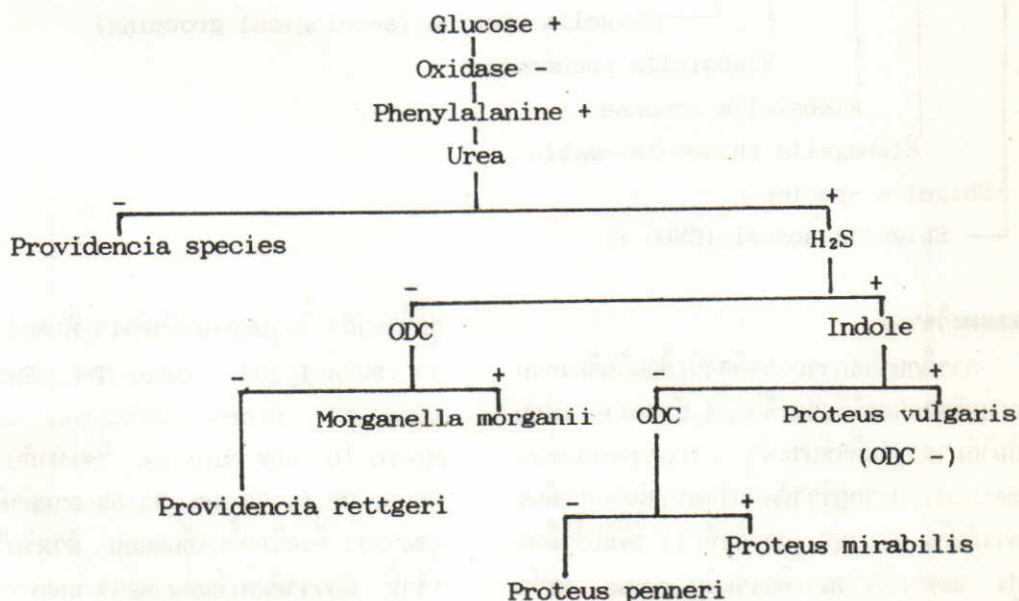
แผนผังการตรวจพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบโดยวิธีรวดเร็ว

(Key 2)

