



CHARACTERIZATION OF NON-FERMENTATIVE NON-FASTIDIOUS GRAM NEGATIVE BACTERIA ENCOUNTERED IN MEDICAL BACTERIOLOGY

พิมพ์พร วัฒนานุกิจ B.Sc. (M ed. Tech.)*
สุชาติ ศิริกุล M.Sc. (Microbiology)**

SUMMARY :

โดยการรวบรวมผลการทดลองจากหลาย
การทดลอง เกี่ยวกับ test ต่าง ๆ ของเชื้อ
พวก "Non-fermentative Gram-negative
bacilli" สามารถสร้างเป็น scheme และ
key อย่างง่าย สำหรับใช้ในการ Identify
เชื้อพวกนี้ได้ เชื้อจาก clinical specimens
จำนวน 112 ตัว สามารถ identify โดย
scheme และ key ดังกล่าวจนถึง genus
และ species ได้ 88.29 % ที่เหลือแยกได้
เป็น *Flavobacterium* species 7.2% และ
Unidentified 4.5% เชื้อที่แยกได้มีดังนี้
Pseudomonas aeruginosa,
Ps. cepacia, *Ps. putrefaciens*,
Ps. maltophilia, *Ps. diminuta*,
Ps. putida, *Ps. acidovarans*

Alcaligenes faecalis, *Alc. deni-
trificans* *Acinetobacter lwoffii*,
Ac. anitratum, *Achromobacter* species
Flavobacterium species, *Moraxella*
kengii และ *Mor. osloensis* สำหรับ
tests ที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบด้วย
pigment, H₂S และ reaction จาก TSI,
Motility, Oxidase, OF Glucose, OF
Galactose, OF Maltose, OF Mannite,,
OF Fructose, 10% Lactose, ONPG, Urea,
Nitrite, N² gas, gelatin, grow on
6.5% or 2.5% NaCl และที่ 42°C,
Penicillin sensitivity, Acetate, Citrate,
Indole, Catalase และ Phenylalanine
deaminase test

*คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Introduction :

ในระยะ 5-6 ปีมานี้ เรามักจะพบแบคทีเรียพวก "Non-fastidious Gram-negative" จาก clinical specimen บ่อยมากขึ้นโดยเฉพาะแต่ *Pseudomonas aeruginosa* เท่านั้น ที่เราจะพบได้จาก specimen จากคนไข้ดังกล่าว แต่เรายังได้พบแบคทีเรียตัวอื่น ๆ ที่อยู่ในพวกนี้อีกด้วย เช่น *Pseudomonas odorans*, *Ps. fluorescens*, *Ps. pseudomallei*, *Ps. cepacia*, *Ps. stutzeri*, *Ps. maltophilia*, *Ps. diminuta*, *Ps. acidovorans*, *Ps. putida*, *Moraxella osloensis*, *Mor. kengii*, *Mor. lacunata*, *Acinetobacter anitratum*, *Ac. Iwoffii*, *Alcaligenes faecalis*, และ *Alc. odovans* (*Ps. odovans*) เป็นต้น

มีรายงานบ่อย ๆ ว่าแบคทีเรีย Gram-negative พวกนี้ เป็นสาเหตุของพยาธิสภาพในคนไข้ที่อาจทำให้คนไข้เป็นอันตรายถึงแก่ชีวิต หรือพยาธิสภาพที่ไม่รุนแรงนักได้เช่นกัน เช่น *Mima polymorpha* (*Ac. Iwoffii*) และ *Flavobacterium* sp. ทำให้เกิด "Neonatal meningitis,"(1) *Ps. aeruginosa* ทำให้เกิด "Bronchopneumonia"(3), Infection ของแผล burn และ Intestinal Infection ที่เกิดหนองจาก *Ps. pyocyanea*(4) และ *Ps. cepacia*

ทำให้เกิด Inflammation of the intravenous infusion site, pericardial sac หรือ Urinary tract infection(11) เหล่านี้เป็นต้น

