

# การพัฒนาชุดทดสอบโคลิฟอร์มเพื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา

## Development of coliform test kit for microbiological quality water

9

ธีระ ปานทิพย์อำพร\*  
Theera Panthipamporn\*

### บทคัดย่อ

แบคทีเรียโคลิฟอร์มเป็นจุลินทรีย์ดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพน้ำ การทดสอบคุณภาพน้ำทางด้านจุลชีววิทยาจำเป็นต้องรีบทดสอบหลังจากเก็บตัวอย่างทำให้บางครั้งไม่สามารถส่งตัวอย่างทดสอบให้ห้องปฏิบัติการได้ทัน เวลา จึงได้พัฒนาชุดทดสอบเชื้อโคลิฟอร์มเบื้องต้นในลักษณะการตรวจแบบพบหรือไม่พบ โดยอาศัยสมบัติของโคลิฟอร์มที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสเป็นกรดและแก๊สภายใน 24-48 ชั่วโมง การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและปริมาตรตัวอย่างที่เหมาะสม พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อลอริลซัลเฟตบรอก ที่ความเข้มข้น 3 เท่า เติมอินดิเคเตอร์บรอมครีซอลเพอร์เพิล ปริมาตร 0.01 กรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด เมื่อใช้ตัวอย่างน้ำปริมาตร 20 มิลลิลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสีจากสีม่วงใสเป็นสีเหลืองขุ่น การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับวิธีมาตรฐานและชุดทดสอบของกรมอนามัยโดยใช้ตัวอย่างน้ำ 49 ตัวอย่าง (น้ำอุปโภค 29 ตัวอย่าง ตัวอย่างน้ำบริโภค 20 ตัวอย่าง) พบว่าชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพเท่ากับชุดทดสอบของกรมอนามัยและวิธีมาตรฐาน (AWWA, 2012) โดยจะแสดงผลเป็นบวกเมื่อมีปริมาณโคลิฟอร์มเท่ากับ 2.2 เอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร ดังนั้นชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นนี้มีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับการตรวจคุณภาพน้ำเบื้องต้นได้

### Abstract

Coliform bacteria is a microbiological indicator of water quality. However, water samples sometimes cannot be sent for test such bacteria on time. Therefore, the qualitative test kit for coliforms in water was developed as a preliminary investigation. The test kit was developed under the concept that coliform bacteria can use lactose and produce acid and gas within 24-48 hours. It was found that lauryl sulfate broth media at a concentration of 3 times with addition of bromocresol purple 0.01 g/l gave most effective result at 20 ml water sample. Coliform bacteria were detected by the changing of color from clear purple to turbid yellowish-liquid. Detection performance comparing of test kit with standard method (AWWA, 2012) and commercial test kit developed by Department of Health using 49 water samples (29 non-potable water and 20 potable water) showed equal effective and detection limit equal to 2.2 MPN/100 mL of AWWA method. Hence, the test kit can be recommended for detection of presumptive coliform bacteria in potable water in the field.

**คำสำคัญ:** ชุดทดสอบ โคลิฟอร์ม น้ำ

**Keywords:** Test kit, Coliforms, Water

<sup>1</sup>กรมวิทยาศาสตร์บริการ

\*Corresponding author E-mail address : theera@dss.go.th

# 1. บทนำ (Introduction)

กลุ่มงานจุลชีววิทยา โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพให้บริการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาของน้ำอุปโภค/บริโภค การทดสอบน้ำทางด้านจุลชีววิทยานั้นจำเป็นต้องรับทดสอบหลังจากเก็บตัวอย่าง โดยไม่ควรเกิน 12 ชั่วโมง ทำให้บางครั้งไม่สามารถส่งตัวอย่างทดสอบให้ห้องปฏิบัติการได้ทัน อาจมีผลทำให้ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำตัวอย่างผิดพลาดไป นอกจากนี้ยังพบว่าสินค้าประเภทอาหารมีปัญหาเรื่องการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ซึ่งอาจมาจากน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตไม่ได้คุณภาพ การส่งตัวอย่างเพื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำที่ห้องปฏิบัติการ ต้องใช้เวลาในการเก็บตัวอย่างส่งห้องปฏิบัติการ ทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพน้ำได้อย่างสม่ำเสมอ

