



THE INCIDENCE OF ANAEROBIC ORGANISMS IN STOOL

เสรี รุ่งเรือง *

กัมพล พันธ์อำพล พ.บ. **

ตามปกติในลำไส้ของคน มี Organisms อยู่หลายอย่าง เช่น Escherichia, Klebsiella, Aerobacter, Proteus, Clostridium, Aerobic และ Anaerobic streptococci รวมทั้งพวก Enterococci, Pseudomonas sp. Staphylococci, Bacteroides, Anaerobic diptheroids และ Yeast^{1,2} เป็นต้น

พวก Anaerobic bacteria อาจจะแบ่งออกได้เป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ

1. Non-sporulating species ได้แก่ Anaerobic streptococci, Bacteroides และ Anaerobic diptheroides

2. Sporulating Anaerobic Species ได้แก่พวก Clostridium Sp. ซึ่งมีอยู่ทั้งหมด 93 Species (Bergey's Manual)³ พวก Clostridium Sp. นี้ จะพบอยู่ทั่วไป ในธรรมชาติ ตามพื้นดิน, ฝุ่น, น้ำ และในลำไส้ของคนและสัตว์ ซึ่งพวกนี้มีความสำคัญมาก

โดยเฉพาะในทางการแพทย์ เพราะบาง Species สามารถทำให้เกิดโรคในคน และมีความรุนแรงถึงชีวิตได้ เช่น Clostridium tetani ทำให้เกิด tetanus เป็นต้น พวกนี้เป็นพวกที่ติดสี แกรมบวก มีลักษณะเป็นแท่ง ครง หรือ โค้งเล็กน้อย ปลายมนๆ ขนาดทั่วๆ ไปประมาณ $0.6-1 \times 3-8$ ไมครอน อยู่เดี่ยว เป็นคู่ หรืออาจจะอยู่เป็นลูกโซ่สั้นๆ ก็ได้ Clostridium ทุก Species สามารถสร้าง Spores ได้ เป็นพวก endospores และบาง Species สามารถสร้าง Capsules ได้ ทุก Species สามารถเคลื่อนไหวได้ด้วย peritrichate flagella ยกเว้น Clostridium perfringens.

Clostridium ไม่เจริญในที่ๆ มีออกซิเจน และในความกดดันต่างๆ กันดัง เช่น Clostridium tetani จะไม่เจริญเป็น Colony ถ้ามีความดันเกินกว่า 4.5 มม.ปรอท แต่ Clostridium perfringens จะเจริญเป็น Colony ได้

* นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ปีที่ ๔

** หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ในความกดดันถึง 90 มม.ปรอท⁴ พวกนี้จะเจริญได้ในอาหารแทบทุกอย่างในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนบนอาหารแข็ง จะเจริญได้ช้ากว่าในอาหารเหลว

Clostridium ส่วนมากเป็นพวก saprophytic แต่บาง Sp. ก็สามารถทำให้เกิดโรคกับคนและสัตว์ได้ ตัวที่สำคัญที่ทำให้เกิดโรคกับคนและสัตว์ ที่อาจจะพบได้ในอุจจาระของคนคือ

Clostridium tetani เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคบาดทะยัก (Tetanus) ในคนและสัตว์ได้ ผู้พบและอธิบายไว้ครั้งแรกคือ Nicolaier ในปี ค.ศ. 1884 พบจากหนูขาว (mice) ซึ่ง inoculate ด้วยดินในสวน แต่ก๊เลี้ยงแยกเชื้อไว้ไม่ได้ จนกระทั่ง ปี ค.ศ. 1889 Kitasato พบวิธีการเลี้ยงโดยใช้วิธี Anaerobe แยกเป็น pure culture ได้^{5,6} ลักษณะของเชื้อเป็นแท่ง ตรง ปลายมนๆ ขนาดประมาณ $0.4-0.5 \times 2-5$ ไมครอน มี peritrichate flagella สามารถเคลื่อนไหวได้ สร้าง Spores อยู่ที่ส่วนปลายของเซลล์ (Terminal) รูปไข่ ทำให้ลักษณะเหมือนกับไม้ตีกลอง (drum-strick) หรือไม้ตีเทนนิส ไม่มี Capsule ติดสีแกรมบวก ใน Culture ใหม่ ๆ ถ้า Culture เก่าๆ อาจจะติดสีแกรมลบได้ เป็น Obligatory anaerobe อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 37° เซนติเกรด

เจริญได้ในอาหารทั่วไป เจริญได้ดีใน Cook meat medium หรือใน Fildes' peptic blood broth⁷ Colonies บน Blood agar จะแผ่กระจายออกไป โปร่งแสง มีบริเวณของ beta-hemolysis แคบๆ รอบๆ Colony บน Egg yolk media , ทำให้เกิดการขุ่นขาวได้ช้ามาก กับ gelatin จะทำให้ gelatin เหลวอย่างช้าๆ ไม่ ferment น้ำตาลเลย ให้ปฏิกิริยาผลบวกกับ Indole และให้ผลลบกับ Methyl Red, Voges-Proskauer, spores ของ *Clostridium tetani* มีความต้านทานต่อความร้อนได้สูง บาง Strains ถูกฆ่าเมื่อต้มกับน้ำเดือด 5-15 นาที บาง Strains ก็ทนได้ถึง 3 ชั่วโมง ในความร้อนแห้ง 150° เซนติเกรด ทนได้ถึง 1 ชั่วโมง⁷ *Clostridium tetani* สามารถสร้าง toxin เป็นพวก exotoxin คือ Tetanolysin หรือ Hemotoxin ซึ่งเป็น Oxygen labile สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ และ Tetanospasmin หรือ Neurotoxin ซึ่งจะทำอันตรายต่อประสาท และทำให้เกิดบาดทะยักขึ้นกับคนและสัตว์ เช่น ม้า แกะ วัว ควาย หนู กับสัตว์กินเนื้อเป็นได้บ้าง แต่จะไม่เป็นกับพวกนก⁸ ทั้งนี้จะติดต่อได้ทางบาดแผลโดยได้รับเชื้อจากดิน Spores ของ *Clostridium tetani* จะอยู่ตามพื้นดินทั่วไป ตามฝุ่น, น้ำ, อุจจาระ

Clostridium botulinum เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning หรือ botulism) ในคนและสัตว์ เช่น สุนัข กระบือ วัว ควาย และม้า เป็นต้น มันจะเจริญอยู่ในอาหาร เช่น อาหารกระป๋อง แล้วปล่อย Toxin ไว้เมื่อคนกินอาหารที่มี Toxin เข้าไปก็ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ อาจถึงแก่ความตายได้ เชื้อนี้แยกได้ครั้งแรกโดย Van Ermen-gem จากไส้กรอก ในปี ค.ศ. 1896 มีลักษณะเป็นแท่งมน ตรง มี Spores ลักษณะรูปไข่ อยู่เกือบส่วนปลายของเซลล์ (Subterminal) อยู่เดี่ยว เป็นคู่ หรืออาจจะอยู่เป็นลูกโซ่สั้นๆ ได้ขนาดประมาณ $0.9 - 1.2 \times 4 - 6$ ไมครอน เคลื่อนไหวได้ด้วย peritrichate-flagella ไม่มี capsule ติดสีแกรมบวกใน Culture ใหม่ๆ และอาจจะติดแกรมลบได้ถ้า Culture เก่าๆ เป็น Strict anaerobe อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 35° เซนติเกรด เจริญได้ในอาหารทั่วไป โดยเฉพาะใน Cook meat medium, colonies บน blood agar plate เป็นแบบ Granular โปร่งแสง มีบริเวณ beta-hemolysis แคบๆ รอบๆ Colony สามารถทำให้ Gelatin หลว ferment dextrose และ Salicin ให้ปฏิกิริยาผลลบกับ Indole, Methyl Red, Voges Proskauer, spores ของ *Clostridium botulinum* ทนทานกับความร้อนจากโอ

