บทที่ 6

การจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรีย

การจำแนกและพิสูจน์ (identification and determination) ชนิดของแบคทีเรียที่ไม่ทราบว่าเป็นแบคทีเรียชนิดใดนั้น ต้องอาศัยลักษณะเฉพาะที่ปรากฏ (specific characteristical appearance) หลายอย่างประกอบกัน โดยใช้การเปรียบเทียบระหว่างแบคทีเรียที่ไม่ทราบชนิดกับแบคทีเรียที่ทราบชนิดแล้ว ซึ่งก่อนอื่นต้องแยกแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ แล้วจึงตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยา เช่น รูปร่างลักษณะ การจัดเรียงตัว และคุณสมบัติการติดสีแกรม หลังจากนั้นจึงทดสอบเมตาบอลิซึม เช่น ความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon source) การสังเคราะห์เอนไซม์บางชนิด และเมตาบอลิซึมของสารอาหารชนิดต่าง ๆ

ลักษณะที่ใช้ในการจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรีย

1. **ลักษณะสัณฐานวิทยา (morphological characteristics)** แบคทีเรียจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันออกไป การตรวจดูรูปร่างลักษณะ การจัดเรียงตัวของเซลล์ การเคลื่อนที่ การติดสีแกรม การสร้างแคปซูล และลักษณะของแฟลกเจลลา ด้วยการย้อมสีเฉพาะแล้วส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ สามารถนำมาใช้ประกอบการจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียได้

2. **ลักษณะความต้องการอาหาร (nutritional characteristics)** แบคทีเรียจะมีความต้องการอาหารหรือความสามารถในการเจริญเติบโตในอาหารได้แตกต่างกัน โดยแบคทีเรียแต่ละชนิดจะใช้แหล่งคาร์บอน แหล่งพลังงาน และสารอาหารที่ต่างกันออกไป ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายในเมตาบอลิซึม (metabolic diversity) ของแบคทีเรีย

3. **ลักษณะสรีรวิทยา (physiological characteristics)** แบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันในด้านสรีรวิทยา เช่น มีความต้องการออกซิเจนมากน้อยแตกต่างกัน มีความต้องการความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ ความเข้มข้นของอิออน (ion) ต่าง ๆ และ hydrostatic pressure แตกต่างกัน

4. **ลักษณะชีวเคมี (biochemical characteristic)** แบคทีเรียมีเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายอาหารและสังเคราะห์ชีวโมเลกุลที่แตกต่างกันในแต่ละชนิด ผลิตผลที่เกิดจากการย่อยสลายอาหารและชีวโมเลกุลที่แบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้นจึงไม่เหมือนกันด้วย ดังนั้นจึงให้ผลการทดสอบกับปฏิกิริยาชีวเคมีที่ใช้ทดสอบแตกต่างกันด้วย ซึ่งเป็นลักษณะที่ใช้ในการจำแนกและพิสูจน์ชนิดของ

แบคทีเรียที่นิยมมาก

5. **ลักษณะภูมิคุ้มกันวิทยา (immunological characteristics)** แบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีลักษณะโครงสร้างแอนติเจนที่แตกต่างกัน การทำ serological typing โดยการใช้ known antisera เพื่อจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแอนติเจนของแบคทีเรียที่ไม่ทราบชนิด เป็นวิธีที่ใช้สำหรับจำแนกความแตกต่างระหว่างแบคทีเรียชนิด (species) ต่าง ๆ ในสกุล (genus) เดียวกัน หรือสายพันธุ์ (varieties) ต่าง ๆ ในชนิดเดียวกัน

6. **ลักษณะการทำให้เกิดโรค (pathogenic characteristics)** แบคทีเรียบางชนิดจะสามารถก่อโรคในคน สัตว์ และพืช ในการศึกษามักจะเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในสัตว์ทดลองและพืชทดลองเพื่อดูว่าแบคทีเรียนั้นก่อโรคได้หรือไม่ รวมทั้งศึกษาลักษณะอาการ ความรุนแรง ลักษณะของแผล ตลอดจนสาเหตุที่ก่อโรค เช่น toxin ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น เป็นต้น

