

บรรณานุกรม



เอกสารอ้างอิง

1. Wayne, L.G. "The Atypical Mycobacteria. Recognition and Disease Association" Critical Review in Microbiology 12, 185-222, 1985.
2. Grange, J.M., "Infection and Disease due to the Enviromental Mycobacteria" Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 81, 179-182, 1987.
3. Lance, F. "Atypical Mycobacteria: Their Clinical, Laboratory, and, Epidermiologic Significance" Medicine. 49(3), 243-255, 1970.
4. Wolinsky, E. and T.K. Rynerson, "Mycobacteria in soil and their Relation to Disease Association Strain" Am. Rev. Respir. Dis 97, 1032-1037, 1968.
5. Collins, C.H., J.M. Grange, and M.D. Yates "Unusual Opportunist Mycobacteria" Med. Lab. Sci. 43, 262-268, 1986.
6. Good, R.C., "Oppòrtunistic Pathogen in the Genus Mycobacterium." Am. Rev. Microbiol. 39, 347-369, 1985.
7. Wayne, L.G., and G.P. Kubica., "Genus Mycobacterium. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" Volumn.II (Sneath, P.H. A.,N. Mair., M.E. Sharpe., and J.G. Holt eds.) pp. 1435-1457, The Williams & Wilkins Company, Baltimore, USA, 1968.
8. Alvarez, E., and E. Travel, "Recherches surte Bacille de Lustgarden." Archs Physiol Norm. Pathol 6, 303-321, 1885.

9. Buhler, V.B., and A. Pollak., "Human Infection with Atypical Acid-fast Organism. Report of two Cases with Pathogenic Finding." Am. J. Clin. Patho. 23, 363-374, 1953.
10. Runyon, E.H., " Anonymous Mycobacteria in Pulmonary Disease. " Med. Clin. North. America. 43,273-290,1959.
11. Tashiaki, E., M. Motomiya., and K. Murakata., "Pigment of Unclassified Mycobacteria." Am. Rev. Respir. Dis. 87, 740-743, 1962.
12. Wolinsky, E., "Nontuberculous Mycobacteria and Associated Disease" Am. Rev. Respir. Dis. 119, 107-160, 1979.
13. Sneath, P.H.A. " The Application of Computer to Taxonomy. " J. Gen. Microbiol. 17, 201-226, 1957.
14. Wallace, R.J., Jr., J.M. Swenson, V.A. Silcox, R.C. Good, J.A. Tschen, and M.S. Stone., "Spectrum of Disease due to Rapidly Growing Mycobacteria" Rev. Inf. Dis. 5, 675, 1983.
15. Casimir, M.T.,V. Fainstein.,and P. Nicholas. "Cavity Lung Infection Caused by Mycobacterium flavescens." South. Med. J. 75(2), 253-254, 1982.
16. Davidson, M.B., J.G. Mc.Carmark, Z.M. Blacklock, D.J. Dawson, M.H. Tilse.,and F.B. Crimmins, " Bacteremia. Caused by Mycobacterium neoaurum " J. Clin. Microbiol. 26(4), 762-764, 1988.
17. Goodfellow, M., A. Fleming., and M.J. Sackin., "Numerical Classification of " Mycobacterium, Rhodochous and Runyon's Group IV Mycobacteria." Int. J. syst. Bacteriol. 22(2), 81-98, 1972
18. Bailey, R.K., S. Wyles., M. Dirgley, F. Hesse, and G.W. Kent., "The Isolation of High Catalase Mycobacterium kansasii

- from Tap water." Am. Rev. Respir. Dis. 101, 430-431, 1970.
19. Bullin, C.H., E.I. Tanner, and C.H. Collins, "Isolation of Mycobacterium xenopi from Water Taps." J. Hyg. 68, 97-100, 1970.
20. Mc. Swiggam, D.A., and C.H. Collins, "The Isolation of Mycobacterium kansasii and Mycobacterium xenopi from Water System." Tubercle 55, 291-297, 1974.
21. Frey, C.A., "A Method for Detect Acid fast Bacteria in the Soil." Science 71, 366, 1930.
22. Frey, C.A., and W.A. Hagan, "The Distribution of Acid-fast Bacteria in Soils." J. Inf. Dis. 49, 497-506, 1931.
23. Dauson, D.J., "Potential Pathogen among Strain of Mycobacteria Isolated from House Dust." Med. J. Aust. 1, 678-681, 1971.
24. Jefferies, M., E.C. Prathir, A.V. Hardy, and D.J. Wharton. "Unclassified Mycobacteria Cultured from Soil." Am. Rev. Respir. Dis. 88, 129, 1963.
25. Kubica, G.P., E.R. Beam, and J.W. Palmer, "A Method for the Isolation of Unclassified Acid fast Bacilli from Soil and Water." Am. Rev. Respir. Dis. 88, 718-720, 1963.
26. Jore, R.J., and D.E. Jenkins. "Mycobacteria Isolated from soil." Can. J. Microbiol. 11(2), 127-133, 1965.
27. Kagramanov, A.I., "Some Recent Results in Isolating Atypical Mycobacteria from Cattle and their Environment." Bull. Int. Un. Ag. Tuberc. 39, 116-118, 1967.
28. Kasatiya, S.I., I. De. Thokoly, and M. Guertin, "Atypical Mycobacteria Isolated from Surface Water in Quebec." Rev. Epidemiol. 22(3), 171-184, 1974.