น้ำ 100° เซนติเกรดได้ 5 ชม. ในความร้อนแห้ง 180° เซนติเกรด ได้ 5-15 นาที ไม่ให้ toxin ในร่างกายของคนและสัตว์ แต่จะให้ toxin ได้ในอาหาร เช่น อาหารกระป๋อง Spores อยู่ตามพื้นดินทั่วไป ไม่พบบ่อยนักในลำไส้ของคนและสัตว์

Clostridium perfringens (welchii) เป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้เกิดโรค Gas-gangrene ในคนและสัตว์ บาง Strains ก็สามารถทำให้เกิดอาหารเป็นพิษได้⁹ บาง Strains ก็เป็นเหตุให้เกิด infected traumatic wounds และทำให้เกิด dysentery กับลูกแกะ เกิดโรค Struck และ Strike ทำให้แกะตายได้อย่างรวดเร็ว พบโดย Achalme เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1891 ต่อมาในปี ค.ศ. 1892 Welch และ Nuttal แยกได้สำเร็จจาก foamy organs ของซากศพที่เน่าเปื่อย ลักษณะเป็นแท่งค่อนข้างบวมๆ ขนาดประมาณ $0.8 - 1 \times 4 - 8$ ไมครอน ปลายมนๆ อยู่เดี่ยวๆ หรือเป็นคู่ มี Capsule ซึ่งพบได้ในเนื้อเยื่อของร่างกายของคนและสัตว์ ไม่สามารถเคลื่อนไหวได้ สร้าง Spores ได้น้อย Spores จะมีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจจะอยู่ตรงกลางเซลล์ หรือดัดปลายเข้ามาเล็กน้อย ติดสีแกรมบวกใน culture ใหม่ๆ อาจจะติดสีแกรมลบใน culture เก่าๆ ได้ เป็น Obligatory-anaerobe อุณหภูมิที่เหมาะสม

ในการเจริญ คือ 37° เซนติเกรด เจริญได้ดีในอาหารที่มีพวกน้ำตาลผสมอยู่ เช่น Dextrose blood agar เป็นต้น Colonies บน Blood agar จะกลม เรียบ ทึบแสง มีบริเวณ beta-hemolysis อยู่รอบๆ Colony และยังมีบริเวณของ alpha-hemolysis จางๆ รอบๆ Colony ใหญ่กว่า beta-hemolysis โดยจะเห็นเป็นบริเวณ 2 บริเวณ (Double zone hemolysis) บน Egg yolk media หรือ Nagler's media รอบๆ และใต้ Colony จะมีการขึ้นขาวของ Media ขึ้น ปฏิกริยานี้เรียกว่า Nagler reaction หรือ Lecithovitellin (LV) reaction^{10,11,12,13,14,15} ferment ให้กรดและแก๊ส กับให้การ Clot อย่างมากมาย (Stormy fermentation) Spores ฝังอยู่ใน Media ที่มีน้ำตาลจะถูกฆ่าภายใน 2-3 วัน เนื่องจากมีการ ferment ทำให้เกิดการคั่งขึ้นใน Media ส่วนใน Media ที่ไม่มีน้ำตาล Spores จะอยู่ได้นานหลายเดือน ความร้อน 90° เซนติเกรด นาน 30 นาที และความร้อน 100° เซนติเกรด นาน 5 นาที ก็สามารถฆ่า Spores ได้ แต่ Strains ที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ และ type C strains จะทนต่อความร้อนได้ดี ขนาดต้มหลายๆ ชั่วโมงก็สามารถเจริญได้อีก Spores จะกระจายอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ ตามพื้นดิน ฝุ่น น้ำ ในลำไส้ของคนและสัตว์.

Clostridium septicum เป็นสาเหตุของ Gas-gangrene ในคนได้ บาง Strains ก็เป็นสาเหตุของโรคเกี่ยวกับลำไส้ (bradsot หรือ braxy) ของแกะ⁸ พบครั้งแรกโดย Pasteur และ Jaubert ในปี ค.ศ. 1877 มีลักษณะเป็นแท่งปลายมนๆ ตรง หรืออาจโค้งเล็กน้อย อยู่เดี่ยว เป็นคู่ หรืออาจอยู่เป็นลูกโซ่สั้นๆ ขนาดประมาณ 0.4-0.6×2-8 ไมครอน Spores เป็นรูปไข่อยู่ถัดปลายเซลล์เข้ามาเล็กน้อย หรืออยู่กึ่งกลางเซลล์ เคลื่อนไหวได้ด้วย peritrichate-flagella ไม่มี capsule ติดสีแกรมบวกใน Culture ที่ยังใหม่ๆ ใน Culture เก่าๆ อาจจะติดสีแกรมลบได้ เป็น Obligate anaerobe อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 37° เซนติเกรด บน Blood agar plate colonies จะกลมแผ่ออกไปแบบ rhizoid มีบริเวณของ beta-hemolysis แคบๆ รอบ Colony ferment ให้กรดและแก๊สกับ dextrose, maltose, lactose และ Salicin ให้ปฏิกริยาผลลบกับ Indole, Methyl Red, Voges-Proskauer ทำให้ gelatin เหลว ใน Limus milk ให้กรดเล็กน้อย เกิด Clot อย่างช้าๆ ให้แก๊สเล็กน้อย Spores กระจายอยู่ทั่วไปตามพื้นดิน ในลำไส้ของคนและสัตว์

Clostridium novyi เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิด Gas-gangrene กับคน¹⁶ และสัตว์

ได้¹⁷ เช่น ม้า วัว แกะ แพะ หมู สุนัข แมว หนูตะเภา กระต่าย เป็ด และไก่ เป็นต้น นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของ Malignant edema ใน วัว ควาย และแกะได้⁸

