

ชูโดโมนาส แอร์รูจินอซ่า ในประเทศไทย
PSEUDOMONAS AERUGINOSA IN THAILAND

1. ลักษณะของเชื้อ^{๕*}

1. CHARACTERS OF ORGANISMS

เกรียงศักดิ์ สายธนู

เกรียงศักดิ์ พูนสุข

Kriengsak Saitanu

Kriengsak Poonsuk

หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ภท. 10500

Division of Microbiology, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science,
Chulalongkorn University, Bangkok Metropolis 10500.

Abstract

Four hundred and forty one strains of *Pseudomonas aeruginosa*, 397 strains from 6 hospitals in Bangkok and 44 strains from Animal Hospital, were subjected for morphological and biochemical properties studies. The organisms were very identity. Eight out of 66 characters were highly resolving and simple to perform in the diagnostic laboratory. They are oxidase, O-F test, haemolysis, reduce nitrate to gas, H₂S, urease, pigment production on King A and King B.

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาลักษณะทางรูปร่าง และทางชีวเคมีของเชื้อ ชูโดโมนาส แอร์รูจินอซ่า จำนวน 441 เซตรอน ซึ่งเป็นเชื้อจากผู้ป่วยในโรงพยาบาล 6 แห่ง จำนวนผู้ป่วย 397 เซตรอน และจากสัตว์ 44 เซตรอน เชื้อทั้งหมดที่ศึกษามีลักษณะที่เหมือนกันมาก จาก 66 ลักษณะที่ได้ทำการ

* งานวิจัยนี้ ได้รับทุน สมเด็จพระมหิตลาธิเบศร อดุลยเดชวิกรมพระบรมราชชนก

ศึกษา ปรากฏว่ามี 8 ลักษณะที่มีความสำคัญมากที่สุดสำหรับใช้พิสูจน์เชื่อนี้ ลักษณะดังกล่าวคือ ออกซิเดส โอ-เอฟ เทส, ซีโมลย์ซีส, การผลิตแกสจากไนเตรต, ไฮโดรเจนซัลไฟด์, ยูเรียเอส, และการให้สารสีในอาหารเลี้ยงเชื้อ คิงส์ เอ และ คิงส์ บี.

บทนำ

ซูโตโมนาส แอร์รูจิโนซ่า เป็นเชื้อที่อยู่ในจีสซูโตโมนาส ซึ่งมีผู้พบว่ามีกว่า 100 ชนิด อยู่ในจีสนี้ แต่ได้มีการศึกษาคุณลักษณะต่าง ๆ อย่างละเอียดพอที่จะแยกเป็นสปีชีส์ต่าง ๆ ได้เพียง 27 สปีชีส์เท่านั้น⁽²¹⁾ ซูโตโมนาส แอร์รูจิโนซ่า พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ดิน น้ำ อาหาร พืชผัก เป็นต้น^(20, 11, 12, 24, 25) นอกจากนี้แล้วยังพบเชื้อในคนและในสัตว์โดยไม่ทำให้เกิดโรค⁽²²⁾ อย่างไรก็ตาม เมื่อเกิดการติดเชื้อด้วยเชื่อนี้ในคนและสัตว์ อาการของโรคจะรุนแรงมาก เนื่องจากอุบัติการณ์ของโรคติดเชื้อ ซูโตโมนาส แอร์รูจิโนซ่า เกิดขึ้นเป็นประจำทั้งในวงการแพทย์และสัตวแพทย์