เนื่องมาจากการที่เราพบเชื้อพวกนี้ใน clinical specimen มากขึ้น ทั้งยังเป็นต้นเหตุของพยาธิสภาพได้รุนแรง ไม่แตกต่างจากเชื้อพวกอื่น ๆ แบคทีเรียพวกนี้จึงเป็นที่น่าสนใจ และมีผู้นำมาศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการ Identify ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกให้ทำได้ง่าย และสะดวกขึ้น เพราะเชื้อแบคทีเรียพวกนี้ มักจะแสดงคุณสมบัติในการทดสอบทางชีวเคมีที่ไม่แน่นอน และไม่เด่นชัดเหมือนแบคทีเรียพวกอื่น ๆ เช่น *Enterobacteriaceae* หรือพวก Gram-positive cocci เป็นต้น ดังนั้นการ Identify เชื้อพวกนี้จึงมักประสบปัญหาอยู่ยากอยู่เสมอ.

การปฏิบัติการทดลองครั้งนี้ จะได้ศึกษาถึงเชื้อแบคทีเรียพวก "Non-fermentative Non-fastidious Gram-negative bacilli" โดยมีจุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้คือ

1. รวบรวมผลของการทดสอบต่าง ๆ ที่ใช้ในการ Identify พวก Non-fermentative Gram-negative bacilli จากที่เคยมีผู้รายงานและตีพิมพ์ในวารสารแล้ว โดยสรุปเป็น table และจาก table นี้ นำมาพิจารณา แล้วสร้าง scheme อย่างง่าย สำหรับการ Identify เชื้อดังกล่าว

2. Identify เชื้อจาก clinical specimen โดยใช้ scheme และ table ข้างต้นเป็นหลัก

Materials & Methods :-

1. ที่มาของเชื้อ :- เชื้อที่นำมาทดลอง เพื่อ Identify นี้ ได้รับมาจาก clinical specimen ของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลนครเชียงใหม่

Clinical specimen ต่าง ๆ ที่มี Blood Urine, Sputum, throat swab และ Exudate (Pus & Cervical swab) เป็นต้น

2. วิธีการทดสอบต่าง ๆ จะสรุปกล่าวพอสังเขปได้ดังนี้ :-

Oxidase test :-

ใช้กระดาษกรองซึ่งชุบสารทดสอบ คือ 10% para-aminodimethylaniline monohydrochloride และทำให้แห้งแล้ว ใส่น้ำกลั่นพอให้เปียกหมาด ๆ ทัวกระดาษ ใช้ loop แตะเชื้อมาป้าย อ่านผลภายใน 1-2 นาที ถ้า Oxidase test ของเชื้อ positive ทรวงบริเวณเชื้อจะเปลี่ยนสีเป็น สีชมพู → แดง → ดำ ในที่สุด

Motility test

- Stab เชื้อลงใน motility test media (Difco) แล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้อง อ่านผลการทดสอบเมื่อครบ 24 ชม. หรือถ้าไม่อาจอ่านผลได้ชัดเจนก็เก็บไว้ต่อดีก 24 ชั่วโมง

- การอ่านผล positive test นั้น จะเห็นรอยขุ่น ๆ เชื้อแผ่ออกจากแนวที่ stab ไว้

Acid production from carbohydrates :-

- เตรียม 1% ของ carbohydrate ใน OF Basal Medium ตามวิธีของ Hugh & Leifson⁽²⁾

- การทดสอบให้ stab เชื้อลงไปตรงๆ จนเกือบถึงก้น tube แล้ว incubate ไว้ที่ 37°C อ่านผลทุก 1,2,3,4 และ 5 วัน

- Positive test คือ Bromothymol blue (indicator) ด้านบน จะเปลี่ยนสีจากเขียวเป็นเหลือง เนื่องจากเชื้อสามารถ Oxidise น้ำตาลที่ใส่ไว้ แล้วปล่อย end product ที่เป็นกรดออกมา