การทดสอบที่ใช้ในการจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรีย

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตรวจสอบการติดสีแกรม รูปร่างลักษณะ ขนาด และการจัดเรียงตัวของเซลล์ โดยการย้อมสีแกรมแล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ นอกจากนั้นยังต้องตรวจสอบออร์กาเนลล์ (organelle) ต่าง ๆ โดยย้อมสีเฉพาะ

2. การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป stab ลงใน SIM medium ถ้าแบคทีเรียเจริญเติบโตกระจายออกไปจากแนวที่ stab ไว้ แสดงว่าแบคทีเรียสามารถเคลื่อนที่ได้

3. การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส (catalase)

หยด 3% H_2O_2 ลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาดและแห้ง ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบมาแตะลงบนหยดของ H_2O_2 ถ้าเกิดฟองก๊าซขึ้น แสดงว่าแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส

4. การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส (oxidase)

หยด 1% tetramethyl paraphenylene diamine hydrochloride ลงบนกระดาษกรองให้ชื้นพอหมาด ๆ ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบมาขีดบนกระดาษกรอง ถ้ามีสีม่วงเข้มเกิดขึ้นตามรอยขีด แสดงว่าแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส

5. **การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ยูรีเอส (urease)**

ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไปเลี้ยงบน slant ของ urea agar ถ้าอาหารเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพู แสดงว่าแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์เอนไซม์ยูรีเอส

6. **การทดสอบการย่อยแป้ง**

ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไปเลี้ยงบน starch agar แล้วหยดสารละลายไอโอดีนลงบนอาหาร ถ้าเกิดบริเวณใสรอบ ๆ โคโลนีของแบคทีเรีย แสดงว่าแบคทีเรียสามารถย่อยแป้งได้

7. **การทดสอบการย่อยเจลาติน**

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป stab ลงใน nutrient gelatin ถ้าอาหารไม่แข็งตัว แสดงว่าแบคทีเรียสามารถย่อยเจลาตินได้

8. **การทดสอบการสังเคราะห์อินโดล**

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป stab ลงใน SIM medium แล้วหยด Kovac's reagent ลงไป 5-10 หยด เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ ถ้าเกิดชั้นสีแดงลอยอยู่บนผิวหน้าอาหาร แสดงว่าแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์อินโดล

9. **การทดสอบ methy red และ acetoin (MR-VP)**

เลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร nutrient broth แล้วแบ่งเป็น 2 หลอด หลอดที่ 1 เติม methyl red 2-3 หยด แขย่าให้เข้ากัน ถ้าเกิดสีแดง แสดงว่าแบคทีเรียสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรทและมีกรดเกิดขึ้น (ผลบวก) หลอดที่ 2 เติม α-naphthol solution 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม KOH solution เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที ถ้าเกิดสีชมพูหรือสีแดง แสดงว่าแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์ acetoin

10. **การทดสอบการหมักคาร์โบไฮเดรทและการสังเคราะห์ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์**

ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป streak บน slant ของอาหาร TSI และใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป stab ลงใน butt ของอาหาร TSI แล้วอ่านผลการทดสอบดังนี้

1. การหมักคาร์โบไฮเดรท

1.1 ถ้าแบคทีเรียสามารถหมักกลูโคสอย่างเดียว บนผิวเอียงของอาหารที่เดิมมีสีแดงอมส้มซึ่งเป็นสีของอาหาร จะเปลี่ยนไปเป็นสีแดงเข้มขึ้น

(alkaline หรือ K) ส่วนที่ก้นหลอดจะเปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง (acid หรือ A) หรืออ่านผลว่า K/A

1.2 ถ้าแบคทีเรียสามารถหมักได้ทั้งกลูโคสและแลคโตส หรือสามารถหมักทั้งกลูโคสและซูโครส หรือสามารถหมักน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด ทั้งบนผิวและที่ก้นหลอดของอาหารจะเปลี่ยนจากสีแดงอมส้มไปเป็นสีเหลืองทั้งหลอด หรืออ่านผลว่า A/A

1.3 หากแบคทีเรียไม่สามารถใช้น้ำตาลชนิดใดเลย มี 3 แบบ คือ N/N, K/N และ K/K (N=ไม่เกิดการเปลี่ยนสีของอาหาร)