พบครั้งแรก ในปี ค.ศ. 1894 แต่ไม่ค่อยได้สนใจ จนกระทั่ง ปี ค.ศ. 1915 Weinkerg และ Seguin พบเชื้อแบบเดียวกันนี้จากบาดแผล Gas-gangrene⁶ ลักษณะของ *Clostridium novyi* มีลักษณะเป็นแท่ง ขนาดประมาณ $0.8-1.5 \times 5-10$ ไมครอน ใหญ่และยาวกว่า *Clostridium perfringens* ปลายมนๆ ตรง หรืออาจโค้งเล็กน้อย อยู่เดี่ยว เป็นคู่ หรืออาจจะอยู่เป็นลูกโซ่สั้นๆ สามารถสร้าง Spores ได้ในอาหารทุกชนิด ลักษณะ Spores เป็นรูปไข่ อยู่ถัดปลายเข้ามาเล็กน้อย หรืออาจอยู่กึ่งกลางเซลล์ เคลื่อนไหวได้ด้วย peritrichate flagella แต่ไม่ค่อยดีนัก ไม่มี capsule ติดสีแกรมบวกใน culture ใหม่ ใน culture เก่าๆ อาจจะติดสีแกรมลบได้ เป็น Strick anaerobe อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 37° เซนติเกรด เจริญได้ข้ามอาหารแข็ง ให้ Colony แผ่ขยายออกไปบางๆ ยากแก่การที่จะแยกเชื้ออย่างอื่นที่เจริญร่วมอยู่ด้วย บน Blood agar จะแผ่ออกไปแบบ rhizoid เช่นเดียวกับ Colony ของ *Clostridium septicum* มีบริเวณ hemo-

lysis จางๆ รอบๆ Colony บน Egg yolk media ให้ Nagler reaction ได้อย่างอ่อนๆ โดยการสร้าง Lecithinase ซึ่งสามารถแยกจาก *Clostridium perfringens* ได้¹⁸ ferment น้ำตาล dextrose ให้กรดและแก๊สให้ปฏิกิริยา ผลลบกับ Indole, Methyl Red, Voges-Proskauer ทำให้ gelatin เหลว ความต้านทานของ Spores ถูกฆ่าด้วยไอน้ำ 105° เซนติเกรด นาน 6 นาที สร้าง exotoxin ซึ่งทำให้เกิด Gas-gangrene กับคนและสัตว์ เช่น แกะ ไก่ พบตามพื้นดินทั่วไป และอาจจะพบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์

Clostridium sordellii (bifermentans) พบได้จากแผล Gas-gangrene และแผลติดเชื้อในคนและสัตว์ แยกได้ใน ปี ค.ศ. 1902 โดย Tissier และ Martelly จากเนื้อเน่า มีลักษณะเป็นแท่ง ขนาดประมาณ $1.2-1.5 \times 3.6-6$ ไมครอน เคลื่อนไหวได้ด้วย peritrichate flagella ไม่มี Capsules สร้าง Spores มีลักษณะรูปไข่ อยู่ตรงกึ่งกลางเซลล์ หรือเกือบปลายเซลล์ ติดสีแกรมบวกใน culture ที่ใหม่ๆ ใน culture เก่าๆ อาจจะติดสีแกรมลบได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 37° เซนติเกรด Colonies บน Blood agar จะมีลักษณะกลม ขรุขระ รอบๆ Colony มีบริเวณของ beta-hemolysis ใน Egg yolk media จะ

ให้ Nagler reaction ได้ สามารถ ferment น้ำตาล dextrose และ Maltose เท่านั้นให้ผลบวกกับ Indole ทำให้ gelatin เหลว สร้าง toxin ให้ lecithinase พบอยู่ทั่วไปตามพื้นดิน อาจพบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์

Clostridium histolyticum เป็นสาเหตุของ Gas-gangrene ของคนและสัตว์ อาจพบได้จากไส้ติ่งที่เป็น Gangrenous ของคนด้วย Weinberg และ Seguin¹⁹ พบเชื้อเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1916 ลักษณะเป็นแท่งขนาดประมาณ $0.5-0.8 \times 3-8$ ไมครอน ปลายมนๆ ตรง อยู่เดี่ยว หรืออาจจะอยู่เป็นคู่ๆ สามารถสร้าง Spores ในอาหารทุกชนิด ลักษณะของ Spores เป็นรูปไข่ อยู่เกือบสุดปลายของเซลล์ ใน culture เก่าๆ Spores จะหลุดออกจากเซลล์เป็นอิสระได้ เคลื่อนไหวได้ด้วย peritrichate flagella ไม่มี Capsule ดิตส์แกรมบวกใน culture ที่ใหม่ๆ ถ้า culture เก่าๆ อาจจะดิตส์แกรมลบได้ เจริญได้ดีในภาวะ anaerobe แต่ก็สามารถเจริญได้บ้างในภาวะที่มีออกซิเจน²⁰ อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 37° เซนติเกรด Colonies บน Blood agar เรียบ, กลม โปร่งแสง รอบๆ Colony จะมีบริเวณของ hemolysis ไม่ชัดเจน Egg yolk media ทำให้เกิดการขุ่นขาวได้บ้าง แต่ไม่ใช่เนื่องจาก

การสร้าง Lecithinase แต่เป็นการขุ่นเกิดขึ้นจากการรวมของไขมัน โดย Proteolytic action¹⁰ ไม่สามารถ ferment น้ำตาล แต่ในบาง strains ให้กรด แต่ไม่มีแกสกับ dextrose ได้ ทำให้ gelatin เหลว ให้ผลลบกับ Indole, Methyl Red, Voges-Proskauer ใน Litmus milk จะย่อยและทำให้ Casein ตกตะกอน Spores ถูกฆ่าได้ด้วยไอน้ำ 105° เซนติเกรด นาน 6 นาที Spores จะแพร่กระจายอยู่ตามพื้นดินทั่วไป อาจจะพบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์

Clostridium fellax พบได้จากแผล Gas-gangrene โดย Weinberg และ Seguin เป็นผู้พบในปี ค.ศ. 1915 มีลักษณะเป็นแท่ง ปลายมนๆ ขนาดประมาณ $0.6 \times 1.2-5$ ไมครอน ตรง อยู่เดี่ยว สามารถสร้าง Spores ได้ แต่ไม่มากนัก ลักษณะรูปไข่ อยู่เกือบปลายหรืออยู่ตรงกึ่งกลางของเซลล์ มี Capsule ซึ่งเหมือนกับ Clostridium perfringens แต่ผิดกันที่ Clostridium fellax สามารถเคลื่อนไหวได้ ดิตส์แกรมบวก เป็น Strick anaerobe ต้องการ Blood และ Serum เป็นจำนวนมาก เพื่อใช้ในการเจริญ อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 37° เซนติเกรด Colonies บน Blood agar จะกลม เล็ก เรียบ บริเวณรอบๆ

Colony จะมี hemolysis ไม่ชัด บน Egg yolk media ไม่มี Nagler reaction สามารถ ferment น้ำตาล dextrose, maltose, Lactose, saccharose และ salicin ใน Litmus milk จะทำให้ตกตะกอนจับกันใน 7 วัน ให้ผลลบกับ Indole ไม่ทำให้ Gelatin เหลว สร้าง Toxin พวก Soluble toxin Spores จะกระจายอยู่ทั่วไปตามพื้นดิน อาจ จะพบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์