29. Goslee, S., and E. Wolinsky, " Water as a Source of Potentially Pathogen Mycobacteria." Am. Rev. Respir. Dis. 113, 287-292, 1976.
30. Byoung, W.J., H. Saito, and Z. Yoshi, " Environmental Mycobacteria in Korea. I. Distribution of the Organism." Microbiol. Immunol. 28(6), 667-677, 1984.
31. Petroff, S.A., " A New and Rapid Method for the Isolating and Cultivation of Tubercle Bacilli Directly from Sputum and Feces." J. Exper. Med. 21, 38-42, 1915.
32. Tacquet, A., and F. Tison, "A New Technique for the Isolation of Mycobacteria by mean of Sodium-lauryl-sulphate." Ann. Inst. Pasteur. 100, 676-680, 1961.
33. Kubica, G.P., R.E. Beam., And. J.W. Palmer, "A Method for the Isolation of Unclassified Acid- fast bacilli from Soil and Water." Am. Rev. Respir. Dis. 88, 718-720, 1963.
34. Corper, H.J., and N. Uyei., " The Isolation of Tubercle Bacilli from Contaminated Tuberculous Material" Am. Rev. Tuberc. 16, 299-322, 1927.
35. Paterson, R.A., T.L. Thompson, and D.H. Larsen, "The use of Zephiran in the Isolation of M. tuberculosis" Am. Rev. Tuberc 74(1), 284-288, 1956.
36. Reznikov, M., and J.H. Leggo. "Examination of Soil in the Brisbane Area for Organism of the Mycobacterium avium-intracellulare-Scrofulaceum complex." Pathology. 6, 269-273, 1974.
37. Kleeberh, H.H., and E.E. Nel "Occurence of Environmental Atypical Mycobacteria in South africa." Ann. Soc. Belge. Med. Trop. 53, 405-418, 1973.
38. Engbeak, H.C. "The Sensitivity of Atypical Mycobacteria to



- Sodium hydroxide and a surface Active Agent("Taepol").  
Acta. Tuberc. et. Pneum. Scand. 62(1), 1-13, 1962.
39. Krasnov, I, and L.G. Wayne " Sputum Digestion I. The Mortality Rate of Tubercle Bacilli in various Digestion Systems." Am. J. Clin. Pathol. 45, 352-355, 1966.
40. Lorian, V., and S. Maddock, "The Effect of Anticontamination Agents in Media for the Isolation of Mycobacteria." Dis. Chest. 50, 630-632, 1966.
41. Gruft, H., " Nalidixic acid as a Decontaminant in Lowenstein Jensen Medium." J. Bacteriol. 90, 829, 1965.
42. Corper, H.J., and M.L. Cohn. " Cyclonheximide as a Fungicide in Solid Media for Growing Tubercle Bacilli from Sputa." Antibiotic. and Chemother. 2, 12-15, 1952.
43. Petran, E.I., and H.D. Vera, " Media for Selective Isolation of Mycobacteria." Health. Lab. Sci. 8(4), 225-230, 1971.
44. Mark, J., and T. Szulga, " Thin-layer Chromatography of Mycobacteria Lipids as an Aid of Classification; Technical Procedures; M. fortuitum." Tubercle. 46, 400-411, 1965.
45. Tisdoll, P.A., D.R. Deyoung., G.D. Roberts, and J.P. Anhalt." Identification of Clinical Isolate of Mycobacteria with Gasliquid Chromatography:a 10 months follow up Study. " J. Clin. Microbiol. 16, 400, 1982.
46. Tsong, A.Y., V.L. Barr, J.K. Mc. Clatchy, M. Goldberg, I. Drupa., and. P.J. Brennan. "Antigenic relationship of the M. fortuitum M. chelonae Complex." Int. J. Syst. Bacteriol. 34, 35, 1984.
47. Jenkin, P.A., J. Marks, and W.B. Schaafer. " Lipid Chromatography and Seroagglutination in the Classification of Rapidly