2. การเกิดก๊าซ จะเห็นเป็นรอยแตก หรือสังเกตเห็นฟองก๊าซที่แทรกอยู่ในเนื้ออาหาร TSI

3. การเกิดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ จะเห็นสีดำของตะกอนเฟอรัสซัลไฟต์อยู่ที่ก้นหลอดหรือบริเวณรอบ ๆ รอยที่เข็มเขี่ยเชื้อแทงลงไปในอาหาร TSI

11. <u>การทดสอบ oxidation-fermentation (O-F test)</u>

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป stab ลงใน O-F medium 2 หลอด หลอดที่ 1 หยดพาราฟินเหลวที่ฆ่าเชื้อแล้วทับผิวหน้าอาหารให้อยู่ในสภาพขาดอากาศ หลอดที่ 2 ไม่ต้องเติมอะไร ถ้าอาหารเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองทั้งสองหลอด แสดงว่าแบคทีเรียสามารถ fermentation ได้ ถ้าอาหารเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองเฉพาะหลอดที่ไม่มีพาราฟิน แสดงว่าแบคทีเรียสามารถ oxidation ได้

12. <u>การทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ</u>

เลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร *nutrient broth* ที่อุณหภูมิที่ต้องการจะทดสอบ ถ้า nutrient broth ขุ่น แสดงว่าแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้

13. <u>การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรท</u>

เลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร nitrate broth แล้วหยด sulfanilic acid และ α-naphyl-amine ถ้าเกิดสีแดงปนตะกอน แสดงว่าแบคทีเรียสามารถรีดิวซ์ไนเตรทได้ ถ้าไม่เกิดสีแดงให้เติมผงสังกะสีลงไป ถ้าไม่เกิดสี แสดงว่าแบคทีเรียสามารถรีดิวซ์ไนเตรทได้ โดยไนเตรทถูกรีดิวซ์ไปเป็นไนไตรท์ และไนไตรท์ถูกรีดิวซ์ไปเป็นก๊าซไนโตรเจน

14. <u>การทดสอบการเจริญใน litmus milk</u>

เลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร litmus milk ถ้าอาหารเปลี่ยนจากสีม่วงไปเป็นสีขาว แสดงว่าเกิดรีดักชัน (reduction) ถ้าเปลี่ยนเป็นสีชมพู แสดงว่ามีกรดเกิดขึ้น ถ้าเกิดตกตะกอนและจับเป็นก้อนของโปรตีนเนื่องจากกรดแสดงว่าเกิด acid curd และถ้าแบคทีเรียสลายโปรตีนได้อาหารจะใส แสดงว่าเกิด peptonization

15. <u>การทดสอบการใช้ซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน</u>

ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไปเลี้ยงบน Simmons's citrate agar ถ้าอาหารเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีน้ำเงิน แสดงว่าแบคทีเรียสามารถใช้ซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน

16. <u>การทดสอบการสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรท</u>

เลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร fermentation broth ถ้าอาหารเปลี่ยนจากสีแดงอมส้มไปเป็นสีเหลือง แสดงว่าแบคทีเรียสามารถสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรท ถ้ามีอากาศในหลอดดักก๊าซแสดงว่ามีก๊าซเกิดขึ้นในขณะสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรท

17. <u>การทดสอบลักษณะโคโลนีบนอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB)</u>

ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป streak บน Eosin methylene blue agar (EMB) แบคทีเรียบางชนิดจะให้โคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะตัว เช่น โคโลนีสีเขียวปีกแมลงทับ (meltalic sheen) และโคโลนีสีชมพูเยิ้ม เป็นต้น

18. <u>การทดสอบการใช้ malonate เป็นแหล่งคาร์บอน</u>

เลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร malonate broth ถ้าอาหารเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีฟ้าเข้ม แสดงว่าแบคทีเรียสามารถใช้ malonate เป็นแหล่งคาร์บอนได้

19. <u>การทดสอบการย่อยเคซีน</u>

ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป streak บน skim milk agar ถ้าเกิดบริเวณใสรอบ ๆ โคโลนีของแบคทีเรีย แสดงว่าแบคทีเรียสามารถย่อยเคซีนได้

20. <u>การทดสอบ benzidine</u>

ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป streak บน SYP agar หยดสารละลาย benzidine dihydrochloride ลงบนโคโลนีของแบคทีเรีย แล้วหยด 3% H_2O_2 ตามลงไป ถ้าโคโลนีของแบคทีเรียเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอมเขียว แสดงว่าแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์ iron-porphyrin ได้