10 % Lactose medium :-

- เตรียมตามวิธีใน Dailey & S cott⁽²⁾

- ให้ streak เชื้อบนหน้า slant ของ media แล้ว incubate ที่ 37°C อ่านผลทุก 1,2,3,4 และ 5 วัน

- Positive test คือ slant ของ test media จะเปลี่ยนสีจากแดงเป็นเหลือง (ใช้ Phenol red เป็น indicator)

CNPG (beta-galactosidase) test :

- เชื้อพวก Non-fermentative Gram negative bacilli บางตัวในปัจจุบันนี้ จะมี enzyme beta-galactosidase อยู่แต่ขาด permease ทำให้ lactose ไม่สามารถเข้าสู่ cell ของ bacteria ได้ จึงไม่มีการ ferment lactose ให้เห็นแก่ enzyme นี้ อาจทดสอบได้โดยใช้ ONPG tablet (orthonitrophenyl beta-galactopyranoside) โดยละลายลงในน้ำ

กลั่น แล้ว inoculate เชื้อที่จะทดสอบลงไป
มากพอควร แล้ว incubate ไว้ที่ 37°C
6 ชม. ถ้ามี hydrolysis ของ ONPG จะมี
การปล่อย ortho-nitrophenol ซึ่งให้สีเหลือง
ออกมา ก็แสดงว่าเชื้อมี B-galactosidase
(พวกที่มี enzyme นี้อาจจัดเป็นพวก lactose
fermenter)

Urease test :-

- เป็นการทดสอบว่าเชื้อให้ enzyme
urease หรือไม่ โดย streak เชื้อลงบน
slant ของ test media Urea agar

- Positive test คือ test media
บริเวณที่ลงเชื้อไว้จะเปลี่ยนสีจากสีชมพู จาง ไป
เป็นสีชมพูเข้ม

Nitrate reduction & Nitrogen gas production :-

- เป็นการทดสอบว่าเชื้อนั้นสามารถใช้
Nitrate ใน media แล้วเปลี่ยนไปเป็น Nitrite
หรือ Nitrogen gas ได้หรือไม่ โดย Stab
เชื้อลงใน Indole Nitrate test media
incubate 37°C 24 ชม.

- การอ่านผล ถ้าเชื้อสามารถใช้ Nitrate
แล้วเปลี่ยนไปเป็น Nitrite เมื่อทดสอบด้วย
test solution A และ B⁽²⁾ แล้วจะเกิดสีแดง
เข้มขึ้น และถ้าเชื้อสามารถเปลี่ยน Nitrite
ไปเป็น Nitrogen gas ได้ด้วย จะเห็นเป็น
ฟองอากาศใน durham tube

Gelatin :-

- ทดสอบว่าเชื้อมี Gelatinase ไหม
โดย Stab เชื้อลงใน Gelatin test media
แล้ว incubate 37°C อ่านผลใน 24 ชม.

- การอ่านผลให้นำ inoculate test
media ไปเข้าตู้เย็น ประมาณ 5-10 นาที ถ้า
test media ไม่แข็งยังคงเหลวอยู่ ถือเป็น
positive test.

Salt Tolerance :-

- ใช้ "Trypticase Soy Agar" (TSA)
ที่ใส่ NaCl ลงไป 2.5% หรือ 6.5% (W/V)
โดย streak เชื้อไปบน slant.
- Positive test คือมีเชื้อเจริญตามแนว
ที่ streak เมื่อ incubate ไว้ที่ 37°C .

Growth at 42°C :-

- ให้ inoculate เชื้อลงใน BHI broth
เพียงเล็กน้อย แล้ว incubate ใน water bath
ที่คงอุณหภูมิไว้ 42°C . 24 ชม.