จากปัญหาดังกล่าวข้างต้น การพัฒนาชุดทดสอบที่ราคาไม่แพง มีวิธีการทดสอบที่ไม่ยุ่งยาก และให้ผลการทดสอบเบื้องต้นมีความน่าเชื่อถือน่าจะเป็นแนวทางแก้ไขปัญหาก่อนส่งตัวอย่างน้ำไปทดสอบที่ห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนาชุดทดสอบเชื้อโคลิฟอร์มและ อี. โคลิ ในน้ำบริโภคในนามว่า Colicount โดยใช้เทคนิคการนับจำนวนเชื้อที่เจริญบนกระดาศทดสอบที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ ชุดทดสอบดังกล่าวแม้ว่าจะสามารถให้ทดสอบหาปริมาณเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐานชุดทดสอบที่จำหน่ายในท้องตลาด แต่การผลิตกระดาศทดสอบใช้เทคนิคและขั้นตอนหลายขั้นตอน อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีราคาแพง ต้องมีอุปกรณ์ประกอบในชุดทดสอบหลายชนิดทำให้มีต้นทุนต่อหน่วยสูง และการผลิตปริมาณมากต้องใช้เวลาาน จึงมีแนวความคิดที่จะพัฒนาชุดทดสอบเชื้อโคลิฟอร์มเบื้องต้นในลักษณะการตรวจพบหรือไม่พบ ซึ่งสามารถให้ข้อมูลเบื้องต้นเพียงพอสำหรับการควบคุมคุณภาพน้ำได้ โดยชุดทดสอบจะต้องมีวิธีการผลิตไม่ยุ่งยาก สามารถผลิตในปริมาณมากได้และต้นทุนต่อหน่วยลดลง

# 2. วิธีการวิจัย (Experimental)

## 2.1 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

- 2.1.1 ขวดแก้วฟาดามีขีดปริมาตรขนาดปริมาตร 30 มิลลิลิตร
- 2.1.2 หลอดทดลองขนาด 18x180 มิลลิเมตร
- 2.1.3 หลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิเมตร
- 2.1.4 หลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 16x150 มิลลิเมตร
- 2.1.5 หลอดดักแก๊ส
- 2.1.6 เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งน้ำหนักได้ละเอียด 0.01 กรัม
- 2.1.7 ตู้หมั่นเชื้อควบคุมอุณหภูมิที่  $35 \pm 1$  °C
- 2.1.8 ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ 2-10 °C
- 2.1.9 หม้อนึ่งอัดซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่  $121 \pm 3$  °C
- 2.1.10 จานเพาะเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90x150 มิลลิเมตร
- 2.1.11 ปิเปต ขนาด 2 และ 10 มิลลิลิตร
- 2.1.12 ชุดทดสอบ อ 11 ของกรมอนามัย
- 2.1.13 ขวดเก็บตัวอย่างน้ำปลอดเชื้อ

## 2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี

- 2.2.1 ลอริลซัลเฟตบรอต (Lauryl sulfate broth)
- 2.2.2 บริลเลียนกรีนไบล์ 2% บรอต (Brilliant green bile 2% broth)
- 2.2.3 นิวเทรียนบรอต (Nutrient broth, NB)
- 2.2.4 เพลทเค๊าท์อะการ์ (Plate count agar, PCA)
- 2.2.5 บรอมครีซอลเพอร์เฟิล (Bromocresol purple)
- 2.2.6 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) ความเข้มข้นร้อยละ 0.85
- 2.2.7 กลีเซอรอล
- 2.2.8 เอทิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 70

## 2.3 จุลินทรีย์อ้างอิง

- 2.3.1 เอนเทอโรโรแบคเตอร์ แอโรจีเนส (Enterobacter aerogenes) ATCC 13048
- 2.3.2 สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus) ATCC 25923

## 2.4 ตัวอย่างน้ำ

- 2.4.1 ตัวอย่างน้ำสำหรับการพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำแข็ง 3 ตัวอย่าง จากกรุงเทพมหานคร
- 2.4.2 ตัวอย่างน้ำสำหรับการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐานและชุดทดสอบกรมอนามัย อ11 ตัวอย่างน้ำที่นำมาศึกษาจำนวน 49 ตัวอย่าง เก็บจากแหล่งต่างๆ ทั้งในกรุงเทพมหานคร และต่างจังหวัด ดังนี้

- 1. ตัวอย่างน้ำจากจังหวัดบึงกาฬและจังหวัดหนองคาย จำนวน 20 ตัวอย่าง
- 2. ตัวอย่างน้ำบาดาล จำนวน 16 ตัวอย่าง
- 3. น้ำดื่มผ่านเครื่องกรอง เก็บจากกรุงเทพมหานคร จำนวน 6 ตัวอย่าง
- 4. น้ำแข็งเก็บจากกรุงเทพมหานคร จำนวน 2 ตัวอย่าง
- 5. น้ำสระว่ายน้ำ จำนวน 2 ตัวอย่าง
- 6. น้ำดื่มจากตู้หยอดเหรียญเก็บจากกรุงเทพมหานคร จำนวน 3 ตัวอย่าง