21. <u>การทดสอบการย่อย esculin</u>

ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป streak บน bile esculin agar ถ้าเกิดมีสีดำขึ้น แสดงว่าแบคทีเรียสามารถย่อย esculin ได้

22. <u>การทดสอบการย่อย arginine</u>

เลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร Moeller Decarboxylase broth base ที่เติม 1% L-arginine monohydrochloride 1 หลอด และไม่เติม 1% L-arginine monohydrochloride 1 หลอด (เพื่อเอาไว้เปรียบเทียบ) โดยเทพาราฟินที่ฆ่าเชื้อแล้วทับผิวหน้าให้อยู่ในสภาพขาดอากาศ ถ้าอาหารในหลอดที่เติม 1% L-arginine monohydrochloride เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีม่วงหรือสีม่วงแดง และหลอดที่ไม่เติม 1% L-arginine monohydrochloride ยังคงมีสีเหลืองเช่นเดิม แสดงว่าแบคทีเรียสามารถย่อย arginine ได้

23. <u>การทดสอบการย่อย hippurate</u>

ใช้ลูปขูดโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไปใส่ลงใน 1% sodium hippurate จนสารละลายขุ่น บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วเติม ninhydrin reagent 5 หยด (ห้ามเขย่าหลอด) บ่มต่ออีก 10 นาทีแล้วอ่านผลทันที ถ้าเกิดมีสีม่วงดำขึ้น แสดงว่าแบคทีเรียสามารถย่อย hippurate ได้

24. <u>การทดสอบการทำให้เม็ดเลือดแดงแตก</u>

ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่จะทดสอบไป streak บน blood agar ถ้าเกิดมีวงกลมใสรอบ ๆ โคโลนีของแบคทีเรีย แสดงว่าแบคทีเรียสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้

<u>การเปรียบเทียบผลการทดสอบที่ใช้จำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียกับคุณลักษณะของแบคทีเรียในตารางการจำแนกชนิด</u>

ในการจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียที่ไม่ทราบนั้น เมื่อได้ผลการทดสอบต่าง ๆ แล้ว ต้องนำไปเปรียบเทียบกับคุณลักษณะของแบคทีเรียในตารางการจำแนกชนิดจากหนังสือคู่มือ เช่น Bergey's Manual of Determinative Bacteriology เป็นต้น วิธีจำแนกและพิสูจน์ชนิดแบคทีเรียที่ไม่ทราบชนิดค่อนข้างจะยุ่งยากและซับซ้อน ต้องอาศัยความรู้ ความชำนาญ และประสบการณ์สูง ดังนั้นจึงไม่สามารถฝึกฝนให้เกิดความชำนาญได้ในเวลาอันจำกัด ในปฏิบัติการนี้ จึงเพียงให้นักศึกษาได้รู้จักและมีวิสัยทัศน์เกี่ยวกับวิธีเปรียบเทียบผลการทดสอบที่ใช้จำแนก

และพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียกับคุณลักษณะของแบคทีเรียในตารางการจำแนกชนิดเป็นเบื้องต้นเท่านั้น ผู้ที่สนใจวิธีจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียอย่างละเอียดอาจศึกษาได้จากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology หรือ Bergey's Manual of Systemic Bacteriology หรือหนังสือคู่มืออื่น ๆ ที่กล่าวถึงวิธีการจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียอย่างละเอียดและสมบูรณ์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษาได้เรียนรู้วิธีการและขั้นตอนเบื้องต้นในการเปรียบเทียบผลการทดสอบที่ใช้จำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียกับคุณลักษณะของแบคทีเรียในตารางการจำแนกชนิด

2. เพื่อให้นักศึกษาได้ฝึกหัดทำการทดสอบเบื้องต้นเกี่ยวกับการจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรีย และฝึกหัดทำการเปรียบเทียบผลการทดสอบกับคุณลักษณะของแบคทีเรียในตารางการจำแนกชนิด

3. เพื่อให้นักศึกษาสามารถบอกได้ว่า unknown แบคทีเรียที่ได้รับแจกในห้องปฏิบัติการคือ แบคทีเรียชนิดใด