Clostridium sporogenes พบแพร่กระจาย ทั่วๆไปในธรรมชาติ ตามพื้นดิน ฝุ่น น้ำ ใน ลำไส้ของคนและสัตว์ ไม่ทำให้คนและสัตว์เกิด โรค เป็นพวก Harmless-saprophyte ขนาด ใกล้เคียงกัน *Clostridium perfringens* ซึ่ง ยากในการแยกกับพวกที่ทำให้เกิดโรคในท้อง ปฏิบัติการ พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1908 โดย Metchnikoff ลักษณะเป็นแท่ง ปลายมนๆ ขนาดประมาณ $0.5 \times 3-6$ ไมครอน ตรง หรือ โค้งเล็กน้อย อยู่เป็นคู่ๆ หรืออาจจะอยู่เดี่ยว บางทีก็อยู่เป็นกลุ่มเล็กๆ สามารถสร้าง spores ได้ มีลักษณะรูปไข่ อยู่ตรงกลาง หรือเกือบ ปลายเซลล์ Spores อาจจะหลุดจากเซลล์ออก

มาอยู่เป็นอิสระได้ สามารถเคลื่อนไหวได้ ไม่มี Capsule ติดสีแกรมบวกใน Culture ที่ใหม่ๆ อุณหภูมิเหมาะสมในการเจริญ คือ 37° เซนติเกรด Colonies บน Blood agar จะใหญ่ ขอบเป็นแฉงรอบๆ Colony มีบริเวณของ hemolysis โปร่งแสง ตรงกลาง Colony จะ นูนสูง และทึบแสง สามารถ ferment น้ำตาล dextrose และ Maltose ให้กรดและแก๊ส ให้ ผลลบกับ Indole, Methyl Red, Voges-Proskauer ใน Litmus milk จะทำให้ Casein ตกตะกอน และย่อยได้หมดในเวลา 15 วัน Spores ถูกฆ่าในไอน้ำ 100° เซนติเกรด นาน 10-15 นาที ที่ 150° เซนติเกรด นาน 4-45 นาที และที่ 110° เซนติเกรด นาน 1-12 นาที

คุณสมบัติของ *Clostridium* Species ต่างๆ ที่สำคัญๆ ได้แสดงไว้ใน Table I

นอกจากนี้ยังมี *Clostridium* บาง Species เช่น *Clostridium acetobutylicum* เป็นตัว สำคัญในทางอุตสาหกรรมการผลิต butyl alcohol และ Acetone^{4,5,21}

Table 1. Distinguishing characteristics of the clostridia*

	Cl. per-fringens	Cl. septicum	Cl. novyi	Cl. sordellii	Cl. sporogens	Cl. botulinum A, B	Cl. histolyticum	Cl. tetani
Colonies on blood agar	Round, smooth, opaque	Medium rhizoid	Medium, rhizoid	Crenated to amoeboid	Large, rhizoid	Granular translucent, fimbriate	Smooth transparent	Spreading, translucent, filamentous
Hemolytic zones	Double	Single	Single	Single	Single	Single	Single	Single
Spores	Rare, ovoid, eccentric **	Ovoid, eccentric	Ovoid, eccentric	Ovoid, eccentric	Ovoid, eccentric	Ovoid, eccentric	Ovoid, subterminal	Round, terminal
Sporangia	Not swollen	Slightly swollen	Slightly swollen	Not swollen	Swollen	Swollen	Swollen	Swollen
Motility	-	+	+	+	+	+	+	+
Cooked meat medium	Gas; no digestion	Gas; no digest.	Gas; no digest.	Gas; blackening digestion	Gas; blackening digestion	Gas; blackening digestion	Gas; blackening	Slightly gas slow blackening
Dextrose	+	+	+	+	+	+	-	-
Lactose	+	+	-	-	-	-	-	-
Sucrose	+	-	-	-	-	-	-	-
Salicin	usually -	+	-	-	-	usually +	-	-
Indol	-	-	-	+	-	-	-	-
Nitrate-reduction	+	+	-	-	+	-	-	-
Gelatin-liquefaction	+	+	+	+	+	+	+	+

* Abstracted from a chart prepared by Dr. Harriette D. Vera, Biological Laboratory, Baltimore.

** Most strains do not form spores readily; alkaline high-protein media are required.

วัตถุประสงค์

เป็นที่ทราบกันแล้วว่า Sporulating anaerobic organisms โดยเฉพาะ Clostridium ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญในคนได้ และโดยที่ Organisms นี้มักจะพบอยู่ในลำไส้ของคนหรือสัตว์และออกมากับอุจจาระได้ จากอุจจาระนั้นเองก็อาจจะไปแปดเปื้อนสิ่งต่างๆ ทำให้โอกาสการแพร่กระจายของเชื้อมีมากขึ้น เพราะฉะนั้นวัตถุประสงค์ที่สำคัญก็คือ ต้องการที่จะทราบ Incidence ของ Sporulating anaerobic organisms ในอุจจาระของคนในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งทั้งนี้ยังไม่มีใครรายงานไว้เลย อาจจะมีประโยชน์ในทางป้องกันการแพร่หรือระบาดของโรค นอกจากนี้อาจจะมีผลสะท้อนแสดงถึง Incidence คร่าวๆ ของ organisms พวกนี้ในธรรมชาติก็ได้

วัตถุประสงค์ และ วิธีการ

วัตถุประสงค์

Stool specimens

Specimens ที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมดนี้ ได้จากคนที่มารับการตรวจที่ห้องชันสูตรทางแพทย์ ผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลนครเชียงใหม่

Media ที่ใช้ในการศึกษา

1. Thioglycollate medium ผสม Kanamycin 50 microgram/ml.

2. Egg yolk media หรือ Nagler's media ผสม Kanamycin 50 microgram/ml.

3. Chloral hydrate - sodium azide blood agar

วิธีการ ในการทดลอง ทำเป็นขั้นๆ ดังนี้

1. Culture stool specimen ลงใน Thioglycollate medium ซึ่งผสม Kanamycin 50 microgram/ml. แล้ว incubate ไว้ 37 เซนติเกรด 24 ชั่วโมง

2. จาก thioglycollate culture ที่ incubate ไว้ 37 เซนติเกรด 24 ชั่วโมง แล้วนำมา Smear ย้อมสีแกรมดู

3. ตรวจดูว่าพบแกรมบวกชนิดเป็นแท่งหรือไม่ ถ้าพบแกรมบวกชนิดเป็นแท่งให้ Streak จาก thioglycollate ลงบน Egg yolk media ซึ่งผสม Kanamycin 50 microgram/ml. และลงบน Chloral hydrate - sodium azide blood agar อย่างละ plate แล้วใส่ลงใน Brewer Jar แล้วทำให้ภายใน Brewer jar มีภาวะเป็น Anaerobe แล้วนำเข้า incubate 37 เซนติเกรด 24 ชั่วโมง

วิธีทำ Jar ให้อยู่ในสภาพ anaerobic

ใช้ Vacuum ดูดอากาศออกจาก Brewer jar ให้หมด แล้วปิด Vacuum จากนั้นปล่อยแก๊สที่ใช้จุดไฟเข้าไปใน Brewer jar จนเต็มปิด