มีอยู่บ่อยครั้งการพิสูจน์เชื่อนี้มักจะผิดพลาด ด้วยเหตุนี้เอง จึงได้มีผู้ศึกษาลักษณะของเชื่อนี้กันมาก ทั้งศึกษาเปรียบเทียบใน จีส ซูโตโมนาส^(3, 19, 23) และศึกษาเฉพาะ ซูโตโมนาส แอร์รูจิโนซ่า^(13, 2) นอกจากนี้ยังมีผู้รายงานลักษณะเฉพาะตัวของเชื่อนี้อีกด้วย^(13, 18) ซึ่งจะพบว่า ซูโตโมนาส แอร์รูจิโนซ่า ก่อนข้างจะมีลักษณะเฉพาะ สำหรับสเตรนในประเทศไทย ยังไม่มีผู้ใดศึกษาลักษณะต่าง ๆ โดยละเอียด ผู้วิจัยจึงเห็นว่า การศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของเชื่อนี้ ทั้งทางรูปร่างและทางชีวเคมีจะมีประโยชน์อย่างยิ่ง ที่จะนำมาวิเคราะห์เพื่อให้ทราบถึงลักษณะของเชื่อนี้ที่แท้จริง และประการสำคัญเพื่อนำมาเป็นแนวทางสำหรับห้องปฏิบัติการทั่วไป ที่จะใช้ในการพิสูจน์เชื่อนี้

วัสดุและวิธีการ

แหล่งที่มาของเชื้อ ซูโตโมนาส แอร์รูจิโนซ่า ที่นำมาศึกษาครั้งนี้ จำนวน 441 สเตรน โดยซื้อทั้งหมดได้รับการพิสูจน์ขั้นต้นว่าเป็น ซูโตโมนาส แอร์รูจิโนซ่า จากโรงพยาบาลต่าง ๆ 6 แห่ง จำนวน 397 สเตรน และจากสัตว์ป่วยที่แยกได้จากห้องปฏิบัติการนี้อีก 44 สเตรน สำหรับ

รายละเอียดเกี่ยวกับที่มาของเชื้อจากแต่ละแห่งแสดงไว้ในตารางที่ 1 เชื้อทั้งหมดก่อนนำมาทำการ
ศึกษา จะต้องนำมาทำให้บริสุทธิ์ (purified) แล้วเก็บไว้ใน Sugar free agar ในหลอดแก้ว ปิด
ด้วยจุกไม้ก๊อกซึ่งฉาบด้วยพาราฟินแข็งและเก็บไว้ในตู้เย็นตลอดเวลา เมื่อนำมาศึกษาต้องเพาะ
เชอบน Blood agar ก่อน

Table 1. Sources of *Pseudomonas aeruginosa*, 441 strains.

Site of infection	Places		Total
	Hospitals ¹	Author isolates ²	
Vaginal swabs	15	0	15
Eye swabs	24	0	24
Ear swabs	22	20	42
Sputum and throat swab	81	0	81
Stool and rectal swab	36	5	41
Urine	60	0	60
Pus	97	8	105
Blood	19	5 ³	24
Others	13 ⁴	6 ⁵	19
Unknown	30	0	30
Total	397	44	441

1. Ramathibodi Hospital 146 strains, Rajvithee H. 113 strains, Siriraj H. 51 strains, Chulalongkorn H. 49 strains, Pramongkut H. 23 strains and Police H. 15 strains,
2. Most strains were isolated from dogs
3. Three strains were isolated from chicken and 2 from dogs.
4. CSF 4 strains, lung tissues and thoracic fluid 5, abdominal fluid 2, appendix 1 and 1 strains from bile.
5. From cow mastitis, chicken livers, and coccodile livers, 2 strains from each.

Table 2. (Continued)

Characters	Percentage Positive	Characters	Percentage Positive
Urease	3	Rhamnose	0
Pigment Production on :		Lactose	0
King A	89	Maltose	1
King B	94	Saccharose	29
Organic Acid as source of		Trehalose	41
Carbon :		Malibiose	88
Citrate	100	Raffinose	0
Pyruvate	99	Mannitol	88
Benzoate	46	Glycerol	96
Tartrate	1	Adonitol	0
Acetate	95	Erythriol	0
Oxalate	1	Dulcitol	0
Malonate	100	Inositol	0
Acid Production from :		Sorbitol	0
Glucose	100	Cellobiose	0
Mannose	91	Sorbose	0
Fructose	89	Starch	0
Galactose	93		
Arabinose	62		
Xylose	95		