- การอ่านผล Positive test คือ BHI
broth จะขึ้น

Penicillin susceptibility test :-

ทำเช่นเดียวกับ disc Sensitivity test

Utilization of Citrate or Acetate as the sole carbon Source :-

- โดย streak เชื้อบน slant citrate
หรือ Acetate agar แล้ว incubate ที่ 37°C .
อ่านผลทุกวันจนครบ 5 วัน จึงบอกว่า
negative test ได้ ถ้า Positive test จะ
เห็น bromthymol blue (indicator) เปลี่ยน
สีจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน

Catalase test :-

- Inoculate เชื้อลงใน 1 ml. BHI broth
incubate ที่ 37°C . 24 ชม. นำมาใส่ 3%

H₂O₂ ลงไปประมาณ 1-2 ml. Positive test ถึงจะเกิดฟองแก๊สขึ้นมามากมายใน broth culture นั้น

Hydrogen sulfide production :-

- ใช้ Lead acetate paper ที่ชุบ 5% lead acetate และทำให้แห้งแล้วนั้น สอดไว้ระหว่างจุกปิด tube และให้อยู่ภายใน tube TSI ที่ inoculate เชื้อแล้ว ถ้า Positive test ก็จะทำให้เกิดสีดำขึ้นที่กระดาษกรองชุบ lead acetate นั้น

Pigment production :-

- ดูได้จาก inoculated TSI หรือ test media ต่าง ๆ เช่น Indole Nitrate media or motility test media เป็นต้น

TSI :-

เตรียมตามวิธีใน Bailey & Scott⁽²⁾ Stab เชื้อลงใน TSI เกือบถึงก้น tube แล้ว streak ที่ slant incubate ไว้ 37°C 24 ชม. แล้วดู reaction.

- reaction ใน TSI ของพวก non-fermentative gram negative bacilli คือ Alkaline slant and Alkaline or Neutral butt

3. แนวทางการทดสอบ :- ขั้นตอนและวิธีการทดสอบต่าง ๆ ที่ใช้ จะได้กล่าวพอเป็นสังเขปดังนี้ :-

3.1 เชื้อที่ได้จาก clinical specimen ใน TSI (Alkaline or neutral butt, Alkaline slant เก็บไว้เป็น stock culture ใน Cystine trypticase agar (CTA) เก็บที่อุณหภูมิห้อง

3.2 จาก CTA นำเชื้อมา streak ลงบน Blood agar plate แล้วเลือกเอา Isolated colony ของ pure culture นั้นลง TSI incubate ที่ 37°C 24 ชม.

3.3 เชื้อจาก TSI นำมาทำ Oxidase trest

ก) ถ้า Oxidase test positive นำเชื้อมา inoculate ลงใน media ดังต่อไปนี้ คือ Motile, OF Glucose, OF Maltose, 10% Lactose ONPG, Urea, Nitrite & Nitrogen gas test media, Gelatin, 25% & 6.5% NaCl, BHI Broth for Growth at 42°C. Penicillin sensitivity test, Acetate citrate.

ข) ถ้า Oxidase test negative นำเชื้อมา inoculate ลงใน media ดังต่อไปนี้คือ Motile, OF Glucose, OF Maltose 10% Lactose, Urea, Nitrite & Nitrogen gas test media, Gelatin, BHI broth for Growth at 42°C, Acetate.

3.4 อ่านผลของการทดสอบต่าง ๆ ในเมื่อครบช่วงเวลา 1,2,3,4 และ 5 วัน ก่อนรายงานผล negative แล้วใช้ Figure I เป็น key และ Table I & II confirm ในการ identify เชื้อ

Result :-

ใน Figure I. เป็นผลจากการรวบรวมผลการทดสอบต่าง ๆ ที่ให้ผล positive หรือ

negative 100% จากหลายการทดลอง (5,6, 7,8,9,10) สรุปเป็น scheme และจาก scheme นี้จะใช้ identify เชื้อพวก "Non-fermentative Gram-negative bacilli" จาก clinical specimen ต่อไป

Table I และ II เป็นผลสรุปของการทดสอบต่าง ๆ ที่ให้ผล positive หรือ negative จากหลายการทดลอง (5,6,7,8,9,10) เพื่อใช้เป็น table confirm หรือตัดสินในการ identify เชื้อของ scheme จาก Figure I.