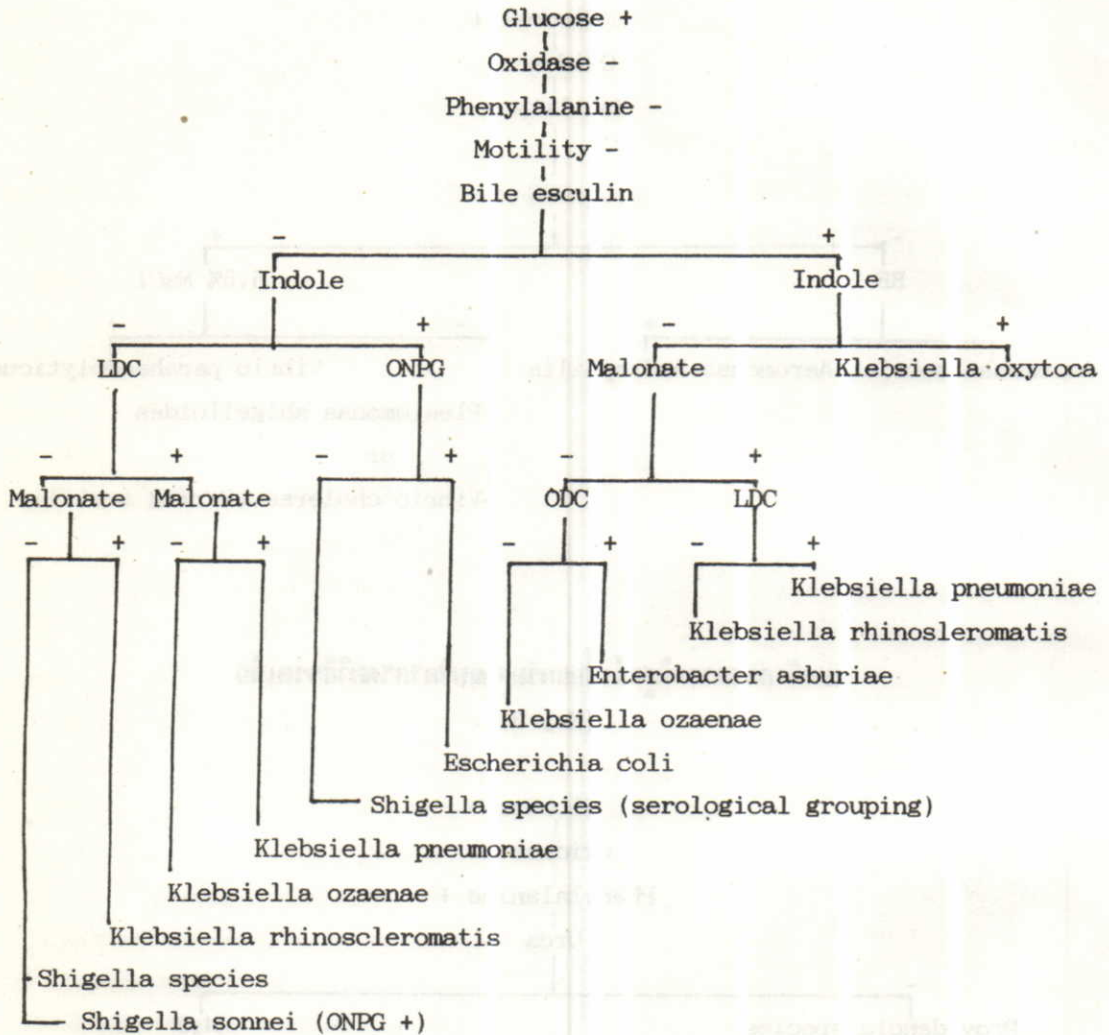


แผนผังการตรวจพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบโดยวิธีรวดเร็ว

(Key 3)



แผนผังการตรวจพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิดไลโดด้วยวิธีรวดเร็ว
(Key 4)