แกสแล้วใช้ Vacuum คูดแกสใน Brewer jar ออกอีก แล้วใส่แกสเข้าไปอีกทำเช่นนี้ 3-5 ครั้ง สูดห้ายปล่อยแกสเข้า Brewer jar แล้วปิด Brewer jar โดยใช้ clip หนีบให้แน่น นำไปต่อกับไฟฟ้า ให้เกิดปฏิกิริยาเผาไหม้ภายใน เพื่อเผาไหม้ออกซิเจนภายใน jar ประมาณ 30-45 นาที ภายใน jar จะมีคาบอนไดออกไซด์เกิดขึ้น และออกซิเจนและไฮโดรเจน จะรวมกันเกิดเป็นน้ำขึ้น ซึ่งจะทำให้ pH. ของอาหารใน Brewer jar ลดลง ทำให้ Organisms ไม่เจริญได้ หันไปแก้ไขได้โดยใส่ tube soda lime ลงไปใน Brewer jar พร้อมกับ Media culture ด้วย

ในการใช้ Anaerobic jar ต้องมี indicator ใส่ไว้ภายในด้วย เพื่อทดสอบว่า ภายใน jar เป็น Anaerobic แท้จริงหรือเปล่า โดยใช้ Fildes and Mc. Intosh methylene blue indicator²² วิธีเตรียมมีดังนี้ คือ

ก. เตรียม 6% aqueous glucose เติมน้ำผลึกของ Thymol ลงไปเล็กน้อยเป็นตัว preservative

ข. เตรียม $\frac{1}{10}$ นอร์มัล ของ โซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วนำมา 6 ม.ล. ผสมกับน้ำกลั่น 94 ม.ล.

ค. Aqueous methylene blue (0.5%) แล้วนำมา 3 ม.ล. ผสมกับน้ำกลั่น 100 ม.ล.

เมื่อต้องการใช้ ให้ผสมน้ำยาทั้ง 3 อย่าง อย่างละ 1 ม.ล. ลงในหลอดแก้วแล้วนำไปคัมจนสีน้ำเงินหายไป คือไม่มีสี แล้วใส่ลงใน Brewer anaerobic jar พร้อมกับ culture medium หลังจาก incubate 37 เซนติเกรด 24 ชั่วโมง ถ้ายังมีออกซิเจนเหลืออยู่ใน anaerobic jar indicator ในหลอดแก้วที่ใส่ไว้จะมีสีน้ำเงินเกิดขึ้น แต่ถ้าเป็น Anaerobic แท้จริง ก็จะไม่สีน้ำเงินเกิดขึ้น

4. หลังจาก incubate 37 เซนติเกรด 24 ชั่วโมง แล้วถ้ามี Colonies ขึ้นบน Egg yolk media และ chloral hydrate-sodium azide blood agar ให้ย้อมสีแกรมดู ถ้าพบมีแกรมบวกชนิดเป็นแท่ง พร้อมกับ Colony บน Egg yolk media มีการขุ่นขาว บน Chloral hydrate-sodium azide blood agar มีบริเวณ hemolysis รอบๆ Colony ก็สงสัยว่าน่าจะเป็น Clostridium

5. ให้ Sub-culture จาก Colony ที่สงสัยจาก Egg yolk media และ Chloral hydrate-sodium azide blood agar เพื่อให้ได้ pure culture โดยจาก Egg yolk media streak จาก colony เดียวกันบน Egg yolk media 2 plates นำเข้า incubate ใน anaerobic jar plate หนึ่ง และอีก plate หนึ่ง incubate ใน incubator ตรวจดู จาก chloral

hydrate-Sodium azide blood agar ก็ทำ
และแยกเข้า incubate แบบเดียวกัน

6. หลังจาก incubate 37° เซนติเกรด
ครบ 24 ชั่วโมงแล้ว นำ plate ที่ sub-culture
จาก Colony เดียวกัน แต่ incubate คนละ
สภาวะมาตรวจดู ถ้าพบว่ามีเชื้อขึ้นเฉพาะที่
incubate ใน anaerobic เท่านั้น แสดงว่าเชื้อ
นั้นเป็นพวก Clostridium แต่ถ้ามีเชื้อขึ้นใน
plate ที่ incubate ใน incubator ธรรมดา
แสดงว่าไม่ใช่ Clostridium.

7. จาก pure culture ที่ได้นำมา Ident-
fied โดยการ ferment น้ำตาลต่างๆ และทดสอบ
ปฏิกิริยาเคมี ซึ่งในการ incubate ต้อง
incubate ใน anaerobic condition ด้วย และ
นำผลมาว่าเป็น species ใดตาม Table I.

ผลการทดลอง

Stool specimens ที่นำมาแยกเชื้อทั้งหมด
110 ราย

ปรากฏว่า positive 53 ราย (48.18%)
จาก Specimens 110 รายนี้เป็นชาย 63

ราย

ปรากฏว่า positive 34 ราย (53.69%)

เป็นหญิง 47 ราย

ปรากฏว่า positive 19 ราย (40.42%)

ดังแสดงไว้ใน Table II

และผลจากการ Identified ปรากฏว่าเชื้อ
ที่แยกได้เป็น Clostridium perfringens ทั้ง
หมด

จาก Table III แสดงถึงเปอร์เซ็นต์ตรวจ
และแยกเชื้อ Clostridium ได้จากคนอายุตั้งแต่
1 ปีขึ้นไปจนถึง 80 ปี และเปอร์เซ็นต์ที่พบก่อน
ข้างสูงในคนที่อยู่ในวัย 26-45 ปี (50.00%)
ส่วนในคนอายุระหว่าง 76 - 80 ปี ปรากฏว่า
positive ถึง 100% แต่ว่า Specimen ที่ตรวจ
มีเพียงรายเดียว.

Table 2
Results of Isolated Clostridium perfringens in stool

[Sex	No of specimens	No of specimens positive	Percentage positive	No of specimens negative	Percentage negative
Male	63	34	53.96	29	46.04
Female	47	19	40.42	28	59.58
Total	110	53	48.18	57	51.82

Table 3.

ผลการแยก Sporulating Anaerobic bacilli จากอุจจาระคนในอายุระยต่าง ๆ

อายุระหว่าง	จำนวน	จำนวน positive	% positive	ชาย			หญิง		
				จำนวน	จำนวน pos.	% pos.	จำนวน	จำนวน pos.	% pos.
1-5	11	5	45.45	7	4	57.14	4	1	25.00
6-10	5	2	40.00	2	-	-	3	2	66.66
11-15	4	2	50.00	2	-	-	2	2	100.00
16-20	12	5	41.66	8	4	50.00	4	1	25.00
21-25	17	7	41.17	8	4	50.00	9	3	33.33
26-30	10	4	40.00	8	3	37.50	2	1	50.00
31-35	13	5	38.46	7	3	42.85	6	3	50.00
36-40	12	10	83.33	8	8	100.00	4	2	50.00
41-45	11	8	72.72	9	7	77.77	2	1	50.00
46-50	5	2	40.00	2	1	50.00	3	1	33.33
51-55	6	2	33.33	1	1	100.00	5	1	20.00
56-60	2	-	-	-	-	-	2	-	-
61-65	11	-	-	1	-	-	-	-	-
66-70	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71-75	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76-80	1	1	100.00	-	-	-	1	1	100.00
รวมทั้งสิ้น	110	53	48.18	63	34	53.96	47	19	40.42