## 2.5 วิธีการทดสอบ

- 2.5.1 การพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และปริมาตรตัวอย่าง 10/20 มิลลิลิตรที่เหมาะสม
  - (1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ลอริลซัลเฟตบรอต 3 ระดับ ความเข้มข้น คือความเข้มข้นปกติ ความเข้มข้น 2 เท่า และความเข้มข้น 3 เท่า เติมนิโคเตออร์บรอมครีซอลเพอร์เฟิล 0.01 กรัมต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วแบ่งบรรจุใส่ขวดแก้วขนาด 30 มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 15 นาที ถ้ายังไม่ได้นำไปทดสอบ เก็บอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 °C
  - (2) เตรียมตัวอย่างน้ำที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง

(Spike sample) โดยเติมเชื้อ เอนเทอโรโรแบคเตอร์ แอโรจีนัส ATCC 13048 (มีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 100 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในตัวอย่างน้ำปลอดเชื้อ 19 มิลลิลิตร เข้าก้นจะใสสารละลายเชื้อความเข้มข้นประมาณ 5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ดังนั้นตัวอย่างน้ำ 20 มิลลิลิตร มีเชื้อ 100 เซลล์ และตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร มีเชื้อ 50 เซลล์

(3) เตรียมตัวอย่างน้ำแข็งที่มีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ตามธรรมชาติ (natural contaminate sample) ใส่ตัวอย่างน้ำแข็ง 3 ตัวอย่าง และตัวอย่างน้ำที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิงที่เตรียมไว้ตามข้อ 2.4.1(2) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ 20 มิลลิลิตรลงอาหารเลี้ยงเชื้อ ลอริสซัลเฟตบรอกทั้ง 3 ความเข้มข้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C 24-48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด ตรวจสอบการเจริญของเชื้อโคลิฟอร์มโดยการเปลี่ยนแปลงลักษณะและสีอาหารเลี้ยงเชื้อ และประเมินผลเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับชุดทดสอบ

2.5.2 การทดสอบเพื่อหาความแม่นยำของชุดทดสอบโดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับวิธีมาตรฐาน

นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาขึ้นจากข้อ 2.4.1(1) มาทดสอบหาความแม่นยำของชุดทดสอบโดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับวิธีมาตรฐานโดยการนำผลการทดสอบทั้ง 2 วิธี มาเปรียบเทียบทางสถิติดูค่า

Relative accuracy = ระดับของความสอดคล้องของผลทดสอบที่ได้จากวิธีมาตรฐาน และวิธีที่พัฒนาในตัวอย่างเหมือนกัน

Relative sensitivity = ความสามารถของวิธีที่พัฒนาในการตรวจพบเชื้อที่ปนเปื้อนในตัวอย่างเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

Relative specificity = ความสามารถของการทดสอบที่พัฒนาในการตรวจตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ได้ถูกต้องเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

$$\text{Relative accuracy} = \frac{(PA+NA)}{N} \times 100, \text{Relative specificity} = \frac{NA}{N-} \times 100, \text{Relative sensitivity} = \frac{PA}{N+} \times 100$$

ใช้ตัวอย่างน้ำอุปโภค/บริโภค 49 ตัวอย่าง ดำเนินการทดสอบ ดังนี้  
วิธีมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA, AWWA & WEF, 22nd ed., 2012, Part 9221. วิธีทดสอบมีการดำเนินการ 2 ขั้นตอน ดังนี้

#### (1) การตรวจขั้น Presumptive Test

เขย่าตัวอย่างน้ำขึ้นลง 25 ครั้ง ระยะห่าง 50 เซนติเมตร เพื่อให้ในขวดมีปริมาณเชื้อกระจายอย่างทั่วถึงเปิดตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร ลงอาหารเลี้ยงเชื้อลอริสซัลเฟตบรอก ความเข้มข้น 2 เท่า ที่มีหลอดดักแก๊ส จำนวน 10 หลอด นำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อลอริสซัลเฟตบรอก ความเข้มข้น 2 เท่า ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 °C 24-48 ± 3 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญโดยสังเกตความขุ่นและการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง นับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก คือหลอดที่ขุ่นและเกิดแก๊ส