- Growing Mycobacteria" Am. Rev. Respir. Dis. 103, 179-187, 1971.
48. Wayne, L.G., and W.M. Gross, " Base Composition Deoxyribonucleic acid Isolated from. Mycobacteria" J. Bacteriol. 96. 1915-1919, 1968
49. Gross, W.A., and L.G. Wayne, "Nucleic acid Homology in the Genus Mycobacterium. " J. Bacteriol. 104, 630, 1970.
50. Baess, I. " Deoxyribonucleic acid Relateness among Species of Slowly Growing Mycobacteria. " Acta. Pathol. Microbiol. Scand. B 87, 221, 1979.
51. Baess, I. " Deoxyribonucleic acid relateness among Species of Rapidly Growing Mycobacteria. " Acta. Pathol. Microbiol. Scand. B 90, 371, 1982.
52. Haas, H., Y. Davidson, and T. Sark "Taxonomy of Mycobacteria Studied by Polyacamide gel electrophoresis of all Protein." J. Med. Microbiol. 5, 31-37, 1972.
53. Haas, H., J. Michel, and T. Sack, "Identification of M. fortuitum, M. abscessus and M. borstelense by Polyacrylamide gel electrophoresis of their Cell Protein." Int. J. Syst. Bacteriol. 24, 366-369, 1974.
54. Takeya, K., R. Mori, K. Hisatsume., and T. Todo, "A Simple Hemolysis Test for the Classification of Mycobacteria. " Am. Rev. Respir. Dis. 87, 773-774, 1963
55. Kubica, G.P., I. Baess, R.E. Gordon, P.A. Jenkins, J.B.G. Kwaspinski, S.R. Pattyn, H. Saito, V. Silcox, J.L. Standford, K. Takeya, and M. Tsukamura, " A co-operative Numerical Analysis of Rapidly Growing Mycobacteria." J. Gen. Microbiol. 73, 55-70, 1972.

56. Saito, H, R.E. Gordon, I. Juhlin, W. Kappler, J.B.G. Kwapinski, G. McDurmant, S.R. Pattyn, J.L. Standford, I. Tarak, H. Tasaka, M. Tsukamura, and J. Weiszfeiler. "Co-operative Numerical Analysis of Rapidly Growing Mycobacteria: The Second Report." Int. J. Syst. Bacteriol. 27 75-85, 1977.
57. Tsukamura, M. "Numerical Analysis of Rapidly Growing, Non-photochromogenic Mycobacteria, including Mycobacterium agri (Tsukamura, 1972) Tsukamura Sp. nov., non rev." Int. J. Syst. Bacteriol. 31, 247-258, 1981.
58. Tsukamura, M., H.J. Van der Meulen, and W.O.K. Grabow, "Numerical Taxonomy of Rapidly Growing, Scotochromogenic Mycobacteria of the Mycobacterium parafortuitum Complex: Mycobacterium austroafricanum sp. nov., and Mycobacterium diernhoferi sp. nov., non rev." Int. J. Syst. Bacteriol. 33, 460-469, 1983
59. Tsukamura, M., and I. Satochi, "Numerical Classification of Rapidly Growing nonphotochromogenic Mycobacteria" Microbiol. Immunol. 39(9), 863-882, 1986.
60. Gangadharam, P.R., and A.L. Droubi, "Identification of Mycobacteria by Smear Examination of the Culture," Tubercle 62, 123-127, 1981.
61. Saitanu, K., "Theoretical and Experimental Studies on the Atypical Mycobacteria with Special Reference to Prevalence Taxonomy and Pathogenicity, Licentiatatavhandling, Danmark P31, 1976.
62. Kubica, G.P., "Differential Identification of Mycobacteria. Key Feature for Identification of Clinically Significant Mycobacteria." Am. Rev. Respir. Dis. 107, 9-12, 1973.
63. Mark, J. "Identification of Mycobacteria as a Clinical Service."



- Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 53, 247-254, 1973.
64. Mark, J. "Classification of the Mycobacteria in Relation to Clinical Significance" Tubercle 53, 259-264, 1972.
65. Konno, K., "New Chemical Method to Differentiate Human-type Tubercle Bacilli from Other Mycobacteria." Science 124, 985, 1956.
66. Runyon, E.H., M.J. Selin, and H.W. Harris, "Distinguishing Mycobacteria by the Niacin Test." Am. Rev. Tuberc. Pulm. Dis. 79, 663, 1959.
67. Medveczky, E., "A micro method for the routine differentiation of Human Tubercle Bacilli from Other Mycobacteria in Primary Culture." Am. Rev. Respir. Dis. 81, 757-758, 1960.
68. Virtanen, S. "A Study of Nitrate Reduction by mycobacteria. The Use of Nitrate Reduction test in the Differentiation of Mycobacteria" Acta Tuberculosea Scandinavica Supplement. 48, 1-119, 1960.
69. Wayne, L.G., and J.G. Dubeck., "Classification and Identification of Mycobacteria. II Test Employing Nitrate and Nitrite Substrate." Am. Rev. Respir. Dis. 91, 738, 1965.
70. Kubica, G.P., W.D. Jones, Jr., V.D. Abbott., R.E. Beam, J.O. Killburn., and J.C. Carter Jr., "Differential Identification of Mycobacteria I. Test on Catalase Activity." Am. Rev. Respir. Dis. 91, 738, 1965.
71. Kubica, G.P., and G.L. Pool., "Studies on the Catalase Activity of Acid-fast bacilli. I. An Attempt to Subgroup These Organism on the Basis of Their Catalase Activity at Different Temperature and pH." Am. Rev. Respir. Dis.