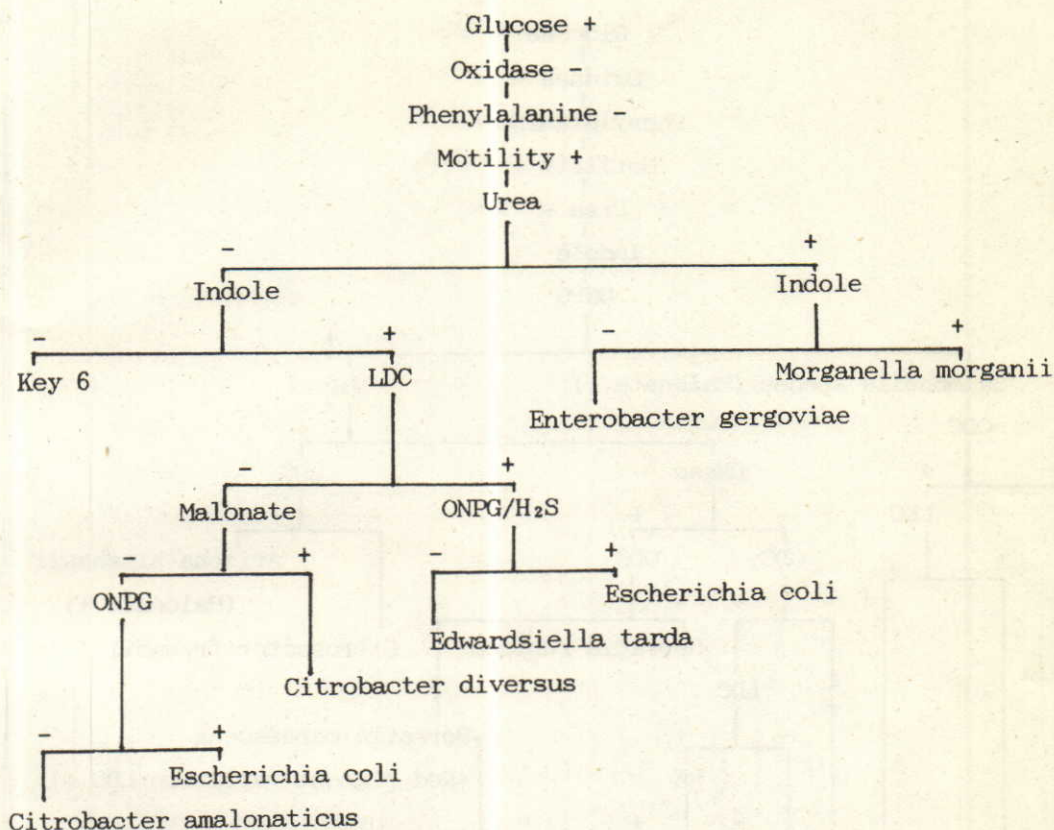


ผลและวิจารณ์

การศึกษาวีธีการตรวจพิสูจน์เชื้อคลินิคัลแกรมลบแบคทีเรียด้วยวิธีรวดเร็ว (4 ชั่วโมง) เทียบกับวิธีมาตรฐานที่ใช้ประจำ (Conventional method) ปรากฏว่าได้ผลการตรวจพิสูจน์ถูกต้องตรงกันถึง 96.96% (ตารางที่ 1) ซึ่งนับว่ามีค่าสูง แต่หากพิจารณาเพียงระดับ genus พบว่าเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องจะเพิ่มขึ้นเป็น 98.57% และเมื่อเทียบกับค่าเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องของ

ชุดน้ำยาสำเร็จรูปของบริษัทต่างๆ ที่เคยรายงานไว้ เช่น API 20E, Enter Tek, Enterotube II, Micro dilution system Micro ID) และ Minitek ซึ่งเท่ากับ 92, 96.3, 96.5, 97 และ 93.8% ตามลำดับ⁽¹⁴⁾ ชุดอาหาร ที่เตรียมขึ้นใช้ทดสอบ สำหรับวิธีรวดเร็วนี้ นับว่าให้ผลเป็นที่น่าพอใจ และควรนำไปพัฒนาให้มีความเหมาะสม และสะดวกต่อการใช้ต่อไป

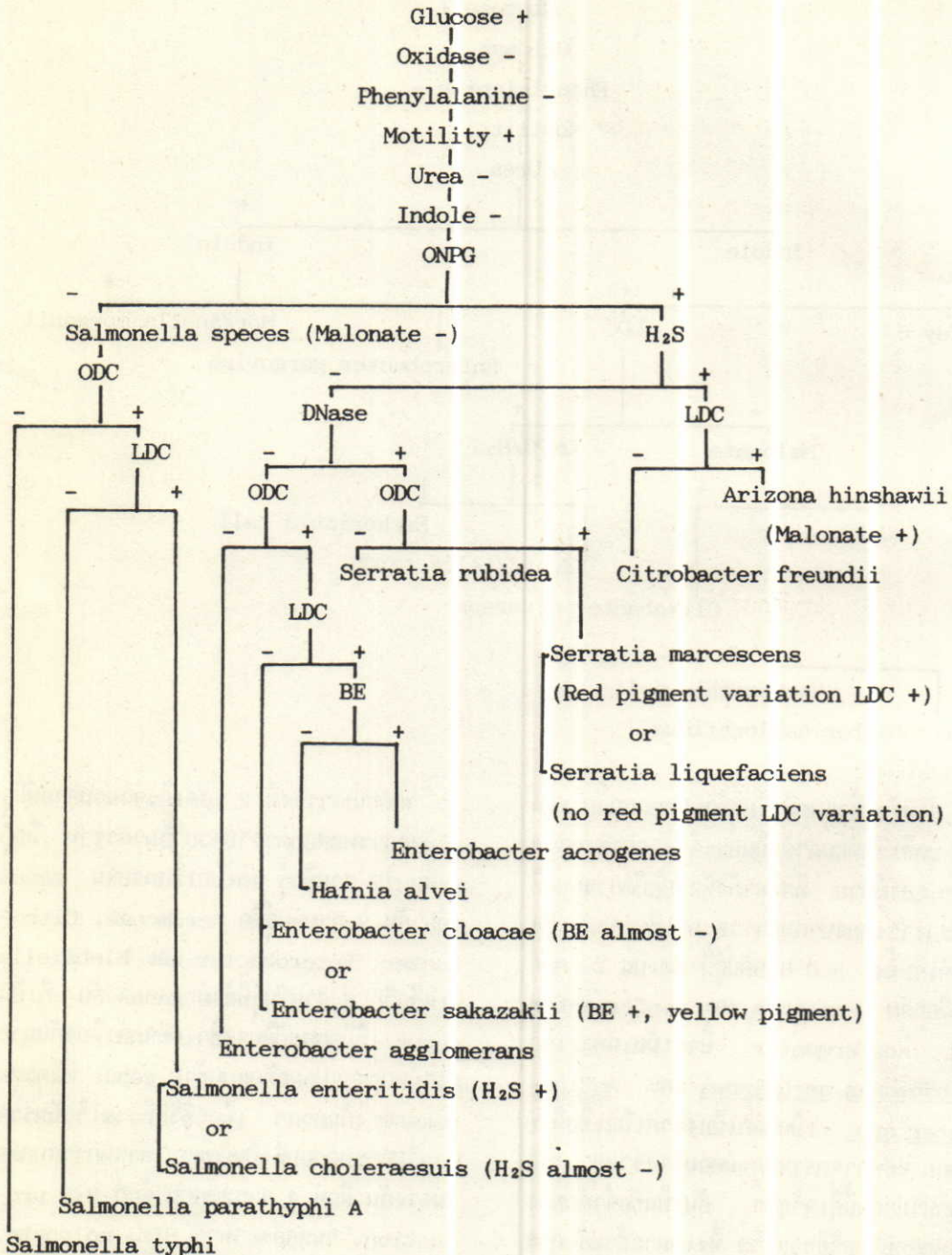
แผนผังการตรวจพิสูจน์เชื้อแกรมลบแบคทีเรียโดยวิธีรวดเร็ว
(Key 5)



สำหรับเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบนั้น เป็นเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้เป็นประจำจากสิ่งส่งตรวจต่างๆ ของผู้ป่วย ที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการแบคทีเรียของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 560 สายพันธุ์นั้น จัดเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือกลุ่ม fermenter และ nonfermenter กลุ่ม nonfermenter นี้จะเน้นเฉพาะเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Actinobacter spp.* เป็นหลักเนื่องจากเป็นเชื้อที่พบได้บ่อย และการตรวจพิสูจน์ค่อนข้างง่ายกว่าเชื้อชนิดอื่นในกลุ่มนี้ที่เจริญช้า อันเป็นข้อจำกัดของการทดสอบโดยวิธีรวดเร็ว ซึ่งเหมาะสำหรับการตรวจพิสูจน์เชื้อในกลุ่ม fermenter ที่เจริญรวดเร็วกว่า

ผลจากตารางที่ 2 แสดงถึงจำนวนสายพันธุ์ที่ทำให้ผลการทดสอบต่างไปจากวิธีมาตรฐาน มีอยู่ทั้งสิ้น 17 สายพันธุ์ แต่เป็นเชื้อภายใน genus เดียวกัน 9 สายพันธุ์คือ *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter* และ *Klebsiella* ที่เหลืออีก 8 สายพันธุ์ที่ข้าม genus กัน ก็เป็น genus ที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีใกล้เคียงกันมาก ยังไม่พบการแปลผลผิดแบบข้าม genus ที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันมากๆ เมื่อใช้วิธีตรวจเร็วในการทดสอบที่เป็นปัญหา ทำให้การแปลผลไม่ตรงกัน มีอยู่ 4 การทดสอบได้แก่ H₂S production, อินทูลอดอาหาร SIM, malonate, bile esculin และ DNase ซึ่งให้ผลลบ หรือแท้ที่จริงจะเป็นแบบ delayed positive ทั้ง

แผนผังการตรวจพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียชนิดลบโดยวิธีรวดเร็ว
(Key 6)