วิจารณ์ผลการทดลอง

เนื่องจากอุจจาระของคนจะมีพวก Aerobic organisms รวมอยู่ด้วย และ aerobic organisms หลายตัวสามารถเจริญได้ทั้งในภาวะที่เป็น Anaerobe (Facultative anaerobe) ซึ่งยากแก่การที่จะเลือกโคโลนี เช่นพวก *Bacillus*, *Coryne-bacterium*, *Enterobacteriaceae* โดยเฉพาะ *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococci* และพวก *Streptococci* เพื่อหลีกเลี่ยงการเจริญของ Organisms ดังกล่าวเหล่านี้ โดยการใช้ inhibitors ผสมลงไปกับอาหารที่ใช้ Culture²³ ปรากฏว่าถ้าผสม Neomycin จาก 50 microgram/ml ถึง 200 microgram/ml. จะไม่ทำให้ *Staphylococcus - aureus* (8 strains), *Proteus* (16 strains), *Bacterium coli* type 1 and 2, *Bacterium aerogens*, *Bacillus subtilis* (3 strains) เจริญได้เลย พวก Anaerobic คือ *Clostridium chauvoci*, *Clostridium oedematiens*, *Clostridium-tertiium*, *Clostridium fellax*, *Clostridium hemolyticum*, *Clostridium-butyricum* และ *Clostridium tetani* ไม่สามารถเจริญได้เมื่อใช้ Neomycin เข้มข้น 100 microgram/ml. แต่ *Clostridium sporogenes*, *Clostridium aerofactidum*, *Clostridium septicum*, *Clostridium bifer-*

mentans, *Clostridium histolyticum* และ *Clostridium perfringens* จะถูก inhibited ด้วย Neomycin เข้มข้น 100 microgram/ml. ได้บ้าง แต่จะไม่เจริญได้เลยในความเข้มข้น 200 microgram/ml. แสดงว่าความเข้มข้นของ Neomycin 50 microgram/ml. เหมาะสมที่จะใช้ผสมกับอาหารเพื่อ inhibited พวก Aerobic organisms ที่สามารถเจริญได้ในภาวะ Anaerobe แต่ *Clostridium sp.* ต่างๆ ยังสามารถเจริญได้ดี แต่ในการทดลองใช้ Kanamycin เพราะมีสมบัติในการออกฤทธิ์ เหมือนกับ Neomycin และยังมี Toxicity น้อยกว่า Neomycin ด้วย Kanamycin สามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อพวกแกรมลบ bacillus และแกรมบวก coccus ได้²⁴ ส่วนใน Chloral hydrate-sodium azide blood agar มี Chloral hydrate และ Sodium azide เป็น inhibitor ผสมลงใน blood agar เพื่อระงับการเจริญเติบโตของพวก *Enterobacteriaceae* ถ้าใช้อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงอย่างเดียว บางทีก็ไม่ได้ผล ถ้ารวมทั้ง 2 อย่างใส่ใน Blood agar จะได้ผลดีมาก ในการระงับการเจริญของพวกแกรมลบ bacillus และแกรมบวก Coccus เช่น *Staphylococci* และ *Streptococci* เป็นต้น¹²

จากผลการทดลอง (Table II) ปรากฏว่าอุจจาระที่นำมาตรวจทั้งหมด 110 ราย พบ

Sporulating anaerobic organisms ถึง 53 ราย (48.18%) ซึ่งนับว่าเป็นเปอร์เซ็นต์ที่สูง และจากการ identified ปรากฏว่าที่แยกได้ทั้งหมดเป็น *Clostridium perfringens* ส่วน *Clostridium* species อื่นๆ ที่น่าจะพบได้ แต่ไม่พบทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากเชื้อ species อื่นแพร่กระจายอยู่ในอุจจาระน้อย ประกอบกับเวลาทดลองน้อย เพราะฉะนั้น ตัวอย่างตรวจที่ทดลองจึงมีเพียง 110 ราย ซึ่งถ้าตัวอย่างตรวจมากกว่านี้ก็อาจจะพบ species อื่นได้, Wilson and Mile เคยแยกเชื้อจากอุจจาระทั้งหมด 777 ราย ปรากฏว่าเขาพบ *Clostridium tetani* เพียง 1.5% เท่านั้น⁸ สาเหตุอีกประการหนึ่งที่เราไม่พบ Species อื่น อาจจะเนื่องจากการ โดยเฉพาะ Anaerobic jar ของเรายังไม่ดีพอ เพราะเชื้อ *Clostridium* บาง Species ต้องมีสภาวะที่เหมาะสมจริงๆ เท่านั้น จึงจะสามารถเจริญได้ เช่น *Clostridium tetani* ถ้ามีออกซิเจนหลงเหลืออยู่เพียงเล็กน้อยก็ไม่สามารถจะเจริญได้เลย

เนื่องจากเชื้อใน Genus นี้มี Spores เพราะฉะนั้นจึงทนทานต่อความร้อน ความแห้งแล้งได้ดี Mac Lennan J.D. (1943)²⁵ เคยแยกเชื้อ *Clostridium* ได้จากทราย จากทะเลทรายในแอฟริกาเหนือ โดยเขานำตัวอย่าง

ทรายมา 41 ตัวอย่าง ปรากฏว่าเขาสามารถแยกเชื้อ *Clostridium perfringens* 1 ตัวอย่าง *Clostridium captovale* 1 ตัวอย่าง, *Clostridium novyi* 1 ตัวอย่าง, *Clostridium tetani* 1 ตัวอย่าง, *Clostridium sporogens* 2 ตัวอย่าง, *Clostridium putrificum* 1 ตัวอย่าง และ *Clostridium butyricum* 1 ตัวอย่าง ดังนั้นจะเห็นว่า Spores ของมันทนทานมาก แม้แต่ในทะเลทรายก็ยังมีชีวิตอยู่ได้ ดังนั้นการที่พบ *Clostridium perfringens* 48.18% จาก Specimens 110 รายนั้น จัดได้ว่าเป็นเปอร์เซ็นต์ที่น่าสนใจในทางการแพทย์ ทั้งนี้เพราะ *Clostridium perfringens* สามารถสร้าง Toxin และ enzymic factors หลายชนิดแล้วแต่ Strains บาง factors มีคุณสมบัติเป็น hemolytic lethal หรือ necrotising เป็นที่น่าเสียดายว่า ในการทดลองครั้งนี้ เราไม่ได้แยกให้ละเอียดออกไปอีกว่า *Clostridium perfringens* ที่แยกได้เป็น type อะไรบ้าง โดยอาศัยคุณสมบัติในการสร้าง lethal-toxin เราสามารถแยก *Clostridium perfringens* ออกได้เป็น 4 types คือ