เชื้อพวก "Non-fermentative gram-negative bacilli" ที่ได้รับจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก ของโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ จำนวน 111 ตัว มาจาก specimen ต่าง ๆ ดังนี้ Sputum and throat swab 7 ตัว Hemoculture 41 ตัว, Urine 24 ตัว, Exudate 39 ตัว ซึ่งผลของการ identify ว่าเป็นเชื้อชนิดไหนนั้น สรุปไว้ใน Table III ส่วนใน Table IV. และ V เป็นผลสรุปลักษณะของเชื้อแต่ละ species ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ ด้วยการทดสอบต่าง ๆ การอ่านผลทดสอบส่วนใหญ่จะให้ผล positive หรือ negative test ภายใน 24 ชม. ส่วนผล positive test ที่ให้ผลภายหลัง 24 ชม. มักจะเป็นการทดสอบการ Oxidation ของ Carbohydrate ต่าง ๆ

โดยการใช้ scheme จาก Figure I และ Key ตาม Table I และ II พบว่าเชื้อจำนวน 111 ตัว ที่ทดลอง identify นี้

สามารถแยกได้เป็น genus และ species ได้ถึง 88.29%, เป็น *Flavobacterium* spp. 7.2% และอีก 4.5% ไม่อาจ identify ได้

Discussion :-

ในปัจจุบันนี้เชื้อพวก Non-fermentative gram-negative-bacilli พบได้บ่อยใน Clinical specimen เช่น specimen จาก Upper Respiratory tract, Gastrointestinal tract, Vagina and contaminante in wounds และมักจะพบว่าเชื้อพวกนี้เป็นสาเหตุของโรคได้(9) ดังนั้นปัญหาในการแยกเชื้อเพื่อให้ทราบชนิดที่แน่นอนจึงเป็นสิ่งที่น่าศึกษา โดยเฉพาะในห้องปฏิบัติการมีความต้องการการแยกเชื้อที่อยู่ในระดับมาตรฐาน ง่าย และรวดเร็ว paper นี้ เป็นการทดลองที่พยายามบรรลุให้ถึงเป้าหมาย 2 ประการคือ ประการแรกเพื่อสร้าง scheme และ key อย่างง่ายและเหมาะสม ที่จะใช้เป็นแนวทาง identify เชื้อพวกนี้ในห้องปฏิบัติการ เพื่อบริการแก่ผู้ป่วยของโรงพยาบาล ประการที่สองคือเพื่อที่จะ identify เชื้อจาก Clinical specimen ของผู้ป่วยเพื่อเป็นข้อมูลและพิสูจน์ effective ของ scheme และ key ที่สร้างขึ้นมานี้ ซึ่งพบว่า scheme และ key ดังกล่าวนี้สามารถนำไปใช้ identify เชื้อพวกนี้ได้ถึง genus และ species ถึง 88.29% นับว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจสำหรับที่จะแยกเชื้อพวกนี้จาก Clinical specimen ได้อย่างไรก็ตาม scheme และ

Table 1 Identification key for differentiating members of the *Pseudomonas* & *Alcaligenes*.