ตารางที่ 1 Comparison of results from rapid and conventional methods

No.	Organism	No.correct/No.tested	%Agreement
1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	5/7	71.43
2	<i>Aeromonas sobria</i>	2/2	100.00
3	<i>Arizona hinshawii</i>	4/6	66.67
4	<i>Citrobacter freundii</i>	13/13	100.00
5	<i>Citrobacter diversus</i>	11/12	91.67
6	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	3/3	100.00
7	<i>Edwardsiella tarda</i>	4/4	100.00
8	<i>Enterobacter aerogenes</i>	5/5	100.00
9	<i>Enterbacter cloacae</i>	28/28	100.00
10.	<i>Enterbacter sakazakii</i>	1/3	33.33
11.	<i>Excherichia coli</i>	134/134	100.00
12.	<i>Klebsiella oxytoca</i>	3/3	100.00
13.	<i>Klebsiella ozaenae</i>	5/5	100.00
14.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	60/64	93.75
15.	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	5/5	100.00
16.	<i>Morganella morganii</i>	12/12	100.00
17.	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5/5	100.00
18.	<i>Proteus mirabilis</i>	43/44	97.73
19.	<i>Proteus penneri</i>	3/3	100.00
20.	<i>Proteus vulgaris</i>	5/6	83.33
21.	<i>Providencia rettgeri</i>	13/13	100.00
22.	<i>Providencia</i> (urease negative)	8/8	100.00
23.	<i>Salmonella choleraesuis</i>	5/5	100.00
24.	<i>Salmonella enteritidis</i>	20/20	100.00
25.	<i>Salmonella paratyphi A</i>	3/3	100.00
26.	<i>Salmonella typhi</i>	4/4	100.00
27.	<i>Serratia marcescens</i>	12/16	75.00
28.	<i>Serratia rubidea</i>	1/1	100.00
29.	<i>Shigella</i> (sero gr. A,B,C)	19/19	100.00
30.	<i>Shigella sonnei</i>	6/6	100.00
31.	<i>Vibrio cholerae</i>	2/2	100.00
32.	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2/2	100.00
33.	<i>Acinetobacter species</i>	24/24	100.00
34.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	65/65	100.00
35.	<i>Pseudomonas species</i>	8/8	100.00
TOTAL		543/560	96.96

ตารางที่ 2 Misidentification by rapid method compared with conventional method

Organisms identified by		Test for misidentification	No. of misidentification
Conventional method	Rapid method		
A. hydrophila	A. sobria	BE -	2
A. hinshawii	H. alvei	H ₂ S -	2
C. diversus	C. amalonaticus	Malonate -	1
E. sakazakii	E. cloacae	BE -	2
K. pneumoniae	K. ozanae	Malonate -	4
P. mirabilis	M. morganii	H ₂ S -	1
P. vulgaris	Prov. rettgeri	H ₂ S -	1
S. marcescens	E. aerogenes	DNase -	2
S. marcescens	E. sakazakii	DNase -	1
S. marcescens	H. alvei	DNase -	1
TOTAL			17

สิ้น ดังนั้น ข้อที่ควรคำนึงถึงสำหรับการทดสอบโดยวิธีรวดเร็วประการหนึ่ง คือปริมาณของเชื้อที่ใช้ทดสอบ ควรเข้มข้นมากพอที่จะให้ผลภายในเวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งค่าความเข้มข้นของเชื้อที่เหมาะสม คือเท่ากับความขุ่นของ Mc Farland เบอร์ 1-2 ($3-6 \times 10^8$ CFU/มล.)

โดยทางปฏิบัติ สำหรับการตรวจพิสูจน์เชื้อแบคทีเรีย เราสามารถตรวจโดยอาศัยคุณสมบัติหลายประการของเชื้อ มาช่วยประกอบการพิจารณา เช่น ลักษณะสีของโคโลนี พบว่า *Serratia* ปกติจะมีสีแดง แต่ก็อาจพบบางสายพันธุ์ที่ไม่มีสีแดงก็ได้ หรือกลิ่นของ *Pseudomonas aeruginosa* จะเหม็นเหมือนกลิ่นอู่น้ำ และ มีโคโลนีสีเขียว หรือ *Proteus* จะมีกลิ่นเหม็นเหมือนสารฟอกขาว เป็นต้น แต่ที่มักเป็นปัญหา ก็คือ เชื้อแบคทีเรียอาจมีคุณสมบัติทางชีวเคมีที่แปรเปลี่ยนได้ ดังนั้น แผนผัง (Key) ที่ใช้ประกอบการตรวจพิสูจน์เชื้อจึงมีความสำคัญมาก และต้อง