type A Strains ให้ alpha-toxin

type B strains ให้ alpha-toxin, beta-toxin และ epsilon toxin

type C strains ให้ alpha-toxin และ beta-toxin

type D strains ให้ alpha-toxin และ iota-toxin²⁶

ถ้าคนหรือสัตว์ได้รับเชื้อโดยเฉพาะบริเวณแผล *Clostridium perfringens* ก็สร้าง toxins แล้วแต่ว่าจะเป็น type ไหน ซึ่ง toxins เหล่านี้เองทำให้แผลนั้นเกิด Gas-gangrene จะเกิดจาก *Clostridium perfringens* เพียง Species เดียว อาจเกิดจาก *Clostridium species* อื่นก็ได้ แต่ที่พบบ่อยที่สุดเกิดจาก *Clostridium perfringens* ในปี 1918 และ 1943 ได้เคยมีรายงานไว้ว่า Gas-gangrene ที่เป็นกับทหารในกองทัพบกของยุโรประหว่างสงคราม (1914-1918 และ 1939-1945) นั้น ปรากฏว่าเกิดเนื่องจาก *Clostridium perfringens* มากกว่า 30% ประมาณ 5-17% เป็น *Clostridium novyi* และพบ *Clostridium sordellii*, *Clostridium histolyticum*, *Clostridium fellax* น้อยกว่า 1% แสดงว่า *Clostridium perfringens* เป็นตัวสำคัญในการทำให้เกิด Gas-gangrene ในหญิงที่คลอดบุตร โดยเฉพาะในรายที่มีการแท้ง *Clostridium perfringens* อาจจะเข้าทาง perineum ทำให้มีการติดเชื้อ และเป็นอันตรายได้ *Clostridium perfringens*

นี้อาจจะเกิดเป็นสาเหตุของอาการไส้ติ่งอักเสบ, Intestinal obstruction ได้ การผ่าตัดลำไส้และกระเพาะอาหาร หรือไส้ติ่ง *Clostridium perfringens* ก็สามารถทำให้เกิด Gangrenous กับบาดแผลที่เกิดจากการผ่าตัดได้เช่นเดียวกัน⁷ นอกจากนี้ *Clostridium perfringens* ก็ยังสามารถทำให้เกิด mild form of food poisoning โดยเฉพาะ Type A ของ *Clostridium perfringens* ซึ่งเป็น Non-hemolytic บน horse blood agar²⁷ Spores ของ Strains นี้จะทนต่อความร้อนได้ดี ทนต่อน้ำเดือดได้เป็นเวลาหลายชั่วโมง *Clostridium perfringens* ซึ่งทำให้เกิด food poisoning นี้ อาจจะปรากฏอยู่ในอุจจาระของคนได้²⁸ ดังนั้นเมื่อ Spores ของ Strains นี้ติดปนกับอาหาร ถึงแม้จะทำให้สุกด้วยความร้อนอย่างดีแล้วก็ตาม ก็ยังไม่สามารถทำลาย Spores ได้ อาจจะทำให้เกิด food poisoning ได้

จาก Table II ปรากฏว่าแยก *Clostridium perfringens* ได้จากอุจจาระของชาย 53.96% (34 รายจาก 63 ราย) และได้จากหญิง 40.42% (19 รายจาก 47 ราย) จะเห็นได้ว่า Incidence ในชายสูงกว่าหญิงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าเพศอาจจะเกี่ยวข้องกับ Incidence ของ *Clostridium perfringens* ในอุจจาระได้

ในการทดลองครั้งนี้ อูจจาระที่เก็บมาทั้งหมด 110 ราย ปรากฏว่าได้จากคนตั้งแต่อายุ 1½ ปี จนถึง 79 ปี แต่ Incidence ที่แยกได้ส่วนมากจะพบสูงในคนอายุ ระหว่าง 26-45 ปี คือประมาณ 50% แสดงให้เห็นว่าในคน Adult จะพบ *Clostridium perfringens* อยู่ในลำไส้เป็นเปอร์เซ็นต์สูง แต่มีข้อสังเกตที่ว่าในคนอายุ 76-80 ปีแยกได้ 100% แต่ Specimen ที่นำมาแยกมีเพียงรายเดียว เพราะฉะนั้นจึงยังไม่สามารถจะเชื่อได้แน่นอน สรุปแล้วเราสามารถจะพบเชื้อ *Clostridium perfringens* ในคนทุกเพศและวัย

เป็นที่ทราบกันแล้วว่า *Clostridium* Sp. ส่วนมากเราพบได้บ่อยที่สุดในอูจจาระของสัตว์ เช่น *Clostridium tetani* ปรากฏว่าจากอูจจาระของม้ามีคนเคยรายงานไว้ว่า พบถึง 40 %⁵ *Clostridium perfringens* ในสัตว์ก็เช่นกัน เราจะสามารถพบได้ และในทำนองเดียวกัน

มันก็อาจจะทำให้เกิดโรคในสัตว์ได้เช่น Gas-gangrene, Infected traumatic wounds, dysentery โดยเฉพาะในลูกแกะ. Struck และ Strike ในแกะ ซึ่งสัตว์อาจจะได้รับจากที่ Contaminate อยู่ในธรรมชาติ เช่น จากหญ้า เป็นต้น เป็นที่น่าเสียดายที่เราไม่ได้ทดลองแยกจากอูจจาระของสัตว์ด้วย ดังนั้นเราเลยไม่ทราบถึงเปอร์เซ็นต์ และชนิดของ *Clostridium* ที่อาจจะพบได้ในสัตว์ ซึ่งอาจจะติดต่อจากสัตว์ไปยังคน หรือจากคนไปยังสัตว์ได้

ดังนั้นจากเปอร์เซ็นต์ที่พบครั้งนี้อาจจะเป็นประโยชน์ในทางป้องกัน และยังแสดงให้เห็นว่า ในธรรมชาติจะต้องมี *Clostridium perfringens* contaminate อยู่เป็นเปอร์เซ็นต์สูงด้วยเช่นกัน เพราะจากอูจจาระของคนก็อาจจะไปแปดเปื้อนธรรมชาติได้ โดยเฉพาะเมื่อการสุขศึกษา อนามัย และส้วมของชาวบ้านยังไม่ดีพอ

ย่อเรื่อง

ในการศึกษา Incidence ของ Sporulating anaerobic organisms ในอุจจาระได้กระทำที่ห้องปฏิบัติการ ของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Specimens ที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ ได้จากคนไข้ที่มารับการตรวจยังห้องชันสูตรโรคผู้ป่วยนอก ของโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ซึ่งผลปรากฏว่า จากที่ตรวจแยกเชื้อทั้งหมด 110 ราย สามารถแยกเชื้อ Sporulating anaerobic organisms 53 ราย (48.18%) และทั้ง 53 รายที่แยกได้ันปรากฏว่าเป็นเชื้อ Clostridium perfringens ทั้ง 53 ราย ในจำนวนอุจจาระ 110 รายที่นำมาตรวจปรากฏว่าเป็นของชายเสีย 63 ราย positive 34 ราย (53.96%) เป็น

หญิง 47 ราย positive 19 ราย (40.42%) และอายุของคนไข้ที่นำอุจจาระมาตรวจ มีตั้งแต่ 1½ ปี ถึง 79 ปี แต่ปรากฏว่า Incidence จะพบสูงในอายุประมาณ 26-45 ปี ถึงประมาณ 50% แต่อย่างไรก็ตาม ปรากฏว่าสามารถแยกเชื้อได้จากคนทุกวัย.

คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องชันสูตรทางแพทย์ ผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ทุกคน ที่ช่วยเก็บ Stool specimen เพื่อใช้ในการศึกษาค้างนี้ พร้อมด้วยอาจารย์และเจ้าหน้าที่แผนกจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ช่วยเหลือในการทดลอง และแก้ไข แนะนำ รายงาน ค้างนี้.

เอกสารอ้างอิง

1. Schaub, I.G., Foley, M.K., Scott, E.G. and Bailey, W.R., **DIAGNOSTIC BACTERIOLOGY**. 5th Ed., The C.V. Mosby Company, 1958.
2. Donald, L.B., Arnold, N.W., Morton, N.S. and Lawrence, J.K., Anaerobic infections-review of current experience. *J. Med.* 43:207, 1964.
3. Breed, R.S., Murray, E.G.D. and Smith, N.R., **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 7th Ed., The William and Wilkins Co., Baltimore, 1957.
4. Dubos and Hirsh., **Bacterial and Mycotic infections of Man**. 4th Ed., Lippincott Igaku-Shoin, 1966.
5. Burrows, W., **Textbook of Microbiology**. 8th Ed., W.B. Saunders Company, 1963.
6. Soltys, M.A., **Bacteria and Fungi Pathogenic to Man and Animals**, London Bailliere Tindall and Cox., 1963.
7. Cruickshank, R., **Medical Microbiology**. 11st Ed., The Williams and Wilkins Co, Baltimore., 1965
8. Bruner, D.W. and Gillespie, J.H., **Hagan's infections diseases of domestic animals**. 5th Ed., Comstock Publishing Associates, New York., 1966.
9. Beck, A., Foxell, A.W.H. and Turner, W.C., An outbreak of food- poisoning due to *Clostridium welchii*. *Brit. Med. J.*, 1:686, 1954.
10. Mac. Lennan, J.D. The histo-toxic clostridial infections of Man. *Bact. Rev.*, 26:177, 1962.
11. Stokes, E.J. **Clinical Bacteriology**. 2nd Ed., Edward Arnold LTD. London, 1960.
12. Harris and Coleman., **Diagnostic Procedures and Reagents**. 4th Ed., American Public Health Association, Inc. 1963.
13. Hayward, N.J. The rapid identification of *Clostridium welchii* by Nagler tests in plate cultures. *J. Path. Bact.* 55:285, 1943. as cited by Donald, L.B., Arnold, N.W., Morton, N.S. and Lawrence, J.K.; Anaerobic infections-review of current experience. *J. Med.* 43:207, 1964.
14. Willis, A.T. and Hobbs, G., Some new media for the isolation and identification of Clostridia. *J. Path. Bact.* 77:511, 1959.
15. Willis, A.T. and Gowland, G., Some observations on the mechanism of the Nagler reaction. *J. Path Bact.* 83:219, 1962.

16. Smith, L. DS., Clostridia in gas-gangrene. Bact. Rev. 13:233, 1949.
17. Smith, L. DS. and Claus, K.D., Toxin production and proteolytic-properties of *Clostridium novyi* J. Bact. 73:445, 1957.
18. Bard, R.C. and Mc Clung, L.S., Biochemical properties of the toxins of *Clostridium novyi* and *Clostridium hemolyticum*. J. Bact. 56:665, 1948.
19. Wilson, G.S. and Miles, A.A., Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity. 4th Ed., Edward Arnold LTD., 1961.
20. Hall, I.C., The aerobic cultivation of *B. histolyticus*. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 20:501, 1923. as cited by Mac Lennan J.D., The histo-toxic clostridial infections of Man. Bact. Rev. 26:177, 1962.
21. Burnett, G.W. and Scherp, H.W., Oral Microbiology and Infectious disease. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1957.
22. Bailey, W.R. and Scott, E.G., Diagnostic microbiology. 2nd Ed., The C.V. Mosby company, 1966.
23. Lowbury, E.J.L. and Lilly, H.A., A selective plate medium for *Clostridium welchii*. J. Patho. Bact. 70:105, 1955.
24. Jawetz E., Meinick, J.L. and Adelberg E.A., Review of Medical Microbiology., pp. 131-132., Lange Medical Publications, 1966.
25. Mac Lennan, J.D., Anaerobic infections of war wounds in the Middle East. Lancet, 245:63-66, 94-99, 123-125, 1943. as cited by Smith, L. DS., Clostridia in gas-gangrene. Bact. Rev. 13:233, 1949
26. Brooks, M.E., Sterne, M. and Warrack, G.H., A re-assessment of the criteria used for type differentiation of *Clostridium perfringens*. J. Patho. Bact. 74:185, 1957.
27. Hobbs, B.C., Smith, M.E., Oakey, C.L., Warrack, C.H. and Cruickshank, J.C, *Clostridium welchii* food poisoning. J. Hyg. (Lond.), 51:75, 1953. as cited by Cruickshank, R., Medical Microbiology. 11st Ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore., 1965.
28. Collee, J.G, Knowlden, J.A. and Hobbs, B.C., Studies on the growth, sporulation and carriage of *Clostridium welchii* with special reference to food poisoning strains. J. appl. Bact. 24:326, 1961. As cited by Cruickshank, R, Medical Microbiology. 11st Ed., The Williams and Wilkins Co, Baltimore, 1965.

Abstract

The Incidence of Anaerobic Organisms in Stool

Seri Rungruang*

Kampol Panas-ampol**

A study was made of the incidence of sporulating anaerobic organisms in out patients' stools at Nakorn Chiang Mai Hospital. The following method was used:

1. Stool specimens were inoculated into thioglycolate medium which contained 50 micrograms/ml. of kanamycin and then incubated at 37° C overnight.

2. After overnight incubation gram positive bacilli were picked and subcultured into Egg Yolk medium which contained 50 micrograms/ml. of kanamycin and onto Chloral hydrate-sodium azide blood agar. The plates were incubated overnight in anaerobic jar at 37° C.

3. Suspected colonies from these plates were subcultured to 2 sets of onto Egg Yolk Medium and Chloral hydrate sodium azide blood agar, one set then being incubated in

anaerobic conditions and the other in aerobic conditions at 37° C. over night.

4. After overnight incubation, plates were examined for possible Clostridium species, which grew in anaerobic conditions but not in aerobic conditions. All organisms suspected of being clostridium species were then identified by fermentations and biochemical reactions (Table 1).

Out of 110 stool specimens, 53 (48.18%) strains of Clostridium perfringens were found. Of 63 male cases, 34 (53.96%) were positive for Clostridium perfringens. Of 47 female cases 19 (40.42%) were positive for this organism. The ages of the patients with positive cultures ranged from 1½ to 79 years. The incidence of positive culture was highest (56%) in the 25 to 45 year age range.

* The Fourth Year Medical Technology Student, Dept. of Medical Technology, Faculty of Medicine

** Head Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.