วิจารณ์

จากการศึกษาลักษณะของเชื้อ *ซูโดโมนาส แอร์รูจิโนซ่า* สเตรนที่แยกได้ในประเทศไทยพบว่า มีลักษณะเหมือนกับรายงานของผู้อื่น^(2,8,9) มีบางลักษณะเท่านั้นที่แตกต่าง เช่น การผลิตยูเรียเอส โดยการศึกษาค้นพบว่าเชื้อส่วนใหญ่ไม่สามารถผลิตยูเรียเอสได้เลย (3% ให้ผลบวก) แต่ Gierloff และ Lefmann⁽⁶⁾ ได้รายงานการผลิตยูเรียเอสของเชื้อนี้ไม่แน่นอน ส่วนรายงานของ Gilardi^(7,8,9) เชื้อให้ผลบวกถึง 90% มีอีก 2 ลักษณะที่ไม่แตกต่างจากรายงานของ Gilardi คือ การไฮโดรลีสซิสของเจลาตินและเคซีน 98% ให้ผลบวก แต่ Gilardi ให้ผลบวกเพียง 60%

เพื่อความสะดวกในการที่จะพิสูจน์เชื้อให้แน่ชัด ผู้วิจัยจึงคัดเลือกเอาลักษณะที่เด่นและการทดสอบสามารถกระทำได้ง่ายทั้งหมด 8 ลักษณะ คือ ออกซิเดส, ออกซิเตดีฟ และ เพอร์-เมนเตดีฟ, การไฮโมลีสซิสเม็ดเลือด, การให้แกสจากไนเตรต, แกสไข่เน่า, ยูเรียเอส, และการผลิตสีในอาหาร King A และ King B (ตารางที่ 3)

Table 3. Characteristics useful for identification of *Pseudomonas aeruginosa*¹.

Characters	Reaction
Oxidase	+
O-F Test	Oxidative
Hemolysis	+
Nitrate reduction to gas	+
H ₂ S	-
Urease	-
Pigment production in :	
King A	+
King B	+

1 = The results were extracted from tables 2

+ = 80-100% strains are positive

- = 0 - 20% strains are positive

คุณสมบัติที่เชื้อสามารถสร้างสารพิษโอธัยยานินและฟลูออเรสซิน เป็นลักษณะที่เด่นของเชื้อ Hugh และ Gilardi⁽¹⁵⁾ กล่าวว่า ซูโคโมนาส แอร์รูจิโนซ่าเท่านั้น ที่สามารถสร้างพิษโอธัยยานินได้ จากที่ทำการศึกษาศเทรนส่วนมากสามารถสร้างสารนี้ได้ (89%) และทุกสเทรนสร้าง ฟลูออเรสซิน (94%) ลักษณะที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือความสามารถที่จะเจริญเติบโตได้ที่ 42° ซ.⁽¹⁴⁾

อย่างไรก็ตาม การทดสอบคุณสมบัติหลาย ๆ ลักษณะที่รวบรวมไว้ในตารางที่ 3 ก็เพียงพอที่จะพิสูจน์เชื้อ ซูโคโมนาส แอร์รูจิโนซ่า

เอกสารอ้างอิง

1. Brugh, P.A. and E. Malling Olsen 1956. Vejledning for Veterinaerstuderende ved Kursus I. Bakteriologi. D.S.R., Kgl. Veterinarer-og Landbohojskole, Kobenhaven, PP. 1-75
2. Colwell, R.R. 1964. A Study of Features Used in the Diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Gen. Microbiol. 37: 181-194.
3. Colwell, R.R. and J. Liston 1961 a. Taxonomic Relationships Among the Pseudomonas. J. Bacteriol. 82: 1-14.
4. Cowan, S.T. 1974. Manual for the identification of medical bacteria. Second edition. University Printing House, Cambridge, Great Britain.
5. Doudoroff, M. and N.J. Palleroni 1974. Genus I Pseudomonas In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Edition: R.E. Buchanan N.E. Gibbons, S.T. Cowan, J.G. Holt, J. Liston, R.G.E. Murray, C.F. Niven, A.W. Ravin, and R.Y. Stanier. Eighth edition. Waverly Press, Inc. Mt. Royal and Guilford Aves. Baltimore, Md. 21202, U.S.A. 212-243.
6. Gierloff, B.C.H. and G. Lefmann. 1976. *Pseudomonas aeruginosa* III Identification of Bakteriostammer isoleret fra blaraev (*Alopex lagopus*) i en dansk pelsdyrfarm. Nord. Vet. Med. 28: 250-264.