- 81, 387-391, 1960.
72. Vestral, A.L. Procedure for the Isolation and Identification of Mycobacteria Us. Dept of Health Education and Welfare Public Health Service. DHEW Publ. NO.(HSM) 73-8230. Service. DHEW Publ. NO.(HSM) 73-8230.
73. Wayne, L.G., "Differentiation of Mycobacteria by Their Effect on Tween 80." Am. Rev. Respir. Dis. 86(2), 579-581, 1962.
74. Wayne, L.G., J.R. Doubek, and R.L. Russell, "Classification and Identification of Mycobacteria I. Test employing Tween 80 as a Substrate" Am. Rev. Respir. Dis. 90, 588-591, 1964.
75. Kilburn, J.O., V.A. Silcox, and G.P. Kubica., "Differentiation Identification of Mycobacteria, V, The Tellurite Reduction Test." Am. Rev. Respir. Dis. 99, 94-100, 1969.
76. Wayne, L.G., H.C. Engbeak, H.W.G. Engle, S. Froman, W. Gross, J. Hawkins, W. Kappler, A.G. Karlson, H.H. Kleeberg, I. Krasnow, G.P. Kubica, C. McDurmont, E.E. Nel, S.R. Pattyn, K.H. Schroder, S. Showalter, I. Tarnok, M. Tsukamura, B. Vergmann, and E. Wolinsky, "Highly Reproducible Technique for Use in Systematic Bacteriology in the Genus Mycobacterium. Test for Pigment, Urease, Resistance to Sodium chloride, Hydrolysis of Tween 80, and  $\beta$ -galactosidase." Int. J. Syst. Bacteriol. 24, 412, 1974.
77. Szabo, J., and E. Vandra, "Mycobacterium minetti (Penso et al 1952) Bacteriological and Epidemiological Observation." Acta. Microbiol. Acad. Sci. Hung. 10, 215-223, 1963.
78. Wayne, L.G., H.W.B. Engel, C. Grassi, W. Gross, J. Hawkins, P.A. Jenkins, W. Kappler, H.H. Kleeberg, I. Krasnow, E.E. nel,

- S.R. Pattyn, P.A. Richards, S. Showalter, M. Slosarek, I. Szabo, I. Tarnok, M. Tsukamura, B. Vergmann, and E. Wolinsky "Highly Reproducible Technique for Use in Systematic Bacteriology in the Genus Mycobacterium : Test for Niacin and Catalase and for Resistance to Isoniazid, Thiophene 2-Carboxylic acid Hydrazide, Hydroxylamine and P-nitrobenzoate "Int. J. Syst. Bacteriol. 26, 311, 1976.
79. Vestral, A.L., and G.P. Kubica., "Differential Identification of Mycobacteria Use of Thiacetazone, Thiophene -2- carboxylic acid hydrazide and triphenyltetrazolium chloride "Scand. J. Respir. Dis 48, 142-148, 1967.
80. Tsukamura, M, "Differentiation of Mycobacteria by Susceptibility to Hydroxylamine and 8-azaguanine." J. Bacteriol. 90, 556, 1965.
81. Gargadharam, P.R., and A.J. Drowbi, "Susceptibility of Mycobacteria to P-nitrobenzoic acid in Relation to their Niacin Production." Am. Rev. Respir. Dis. 108, 143-146, 1973.
82. Tsukamura, M. " Differentiation of Mycobacteria by Picric acid Tolerance." Am. Rev. Respir. Dis. 92, 491, 1965.
83. Tsukamura, M., and S. Tsukamura. "Differentiation of Mycobacteria by Susceptibility to Nitrite and Propyleneglycol." Am. Rev. Respir. Dis. 98, 505-506, 1968.
84. Tsukamura, M. "Identification of Mycobacteria. Research Laboratory of the National Sanatorium Chubu Chest Hospital Obu, AichiKen, Japan 474, June, 1974.
85. Gordon, R.E., and M.M. Smith., "Rapidly Growing, Acid-fast Bacteria. I Species' Description of Mycobacterium phlei



- Lechmann and Mycobacterium smegmatis (Trevisan) Lechmann and Neumann. J. Bacteriol. 6., 41-48, 1962.
86. Bonicke, R., "Identification of Mycobacteria by Biochemical Method" Bull. Int. Un. Tuberc. 32, 13-68, 1962.
87. Tsukamura, M., and J. Tsukamura. "Differentiation of Mycobacteria by Utilization of Nitrite as sole Nitrogen Source." J. Bacteriol 89, 1442, 1965.
88. Tsukamura, M., "Differentiation of Mycobacteria by Utilization of Nitrogen Compound as Simultaneous Nitrogen and Carbon Source." Am. Rev. Respir. Dis. 95, 307-310, 1967.
89. Sneath, P.H.A., "Computer Taxonomy. In "Method in Microbiology" Ed. J.R. Norris and D.W. Ribbons, Vol.7. Academic Press, 29-98.
90. Sokal, R.R., and C.D. Michener., "A Statistical method for Evaluating Systematic Relationship." Kansas. University. Science. Bullentin. 38, 1409-1438, 1958.
91. Collin, C.H., J.M. Grange, and M.D. Yates PHLS., "A Review Mycobacteria in Water." J. Appl. Bacteriol. 57(2), 193-211, 1984.
92. Paull, R, "An Environment Study of the Opportunistic Mycobacteria. Thesis, Institute of Medical Laboratory Science, London.
93. Chapman, J.S., "Ecology of the Atypical Mycobacteria." Arch. Environ. Health. 22, 41-46, 1971.
94. Carson, L.A., N.J. Paterson, M.S. Favero, and S.M. Aguiro, "Growth Characteristic of Atypical Mycobacteria in Water and Their Comparative Resistance to Disinfectants." Apple. Environ. Microbiol. 36, 839-846, 1978.