Test \ Organisms	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. fluorescens</i>	<i>Ps. pseudomallei</i>	<i>Ps. cepacia</i>	<i>Ps. stutzeri</i>	<i>Ps. putrefaciens</i>	<i>Ps. maltophilia</i>	<i>Ps. dimiuta</i>	<i>Ps. alcaligenes</i>	<i>Ps. putida</i>	<i>Ps. acidovarans</i>	<i>Alc. faecalis</i>	<i>Alc. odorans</i>
Oxidase	+	+	+	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Motile	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
OF Glucose	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
OF Maltose	-	F	+	+	+	N	+	-	-	N	-	-	-
10 % Lactose	-	N	+	+	-	N	N	-	-	N	-	-	-
ONPG	-	-	-	+	-	-	P	-	-	-	-	-	-
Urea	P	P	P	N	N	N	-	-	N	P	-	-	-
Nitrite	N	-	P	N	N	+	N	-	P	-	+	N	-
Nitrogen gas	P	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Gelatin	P	+	+	-	-	P	+	+	N	-	N	-	-
6.5 % NaCl	N	-	-	-	+	+	-	-	-	N	-	-	+
2.5 % NaCl	+	P	-	P	+	+	P	+	P	+	N	P	+
Growth at 42°C	+	-	+	P	+	-	P	+	+	-	N	N	P
Brown pigment	N	-	-	-	-	P	+	+	-	-	-	N	-
Penicillin sensitive	-	-	-	-	N	N	N	-	N	-	-	N	-
Acetate	+	+	+	+	+	P	N	-	+	+	+	N	-
H ₂ S (TSI)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Citrate	+	+	P	P	+	P	P	-	+	P	P	+	P

+ = Positive 99-100 % , P = Positive > 50 %

- = Negative 99-100 % , N = Negative > 50 %

key ดังกล่าวนี้อาจ identify เชื้อได้ไม่เต็มที่ เพราะว่าการค้นคว้าและรวบรวมผลการทดลองจากแหล่งต่าง ๆ กระทำได้ในวงจำกัด โดยเฉพาะพวก *Moraxella* species อาจจะไม่ identify ไม่ได้ผลเต็มที่ เพราะว่าเชื้ออาจไม่ขึ้นใน media ที่ใช้ในการทดลองกรงนี้ เชื้อบางพวกเช่น *Flavobacterium* species, ก็ยังไม่สามารถแยกได้ถึง species ได้ ดังนั้น

ความรู้ใหม่ ๆ จะสามารถช่วย improve scheme และ key ดังกล่าวนี้อีกขึ้นในโอกาสต่อไป

การทดสอบต่าง ๆ ที่ปรากฏใน scheme และใน key นี้เป็นการทดสอบที่เตรียมได้ง่าย และมีใช้อยู่แล้วในห้องปฏิบัติการ จึงนับว่า paper นี้มีประโยชน์ที่จะนำเอาผลที่ดีมาดัดแปลงใช้ในห้องปฏิบัติการเป็นงานประจำวันได้ การทดสอบที่เป็น criteria สำคัญใน scheme

Table II. Identification key for differentiating members of the *Cinetobacter*.
Moraxella & *Flavobacterium* species.

Organisms	<i>Ac. anitratum</i>	<i>Ac. lwofii</i>	<i>Mor. osloensis</i>	<i>Mor. lacunata</i>	<i>Mor. kengii</i>	<i>Flavobacterium</i> spp.
Test						
Oxidase	-	-	+	+	+	+
Motile	-	-	-	-	-	-
OF Glucose	+	-	-	-	+	+
OF Maltose	P	-	-	-	-	N
10 % Lactose	+	-	-	-	-	P
Urea	P	N	-	-	-	N
Nitrite	-	-	N	+	-	-
Nitrogen gas	-	N	+	+	-	N
Gelatin	-	-	N	N	-	+
2.5 % NaCl	+	+	N	+	-	-
Growth at 42°C	P	P	N	N	-	-
Brown pigment	-	-	-	-	-	-
Penicillin sensitive	-	N	+	+	+	-
Acetate	P	N	+	-	-	-