#### (2) การตรวจขั้น Confirmed Test

ถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกจากขั้น Presumptive Test จำนวน 1 loop ลงอาหารเลี้ยงเชื้อบิลเลียนกรีน ไบล์ 2% บรอก ที่มีหลอดดักแก๊สอยู่ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 °C 24-48 ± 3 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญโดยสังเกตความขุ่นและการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง นับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก คือหลอดที่ขุ่นและเกิดแก๊ส นำมาหาค่า เอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตรโดยการเปิดตาราง เอ็มพีเอ็น แบบ 10 หลอด

2.5.3 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาขึ้นกับวิธีทดสอบชุดทดสอบ อ 11 ของกรมอนามัย

(1) วิธีทดสอบ อ 11 เติมน้ำตัวอย่างลงในขวดจนถึงขีดที่ 4 ของขวด อย่านำให้ภาชนะใส่ตัวอย่างน้ำโดนปากขวดอาหารเลี้ยงเชื้อโดยให้อยู่ห่างจากปากขวดประมาณ 1 เซนติเมตร หมุนเกลียวฝาให้แน่นอีกครั้งหนึ่ง หมุนขวดเป็นวงกลมๆ ให้อาหารตรวจเชื้อ อ 11 ผสมกับตัวอย่างน้ำให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

การอ่านและรายงานผล

- ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลืองภายใน 24-48 ชั่วโมง แสดงว่าพบโคลิฟอร์ม  
- ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อยังคงเป็นสีแดงหรือจางลงเล็กน้อย แสดงว่าไม่พบโคลิฟอร์ม

#### (2) วิธีทดสอบชุดทดสอบที่กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนา

เทน้ำตัวอย่างน้ำปริมาตร 20 มิลลิลิตรจนถึงขีดที่ 5 ของขวด ปิดฝาให้แน่นเขย่าขวดอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้นลงเบาๆ ให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับตัวอย่างน้ำให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและ 35 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

การอ่านและรายงานผล

- ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองภายใน 24-48 ชั่วโมง แสดงว่าพบโคลิฟอร์ม  
- ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อยังคงเป็นสีม่วงหรือจางลงเล็กน้อย แสดงว่าไม่พบโคลิฟอร์ม

ชุดทดสอบที่กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนา เป็นชุดทดสอบภาคสนามสำหรับตรวจเชื้อโคลิฟอร์มแบบพบและไม่พบ หนึ่งชุด ประกอบด้วย 1.ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ 2.แอลกอฮอล์ ร้อยละ 70 3.สำลี 4.คู่มือการใช้งานชุดทดสอบ ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 ชุดทดสอบโคลิฟอร์มที่กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนา

2.5.4 วิธีทดสอบอายุการเก็บของอาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาขึ้น เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อลอริลซัลเฟต บรอก ความเข้มข้น 3 เท่า จำนวน 25 ขวด เก็บรักษาอาหารทดสอบไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 °C เมื่อครบกำหนด 30, 60, 90, 120 และ 180 วัน นำมาทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อครั้งละ 5 ขวด นำเชื้อ เอนเทอโรโรแบคเตอร์ แอโรจีเนส ATCC 13048 ที่มีความเข้มข้นของเซลล์อยู่ในช่วง 100 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 °C ออกมาทดสอบปิเปต มา 1 มิลลิลิตรใส่น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 19 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำตัวอย่างน้ำ ใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญของโคลิฟอร์มโดยดูความขุ่นและการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีม่วงเป็นสีเหลือง

### 3. ผลและวิจารณ์ (Result and Discussion)

#### 3.1 การพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชุดทดสอบ

ในการทดสอบเพื่อหาความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อลอริลซัลเฟตบรอกที่เหมาะสมกับปริมาณตัวอย่างน้ำโดยอาศัยสมบัติของโคลิฟอร์มที่จะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นเนื่องจากมีการเจริญของโคลิฟอร์มและเปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีม่วงเป็นสีเหลืองขุ่น พบว่าในการทดสอบตัวอย่างน้ำแข็งทั้ง 3 ตัวอย่างให้ผลเหมือนกัน คือเมื่อใส่น้ำแข็งปริมาณ 10 มิลลิลิตร จะไม่พบเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงเชื้อความเข้มข้นปกติ แต่จะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อความเข้มข้น 2 เท่า และ 3 เท่า เปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองขุ่น ดังแสดงในตารางที่ 1