95. Gruft, H., J. Katz, and D.C. Blanchard, " Postulated Source of M.intracellulare Infection." Am. J. Epidemiol. 102, 311-318, 1975.
96. Grulf. H., A. Loder.,M. Osterhaut,B.C. Parker, and J.G. Falkinhams "Postulated Source of M.intracellulare and M. scrofulaceum Infection Isolation of Mycobacteria from Esturies and Ocean Water." Am. Rev. Respir. Dis. 120, 1385-1388, 1979.
97. Grulf, H., J.G. Falkinhams, and B.C. Parker, " Recent Experience in the Epidemiology of Disease Caused by Atypical Mycobacteria" Rev. Inf. Dis. 3, 990-996, 1981.
98. Kazda, J.M., "The Principles of the Ecology of Mycobacteria. In The Biology of the Mycobacteria. Vol.2 eds,Ratledge, C&Stanford, J.L. pp.323-341. London. A codemic Press, 1983.
99. Tsukamura M. , "Differentiation between M. abscessus and M. borstelens." Am. Rev. Respir. Dis. 101, 426-428, 1970.
100. Wayne,L.G., "Recognition of M. fortuitum by Mean of a Three days. Phenophthalein sulfate test. "Am. J. Clin. Pathol. 36, 185-187, 1961.
101. Tsukamura, M., "Mycobacterium chitae:A New Species" Jap. J. Microbiol. 11, 43-47, 1967.
102. Tsukamura, M., and S. Mizuno., "Numerical Analysis of Relationships among Rapidly Growing Scotochromogenic Mycobacteria." J. Gen. Microbiol. 98, 511-517, 1972.
103. Ausina, V., M. Luguin., and L. Margarit, "The Mycolic acid of M. chitae. " J.Gen. Microbiol. 131, 2237-2239, 1985.
104. Minnikin., D.E., S.M. Minnikin., M. Goodfellow..., and. J.L. Stan-

- ford " The Mycolic acid of M. chelonei." J. Gen. Microbiol. 128, 817-822, 1982.
105. Minnikin, D.E., S.M. Minnikin., I.G. Huchison., M. Good fellow., and J.M. Grange, " Mycolic acid pattern of Representative Strain of M. fortuitum., M. perigrinum., and M. smegmatis." J. Gen. Microbioli. 130, 363-367, 1984.
106. Tsukamura, M., "Some Consideration Regarding the Classification and Identification of Mycobacteria." Rev. Inf. Dis. 3(5), 829-840, 1981.
107. Kim. T.C., N.S. Arora., A.K. Thornas., and D.F. Rochester. "Atypical Mycobacteria Infection: A Clinical Study of 92 Patients." South. Med. J. 74(11), 1304-1308, 1981.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.การย้อมสี acid-fastวิธี Ziehl Neelsen staining method ประกอบด้วย

1. Carbol fuchsin
2. acid-alcohol
3. methylene blue

Carbol fuchsin

## ส่วนผสม

Basic fuchsin	1	กรัม
95% alcohol	10	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	90	มิลลิลิตร
phenol	5	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ละลาย basic fuchsin ก่อนในแอลกอฮอล์ เติมน้ำที่ละน้อยจนครบ, เขย่าให้เข้ากัน จึงเติม phenol ลงไป กรองผ่านกระดาษกรองเก็บไว้ใช้

Acid-alcohol 3%

- กรดเกลือเข้มข้น	3	มิลลิลิตร
- 95% alcohol	97	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ใส่กรดลงในแอลกอฮอล์ เขย่าให้เข้ากัน

Methylene blue

- |                  |     |           |
|------------------|-----|-----------|
| - methylene blue | 0.1 | กรัม      |
| - น้ำกลั่น       | 100 | มิลลิลิตร |

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น กวนจนละลายหมด

วิธีการย้อมสี acid-fast

1. ผสมเชื้อที่ได้จากบางส่วนของโคไลนี กับน้ำกลั่นที่หยดอยู่บนกระจกสไลด์ 1 หยด แล้วใช้ขีดลวดวงกลมที่ปลาย(loop) กระจายเชื้อให้ทั่วบนสไลด์ ให้มีความสม่ำเสมอ, ปลอ่ยทิ้งไว้ให้แห้ง, ผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง เพื่อตรึง(fix) ให้เชื้อติดบนกระจกสไลด์ไม่หลุดออกเวลาล้างน้ำ