+ = Positive 99-100%

- = Negative 99-100%

P = Positive > 50%

N = Negative > 50%

Table III. Show organisms isolated from clinical specimens

Organism	Number of Strain	Percentage of Isolation
<i>Ps. aeruginosa</i>	39	35.15
<i>Ps. cepacia</i>	9	8.18
<i>Ps. putrefaciens</i>	2	1.81
<i>Ps. maltophilia</i>	2	1.81
<i>Ps. diminuta</i>	2	1.81
<i>Ps. putida</i>	3	2.70
<i>Ps. acidovarans</i>	3	2.70
<i>Alc. faecalis</i>	8	7.20
<i>Alc. denitrificans</i>	2	1.80
<i>Ac. lwoffii</i>	5	4.50
<i>Ac. anitratum</i>	15	13.53
<i>C. typhiflavum</i>	2	1.81
<i>Mor. kengii</i>	5	4.50
<i>Mor. osloensis</i>	1	0.90
<i>Flavobacterium spp.</i>	8	7.2
Unidentified	5	4.50
Total	111	100.00

ได้แก่ Motility Test, Oxidation of carbohydrate และ Oxidase Test ต้องระมัดระวังในการอ่านผลเป็นพิเศษ⁽¹⁰⁾ สำหรับการทดลองครั้งนี้ ใช้ Motility Test Medium ซึ่งเป็น Semisolid media ในการทดสอบการ motile ของเชื้อที่ต้อง Inoculate เชื้อแบบ Stab ลงไปใน Test media บางครั้งเชื้ออาจจะไม่เจริญขึ้นใน media ส่วนที่อยู่ลึกลง

ไป เพราะว่าเชื้อขาด Oxygen⁽¹⁰⁾ แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบการ Motile ของเชื้อโดยวิธีนี้ต้องสังเกตเชื้อตรงบริเวณผิวหน้าของ media ซึ่งอาจมีลักษณะของการที่เชื้อเจริญแผ่ ออกเข้าไปในเนื้อของ agar ได้ชัดเจนกว่าตอนที่อยู่ลึก ๆ

สำหรับการคัดกรกที่เกิดขึ้นจากการ Oxidise น้ำตาลต่าง ๆ นั้น media ที่ใช้ทดสอบควรจะได้มีการควบคุมสภาพ pH อย่างระมัดระวัง ไม่ควรให้ pH ผิดไปจาก direction เพราะจะมีผลต่อการเกิดขึ้นมาซึ่งมีอยู่น้อยอยู่แล้วทำให้สีของ Indicator ไม่อาจเปลี่ยนแปลงไปได้

เชื้อที่ identify ได้จาก Clinical specimen พบว่าเป็น *Pseudomonas aeruginosa* 35.15%, *Acinetobacter anitratum*, 13.53% นอกนั้นเป็นเชื้อชนิดอื่น ๆ ที่พบได้จากการทดลองนี้ แต่ % การพบมีน้อยลงตามที่แสดงไว้ใน Table III จะเห็นได้ว่าใน Clinical specimen เชื้อที่เป็น predominate สำหรับเชื้อพวก Non-fermentative gram-negative ได้แก่ *Ps. aeruginosa* ซึ่งพบว่าเป็นตัวทำให้เกิดโรคสำคัญในคน ซึ่งสนับสนุนข้อเขียนของ Sandlin⁽¹⁰⁾

Abstract.

From the collection of many results for the tests of non-fermentative gram negative bacilli, it could be easily schemed and given as a simple key test for

the identification of these organisms. In this study, of 111 clinical specimens, 88.29% of these organisms have been identified by this scheme and key to genus and species; and the remaining unknown species, i.e., *Achromobacter* species, *Flavobacterium* species, and unidentified species, have been isolated in 3.6, 7.2 and 0.9 percent respectively

Non-fermentative gram negative bacilli were identified by the following tests: pigment or H_2S production, and reaction on TSI, motility, oxidase test, oxidation-fermentation tests on glucose, galactose, maltose, mannite and fructose, 10% lactose, ONPG, urea, nitrate reduction, gelatin liquefaction, growth on 6.5 and 2.5% NaCl and at 42°C. penicillin sensitivity test, acetate, citrate, indole, catalase, and phenylalanine deaminase tests. And the isolated organisms were as follows: *Pseudomonas aeruginosa*, *Ps. cepacia*, *ps. putrefaciens*, *Ps. maltophilia*, *ps. diminuta*, *Ps. putida*, *Ps. acidovarans*, *Alcaligenes faecalis*, *Alc. denitrificans*, *Acinetobacter lwoffii*, *Ac. anitratum*, *Achromobacter* species, *Flavobacterium* species, *Moraxella kengii* and *Mor. osloensis*.