มีความยืดหยุ่น และครอบคลุมคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อได้เป็นอย่างดี ประการสุดท้าย ที่มีผลต่อการตรวจพิสูจน์เชื้อแบคทีเรีย คือ ความชำนาญและประสบการณ์ด้านนี้ของผู้ปฏิบัติงานนั่นเอง ซึ่งถ้ามีความชำนาญมาก ก็จะสามารถตรวจรวดเร็ว และถูกต้องแม่นยำสูง ประสิทธิภาพของวิธีการตรวจแบบรวดเร็วนี้ก็จะสูงขึ้นเช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

1. Wasilauskas B and Ellner P. Presumptive identification of bacteria from blood cultures in four hours. J Infect Dis 1971; 124: 499-504.
2. Finegold S, White M, Ziment I and Winn. Rapid diagnosis of bacteremia. Appl Microbiol 1969; 18: 458-463.
3. Finegold S and Martin W.

- Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 6th ed, 1982. St Louis, Toronto, London. The CV Mosby. pp. 40-64.
4. วิล เบทราว และ ประสิทธิ์ ธีราวัชรกุล : Percentage of susceptible organisms from blood specimens. บันทึกของห้องปฏิบัติการกลาง โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่
5. Altwegg M. Performance of two classification of bacteria from four-hour identification systems with atypical strains of Enterobacteriaceae. Eur J Clin Microbiol 1983; 2: 529-533.
6. Blazevic C, Schreckenberger P and Matsen J. Evaluation of the Patho Tec "Rapid I-D system". Appl Microbiol 1973; 26: 886-889.
7. Costigan W and Hollick G. Use of the autobac IDX system for rapid identification of Enterobacteriaceae and nonfermentive gram-negative bacilli. J Clin Microbiol 1984; 19: 301-302.
8. Edberg S, Novak M, Slater H and Singer J. Direct inoculation procedure for the rapid identification of Enterobacteriaceae from blood cultures. Am J Clin Pathol 1981; 75: 88-91.
9. Morello J and York M. Rapid identification procedures for blood culture isolates. In: Tilton R(Ed), Rapid methods and automation in microbiology. Washington DC ; The American Society for Microbiology 1981. pp 348-352.
10. Mounier M, et al. Four-hour direct identification of Enterobacteriaceae in blood cultures. (letter) Eur J Clin Microbiol 1983; 2: 593-595.
11. Nissen B. Microtests for rapid identification of Enterobacteriaceae. Acta Path Microbiol Immunol Scand Sect B 1984; 92: 239-245.
12. Rosner R. Evaluation of the Patho Tec "Rapid I-D System" and two additional experimental reagent - impregnated paper strips. Appl Microbiol 1973; 26: 890-893.
13. Smith E, Pritchard J and McCarthy L. Four-hour presumptive identification of Enterobacteriaceae from blood cultures. Am J Clin Pathol 1981; 75: 88,91.
14. มวลัย วรจักร : ชุดนํ้ายาสำเร็จรูปที่ใช้ในการวินิจฉัยแบคทีเรียและรา. J Med Tech Ass Thailand. 1986; 14: 13-17.
15. Mc Faddin J. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 2nd. London : Williams & Wilkins, 1980.
16. Lachica F, Genigeorgis C and Hoeprich P. Metachromatic agar diffusion methods for detecting Staphylococcal nuclease activity. Appl Microbiol 1971; 21: 585-587.

17. Schreier J. Modification of deoxyribonuclease test medium for rapid identification of *Serratia marcescens*. Am J Clin Pathol 1969; 51: 711-716.
18. Wasilauskas B. Preliminary observation on the rapid differentiation of the *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group on

bile-esculin agar. Appl Microbiol 1971; 21: 162-163.

Netr Suwankruhasn, B.Sc.

Dept. of Clinical Microbiology

Faculty of Associated Medical Sciences

Chiang Mai University

Chiang Mai 50002

THAILAND