การทดลอง

การเปรียบเทียบผลการทดสอบที่ใช้จำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียกับคุณลักษณะของแบคทีเรียในตารางการจำแนกชนิด

อุปกรณ์

1. ลูป (inoculating loop) และเข็มเขี่ยเชื้อ (inoculating needle)
2. ตะเกียงบุนเส็น
3. กล้องจุลทรรศน์
4. สไลด์ แก้ว (glass slide) และกระจกปิดสไลด์ (cover glass)
5. สีย้อม สารละลาย และ reagent ชนิดต่าง ๆ
6. ชุดอุปกรณ์ในการย้อมสี
7. พลาสเตอร์ปิเปตต์ (plasture pipette) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและลูกยาง
8. unknown แบคทีเรียบน nutrient agar slant 2 หลอด

วิธีการ

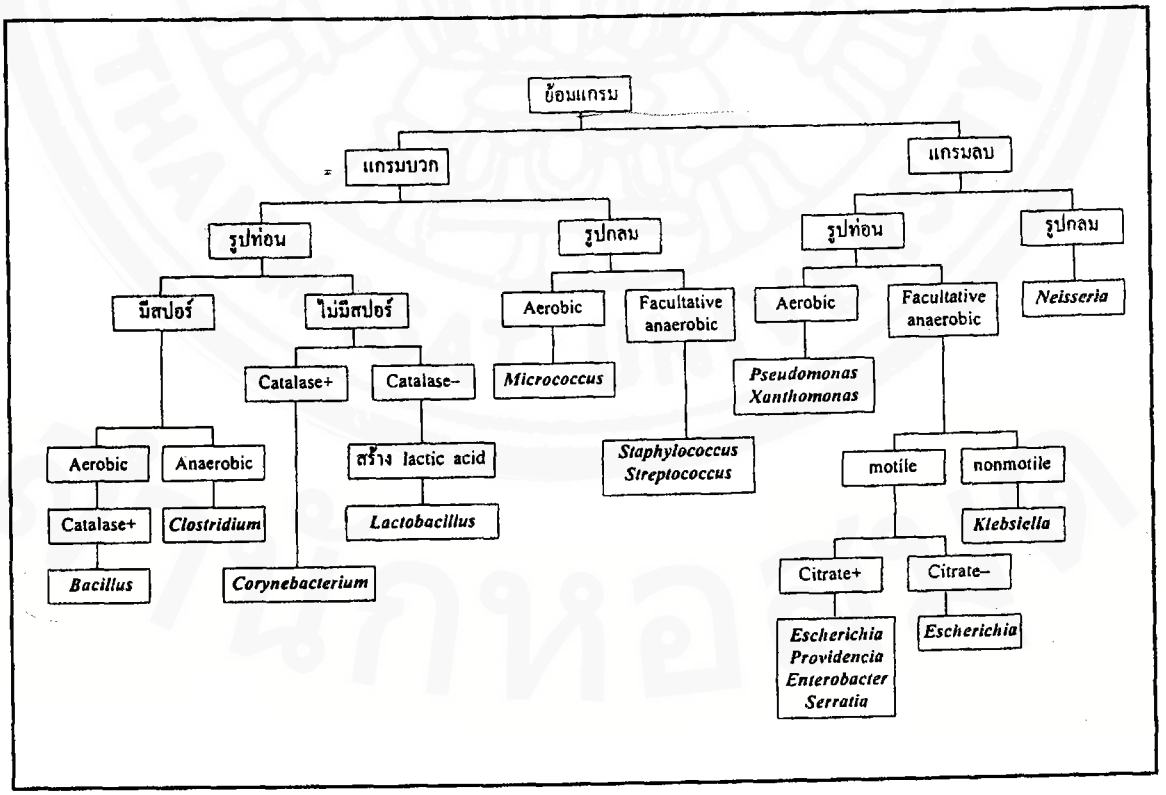
ให้นักศึกษาตรวจสอบการติดสีแกรม แล้วจึงทำการทดสอบชนิดอื่นตามขั้นตอนในรูปที่ 6-1 ดังนี้

1. ถ้าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อนให้ย้อม Spore stain ดูว่ามีสปอร์หรือไม่ ถ้ามีสปอร์ให้ทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส (catalase) และเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase) ถ้าไม่มีสปอร์ให้ทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส

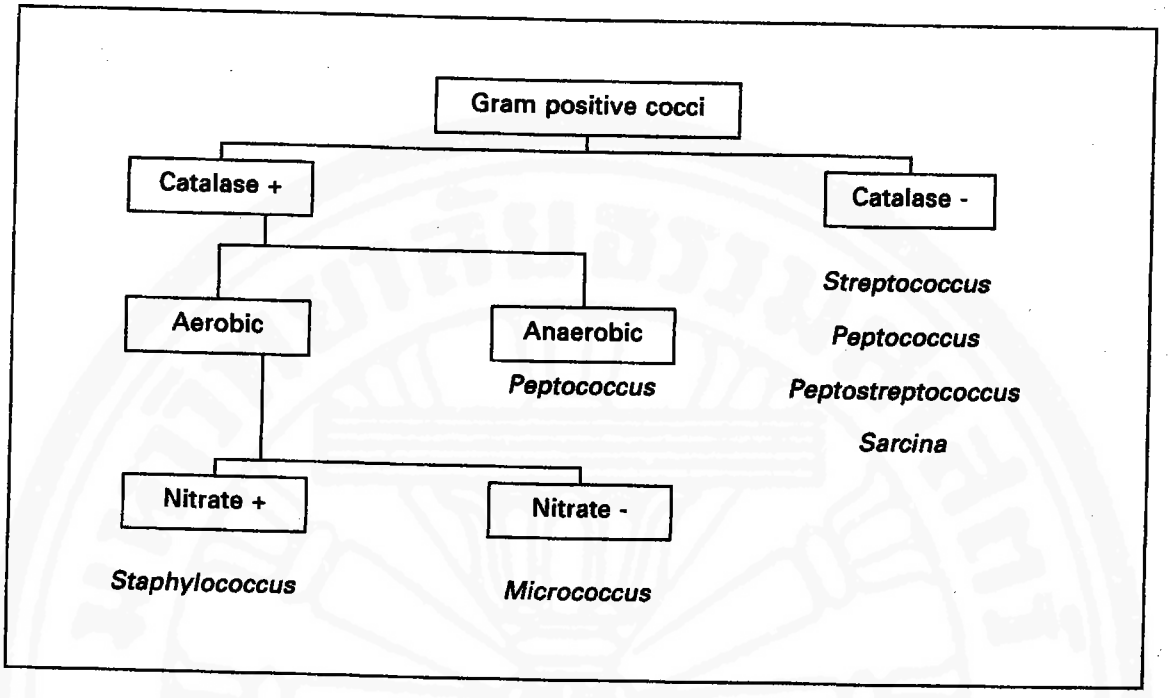
2. ถ้าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม ให้ทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส และทดสอบชนิดอื่นตามขั้นตอนในรูปที่ 6-2

3. ถ้าเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนให้ทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส หากไม่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดสให้ทดสอบตามตารางที่ 6-1

4. นำผลการทดสอบที่ได้ไปเปรียบเทียบกับคุณลักษณะของแบคทีเรียในตารางการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย



รูปที่ 6-1 ขั้นตอนในการจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรีย



รูปที่ 6-2 ขั้นตอนในการจำแนกและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม

ตารางที่ 6-1 ผลการทดสอบที่ใช้จำแนกชนิดแบคทีเรียในวงศ์ (family) Enterobacteriaceae

Test	*Klebsiella*	*Escherichia*	*Proteus*	*Enterobacter*	*Serratia*
TSI	A/Ag	A/Ag (K/A)	K/A(g) or A/A(g)	A/Ag	K/A(g) or A/A(g)
Motility	-	+ or -	+	+	+
Indole	- or +	+	+	-	-
MR test	-	+	+	-	- or +
VP test	+	-	-	+	+
Citrate	+	- or +	d	+	+
Urea	+	-	+	d	d
Lysine Decarboxylase	+	d	-	-	+

+ = most strains positive (≥ 90%); - = most strains negative (≥ 90%); d = positive for more than 10% but less than 90% of all strains studied; A = acid; K = alkaline; g = gas from carbohydrate fermentation.

ผลการทดลอง

Test	Unknown 1	Unknown 2
1. Gram's stain		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		
11.		
12.		
Result of identification		

วิจารณ์และสรุป

.....

.....

.....

.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....