7. Gilardi, G.L. 1971. Characterization of *Pseudomonas* Species Isolated from Clinical Specimens. *Appl. Microbiol.* 21 : 414-419.
8. Gilardi, G.L. 1972. Practical Schema for the Identification for Nonfermentative Gram Negative Bacteria Encountered in Medical Bacteriology. *Amer. J. Med. Tech.* 38 : 65-71.
9. Gilardi, G.L. 1975. Identification of Pigmented Gram Negative Bacilli. *Health Lab. Sci.* 12 : 311-315.
10. Gordon, E.R. and M.M. Smith. 1953. Rapid Growing, acid-fast bacteria I Species description of *Mycobacterium phlei* and Neumann and *Mycobacterium Smegmatis* (Trevison) Lehmann and Neumann. 60 : 41-48.
11. Green, S.K., M.N. Schroth, J.J. She, S.D. Kominos, and V.B. Vitanza-Jack. 1974. Agricultural plants and soils as a reservoir for *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Microbiol.* 28 : 987-991.
12. Grun, L. 1974. *Pseudomonas*-Hospitalismus. *Zbl. Bakt. Hyg., I Abt. Orig. B.* 159 : 277-287.
13. Haynes, W.C. 1951. *Pseudomonas aeruginosa* its characterization and identification. *J. Gen. Microbiol.* 5. 939-950.
14. Hendric, M.S. and J.M. Shewan. 1966. The Identification of Certain *Pseudomonas* Speceis. In *Identification Methods for Microbiologist Part A*. Edited by B.M. Gibbs and F.A. Skinner. Academic Press Inc. (London) Ltd. P. 1-7.
15. Hugh, R. and G.L. Gilardi. 1974. *Pseudomonas* : In *Manual of Clinical Microbiology*, Second edition, Edited by E.H. Lennet, E.H. Spaulding and J.P. Truant. American Society of Microbiology. 1913. I st. N.W. Washington U.S.A. PP. 250-269.

16. Hugh, R. and E. Liefson. 1953. The Taxonomic Significance of Fermentative versus Oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. J. Bacteriol. 66 : 24-26.
17. King, E.O., M.K. Ward and D.E. Reney. 1954. Two Simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresscin. J. Lab. Clin. Med. 44 : 301-307.
18. Kovac, N. 1966. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the Oxidase Reactions. Nature. London. 178 : 703.
19. Lysenko, O. 1961. *Pseudomonas* an attempt at a general classification. J. Gen. Microbiol. 25 : 379-408.
20. Shooter, R.A., E.M. Cooke, M.C. Faiers, A.L. Breaden and S.M. O. Farrel. 1971. Isolation of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella* from food in Hospitals, Canteens and Schools. Lancet, 2: 390-392.
21. Skerman, V.B.D., V. McGowan and P.H.A. Sneath. 1980. Approved lists of Bacterial Names. Int. J. Syst. Bacteriol. 30 : 225-420.
22. Solari, A.A., A.A. Dato, M.M. Herrero, M.S.D. de Cremaschi, M.I. de Reid, L.P. Salgado, and M.T. Pincetra. 1960. Use of selective enrichment medium for the isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from feces. J. Bacteriol. 87 : 190.
23. Stanier, R.Y., N.J. Palleroni and M. Doudoroff. 1966. The Aerobic *Pseudomonas* : A Taxonomic study. J. Gen. Microbiology, 43 : 159-271.
24. Trust, T.J. and Karen H. Bartlett. 1976. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* and other Bacteriol. Species from Orgamental Aquarium Plants. Appl. Environ. Microbiol. 31 : 992-994.
25. Wright, S., S.D. Keminos and R.B. Yee. 1976. Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* recovered from vegetable Salads. Appl. Envir. Microbiol. 31 : 453-454.