2. วาดสี carbol fuchsin ให้ทั่วสไลด์
3. ลนไฟด้านใต้สไลด์ จนกระทั่งมีไอเกิดขึ้น แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
4. ล้างด้วยน้ำ
5. พอกสีด้วยน้ำยา acid alcohol นาน 5 นาที
6. ล้างด้วยน้ำ
7. ย้อมทับด้วยสี methylene blue นาน 10 วินาที
8. ล้างด้วยน้ำ
9. ทิ้งไว้ให้แห้ง, ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์

ภาคผนวก ข.

อาหารเลี้ยงเชื้อ



1. Lowenstein-Jensen (L-J) medium.

ส่วนประกอบ I

Bacto asparagine	3.6 กรัม
Monopotassium phosphate	2.4 กรัม
Magnesium citrate	0.6 กรัม
Magnesium sulfate 7H <sub>2</sub> O	0.24 กรัม
Glycerol	12.0 มิลลิลิตร
Malachite green(2%)	20.0 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	600.0 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แล้วนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ

(autoclave)

ส่วนประกอบ II

ไข่ไก่สด ไข่ทั้งไข่ขาวและไข่แดง, ตีให้เข้ากัน, แยกเอาฟองออก ไข่ปริมาณ  
1000 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

นำส่วนประกอบที่ II ผสมกับส่วนประกอบที่ I, เขย่าให้เข้ากัน แล้วถ่ายใส่ขวดปริ  
มาตรขวดละ 4-5 มิลลิลิตร นำเข้าตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 85-90 องศาเซลเซียส นาน  
1 ชั่วโมงครึ่ง ในสภาพเอียง(slant) เพื่อให้ไข่สุกอาหารจะแข็ง นำไปใช้ได้



## 2. Middlebrooke's 7H9 medium

### ส่วนผสม

Middlebrooke's 7H9 powder (Difco)	4.7 กรัม
น้ำกลั่น	900.0 มิลลิลิตร

### วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เทใส่ขวดสี่ขาขวดละ 180 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ, ทิ้งให้เย็น จากนั้นจึงเติม Middlebrooke's ADC enrichment (Difco) ลงไปขวดละ 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นสำหรับใช้ทดสอบ arylsulfatase และ tellurite reduction

## 3. Modified Sauton agar.(84)

### ส่วนผสม

Glycerol	30 มิลลิลิตร
Monopotassium dihydrogenphosphate	0.5 กรัม
Magnesium sulfate 7H <sub>2</sub> O	0.5 กรัม
Citric acid	2.0 กรัม
Ferric ammonium citrate	0.05 กรัม
Sodium glutamate	4.0 กรัม
Bacto agar	20.0 กรัม
น้ำกลั่น	970.0 มิลลิลิตร

### วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน, ปรับความเป็นกรดค่าที่ pH 7.0 ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี autoclave จากนั้นแบ่งใส่ขวดเลี้ยงเชื้อขวดละ 4-5 มิลลิลิตร ทิ้งให้อาหารแข็งในสภาพเอียง และแบ่งใส่ขวดฯละ 100 มิลลิลิตร ในสภาพธรรมดา เพื่อเตรียมไว้ใช้ทดสอบ tolerance คือ picric acid และ sodium nitrite ต่อไป

4. Modified dubos broth medium (84)

## ส่วนประกอบ I

Monopotassium phosphate	1.0 กรัม
Disodium hydrogen phosphate	6.25 กรัม
Magnesium sulfate .7 H <sub>2</sub> O	0.6 กรัม
Sodium citrate	1.5 กรัม
Asparagine	2.0 กรัม
Tween 80 10%	5.0 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000.0 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสม ทั้งหมดในน้ำกลั่น ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธี autoclave

## ส่วนประกอบ II

Albumin fraction V (Sigma)	9.0 กรัม
Normal saline 0.9 %	100.0 มิลลิลิตร

ละลาย albumin จนหมด ทำให้ปราศจากเชื้อโดยกรองผ่านกระดาษกรองที่มีรู

ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

นำส่วนประกอบที่ II ผสมกับส่วนประกอบที่ I ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 4% แล้วเก็บไว้ใช้สำหรับการทดสอบ  $\beta$ -galactosidase activity.