References :-

1. Airo, R., Apollonio, T., and Pranzo, A. Neonatal Meningitis due to *Mima polymorpha*, *Lancet* 1:611-612, 1971.
2. Bailey, W.R., and Scott, E.G. *Diagnostic Microbiology*. 3rd edition, chapter 29 p 220-222 and part X., 1970.
3. Editorial. *Pseudomonas Bronchopneumonia*. *Lancet* 1:1110-1111, 1971.
4. Gillies, R.R., and Dodds, T.C. *Pseudomonas pyocyanea* in *Bacteriology Illustrated*, chapter 14, page 106-108, 1973.
5. Grilardi, G.L. Characterization of non-fermentative non-fastidious gram negative bacteria encountered in medical bacteriology. *J. Appl. Bacteriol* 34:623-644, 1971:
6. Kantor, L.T., Kominos, S.D., and Yee, R.B. Identification of non-fermentative gram negative bacteria in the clinical laboratory. *Am. J. Med. Tech.* 41:3-9, 1975.
7. Pedersen, M.M., Marso, E., and Pickett, M.J. Non-fermentative bacilli associated with man: III. Pathogenicity and antibiotic susceptibility. *Am. J. Clin. Path.* 54:178-192. 1970.

1. Airo, R., Apollonio, T., and Pranzo, A. Neonatal Meningitis due to

8. Pickett, M.J. and Manclark, C.R. Non-fermentative bacilli associated with man:I. Nomenclature. Am J. Clin. Path. 54:155-163, 1970.
9. Pickett, M.J. and Pedersen, M.M. Non-fermentative bacilli associated with man:II. Detection and identification. Am. J Clin. Path. 54:164-177, 1970.
10. Sandlin, C. Identification of non-fermentative gram negative rods in clinical materials. AM. J. Med. Tech. 40:326-331, 1974.
11. Speller, D.C.E., Stephens, M.E., and Viant, A.C. Hospital infection by pseudomonas cepacia. Lancet 1:798-799, 1971.

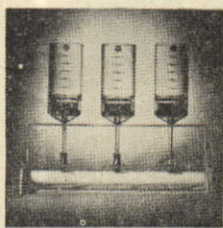


MAGNETIC FILTER FUNNEL
47 mm
The Only Funnel with
Magnetic Coupling

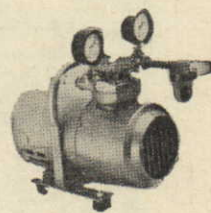
Applications:
Bacteriological testing requiring equipment that can be autoclaved for complete sterility; a broad variety of pharmaceutical, biological and water testing procedures; chemical prefiltering.



GELMAN INSTRUMENT COMPANY



FILTER FUNNEL MANIFOLD
Designed for use with three
47 mm Magnetic Filter Funnels



LITTLE GIANTS
Oil-Less Pressure/Vacuum
Piston Pumps for Long Service

For more information please contact

SIAM MEDICO SUPPLY CO., LTD.

26/3 MAHAESAK ROAD, BANGKOK

Tel. 2336797, 2337433 | Ext. 191, 192

Cable address: MEDICO BANGKOK.



บริษัท สยามเมดิโก ซัพพลาย จำกัด

26/3 ถนนมหาเสกย์ กรุงเทพมหานคร

โทร. 2336797, 2337433 ต่อ 191 192

โทรเลขย่อ: เมดิโก กรุงเทพฯ.