ในการทดสอบเพื่อหาความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อลอริลซัลเฟตบรอก ที่เหมาะสมกับปริมาณตัวอย่างน้ำที่มีการเติมจุลินทรีย์อ้างอิง (Spike sample) เอนเทอโรโรแบคเตอร์ แอโรจีเนส ATCC 13084 ทั้ง 3 ตัวอย่างก็ให้ผลเช่นกันเดียวกับตัวอย่างน้ำแข็ง ดังแสดงในตารางที่ 2

จากการทดลองนี้พบว่าสัดส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อลอริลซัลเฟตบรอกความเข้มข้น 3 เท่า 10 มิลลิลิตรต่อปริมาณตัวอย่างน้ำ 20 มิลลิลิตร จะให้ผลการทดสอบที่ชัดเจนกว่าระดับความเข้มข้นและปริมาณตัวอย่างอื่น จึงสรุปใช้สัดส่วนนี้ในการศึกษาประสิทธิภาพของ

ชุดทดสอบต่อไป

#### 3.2 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐาน

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ชุดทดสอบของ กรมวิทยาศาสตร์บริการ ในกลุ่มน้ำอุปโภค 29 ตัวอย่าง พบเชื้อโคลิฟอร์ม 10 ตัวอย่าง แบ่งเป็น น้ำดิบ 8 ตัวอย่าง น้ำบาดาล 1 ตัวอย่าง น้ำสระว่ายน้ำ 1 ตัวอย่าง ในกลุ่มน้ำบริโภค 20 ตัวอย่าง พบเชื้อโคลิฟอร์ม 8 ตัวอย่าง แบ่งเป็นน้ำผ่านเครื่องกรอง 4 ตัวอย่าง น้ำตู้หยอดเหรียญ 2 ตัวอย่าง และน้ำแข็ง 2 ตัวอย่าง และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานซึ่งแสดงผลเป็นค่าเอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร ของตัวอย่างน้ำ พบว่าตัวอย่างน้ำที่ใช้ชุดทดสอบของกรมวิทยาศาสตร์บริการ ให้ผลเป็นบวกจะมีค่าเอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร ในช่วง 2.2 ถึง มากกว่า 23 และจะให้ผลเป็นลบในช่วง เอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร ตั้งแต่ค่า น้อยกว่า 1.1 ถึง 1.1 แสดงให้เห็นว่าชุดทดสอบที่กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนาขึ้นมีค่าต่ำสุดที่ทดสอบได้อยู่ที่ 2.2 เอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร นอกจากนี้ได้เปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มระหว่างอุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 35 °C พบว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C จะให้ผลบวกที่เร็วกว่าบ่มที่อุณหภูมิห้อง โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C จะให้ผลบวกภายใน 24 ชั่วโมง ส่วนการบ่มที่อุณหภูมิห้องอาจต้องใช้เวลา 48 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4

จากข้อมูลการทดลอง 49 ตัวอย่าง หากค่าความแม่นยำของวิธีทางเลือกเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง เมื่อกำหนดให้ผลการทดสอบโดยวิธีมาตรฐาน มีค่าเอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร น้อยกว่า 1.1 เป็นผลลบ และค่าเอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร ตั้งแต่ 1.1 ถึง มากกว่า 23 เป็นผลบวก วิธีมาตรฐานให้ผลบวก 18 ตัวอย่าง ให้ผลลบ 31 ตัวอย่าง ส่วนชุดทดสอบที่พัฒนาให้ผลบวก 17 ตัวอย่าง ให้ผลลบ 32 ตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 3

นำข้อมูลมาคำนวณหาค่าทางสถิติเพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นตามมาตรฐาน ISO/IEC 16140 : 2003 โดยการหาค่า Relative accuracy, Relative specificity, และค่า Relative sensitivity ดังนี้

ตารางที่ 1 ตารางเปรียบเทียบผลการพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชุดทดสอบใช้ตัวอย่างน้ำแข็ง (Natural contaminate sample)

น้ำแข็ง	ระดับความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อลอร์ริลซัลเฟตบรอก	ปริมาตรน้ำแข็ง 10 มล.		ปริมาตรน้ำแข็ง 20 มล.	
		ลักษณะ	การเปลี่ยนสี	ลักษณะ	การเปลี่ยนสี
ตัวอย่าง 1	ความเข้มข้นปกติ	ใส	ไม่เปลี่ยน	ใส	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 2 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 3 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	เปลี่ยน
ตัวอย่าง 2	ความเข้มข้นปกติ	ใส	ไม่เปลี่ยน	ใส	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 2 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 3 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	เปลี่ยน
ตัวอย่าง 3	ความเข้มข้นปกติ	ใส	ไม่เปลี่ยน	ใส	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 2 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 3 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	เปลี่ยน

ตารางที่ 2 ตารางเปรียบเทียบผลการพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชุดทดสอบใช้ตัวอย่าง Spike sample

ตัวอย่างที่เติมเชื้อ	ระดับความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อลอร์ริลซัลเฟตบรอก	ปริมาตรน้ำแข็ง 10 มล.		ปริมาตรน้ำแข็ง 20 มล.	
		ลักษณะ	การเปลี่ยนสี	ลักษณะ	การเปลี่ยนสี
ตัวอย่าง 1	ความเข้มข้นปกติ	ใส	ไม่เปลี่ยน	ใส	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 2 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 3 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	เปลี่ยน
ตัวอย่าง 2	ความเข้มข้นปกติ	ใส	ไม่เปลี่ยน	ใส	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 2 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 3 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	เปลี่ยน
ตัวอย่าง 3	ความเข้มข้นปกติ	ใส	ไม่เปลี่ยน	ใส	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 2 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	ไม่เปลี่ยน
	ความเข้มข้น 3 เท่า	ขุ่น	เปลี่ยน	ขุ่น	เปลี่ยน

ตารางที่ 3 ตารางผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดทดสอบที่กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐาน (AWWA 22nd ed., 2012, Part 9221) เพื่อตรวจสอบความสมเหตุสมผลของวิธี

ตัวอย่างที่	ชุดทดสอบที่พัฒนา	วิธีมาตรฐาน	ตัวอย่างที่	ชุดทดสอบที่พัฒนา	วิธีมาตรฐาน
1	-	-	26	-	-
2	-	-	27	-	-
3	+	+	28	-	-
4	-	-	29	+	+
5	+	+	30	+	+
6	-	-	31	-	-

ตารางที่ 3 ตารางผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดทดสอบที่กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐาน (AWWA 22nd ed., 2012, Part 9221) เพื่อตรวจสอบความสมเหตุสมผลของวิธี (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ชุดทดสอบที่พัฒนา	วิธีมาตรฐาน	ตัวอย่างที่	ชุดทดสอบที่พัฒนา	วิธีมาตรฐาน
7	-	-	32	+	+
8	-	-	33	-	-
9	+	+	34	-	-
10	-	-	35	-	-
11	+	+	36	-	-
12	-	-	37	-	-
13	+	+	38	-	-
14	+	+	39	-	-
15	+	+	40	-	-
16	-	-	41	-	-
17	+	+	42	-	-
18	-	-	43	-	-
19	+	+	44	-	-
20	-	-	45	-	-
21	+	+	46	-	-
22	-	-	47	-	-
23	-	+	48	+	+
24	+	+	49	+	+
25	+	+			

วิธีทางเลือก (Alternative method)	วิธีมาตรฐาน (Reference method)		
	+	-	Total
+	PA (17)	PD (1)	18
-	ND (1)	NA (30)	31
Total	$N_+$ (18)	$N_-$ (31)	N (49)

เมื่อ PA = ผลการทดสอบของวิธีที่พัฒนาและวิธีมาตรฐานที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกเหมือนกัน

NA = ผลการทดสอบของวิธีที่พัฒนาและวิธีมาตรฐานที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบเหมือนกัน

PD = ผลการทดสอบของวิธีที่พัฒนาที่ให้ผลบวก ที่เบี่ยงเบนไปจากวิธีมาตรฐานที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบ หรือเรียกว่า false positive

ND = ผลการทดสอบของวิธีที่พัฒนาที่ให้ผลลบ ที่เบี่ยงเบนไปจากวิธีมาตรฐานที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวก หรือเรียกว่า false negative

$N$  = จำนวนตัวอย่างที่ศึกษาทั้งหมด ( $NA + PA + PD + ND$ )

$N_-$  = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลลบทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐาน ( $NA + PD$ )

$N_+$  = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐาน ( $PA + ND$ )



นำผลการทดสอบของทั้ง 2 วิธีมาเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีของชุดทดสอบคู่ค่า Relative accuracy, Relative specificity และ Relative sensitivity ดังนี้

$$\text{Relative accuracy} = \frac{(PA+NA)}{N} \times 100 = \frac{(17+31)}{49} \times 100 = 97.95$$

$$\text{Relative specificity} = \frac{NA}{N-} \times 100 = \frac{31}{31} \times 100 = 100$$

$$\text{Relative sensitivity} = \frac{PA}{N+} \times 100 = \frac{17}{18} \times 100 = 94.44 \quad \text{เมื่อ}$$

Relative accuracy = ระดับของความสอดคล้องของผลทดสอบที่ได้จากวิธีมาตรฐาน และวิธีที่พัฒนาในตัวอย่างเหมือนกัน

Relative sensitivity = ความสามารถของวิธีที่พัฒนาในการตรวจพบเชื้อที่ปนเปื้อนในตัวอย่างเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

Relative specificity = ความสามารถของการทดสอบที่พัฒนาในการตรวจตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ได้ ถูกต้องเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

สรุป จากข้อมูลการทดลอง 49 ตัวอย่าง นำมาคำนวณหาค่าทางสถิติ ตรวจสอบความแม่นยำ ค่าความแม่นยำของวิธีทางเลือกเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง หาค่า Relative accuracy ได้ 97.95% ค่า Relative specificity ได้ 100% และค่า Relative sensitivity ได้ 94.44% ทั้ง 3 ค่า มีค่าเกิน 70% แสดงว่าชุดทดสอบที่กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนาขึ้นมีความแม่นยำไม่ต่างจากวิธีทดสอบมาตรฐาน

### 3.3 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นกับวิธีทดสอบชุดทดสอบ อ 11 ของกรมอนามัย

ในการศึกษาชุดทดสอบที่กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับชุดทดสอบของกรมอนามัย อ11 พบว่าให้ผลสอดคล้องกันทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันจึงสรุปได้ว่า ชุดทดสอบโคลิฟอร์มในน้ำอุปโภค/บริโภคที่กรมวิทยาศาสตร์บริการพัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับชุดทดสอบที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ตารางการทดสอบเพื่อหาความแม่นยำของชุดทดสอบโดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับกับวิธีมาตรฐานและและเปรียบเทียบกับชุดทดสอบ อ 11 ของกรมอนามัย

ตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	วิธีมาตรฐาน (MPN/100 ml)	ชุดทดสอบ อ.11	ชุดทดสอบ วศ. 24-48 ชม.			
				บ่มอุณหภูมิห้อง		บ่มอุณหภูมิ 35°C	
				24 ชม	48 ชม	24 ชม	48 ชม
1	น้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรอง ตัวอย่าง 1	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
2	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 2	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
3	น้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรอง ตัวอย่าง 3	>23	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
4	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 4	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
5	น้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรอง ตัวอย่าง 5	5.1	พบ	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
6	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 6	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
7	น้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรอง ตัวอย่าง 7	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
8	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 8	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
9	น้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรอง ตัวอย่าง 9	23	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ

ตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	วิธีมาตรฐาน (MPN/100 ml)	ชุดทดสอบ อ.11	ชุดทดสอบ วศ. 24-48 ชม.			
				บ่มอุณหภูมิห้อง		บ่มอุณหภูมิ 35°C	
				24 ชม	48 ชม	24 ชม	48 ชม
10	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 10	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
11	น้ำดิบก่อนผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 11	23	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
12	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 12	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
13	น้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรอง ตัวอย่าง 13	6.9	พบ	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
14	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 14	5.1	พบ	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
15	น้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรอง ตัวอย่าง 15	>23	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
16	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 16	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
17	น้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรอง ตัวอย่าง 17	6.9	พบ	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
18	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 18	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
19	น้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรอง ตัวอย่าง 19	23	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
20	น้ำผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 20	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
21	น้ำดื่มผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 21	2.2	พบ	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
22	น้ำดื่มผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 22	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
23	น้ำดื่มผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 23	1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
24	น้ำแข็ง ตัวอย่าง 24	12	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
25	น้ำดื่มผ่านเครื่องกรอง ตัวอย่าง 25	16	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
26	น้ำกลั่น ตัวอย่าง 26	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
27	น้ำกลั่น ตัวอย่าง 27	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
28	น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ ตัวอย่าง 28	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ



ตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	วิธีมาตรฐาน (MPN/100 ml)	ชุดทดสอบ อ.11	ชุดทดสอบ วศ. 24-48 ชม.			
				บ่มอุณหภูมิห้อง		บ่มอุณหภูมิ 35°C	
				24 ชม	48 ชม	24 ชม	48 ชม
29	น้ำแข็ง ตัวอย่าง 29	23	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
30	น้ำสระว่ายน้ำ ตัวอย่าง 30	>23	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
31	น้ำสระว่ายน้ำ ตัวอย่าง 31	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
32	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 32	>23	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
33	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 33	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
34	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 34	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
35	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 35	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
36	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 36	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
37	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 37	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
38	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 38	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
39	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 39	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
40	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 40	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
41	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 41	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
42	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 42	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
43	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 43	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
44	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 44	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
45	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 45	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
46	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 46	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
47	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 47	<1.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
48	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 48	3.6	พบ	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
49	น้ำบาดาล ตัวอย่าง 49	9.2	พบ	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ

### 3.4 วิธีทดสอบอายุการเก็บของอาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาขึ้น

ในการศึกษาผลการทดสอบอายุการเก็บของอาหารทดสอบที่พัฒนาขึ้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 °C เป็นเวลา 30, 60, 90, 120 และ 180 วัน พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อยังมีสีม่วงใส ไม่มีตะกอน และเมื่อนำตัวอย่างน้ำที่มีการ spike ด้วยเชื้อ เอนเทอร์โรแบคเตอร์ แอร์จินีส ATCC 13048 มาทดสอบ พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อยังให้ผลการทดสอบเป็นบวก คือ มีการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีม่วงเป็นสีเหลือง จึงสรุปได้ว่าอาหารเลี้ยงเชื้อโคลิฟอร์มที่พัฒนานี้มีอายุการเก็บได้ถึง 180 วัน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 °C ดังรูปที่ 2



A



B

รูปที่ 2 อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสีจากสีม่วง (ไม่เติมเชื้อ) เป็นสีเหลือง (เติมเชื้อ)

#### 4. สรุป (Conclusion)

ผลจากการศึกษาพัฒนาชุดทดสอบเชื้อโคลิฟอร์มเพื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยาทำให้ได้ชุดทดสอบสำเร็จรูปเหมาะสมสำหรับการตรวจสอบโคลิฟอร์มที่สามารถใช้งานได้สะดวก ราคาไม่แพง วิธีทดสอบที่ไม่ยุ่งยาก การอ่านและวิเคราะห์ผลเข้าใจง่ายและให้ผลเบื้องต้นที่น่าเชื่อถือ สามารถอ่านผลได้ใน 24-48 ชั่วโมง และมีประสิทธิภาพในการทดสอบเชื้อโคลิฟอร์มเทียบเท่าวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ และชุดทดสอบที่จำหน่ายทางการค้า

#### 5. กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

ขอขอบคุณ คุณนงนุช เมธียนต์พิริยะ ผู้อำนวยการโครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ และดร.สุพรรณิ เทพอรุณรัตน์ หัวหน้ากลุ่มงานจุลชีววิทยา ดร.ชรรณี ต้อยเต็มวงศ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ช่วยให้คำปรึกษา แนะนำ และสนับสนุนการทำงานวิจัยครั้งนี้ด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานจุลชีววิทยาที่สนับสนุนให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

#### 6. เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 พ.ศ. 2524. เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุปิดสนิท. *ราชกิจจานุเบกษา*. 2524, 98(157), 52-56.
- [2] สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 พ.ศ. 2534. เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุปิดสนิท. *ราชกิจจานุเบกษา*. 2534, 107(61), 3401-3042.
- [3] สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค. *มอก.* 257-2549.
- [4] *แบคทีเรียโคลิฟอร์ม*. [ออนไลน์]. 2556. เข้าถึงจาก: <https://th.wikipedia.org/wiki/แบคทีเรียโคลิฟอร์ม>
- [5] FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Bacteriological Analytical Manual Chapter 4: Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria*. (online). 2002. [viewed 23 october 2013].

Available from: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>.

- [6] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO/IEC 9308-2. *Water quality - Enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria -- Part 2: Most probable number method*. 2012.
- [7] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO/IEC 11133. *Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media*. 2014.
- [8] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO/IEC 16140. *Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Protocol for the validation of alternative methods*. 2003.
- [9] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO/IEC 17381. *Water quality -- Selection and application of ready-to-use test kit methods in water analysis*. 2003.
- [10] MELITA, S., A. NICHOLAS and C. DAVID. *Review of coliform as microbial indicators of drinking water quality*. Australia: NHMRC Publications. 2003.
- [11] SAHIFA. *ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย SI Medium*. [ออนไลน์]. 2010. เข้าถึงจาก: <http://www.highents.com/blog/2010/02/ชุดตรวจสอบเชื้อโคลิฟอร์ม>.
- [12] ODONKOR, Stephen T., and AMPOFO, Joseph K. *Escherichia coli as an indicator of bacteriological quality of water: an overview*. *Microbiology Research*. 2013, 4(2), pp. 5-11.
- [13] ZAKIR, H.S.M., et al. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, APHA, AWWA & WEF, 22nd ed. 2012, part 9221.