5. Medium for carbon utilization test (85)

## ส่วนประกอบ

Sodium chloride	1.0 กรัม
Magnesium sulfate anhydrous	0.2 กรัม
Ammonium hydrogen phosphate	1.0 กรัม
Potassium hydrogen phosphate	0.5 กรัม
Carbon source	2.0 กรัม
Bacto agar	15.0 กรัม

น้ำกลั่น

1000.0 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับความเป็นกรด, ค่า pH 7 (pH7) จากนั้นเติมสารละลายของ 0.2% phenol red 4 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 16x150 มิลลิเมตร หลอดละ 4 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี autoclave แล้วปล่อยให้แข็งในสภาพเอียง สารประกอบที่ใช้เป็นแหล่งของคาร์บอน คือ sodium citrate, sodium pyruvate, sodium succinate, sodium benzoate, sodium tartrate, sodium acetate, sodium oxalate, sodium malate, galactose, mannose, arabinose, xylose, melibiose และ rhamnose

6. Medium for carbohydrate acid production test. (85)

## ส่วนประกอบ

Ammonium hydrogen phosphate	1.0 กรัม
Potassium chloride	2.0 กรัม
Magnesium sulfate, anhydrous	0.2 กรัม
Bactor agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	100.0 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ผสมส่วนประกอบทั้งหมดให้ละลายเข้ากันดี, ปรับความเป็นกรดเป็นค่า pH 7 (pH7) จากนั้นเติม 0.2 % Bromcresol purple 3 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการ autoclave ปล่อยให้เย็นลงถึงอุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส จึงเติมสารประกอบคาร์โบไฮเดรตลงไป ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1% เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่หลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 13 x 100 มิลลิเมตร ปล่อยให้แข็งในสภาพเอียง สารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่เติมดังนี้คือ glucose, mannose, fructose, galactose, sucrose, sucrose, maltose, manitol, starch, glycerol, arabinose, xylose, rhamnose, lactose, melibiose, raffinose, inositol, ducitol, adonitol, sorbose, sorbitol และ trehalose



7. medium for nitrogen utilization test (84)

ส่วนประกอบ

Glucose	10.0 กรัม
Monopotassium dihydrogen phosphate	0.5 กรัม
Magnesium sulfate 7H <sub>2</sub> O	0.5 กรัม
Bacto agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000.0 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมต่างๆ ปรับความเห็นกรดค่าที่ 7 (pH7) ทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้วิธี autoclave จากนั้นใส่สารประกอบในโตรเจน ต่างๆ ลงไปให้มีความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ แบ่งใส่หลอดแก้วขนาด 16x150 มิลลิเมตร ปล่อยให้แข็งในสภาพเอียง โดยทุกๆ 1000 มิลลิลิตร ของอาหาร ให้เติมสารประกอบในโตรเจน ให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการดังนี้คือ

Sodium L-glutamate	0.4 กรัม
L-serine	0.21 กรัม
L-methionine	0.3 กรัม
Acetamide	0.15 กรัม
Benzamide	0.25 กรัม
Urea	0.15 กรัม
Pyrazinamide	0.25 กรัม
Nicotinamide	0.25 กรัม
Isonicotinamide	0.25 กรัม
Succinamide	0.23 กรัม
Sodium nitrite	0.16 กรัม
Sodium nitrate	0.13 กรัม



8. Medium for carbon and nitrogen utilization test (84)ส่วนประกอบ

Monopotassium dihydrogen phosphate	0.5	กรัม
Magnesium sulfate 7H <sub>2</sub> O	0.5	กรัม
Bacto agar	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	กรัม

วิธีเตรียม

ละลายส่วนประกอบต่าง ๆ ปรับความเป็นกรดด่างที่ 7 (pH7) ทำให้ปราศจากเชื้อ โดยวิธี autoclave แล้วจึงเติมสารประกอบที่ต้องการลงไปให้ได้ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ สำหรับสารประกอบที่เป็น amide และ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สำหรับสารประกอบที่เป็น amine แบ่งใส่หลอดแก้วขนาด 16x150 มิลลิเมตร ปิดอย่างแน่นในสภาพเอียง โดยที่ทุก ๆ 1000 มิลลิลิตร ของอาหารให้เติมสารประกอบ amide และ amine เพื่อให้ได้ความเข้มข้น ตามต้องการ ดังนี้คือ

สารประกอบ amide

Sodium L-glutamate	0.4	กรัม
L-serine	0.21	กรัม
Acetamide	0.15	กรัม
Benzamide	0.25	กรัม

สารประกอบ amine

D-glucosamine dihydrochloride	0.25	กรัม
Ethanolamine	0.6	มิลลิลิตร

## ภาคผนวก ค.

การเตรียมน้ำยาเคมี สำหรับทดสอบและบัฟเฟอร์1. Arylsulfatase test1.1 เตรียม Stock substrate (0.08 โมลาร์)

Tripotassium phenolphthalien disulfate	2.6	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	กรัม

ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่าน membrane filter

ขนาด 0.45 ไมครเมตรเก็บไว้ในตู้เย็น

1.2 เตรียม substrate สำหรับการทดสอบ 3 วัน (0.001 โมลาร์)

Stock substrate (0.08 โมลาร์)	2.5	มิลลิลิตร
Sterile middlebrooke 7H9 broth	200.0	มิลลิลิตร

1.3 เตรียม substrate สำหรับการทดสอบ 14 วัน (0.003 โมลาร์)

Stock substarte (0.08 โมลาร์)	7.5	มิลลิลิตร
Sterile middlebrooke 7H9. broth	200.0	มิลลิลิตร

1.4 เตรียม 2 นอร์มอล sodium carborate

Sodium carborate	10.6	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ละลายให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นโดยใช้ขวดสีชา

2. Nitrate reduction test2.1 M/100 sodium nitrate ละลายใน M/45 phosphate buffer pH7

Sodium nitrate	0.085	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	0.117	กรัม
Disodium hydrogen phosphate	0.485	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ละลายให้เข้ากัน แบ่งใส่หลอดแก้วหลอดละ 2 มิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็น

2.2 น้ำยา Hydrochloride solution (1:1)

Hydrochloric acid เข้มข้น	10	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	10	มิลลิลิตร

2.3 น้ำยา 0.2 % Sulfanilamide

Sulfanilamide	0.2	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

2.4 น้ำยา 0.1% Naphthylethylenediamine dihydrochloride

N-phthylethylenediamine dihydrochloride	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

เก็บน้ำยา 2.2-2.4 ในตู้เย็น สำหรับน้ำยา 2.3 และ 2.4

ถ้ามีตะกอนหรือเปลี่ยนสี ต้องเตรียมใหม่

3. Tween 80 Hydrolysis test

การเตรียม Substrate

M/15 Phosphate buffer pH 7.0	100.0	มิลลิลิตร
Tween 80	0.5	มิลลิลิตร
0.1% neutral red	2.0	มิลลิลิตร

ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี autoclave แล้วแบ่งใส่หลอดแก้วหลอดละ 2 มิลลิลิตร เก็บไว้ใน ตู้เย็น

4. เตรียม M/15 phosphate buffer4.1 เตรียม Stock solution ของ M/15 Potassium dihydrogen phosphate

Potassium dihydrogen phosphate	9.07	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

4.2 เตรียม Stock solution ของ M/15 Disodium Phosphate.

Disodium hydrogen Phosphate 12H <sub>2</sub> O	23.68	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม M/15 phosphate buffer pH7.0

โดยใช้น้ำยาในข้อ 4.1 37 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำยาในข้อ 4.2 67 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วตรวจสอบโดยเครื่องวัดความเป็นกรดต่างอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี autoclave, เก็บไว้ในตู้เย็นได้นานหลายเดือน



## 5. Amidase test

5.1 ละลายสารประกอบ amide ทุกตัวในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 100 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 0.00164 โมลาร์ โดยใช้ปริมาณสารประกอบ amide ดังนี้

Acetamide	น้ำหนักโมเลกุล	59.07	9.68	มิลลิกรัม
Benzamide	"	121.13	19.85	มิลลิกรัม
Urea	"	60.06	9.84	มิลลิกรัม
Isonicotinamide	"	122.2	20.0	มิลลิกรัม
Nicotinamide	"	122.2	20.0	มิลลิกรัม
Pyrazinamide	"	123.12	22.50	มิลลิกรัม
Salicylamide	"	137.13	22.50	มิลลิกรัม
Allantoin	"	158.12	25.90	มิลลิกรัม
Succinamide	"	116.12	19.00	มิลลิกรัม
Malonamide	"	102.10	16.70	มิลลิกรัม

5.2 น้ำยา Manganate sulfate solution ความเข้มข้น 0.003 โมลาร์

Manganate sulfate	50.7	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

5.3 น้ำยา Phenol reagent

Phenol	25.0	กรัม
Sodium hydroxide	10.8	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ละลาย Phenol ใน Sodium hydroxide จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ

100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชาในตู้เย็น

5.4 น้ำยา Sodium Hypochlorite solution

Sodium hypochlorite solution 15 %	10.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	105.0	มิลลิลิตร

เขย่าผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชาในตู้เย็น ใช้ภายใน 1 เดือน



6. Acid phosphatase test6.1 Buffer substrate solution

Citric acid	18.9	กรัม
1 Normal sodium hydroxide	170.0	มิลลิลิตร
Phenyl disodium phosphate	1.1	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ละลาย citric acid ในน้ำกลั่นบางส่วนประมาณ 400 มิลลิลิตร แล้วค่อยๆ เติม 1 Normal sodium hydroxide ลงไปช้าๆ จนครบ 170 มิลลิลิตร ทั้งให้เป็นเติม Phenyl disodium phosphate 1.1 กรัม ผสมจะให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

6.2 Dilute phenol reagent

Phenol reagent (Folin and Ciocalteu)	1	ส่วน
น้ำกลั่น	4	ส่วน

6.3 20% Sodium carbonate solution

Sodium carbonate	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ประวัติของผู้เขียน



นายสมศักดิ์ เจริญทอง เกิดวันที่ 13 กันยายน 2498 จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จ  
การศึกษาระดับปริญญาตรี ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) จากมหาวิทยาลัย  
รามคำแหง ปีการศึกษา 2520

ปัจจุบันเป็นข้าราชการพลเรือนสามัญ ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ระดับ 5  
ฝ่ายชั้นสูงตรวโรค กองวินโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข.