# บทที่ 2
# เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา 5 ตอน คือ

1. แบคทีเรียที่สำคัญในน้ำ
2. รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม และแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์ม
3. รายละเอียดเกี่ยวกับวิธี Multiple - Tube Fermentation Technique สำหรับหาค่า Most Probable Number (MPN)
4. รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS) Agar
5. รายละเอียดเกี่ยวกับวิธีนับจำนวนเซลล์บนอาหารวุ้นแข็ง (Total Plate Count)
6. เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

## แบคทีเรียที่สำคัญในน้ำ

คุณภาพของน้ำทางด้านแบคทีเรียถือว่ามีความสำคัญต่อผู้อุปโภคบริโภคเป็นอย่างมาก เพราะน้ำที่ใช้ดื่มนั้นอาจมีเชื้อโรค หรือสิ่งปนเปื้อนที่ทำให้เกิดโรคขึ้นได้ โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากน้ำเป็นสื่อ (Waterborne Disease) ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (Pathogenic Bacteria) เช่น ไทฟอยด์ บิด อหิวาตกโรค เป็นต้น หากเชื้อโรคเหล่านี้ปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำก็จะทำให้เกิดโรคระบาดได้ แบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำอาจแบ่งได้เป็น 2 พวกใหญ่ ๆ ได้แก่

ตารางที่1 แสดงโรคที่เกิดจากน้ำเป็นสื่อ (Waterborne Disease) โดยแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (Ronald, 1977)

| Agent | Disease | Reservoir |
|---|---|---|
| *Compylobacter* spp. | Diarrhea | Animals |
| *Escherichia coli* | Diarrhea | Humans |
| *Legionella* spp. | Pneumonia | Aquatic Habitats |
| *Leptospira* spp. | Leptospirosis | Humans and Animals |
| *Mycobacterium* spp. | Tuberculosis | Humans and Cattle |
| *Pasturella tularensis* | Tularemia | Humans and Animals |
| *Salmonella* spp. | Food Poisoning, Salmonellosi | Humans and Animals |
| *Salmonella paratyphi* | Paratyphoid Fever | Humans |
| *Salmonella typhi* | Typhoid Fever | Humans |
| *Shigella* spp. | Bacillary Dysentery | Humans |
| *Vibrio cholerae* | Cholera | Humans |
| *Vibrio* spp. | Diarrhea | Humans and Animals |
| *Yersinia* spp. | Yesiniosis (Acute Enteric Disease | Humans and Animals |

1. เชื้อโรคในระบบทางเดินอาหาร (Enteric Pathogens) เป็นแบคทีเรียชนิดที่เป็นอันตราย และสามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ แบคทีเรียพวกนี้สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเท่ากับอุณหภูมิร่างกายของมนุษย์ ได้แก่ *Vibrio cholerae* ซึ่งทำให้เกิดอหิวาตกโรค *Salmonella typhi* ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ และกลุ่ม *Shigella* ทำให้เกิดโรคบิด (ประวิทย์ สุนทรสัมมะ, 2525) เป็นต้น เมื่อผู้ป่วยที่เป็นโรคดังกล่าวถ่ายอุจจาระลงไปในแหล่งน้ำ แบคทีเรียพวกนี้จะอยู่ในน้ำได้เป็นเวลานาน การที่จะวิเคราะห์แบคทีเรียจำพวกนี้ มีวิธีการที่ละเอียดรอบคอบและยุ่งยากมากดังนั้นการตรวจวิเคราะห์น้ำทางด้านแบคทีเรียจึงไม่นิยมตรวจหาเชื้อพวกนี้โดยตรง

2. แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform Bacteria) เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae แบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ *Escherichia* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella*

spp. และ *Enterobacter* spp. (Freeman, 1979) แบคทีเรียกลุ่มนี้จะอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์มากที่สุด โดยจะมีอยู่ในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่นทุกชนิด ในอุจจาระของคน 1 กรัม จะมีเชื้อแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มประมาณ $10^5$ - $10^9$ เซลล์ (โกมล ศิวะบวร, เชายุทธ พรพิมลเทพ, และ สุวิทย์ ชุมนุมศิริวัฒน์, 2523) โดยปกติแล้วเชื้อแบคทีเรียพวกนี้ไม่ก่อให้เกิดโรค (Non-Pathogenic Bacteria) แต่ถ้าเมื่อถ่ายอุจจาระลงไปปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำ แบคทีเรียพวกนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ในน้ำได้นานกว่าพวกแรกการวิเคราะห์จึงง่ายกว่าพวกแรกดังนั้นการตรวจ คุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย จึงนิยมใช้แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของน้ำ

## รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม และแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์ม

### สาเหตุการวิเคราะห์แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม

สาเหตุที่เลือกแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม เป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจคุณภาพน้ำกองสุขาภิบาล (2521) และ โกมล ศิวะบวร และคณะ (2523) ได้สรุปเหตุผลที่เลือกแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มมาเป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจคุณภาพน้ำทางด้านแบคทีเรีย ดังนี้

1. การตรวจหาแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่มีอยู่ในน้ำ ทำได้ง่ายกว่าการตรวจหาพวกเชื้อโรคในระบบทางเดินอาหาร (Enteric Pathogens) ตัวอื่น ๆ เพราะแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มสามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสได้กรดกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งแบคทีเรียอื่น ๆ ที่ย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ก็มีเหมือนกัน แต่มีจำนวนน้อยมาก

2. เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ปกติจะมีอยู่ในอุจจาระของคนและสัตว์ประมาณร้อยละ 95 และอยู่ในดินประมาณร้อยละ 5 เท่านั้น ดังนั้นน้ำที่ตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มแบคทีเรีย จึงหมายถึงน้ำนั้นมีโอกาสถูกปนเปื้อนจากอุจจาระ-ร้อยละ 95

3. ในสภาวะอย่างเดียวกัน โดยหมายถึงน้ำชนิดเดียวกันอุณหภูมิเท่ากันแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มจะมีความทนทานได้ดีกว่า เชื้อโรคในระบบทางเดินอาหาร (Enteric Pathogens ) ตัวอื่น ๆ

4. เมื่อตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มในน้ำ ก็พอจะลงความเห็นได้ว่า น้ำนั้นมีอุจจาระของคนหรือสัตว์ปะปนอยู่ด้วยแน่ และอาจคาดการณ์ได้ว่าจะมีเชื้อโรคของระบบทางเดินอาหารปะปนอยู่ด้วย

5. การตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มในน้ำ จึงเป็นเครื่องชี้ให้ทราบว่า ในน้ำนั้นมีความสกปรกมากน้อยเพียงใด กล่าวคือถ้าตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มมาก แสดงว่าน้ำนั้น

มีความสกปรกมาก ในทางตรงข้ามถ้าน้ำสกปรกน้อย ก็จะพบจำนวนแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มน้อย หรืออาจไม่พบเลย

**แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม**

แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มเป็นแบคทีเรียชนิด Aerobes และ Facultative Anaerobes ติดสีแกรมลบรูปท่อนไม่สร้างสปอร์ สามารถหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ และสร้างกรดและก๊าซภายใน 24 - 48 ชั่วโมง (Robert, 1988) ถิ่นที่อาศัยของแบคทีเรียกลุ่มนี้อยู่ในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม ประกอบด้วยแบคทีเรียที่มีถิ่นกำเนิดจากอุจจาระและที่ไม่มีถิ่นกำเนิดจากอุจจาระ แบคทีเรียหลักของกลุ่มนี้มี 4 สกุล คือ *Escherichia* sp., *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp. และ *Klebsiella* sp. ซึ่งถูกจัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทุกสายพันธุ์สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสได้ รีดิวซ์ (Reduce) ไนเตรทเป็นไนไตรท์ไม่สร้างเอนไซม์ Cytochrome Oxidase ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ยกเว้น *Klebsiella*, *Shigella* และ *Yersinia* ในการตรวจสอบคุณภาพน้ำหาปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้เป็นการตรวจสอบที่ยากและยุ่งยาก แต่พบว่าการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้ชนิดไม่ก่อโรค เช่น แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทำได้ง่ายกว่า ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้พบได้ทั่วไปในระบบทางเดินอาหาร แต่ไม่พบในดินและน้ำ เมื่อเกิดการปนเปื้อนในน้ำทำให้สามารถสันนิษฐานได้ว่าน้ำนั้นมีการปนเปื้อนจากอุจจาระได้ (Lan, 1995) สำหรับแสดงการปนเปื้อนอุจจาระของคนและสัตว์เลือดอุ่นโดยถูกปล่อยออกมากับอุจจาระในปริมาณมากโดยเฉลี่ย $2 \times 10^{11}$ เซลล์ต่อคนต่อวัน (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) ในน้ำที่เกิดปัญหามลพิษจะพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ในปริมาณสูงด้วย เมื่อพบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มจึงเป็นการหาปริมาณแบคทีเรียก่อโรคทางอ้อม จึงใช้เป็นดัชนีสำหรับความปลอดภัยของแหล่งน้ำ จากที่กล่าวมาแล้วอาจสรุปหน้าที่ของจุลินทรีย์ ที่เป็นดัชนีดังนี้ (Frederick, 1993)

1. ไม่มีในน้ำสะอาดเป็นจุลินทรีย์ที่ตรวจพบเมื่อพบว่ามีจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนอยู่ในน้ำ
2. มีในอุจจาระปริมาณมาก
3. สามารถดำรงชีพ ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมที่จุลินทรีย์ก่อโรคเจริญอยู่ได้
4. มีเอกลักษณ์ แยกออกจากจุลินทรีย์อื่นได้และนับจำนวนง่าย
5. ปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีต้องมีมากกว่าจุลินทรีย์ก่อโรค
6. ต้องเป็นจุลินทรีย์ที่ถูกปล่อยมาจากแหล่งเดียวกับจุลินทรีย์ก่อโรค

**ชนิดของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม**

1. ชนิดของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม สถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม (2525) ได้จำแนกแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม ออกเป็น 2 ชนิด ตามแหล่งที่มาคือ

1.1 Fecal Coliform Bacteria พวกนี้จะอาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น ถูกขับถ่ายออกมาทางอุจจาระทุกครั้งที่เกิดโรคระบาดที่เกี่ยวกับทางเดินอาหารจะพบแบคทีเรียชี้แนะนี้ ตัวอย่างเช่น เชื้อ *E. coli* เป็นต้น

1.2 Non-fecal Coliform Bacteria พวกนี้อาศัยอยู่ในดินและพืช มีอันตรายน้อยกว่าพวกแรก แต่ใช้แบคทีเรียชี้แนะถึงความไม่สะอาดของน้ำได้ เช่น *Enterbacter aerogenes* เป็นต้น

2. คุณสมบัติของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม มีดังนี้

2.1 รูปร่างเป็นท่อนเล็ก ๆ ไม่มีสปอร์ (Con-spore Forming)

2.2 เป็นพวกกรัมลบ (Gram-Negative)

2.3 สามารถย่อยพวกแลคโตส (Lactose) ให้เกิดกรดและก๊าซ เมื่อนำไปบ่ม (Incubate) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

2.4 สามารถเจริญได้ทั้งในสถานที่ที่มีอากาศ (Aerobic) และไม่มีอากาศ (Anaerobic) จึงจัดแบคทีเรียกพวกนี้เป็นแฟคคัลเตตีฟ (Facultative Bacteria)

2.5 สามารถทำให้เกิดก๊าซจากอาหารเหลว (Liquid Media) บริลเลียน กรีน แลคโตส ไบล์ บรอธ (Brilliant Green Lactose Bile Broth) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ภายใน 48 ชั่วโมง หรือเร็วกว่านั้น

2.6 สามารถเจริญได้ในอาหารแข็ง (Solid Media) อีเอ็มบี (EMB: Eosine Methylene Blue) ที่ 35 องศาเซลเซียส ในเวลา 24 ชั่วโมง

**แบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์ม** (Fecal Coliform Bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์ม (Fecal Coliform Bacteria) หมายถึง แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่มีแหล่งกำเนิดจากอุจจาระ แบคทีเรียเหล่านี้มีถิ่นอาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่นปนเปื้อนออกมากับอุจจาระเสมอโดยเฉลี่ย $2 \times 10^{11}$ เซลล์ต่อคนต่อวัน พบว่ามี *E. coli* อยู่ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ โดย *E. coli* เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ซึ่งพบมากที่สุดในลำไส้ (Normal Intestinal Flora) มีรูปร่างท่อน ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ บางสายพันธุ์มีแคปซูลสามารถทำให้เกิดก๊าซจากอาหารเหลว EC broth ได้ที่อุณภูมิ 44.5 $\pm$ 0.5 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง สาเหตุที่ใช้ *E. coli* เป็นดัชนีพอสรุปได้ดังนี้

1. พบมากในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น
2. ปล่อยออกมากับอุจจาระของคนและสัตว์ในปริมาณสูง
3. มีอัตราการตายใกล้เคียงกับจุลินทรีย์ก่อโรค
4. เป็นเชื้อที่ไม่ก่อโรคหรือก่อโรคไม่ร้ายแรง ปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์
5. มีความต้านทานต่อคลอรีนมากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น

ในการตรวจสอบคุณภาพน้ำทางด้านจุลชีววิทยา จะให้ความสำคัญกับแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์มมากกว่าแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มอื่นที่ไม่ใช่แบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์ม เพราะแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์มจะเป็นตัวบ่งบอกได้ถึงการปนเปื้อนของสิ่งขับถ่ายหรืออุจจาระลงสู่แม่น้ำ

**สัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของอี.โคไล (*E. coli*)**

*E. coli* เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ซึ่งพบมากที่สุดในลำไส้ (Normal Intestinal Flora) หรืออุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมหลายชนิด (Brock & Madigan, 1973) มีรูปร่างท่อน กว้าง 1.1 - 1.5 ไมโครเมตร ยาว 2.0 - 6.0 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 - 0.7 ไมโครเมตร ติดสีย้อมแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ บางสายพันธุ์มีแคปซูลบาง ๆ ห่อหุ้มสายพันธุ์ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้โดยใช้ Peritrichous Flagella ยาวประมาณ 2 ไมโครเมตร ใช้เคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็ว 16.5 ไมโครต่อวินาที (Brock & Madigan, 1973) เจริญได้ในช่วงของค่าความเป็นกรดและด่าง 4.3 - 9.5 และเจริญได้ดีในช่วงของค่าความเป็นกรดและด่าง 6.0 - 8.0 (Pelczar, Chan, & Reid, 1977) เจริญได้ดีที่ 20 - 40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิเหมาะสมที่สุดในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะ Facultative Anaerobe (Burrows, 1973) สามารถหมักย่อยน้ำตาลหลายชนิดทำให้เกิดกรดได้ เช่น กลูโคส (Glucose), แลคโตส (Lactose), ทรีฮาโลส (Trehalose) และไซโลส (Xylose) เป็นต้น และส่วนมากให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนเป็นผลผลิตร่วมด้วย (Nester, Robert, Carthy, & Pearsall, 1973) การทดสอบออกซิเดส (Oxidase) และคาตาเลส (Catalase) จะให้ผลลบ สางการทดสอบอินดอล และเมทิล เรด ให้ผลบวก ไม่ให้แกสไฮโดรเจนซัลไฟด์ ($H_2S$) ไม่สร้างเอนไซม์ Dnase, Urease และ Phenylalanine Deamisase ไม่สามารถเจริญบนอาหารที่มีโปแตสเซียมไซยาไนด์ (KCN) ไม่ใช้ซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน ในการเจริญ แต่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือน้ำดี (Bile Salts) เช่น บนอาหาร MacConkey Agar จะให้โคโลนีที่มีลักษณะผิวแห้ง สีชมพู และรอบโคโลนีมีการตกตะกอนของเกลือน้ำดี ส่วนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB Agar จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 - 3 มิลลิเมตร มีสีเข้มตรงกลางและ

เป็นมันเงาแบบโลหะ (Dark Center with Greenish Metallic Sheen) เนื่องจากความสามารถในการหมักย่อยน้ำตาลแล้วให้ปริมาณกรดสูง (Brock & Madigan, 1973) *E. coli* ยังสามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี เช่นมีชีวิตอยู่ตามเสื้อผ้าแห้งและฝุ่นละอองได้หลายวัน อยู่ในน้ำได้นานหลายสัปดาห์ แต่ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เจริญได้ในความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.0 - 0.4 กรัม/100 มิลลิลิตร จัดเป็นพวกที่ไม่ชอบความเค็ม (Nonhalphile) (Stanier, 1979)

**ลักษณะทางเซรุ่มวิทยา**

การจำแนกกลุ่มต่าง ๆ ของ *E. coli* เพื่อให้ทราบ-ลักษณะทางซีโรไทป์ (Serotype) นั้น มักวิเคราะห์-คุณลักษณะทางแอนติเจนของเชื้อ *E. coli* ส่วนมากมีแฟลกเจลลาและมีความสามารถในการสร้างแคปซูลได้ ดังนั้น *E. coli* จึงมีทั้งโอ-แอนติเจน (O-antigen), เอช-แอนติเจน (H-antigen) และ เค-แอนติเจน (K-antigen) (Burrows, 1979) ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะมีความแตกต่างกันโดยจำแนกกลุ่มย่อยโดยยึดลักษณะ โอ-แอนติเจน และจำแนกกลุ่มย่อยโดยใช้ เค-แอนติเจน และ เอช-แอนติเจน ของแต่ละเซลล์ ซึ่งคุณสมบัติของแอนติเจนต่าง ๆ ของ *E. coli* มีดังต่อไปนี้

1. โอ-แอนติเจน หรือ โซมาติก แอนติเจน (Somatic Antigen) เป็นสารประกอบประเภทไลโปโพลีแซคคาไรด์ แอนติเจนชนิดนี้เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อที่เคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้ ทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสได้ ทนต่อแอลกอฮอล์ และกรดเจือจาง โอ-แอนติเจนนี้เตรียมได้จากสายพันธุ์ที่เคลื่อนที่ได้และสายพันธุ์ที่เคลื่อนที่ไม่ได้ ถ้าเตรียมจากสายพันธุ์ที่เคลื่อนที่ได้ต้องนำมาต้มแล้วเติมแอลกอฮอล์เพื่อทำลายเค-แอนติเจน และเอช-แอนติเจน แอนติเจนนี้เมื่อทำปฏิกิริยากับซีรัมที่มีแอนติ-โอ-แอนติเจน (Aไม่สามารถตรวจวัดค่าได้-O-antigen) จะเกิดการจับกลุ่มกันตกตะกอนอย่างช้า ๆ ซึ่งเป็นการตกตะกอนละเอียด (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 1980)

2. เค-แอนติเจน เป็นสารประกอบพวกโพลีแซคคาไรด์ แอนติเจนชนิดนี้ถูกทำลายได้ง่ายด้วยกรดหรือฟีนอล ไม่ทนต่อความร้อน (Burrows, 1973)

3. เอช-แอนติเจน เป็นส่วนของแฟลกเจลลา ประกอบด้วยโปรตีนที่เรียกว่า แฟลกเจลลิน (Flagellin) สายพันธุ์ที่ไม่เคลื่อนที่ไม่พบเอช-แอนติเจน เนื่องจากเอช-แอนติเจนมีคุณสมบัติไม่ทนต่อความร้อนจึงถูกทำลายได้ง่ายที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ไม่ทนกรดและแอลกอฮอล์ แต่เมื่อเติมฟอร์มาลินจะไม่ทำให้คุณสมบัติของเอช-แอนติเจนสูญเสียไป ดังนั้น จึงเตรียมเอช-แอนติเจน โดยเลี้ยง *E. coli* สายพันธุ์ที่เคลื่อนที่ได้ในอาหารเหลว แล้วเติม

ฟอร์มาลินลงไปในอาหารที่มีเชื้ออยู่ แอนติเจนที่เตรียมได้นี้เมื่อทำปฏิกิริยากับซีรัมที่มีแอนติ-เอช-แอนติเจน (Anti-H-Antigen) อยู่ด้วยจะเกิดการเกาะกลุ่มอย่างรวดเร็ว มีลักษณะเป็นตะกอนละเอียด (Jawetz, Melnick & Adelberg, 1980)

**การทำให้เกิดโรค**

เลวิน (Levine, 1987) ได้รายงานว่า Theodore Escherich เป็นคนแรกที่พบ E. *coli* และเป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงครั้งแรกในปี ค.ศ. 1885 ซึ่งปกติ *E. coli* จะเป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal Flora) ของลำไส้ แต่จะเกิดภาวะการติดเชื้อได้ เมื่อร่างกายของผู้ให้อาศัย (Host) เกิดความผิดปกติ เรียกการติดเชื้อลักษณะนี้ว่า การติดเชื้อแบบฉวยโอกาส (Opportunistic Infection) และเรียก *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของโรคว่า Opportunistic Pathogen ปัจจุบันพบว่า *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงมีหลายชนิด ซึ่งมีองค์ประกอบพื้นฐานในการก่อโรค ได้แก่ การมีพลาสมิดควบคุมความ รุนแรงของโรค การมีลักษณะปฏิสัมพันธ์ในเยื่อบุลำไส้ สามารถผลิตเอนเทอโรทอกซิน (Enteroxin) และ ไซโตทอกซิน (Cytotoxin) แต่ละสายพันธุ์จะมี โอ- และ เอช – ซีโรไทป์ จำกัด เฉพาะกลุ่มแตกต่างกันไป

ปัจจุบันได้จำแนก *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงตามคุณสมบัติดังนี้ คือ ปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรง (Virulence Factors) ลักษณะอาการทางคลีนิค ระบาดวิทยา และ โอ:เอช-ซีโรไทป์ (O:H Serotype) คุณสมบัติเหล่านี้ใช้ในการจัดกลุ่ม Diarheogenic *E. coli* แบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ Entertoxigenic *E. coli* (ETEC),. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enteroinvasivegenic *E. coli* (EIEC), Enterohemorrhagenic *E. coli* (EHEC), Enteroaggregrative *E. coli* (EAEC) ซึ่งแต่ละประเภทมีกลไกในการก่อโรคแตกต่างกันไป

1. ETEC (Enterotoxigenic *E. coli*) เป็นเชื้อที่ก่อโรคอุจจาระร่วง ที่เด่นขึ้นมาในปี ค.ศ. 1960-1970 เป็นสาเหตุใหญ่ที่ก่อโรคอุจจาระร่วงในเด็กทารก (Iinfant) และผู้ใหญ่ (Adults) ในประเทศที่กำลังพัฒนาอุจจาระร่วงในผู้เดินทางหรือนักท่องเที่ยว โดยความเป็นกรดในกระเพาะอาหารป้องกันการเพิ่มจำนวนในลำไส้เล็กได้ การติดเชื้อ ETEC เนื่องมาจากการปนเปื้อนในอาหารและน้ำ และ ETEC สามารถสร้าง Heat-Labile Enterotoxin (LT) เป็นสารพิษที่ไม่ทนความร้อน และ Heat-Stable Enterotoxin (ST) เป็นสารพิษที่ทนความร้อน ลักษณะอาการของผู้ป่วยจะถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ อาการท้องเสียรุนแรง คลื่นไส้ ปวดท้องเกร็ง และมีไข้ต่ำ เนื่องจากคุณสมบัติของสารพิษคล้ายกับสารพิษที่สร้างโดย *V. cholerae* โดยเฉพาะสารพิษชนิด LT นอกจากการสร้าง LT และ ST แล้วยังมีองค์ประกอบอื่นคือ พิไล (Pili) ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อของ ETEC แล้ว ยังมีสมบัติการเป็นแอนติเจนด้วย ดังนั้น การก่อโรคของ ETEC จึงอาศัยสารพิษ

LT,ST และพิไล สำหรับสารพิษชนิด LT เป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่มีลักษณะคล้ายกับสารพิษของเชื้ออหิวาต์ถูกทำลายง่ายที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ออกฤทธิ์โดยกระตุ้นเอนไซม์ Adenylate Cyclase ทำให้ปริมาณของ Cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP) เพิ่มขึ้น สารพิษชนิด LT ประกอบด้วย 2 Fragment คือ A และ B โดย Fragment B ทำหน้าที่จับกับตัวรับ (Receptor Site) บน GM1 Ganglioside ของเยื่อบุผิวของลำไส้เล็ก (Intestinal Mucosa) ต่อมา Fragment A จึงเข้าไปในเนื้อเยื่อบุผิวของลำไส้เล็กได้และกระตุ้นให้ Adenylate Cyclase เปลี่ยน ATP ไปเป็น cAMP ปริมาณของ cAMP ที่สูงขึ้นทำให้การหลั่งของเหลวออกนอกร่างกายค่อนข้างสูงผิดปกติ เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ และน้ำ ทำให้ถ่ายเป็นน้ำ (Watery Diarrhea) หรืออาจเรียกลักษณะแบบนี้ว่า Hypersecretion of Electrolytes ไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ Fluids เนื่องจาก cAMP ทำให้ Na+ และ K+ Pump เสียสภาพ ส่วนสารพิษชนิด ST เป็นโปรตีนโมเลกุลเล็กทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งน้ำและโซเดียมออกจากลำไส้เช่นกัน แต่สารพิษชนิด ST จะไปกระตุ้น Guanylate Cydlase ทำให้ปริมาณ cGAM สูงเกิด hyperscretion คลื่นไส้และมีไข้ต่ำ ตะคริวขึ้นท้อง (Abdominal Cramps) ภายใน 1 - 5 วัน อาจหายเองได้ ส่วนเทคนิคการวินิจฉัยโรคนั้น เริ่มจากดูอาการเพาะเชื้อ และทดสอบสารพิษที่เชื้อสร้างขึ้น (Finegold et al., 1986)

2. EPEC (enteropathogenic *E.coli*) เป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงชนิดหนึ่งในเด็ก เคยระบาดในปี ค.ศ. 1940 ทำให้เกิดท้องเสียในเด็กเล็กอายุน้อยกว่า 1 ปี การก่อโรคของ EPEC ถูกควบคุมโดยพลาสมิด EAF (EPEC Adherence Factor) (Ewing, 1986) อย่างไรก็ตาม EPEC บางสายพันธุ์ก็ไม่มีพลาสมิด EAF ซึ่งมีความสำคัญต่อการเกิดอุจจาระร่วงเช่นกัน ดังนั้น Ewing และ Tarlor จึงจัด EPEC ออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีพลาสมิด EAF เรียกว่า Classical EPEC Class I และกลุ่มที่ไม่มีพลาสมิด EAF เรียกว่า Classical EPEC Calss II (Levine, 1987) EPEC เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงในเด็กแรกเกิด-อายุต่ำกว่า 18 เดือน พบว่ามีอัตราการทำลายไมโครวิลไลของลำไส้เล็ก ซึ่งจะเกิดขึ้นหลังจากที่แบคทีเรียไปเกาะติดเซลล์เยื่อบุลำไส้ และมีการยื่นส่วนของเซลล์ออกมาล้อมรอบแบคทีเรียโดยไม่พบร่องรอยการแทรกผ่านเข้าไปในลำไส้ อาการทางคลีนิคของผู้ป่วยด้วยเชื้อ EPEC คือ มีอาการไข้ต่ำ คลื่นไส้ อาเจียน อ่อนเพลีย อุจจาระเป็นมูก แต่ไม่พบเม็ดเลือดขาว (Finegold et al., 1986)

3. EHEC (Enterohemorrhagenic *E. coli*) ลักษณะของเชื้อในกลุ่มนี้นั้นพบว่า EHEC เป็น *E. coli* ที่ไม่พบพลาสมิด และเป็นสายพันธุ์ Nonclassical Serotype ของ EPEC จากการทดสอบความรุนแรงในอาสาสมัคร พบว่าเป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง แต่ไม่มีเม็ดเลือดแดง

หรือเม็ดเลือดขาวปนออกมา คุณสมบัติการเกาะติดเซลล์เยื่อบุลำไส้ และการก่อโรคถูกควบคุมโดยพลาสมิดขนาด 55 - 65 เมกกะดาลตัน EHEC ยังเคยระบาดในชุมชนเด็กในประเทศแม็กซิโก แต่ EHEC ยังมิได้ถูกศึกษา- โอ-ซีโรไทป์ (Levine, 1987) EHEC สายพันธุ์ล่าสุดที่เพิ่งระบาดในประเทศญี่ปุ่น เมื่อเร็ว ๆ นี้ (Rosario & Beuchat, 1995) คือ สายพันธุ์ O157:H7 ทำให้เกิดอาการท้องเสียแบบมีเลือดออก เนื่องจากเซลล์เยื่อบุลำไส้ถูกทำลาย และลำไส้ใหญ่อักเสบ (Colitis) นอกจากนี้แล้วพบว่ายังมีอาการที่เกี่ยวเนื่องมาจากความบกพร่องของไต (Hemolytic Uremic Syndrome (HUS)) ได้แก่ เกร็ดเลือดต่ำ โลหิตจาง (Hemolytic Anemia) และไตวาย (Kidney Failure) อาจมีอาการท้องเป็นตะคริว และมีไข้ต่ำหรือไม่มีไข้อยู่เลยร่วมกับอาการท้องเสียด้วย ในเด็กเล็กอาจรุนแรง-ตายได้ *E. coli* O157:H7 พบในเนื้อที่ไม่สุก นมที่ไม่ฆ่าเชื้อ และในน้ำแอปเปิ้ลได้ ซึ่ง *E. coli* O157:H7 สามารถสร้างไซโตทอกซินขึ้นมา 2 ชนิดคือ วีโรทอกซิน I และ II (Verotoxin I และ II) สำหรับวีโรทอกซิน I คล้ายกับชิกาทอกซิน (Shigatoxin) ที่สร้างโดย Shigella gr.A type I มาก เช่น *S. Dysenteriae* Type I สารพิษวีโรทอกซินนี้จะออกฤทธิ์ต่อเซลล์ระบบประสาทเช่นเดียวกับชิกาทอกซิน และแอนติบอดีต่อชิกาทอกซิน จะทำปฏิกิริยานิวทรอล ไลเซชั่น (Neutralization) กับวีโรทอกซิน I เท่านั้น คุณสมบัติประการหนึ่งในการจัด *E. coli* O157:H7 ออกจาก *E. coli* ตัวอื่นคือ *E. coli* O157 : H7 จะไม่หมักย่อยน้ำตาลซอร์บิทอล (Sorbital) ภายในเวลา 48 ชั่วโมง การวินิจฉัยอาจทดสอบการสร้างวีโรทอกซินโดยการตรวจหาวีโรทอกซินในอุจจาระหรือให้ทำปฏิกิริยากับ O157:H7 แอนติซีรัม (Finegold et al., 1986)

4. EIEC (Enteroinvasivegenic *E.coli*) พบครั้งแรกในประเทศอิตาลี ระหว่างปี ค.ศ. 1944 -1945 และเคยระบาดในปี ค.ศ.1985 เป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากทหารอเมริกันที่ป่วยเป็นโรคบิดไม่มีตัว (Bacillary Dysentery) ต่อมาได้มีรายงานว่าการวิเคราะห์แยกแบคทีเรียชนิดนี้จะมีลักษณะเฉพาะซึ่งสามารถหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสได้อย่างช้า ๆ และอาจจะไม่เคลื่อนที่ด้วย จึงมีลักษณะคล้ายกับ *E. coli* sp. มาก การวินิจฉัยโรคอาจเกิดความผิดพลาดขึ้นได้ ในปัจจุบันพบว่า EIEC และ *E. coli* sp. สามารถก่อโรคอุจจาระร่วงได้คล้ายคลึงกันและติดเชื้อที่ส่วนปลายของลำไส้ใหญ่ โดยเชื้อจะแทรก (Penetrated) เข้าไปอยู่ในเซลล์เยื่อบุผิวเพื่อทำลายเยื่อบุผิว ลำไส้เล็กส่งผลให้มีเมือกและเลือดปนออกมากับอุจจาระ (Plood Stool) จำนวนมาก รวมทั้งมีเม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear Cells (นันทนา อรุณพฤกษ์, 2537)

5. EAEC (Enteroaggregrative *E. coli*) เป็นชนิดที่ทำให้เซลล์รวมกลุ่มกันได้ สามารถจับกับเยื่อบุผิวของลำไส้เล็กทำให้เกิดอุจจาระร่วงได้ จึงทำให้เกิดการสูญเสียน้ำ ของร่างกายควบคู่

กันไป นอกจากนี้ยังอาจพบว่ามีอาการอาเจียน และปวดท้องร่วมด้วย (Mahon & George, 1995)

**การตรวจคุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย**

การตรวจคุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย โดยทั่วไปสามารถทำได้โดย (กรมอนามัย, 2539)

1. การตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total Plate Count or Standard Plate Count) เป็นวิธีการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้นหรือชนิดแข็ง (Agar) โดยตรง โดยการนำตัวอย่างมาถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่ใช้แยกวิเคราะห์เฉพาะโคลิฟอร์ม เช่น VRB (Violet Red Bile Agar) EMB (Eosin Methylene Blue Agar) หรือ MC (MacConkey Agar) แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมานับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนโคโลนีที่เกิดขึ้นนี้ถือว่าได้มาจากการเจริญแบ่งเซลล์ของแบคทีเรียหนึ่งเซลล์ ซึ่งโคโลนีในแต่ละจานเพาะเชื้อควรจะมีประมาณ 30 - 300 โคโลนี แต่ถ้ามีจำนวนมากกว่านี้ ควรจะปรับระดับการเจือจางตัวอย่างให้เหมาะสมก่อน โคโลนีของโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ กันนี้ จะให้ลักษณะโคโลนีที่ต่างกัน เช่น VRB จะได้โคโลนีสีม่วงแดงมีสีเข้มมันวาวคล้ายโลหะ (Metallic Sheen) และ MC จะให้โคโลนีสีชมพู การตรวจหาแบคทีเรียโดยวิธีนี้ มีข้อดีคือ เป็นวิธีง่ายไม่ซับซ้อน แต่มีข้อจำกัดคือ บางครั้งอาจนับจำนวนแบคทีเรียได้น้อยกว่าความเป็นจริง เนื่องจากอาจมีเซลล์หลาย ๆ จำนวนอยู่ใกล้กันจนเกิดเป็นโคโลนีเดียวกันได้

2. การตรวจหาโคลิฟอร์ม (Coliform Determination) เป็นการตรวจหาแบคทีเรียชี้แนะระดับความสะอาดของน้ำหรือเป็นเครื่องชี้ว่าน้ำนั้นอาจจะมี แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารปนเปื้อนมาได้ การตรวจหาโคลิฟอร์มทำได้ 2 วิธีคือ

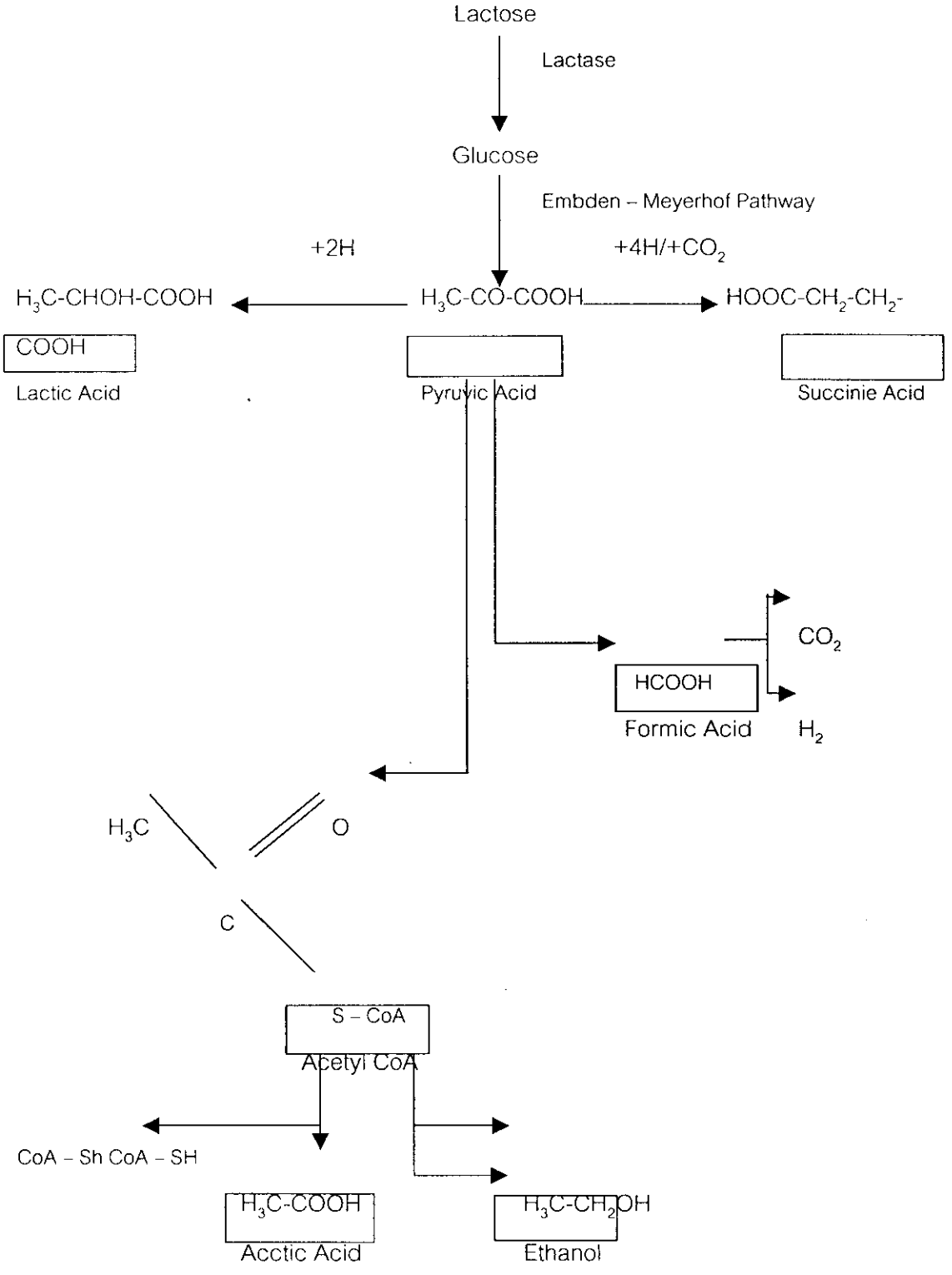
2.1 วิธี Multiple-Tube Fermentation Technique เป็นวิธีมาตรฐานและได้รับความนิยมมาก สามารถใช้วิธีนี้ในการหา Total Coliform MPN และ Fecal Coliform MPN จากแหล่งน้ำต่าง ๆ

2.1.1 Standard Total Coliform (MPN) Test ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

2.1.1.1 Presumptive Test โดยการถ่ายปริมาตรที่ทราบของน้ำตัวอย่างลงในอนุกรมของหลอดหมัก (Fermentation Tube) ซึ่งบรรจุ แลคโตสหรือ Lauryl Tryptose Broth ปกติจะถ่ายน้ำตัวอย่าง 10,1 และ 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดหมักปริมาตรละ 5 หลอด แล้วบ่ม (Incubate) ทั้ง 15 หลอด ที่ 35 $\pm$ 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง จำนวนของหลอดที่ให้ผลบวก (เกิดก๊าซเกิน 10 เปอร์เซนต์ หรือเกิดกรด) ของแต่ละการเจือจาง จะถูกจดบันทึก และแยกหลอดเพื่อลง ตัวอย่างในขั้นยืนยันผล (Confirmed Test)

การได้ Presumptive Test เป็นบวก จะบอกแต่เพียงว่าอาจจะมีเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำนั้น เพราะเชื้อแบคทีเรียอื่นบางตัว และยีสต์ ก็สามารถหมักแลคโตส และให้ก๊าซ จึงต้องทำ Confirmed Test ต่อไป

2.1.1.2. Confirmed Test ทำได้โดยการนำเอาของเหลวบางส่วน จากหลอดทดลองชั้น Presumptive ที่เกิดก๊าซ โดยการใช้ห่วงเขี่ยเชื้อมาตรฐานมาตรฐาน ถ่ายของเหลวจากหลอดที่เกิดก๊าซนี้ 1 Loop ไปยังหลอดหมัก (Fermentation Tube) ที่บรรจุ Brilliant Green Lactose Bile Broth เชื้อแบคทีเรียตัวอื่นที่ไม่ใช่โคลิฟอร์มแบคทีเรีย จะถูกยับยั้งไม่ให้เจริญ ดังนั้นก๊าซที่เกิดขึ้นในหลอดเหล่านี้จะบอกได้ว่าแบคทีเรียที่อยู่เป็นกลุ่มของโคลิฟอร์ม นำไปอ่านหาค่าดัชนี เอ็มพี เอ็น (MPN Index) ซึ่งจะบอกจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่มีในน้ำ 100 มิลลิลิตร ค่าดัชนีนี้เป็นค่าการวิเคราะห์ทางสถิติ ซึ่งบอกถึงจำนวนแบคทีเรียที่มีอยู่ จากจำนวนของหลอดที่ให้ค่าบวกหลังจากที่ตัวอย่างน้ำถูกทำให้เจือจาง ในการอ่านค่า เอ็มพีเอ็น (Most Probable Number ; MPN) จะใช้ตารางดัชนีเอ็มพีเอ็น เปรียบเทียบจำนวนของหลอดที่ให้ผลบวก ของแต่ละการเจือจางกับหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละคอลัมน์ของตาราง ซึ่งกลไกการสร้างกรดและก๊าซจากแลคโตส โดยโคลิฟอร์มแบคทีเรียและฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรียแสดงตามภาพที่ 1 ดังนี้




ภาพที่1 แสดงกลไกการสร้างกรดและก๊าซจากแลคโตส โดยโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (กรมอนามัย, 2539)

2.1.1.3 Completed Test เพื่อให้เกิดการทดสอบที่สมบูรณ์ ให้ Steak บน Endo หรือ Eosine Methylene Blue Plate อย่างใดอย่างหนึ่ง ซึ่งเป็น Differential Media และ Selective Media (คือเฉพาะโคลิฟอร์ม เท่านั้น ที่จะเจริญเติบโตได้เป็นโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะ) ด้วยของเหลวจากหลอดของ Brilliant Green Lactose Bile Broth ที่มีก๊าซเกิดขึ้น แล้วนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไปอบเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็น 24 ± 2 ชั่วโมง โคโลนีที่เกิดขึ้นอาจเป็นแบบหนึ่ง ดังนี้ คือ Typical (มีสีเข้มกลางโคโลนี มีหรือไม่มีเงาโลหะ) หรือ Atypical (ขุ่น, เยิ้ม, สีชมพู) หรือ ลบ (Negative) มีลักษณะอื่น

จากนั้นใช้เข็มจิ้มโคโลนีที่แยกเดี่ยว ๆ ที่เห็นชัดในแต่ละจาน ใส่ในหลอดแลคโตส หรือ Lauryl Tryptose Broth พร้อมกับใส่ใน Nutrient Agar slant นำไปอบเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง หรือ 48 ± 2 ชั่วโมง ถ้าเป็นโคลิฟอร์ม จะเกิดก๊าซขึ้น และจาก Agar Slant Culture ให้ทำการย้อมสีแบบแกรม (Gram-Stained) แล้วส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูลักษณะของแบคทีเรียได้

2.1.2 Fecal Coliform (MPN) Test ใช้แยกระหว่าง Fecal กับ Non-Fecal Coliform วิธีการทำโดยการถ่ายของเหลวจากหลอดที่ให้ผลบวก ใน Presumptive Test ของการทำ Total Coliform (MPN) Test มายัง EC Medium ทำไปให้พร้อม ๆ กับ Confirmed Test ให้ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (Sterile Metal Loop) ในการถ่ายของเหลว จากหลอดที่ให้ผลบวกมายัง EC Medium ซึ่งอยู่ในหลอดหมัก (Fermentation Tube) และมีหลอดดักก๊าซ (Durham Tube) สำหรับเก็บก๊าซที่เกิดขึ้น คว่ำอยู่ภายใน เมื่อเติมเชื้อเรียบร้อยแล้ว ให้บ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มเพาะเชื้อที่ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 44.5 ± 0.2 องศาเซลเซียส 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดภายใน 24 ชั่วโมง หรือน้อยกว่านั้น ให้ถือว่าเป็นผลบวก แสดงว่าเป็น ฟีคอลโคลิฟอร์ม แต่ถ้าไม่มีก๊าซเกิดขึ้น ถือว่าปฏิกิริยาเป็นลบ นั่นคือโคลิฟอร์มนั้นมาจากแหล่งอื่น ไม่ใช่จากทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่น

ส่วนการคำนวณหาฟีคอลโคลิฟอร์ม ทำได้เหมือนกับการหาโคลิฟอร์มทั้งหมด โดยวิธี Multiple Tube Fermentation Technique คือ จากจำนวนของหลอด ที่เกิดก๊าซในแต่ละการเจือจาง ให้นำมาอ่านค่าตามรางดัชนี เอ็มพีเอ็น

2.2 วิธีเยื่อกรอง (Membrane Filter Technique) เป็นการตรวจสอบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำ โดยอาศัยหลักการกรองตัวอย่างภายใต้สูญญากาศด้วยเยื่อกรอง (Membrane Filter) ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางของรู (Pore Diameter) ที่มีขนาดเล็กมาก (0.45

ไมครอน) จนแบคทีเรีย โดยทั่วไปไม่สามารถรอดผ่านได้ จึงถูกดักอยู่บนผิวของเยื่อกรอง แล้วนำเยื่อกรองที่ได้วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแยกวิเคราะห์เฉพาะเชื้อโคลิฟอร์ม จากนั้นนำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 - 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

**รายละเอียดเกี่ยวกับวิธี** Multiple – Tube Fermentation Technique **สำหรับหาค่า** Most Probable Number (MPN)

การนับจำนวนโคลิฟอร์มโดยวิธี Multiple – Tube Fermentation Technique สำหรับหาค่า Most ProbableNumber (MPN) เป็นเทคนิคที่ใช้การเจือจางน้ำตัวอย่างสำหรับนับจำนวนแบคทีเรีย (Carl & Don, 1992) เป็นวิธีสำหรับหาจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นจากการสันนิษฐานโดยใช้การคำนวณทางสถิติ เพื่อให้ได้ค่าที่ใกล้เคียงความจริงมากที่สุด การคำนวณค่า MPN ทำได้โดยผลที่แสดงเป็นบวกหรือลบในแต่ละ Dilution เป็นวิธีที่ให้ผลการนับจำนวนแบคทีเรียทางอ้อมที่มีความหลากหลายมากกว่าวิธีนับจำนวนแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Total Plate Count) วิธี Multiple Tube Fermentation Technique เป็นการสันนิษฐานจำนวนแบคทีเรียจากการคำนวณการแพร่กระจายอย่างสุ่มทั่วทั้งตัวอย่างน้ำ การเจริญของแบคทีเรียจะปรากฏเมื่อมีเซลล์แบคทีเรียหนึ่งเซลล์หรือมากกว่าอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ความแน่นอนของวิธี Multiple – Tube Fermentation Technique ขึ้นอยู่กับจำนวนหลอดอาหารทดสอบในแต่ละ Dilution สำหรับกรณีการทดสอบแบบ Single Dilution ขึ้นอยู่กับจำนวนแบคทีเรียและหลอดอาหารทดสอบ การทดสอบวิธี Multiple – Tube Fermentation Technique บนพื้นฐานของสัมประสิทธิ์ความหลากหลาย [(ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน/MPN)*100] (Carl & Don, 1992) แสดงให้เห็นว่าต้องใช้จำนวนหลอดมากกว่า 500 หลอด สำหรับที่จะให้ค่าสัมประสิทธิ์ความหลากหลายน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ในทางปฏิบัติวิธี Multiple – Tube Fermentation Technique ใช้หลอดเพียง 2 หรือ 3 หลอดต่อ Dilition เท่านั้น การนับจำนวนโคลิฟอร์มโดยวิธี Multiple – Tube Fermentation Technique ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก คือ การทดสอบขั้นแรก (Presumtive Test) การทดสอบขั้นยืนยัน (Confirmed Test) และการทดสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed Test)

การทดสอบขั้นแรก (Presumtive Test) ทำได้โดยเพาะเชื้อตัวอย่างน้ำลงในอาหารที่มี Lauryl Sulfate Tryptose (LST) หรือ Lactose Broth โดย Lauryl Sulfate เป็นสาร Detergent ที่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ขณะเดียวกันจะส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียพวกโคลิฟอร์ม

โคลิฟอร์มจะใช้ออกซิเจนที่มีอยู่ในหลอดอาหารจนหมด และเริ่มหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสภายใต้สภาวะไร้อากาศสร้างกรดและก๊าซภายใน 25 - 48 ชั่วโมง ให้ผลเป็นบวก แต่พบว่าก๊าซที่เกิดขึ้นอาจมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียกลุ่มอื่นที่ไม่ใช้แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม เช่น *Clostridium perfringen* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก

การทดสอบขั้นยืนยัน (Confirmed Test) ทำได้โดยลงเชื้อที่ได้จากการทดสอบขั้นแรกในอาหาร เช่น Brilliant Green Lactose Bile (BGLB) Broth, Eไม่สามารถตรวจวัดค่าได้o Agar , EC Medium และ Eosin Methylene Blue (EMB) Agar เป็นต้น (Lan, 1995) โดย BGLB Broth ประกอบด้วยองค์ประกอบที่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิด คือ Brilliant Green และ Oxbile ส่วนแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มจะหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสสร้างกรดและก๊าซภายใน 24 - 48 ชั่วโมง เป็นการยืนยันผลการทดสอบขั้นแรก จำนวนโคลิฟอร์มต่อ 100 มิลลิลิตรสามารถคำนวณได้จากจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกและลบ โดยอ้างอิงจากตารางที่จัดไว้ให้เฉพาะ Levin's EMB Agar ประกอบด้วย Methylene Blue ที่เป็นองค์ประกอบที่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (แบคทีเรียแกรมลบที่หมักย่อยน้ำตาลแลคโตส) จะเจริญบนอาหารนี้และสร้างโคโลนีที่มีตรงกลางสีดำ (Nucleate Colonies) สำหรับ *E. coli* และ *Enterobacter aerogeneses* สามารถสร้างโคโลนีเงาโลหะ (Greenish Metallic Sheen) แต่สามารถแยกความแตกต่างได้โดยอาศัยขนาดและสีของโคโลนี ซึ่งโคโลนีของ *E. coli* มีขนาดเล็กและสร้าง Metallic Sheen ได้สม่ำเสมอ ส่วน *Enterobacter aerogeneses* มีโคโลนีขนาดใหญ่กว่าและสร้าง Metallic Sheen ได้ไม่สม่ำเสมอ สำหรับอาหาร Endo Agar ประกอบด้วย Fuchin Sulfate เป็นอินดิเคเตอร์ที่ใช้แยกแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มจะสร้างโคโลนีและรอบ ๆ โคโลนีแดงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Endo Agar สำหรับแบคทีเรียที่ไม่หมักย่อยน้ำตาลแลคโตสจะสร้างโคโลนีและรอบ ๆ โคโลนีไม่มีสีหรือสีน้อย

การทดสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed Test) ทำได้โดยนำหลอดอาหารที่ให้ผลบวกจากการทดสอบขั้นยืนยันมาเขี่ยเชื้อลงบนอาหาร EMB Agar ซึ่งมี Eosin และ Methylene Blue ที่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกโคโลนีที่แยกได้นำมาลงในอาหาร LST Broth ถ้าเกิดก๊าซภายใน 24 - 48 ชั่วโมง ให้ทำการย้อมสีแกรมสังเกตลักษณะเซลล์เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจทำการทดสอบด้านชีวเคมี (Biochemistry Test) อีกด้วย

**รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS) agar**

แบคทีเรียที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS) Agar ได้แก่แบคทีเรียในสกุล *Vibrio* และแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae เช่น *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp. เป็นต้น แต่แบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ให้โคโลนีขนาดเล็ก (Joklik et al., 1992) โดยจะกล่าวถึงแบคทีเรียบางกลุ่มที่มีความสำคัญโดยสังเขปดังนี้

**แบคทีเรียในสกุลวิบริโอ (*Vibrio*)**

แบคทีเรียในสกุล *Vibrio* เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในวงศ์ Vibrionaceae ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อนโค้งเล็กน้อย (Curve Rod) ไม่สร้างสปอร์ และแคปซูลเคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่ปลายด้านใดด้านหนึ่ง (Monotrichous) แต่ถ้าเจริญบนอาหารแข็งอาจมีแฟลกเจลลาแบบรอบเซลล์ (Peritichous) จัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Facultative Anaerobe (Davis, Ranato, Nerman, & Harold, 1990) พบได้ทั่วไปทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำทะเลที่มีสภาพเป็นด่างได้นาน 1-2 สัปดาห์ แต่เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride) เป็นองค์ประกอบและมีค่าพีเอชที่ระดับ 8.5 - 9.5 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและอุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส อาหารที่เป็น Selective Media ของแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือ Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS) Agar โดยแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ทุกชนิดสามารถเจริญได้บนอาหารที่เป็น Non-Selective Media แต่ลักษณะโคโลนีที่พบไม่แตกต่างจากแบคทีเรียกลุ่มอื่น ทำให้ยากต่อการจำแนก ถ้าตัวอย่างที่ต้องการศึกษามีปริมาณของ *V. cholerae* อยู่น้อยควรนำไปเพาะเลี้ยงใน Enrichment Media คือ Alkaline Peptone Water ก่อนประมาณ 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเพาะเลี้ยงบน TCBS Agar (Mahon & George, 1995) แบคทีเรียสกุล *Vibrio* ที่สามารถหมักย่อยน้ำตาลซูโครสจะให้โคโลนีขนาดปานกลาง ขอบเรียบ ขอบโคโลนีมีสีเหลืองทึบแสงบนอาหาร TCBS Agar ส่วนกลุ่มที่ไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลซูโครส จะให้โคโลนีสีเขียวมะกอก (Olive - Green) สำหรับ *V. cholerae* ให้โคโลนีสีเหลืองขุ่น แต่ *V. parahaemolyticus* จะให้โคโลนีสีเขียว โดยทั่วไปแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ให้ผลการทดสอบเป็น A/A ส่วนอาหาร KIA ให้ผลการทดสอบเป็น K/A สำหรับคุณสมบัติที่ใช้แยกแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ได้แก่ สามารถสร้างเอนไซม์ Cytochrome Oxidase รีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรซ์ได้ (ยกเว้น *V. metschnikovil*) และสามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสได้ทุกสายพันธุ์ แบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ที่พบบ่อยและมีความสำคัญทางการแพทย์กล่าวโดยสังเขป ดังนี้คือ

1. *V. cholerae* เป็นแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ที่ให้โคโลนีสีเหลืองบนอาหาร TCBS Agar โดยหมักย่อยน้ำตาลซูโครส แล้วสร้างกรดทำให้โคโลนีเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางใน Aquatic Environment ซึ่ง ฮูด, เนส, โรดริค, และเบลค (Hood, Ness, Rodrick, & Blake, 1983) ได้เสนอว่า เชื้อนี้สามารถแพร่กระจายได้ในน้ำอุ่นที่มีธาตุอาหารสมบูรณ์ โดยเฉพาะบริเวณชายฝั่งที่เป็นน้ำกร่อย สาเหตุของโรคทุกสายพันธุ์มี เอช-แอนติเจน (H-Antigen) ร่วมกันแต่มีโอ-แอนติเจน (O-Antigen) ที่สามารถแบ่งได้เป็น 6 ซีโรกรุ๊ป (Serogroup) สายพันธุ์ที่เกิดปฏิกิริยา การตกตะกอน (Agglutination) กับ 01 แอนติซีรัมได้นั้นเรียกว่า *V. cholerae* 01 ส่วนสายพันธุ์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาการตกตะกอน (Agglutination) กับ 01 แอนติซีรัมได้นั้นเรียกว่า Non-01 *V. cholerae* 01 *V. cholerae* หรือสายพันธุ์ NAG (Non-Agglutination) (Joklik et al., 1992) การศึกษาพบว่า *V. cholerae* 01 สามารถแบ่งได้อีก 2 ไบโอกรุ๊ป (Biogroup) คือ Classic กับ EL Tor ต่างกันที่ไบโอกรุ๊ปให้ผลการทดสอบ VP Test เป็นลบไม่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้ และมีความต้านทานต่อยา Polymycin B แต่ไบโอกรุ๊ป EL Tor ให้ผลการทดสอบตรงกันข้ามทั้งหมด สำหรับ *V. cholerae* Non-01 มีฟีโนไทป์เหมือนกับ *V. cholerae* 01 แต่ไม่สร้างคลอราทอกซิน (Chloratoxin) เป็นสาเหตุสำคัญของโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) โดยมีลักษณะอาการคล้ายอหิวาตกโรค และเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อภายนอกลำไส้ (Extraintestinal Infection) สำหรับ *V. cholerae* 01 เป็นเชื้อก่อโรคอหิวาตกโรคชนิดค่อนข้างเฉียบพลันแพร่กระจายโดยการปนเปื้อนในน้ำ ซึ่งเป็นโรคที่บอกถึงสุขภาพอนามัยของประชากรได้เป็นอย่างดี

2. *V. parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ที่ต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซนต์ - 8 เปอร์เซนต์ สำหรับการเจริญ (Davis et al., 1990) เมื่อเจริญบนอาหาร TCBS Agar ให้โคโลนีสีเขียว เนื่องจากไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลซูโครสได้ ฟุจิโน และคณะ (Fujino et al., 1953) รายงานเป็นครั้งแรกว่าพบ *V. parahaemolyticus* ได้จากผู้ป่วยที่มีอาการอุจจาระร่วง จากอาหารเป็นพิษ หลังจากที่บริโภค Shirasu ในประเทศญี่ปุ่น สำหรับในประเทศไทย เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ พูนสุข, และสงคราม เหลืองทองคำ (2524) ได้ทำการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อนี้ในบริเวณอ่าวไทยตอนบนและทะเลอันดามันติดต่อกัน 4 ปี มีรายงานว่า *V. parahaemolyticus* จะแพร่กระจายทั่วไปในบริเวณดังกล่าว และจะแพร่กระจายตามแนวชายฝั่งในอ่าวไทยตอนบน โดยเฉพาะในดินตะกอนด้วย *V. parahaemolyticus* มีความสัมพันธ์กับการทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารอักเสบ จึงจัดเป็น Enteropathogeric Bacteria เนื่องจากเชื้อนี้สามารถสร้าง Enzyme Hemolysin Hemolysis (Miyamoto, Kato, Obara, Akiyama, &

Yamai, 1969) นิพนธ์ อุดมสันติสุข, ทุม บุญนาค, สมใจ เหรียญประยูร, และนราทร ธรรมบุตร (2519) อธิบายอาการของผู้ป่วยที่เป็นโรคทางเดินอาหารอักเสบเนื่องจากเชื้อนี้ว่า จะมีการถ่ายอุจจาระตั้งแต่ 5 ครั้งขึ้นไป ปวดท้องมีลักษณะบีบเกร็งเป็นระยะ ๆ คลื่นไส้ อาเจียน ขาดน้ำ กระวนกระวาย การบีบรูดของลำไส้เพิ่มมากขึ้น มีไข้ และปวดศีรษะ

3. *V. vulinficus* เป็น Pathogen ของคน และพบบ่อยในปู และหอยนางรม เมื่อบริโภคอาหารที่มีเชื้อนี้แปดเปื้อน จะมีอัตราการตายสูงถึง 50 เปอร์เซนต์ (Blake, Merson, Weaver, Hokkis, & Heublein, 1979) โดยจอห์นสัน, วินเบริก, ไคร์โควกิ, เวส, และโควเวล (Johnson, Weinberg, Ciarkowhki, West, & Colwell, 1984) รายงานว่าพบเชื้อนี้ ในเลือดผู้ป่วยซึ่งเป็น Leukemia ภายหลังจากที่บริโภคหอยนางรมแช่แข็งแล้วนาน 4 วัน จะเกิดอาการ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ลักษณะบีบเกร็ง และอ่อนเพลีย นอกจากนี้ *V. vulinficus* ยังสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อทางบาดแผล (Wou ไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ Infect) หลังจากที่สัมผัสกับน้ำทะเลหรือสัตว์ทะเลอีกด้วย (Blake et al.,1979)

4. *V. alginolyticus* พบมากในสภาพแวดล้อมทางทะเล เจริญได้ในที่ที่มีเกลือเท่านั้น ต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์ในการเจริญ 3 -10 เปอร์เซ็นต์จัดเป็นพวกชอบเกลืออย่างแท้จริง (Stricly Halophile) (Mahon & George, 1995) ปกติไม่ค่อยพบในสิ่งที่ส่งตรวจ ส่วนใหญ่แยกได้จากภายนอกลำไส้ (Ectraintestinal Source) ก่อโรคได้ใน ตา หู บาดแผลไฟไหม้และผู้เสี่ยงต่อการติดเชื้อ *V. alginolyticus* มากที่สุด คือ ชาวประมงและทหารเรือ

## รายละเอียดเกี่ยวกับวิธีนับจำนวนเซลล์บนอาหารวุ้นแข็ง (Total Plate Count)

วิธีนับจำนวนเซลล์บนอาหารวุ้นแข็ง (Total Plate Count) เป็นวิธีนับจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้เทคนิคการเกลี่ยกระจาย (Spread Plate) บนจานอาหารที่ใช้ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เหมาะสมหลังจากบ่มเชื้อไว้ระยะเวลาหนึ่ง ทำการนับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยสันนิษฐานว่า 1 โคโลนีเป็นตัวแทนของเซลล์แบคทีเรีย 1 เซลล์ (Robert, 1988) เป็นวิธีที่ใช้แยกเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต และสามารถจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้โดยต้องใช้ตัวอย่างน้ำที่เหมาะสมโดยจำนวนจุลินทรีย์ในจานอาหารควรมีโคโลนี ประมาณ 30 -300 โคโลนี ผลที่ได้จากวิธีนี้เป็นการประมาณจำนวนประชากรของจุลินทรีย์เริ่มต้น จากจุลินทรีย์หนึ่งเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถเจริญเพิ่มจำนวนเป็น 1 โคโลนี เป็นการนับจำนวนแบคทีเรียพวก Heterotroph ที่มีชีวิตโดยพบว่าวิธีเกลี่ยกระจานบนจานอาหาร (Spread Plate) เป็นวิธีที่ดีกว่าวิธี Pour Plate

เนื่องมาจากวิธี Pour Plate เซลล์ของแบคทีเรียบางชนิดไม่สามารถเจริญและสร้างโคโลนีข้างในและบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ เพราะว่าอุณหภูมิที่ทำให้วุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อหลอมเหลวอาจทำลายเชื้อแบคทีเรีย โดยกระบวนการ Pour Plate ที่ผสมตัวอย่างกับวุ้นอาหารที่หลอมเหลวและเทบนจานเพาะเชื้อเซลล์ของแบคทีเรียจะถูกพัฒนาไปเป็นโคโลนีบนและในอาหารเลี้ยงเชื้อ ข้อดีของวิธีนับจำนวนเซลล์บนอาหารวุ้นแข็ง (Total Plate Count) คือ เป็นการนับจำนวนเซลล์ที่ถูกต้องเนื่องจากนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต นอกจากนี้ยังทำได้ง่ายและรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ โคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิดไม่ได้เกิดจากเซลล์เดียว แต่เกิดจากเซลล์หลาย ๆ เซลล์ที่อยู่ใกล้กันนอกจากนี้แบคทีเรียบางชนิดอาจไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) พบว่าประชากรของแบคทีเรียประมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (หรือน้อยกว่า) (Austin, 1988) จากประชากรทั้งหมดในระบบนิเวศของน้ำจะเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ประชากรกลุ่มนี้สามารถใช้ศึกษาถึงบทบาทของแบคทีเรียของสังคมแบคทีเรียในระบบนิเวศทางน้ำ แม้จะเป็นประชากรส่วนน้อยก็ตาม

## เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การสำรวจคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งและบริเวณปากแม่น้ำภาคตะวันออกของอ่าวไทย มีการศึกษาโดยหน่วยงานหลายแห่งสามารถสรุปผล ได้ตามประเภทของการใช้ประโยชน์ตามที่กรมควบคุมมลพิษ (2538) ตามประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 7 (พ.ศ. 2537) กำหนดไว้มีดังนี้

**เขตสงวนรักษาธรรมชาติ**

กรมควบคุมมลพิษ (2537) ทำการ การตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออก ในระหว่างปี 2530 - 2535 สรุปได้ดังนี้ คุณภาพน้ำทะเลบริเวณ หาดแม่รำพึง (เขาแหลมหญ้า) พบว่าคุณภาพน้ำค่อนข้างดี ค่าเฉลี่ยของโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมไม่เกิน 500 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร

กรมควบคุมมลพิษ (2540) รายงานคุณภาพน้ำตะวันออกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 - 2539 พบว่าคุณภาพน้ำทะเลบริเวณ สวนรุกขชาติเพ - แหลมแม่พิมพ์ จังหวัดระยอง ส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างดี โดยมีค่าความสกปรกในรูปของปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด 200 -12,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร ที่สถานีชายฝั่ง และที่สถานีห่างฝั่ง 500 เมตร มีค่า 10 - 8,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 28.4 - 30.8 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่าง 8.1 - 8.5 ความเค็มมีค่าระหว่าง 28.8 - 30.0 ส่วนในพันส่วน ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ

6.1 - 7.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณตะกอนแขวนลอยมีค่า 3.0 - 52.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรท-ไนโตรเจน 0.02 - 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟอสฟอรัสทั้งหมดมีค่าระหว่าง 0.02 - 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร

ฉลวย มุสิกะ และวันชัย วงสุดาวรรณ (2542) ตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลบริเวณหาดแม่รำพึง ระหว่างเดือนมกราคมถึงพฤศจิกายน 2541 พบว่าอุณหภูมิน้ำอยู่ในช่วง 28 - 32 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่าง 7.8 - 9.5 โดยตรวจพบค่าสูงสุดบริเวณก้นอ่าวในเดือนมีนาคม ความเค็ม 28 - 32 ส่วนในพันส่วน ออกซิเจนละลายน้ำ 5.2 - 6.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตะกอนแขวนลอย 24.2 - 55.8 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับธาตุอาหารปริมาณน้อยพบว่า แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนไตร์ท-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และฟอตเฟส-ฟอสฟอรัส อยู่ระหว่างไม่สามารถตรวจวัดได้ - 0.055, ไม่สามารถตรวจวัดได้ - 0.002, ไม่สามารถตรวจวัดได้ - 0.041, และ 0.003 - 0.015 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในส่วนปริมาณของแบคทีเรีย สามารถตรวจพบโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมอยู่ในช่วง 2 - 160,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร แต่ส่วนมากพบว่าปริมาณน้อยกว่า 1,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร ยกเว้นบริเวณก้นอ่าวในเดือนพฤษภาคมและกันยายน ในขณะที่ปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่พบอยู่ระหว่าง 2 - 270 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรเท่านั้น

สวนรุกขชาติ-แหลมแม่พิมพ์ คุณภาพน้ำในแหล่งท่องเที่ยวชายฝั่งทะเล ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ตั้งแต่สวนรุกขชาติเพปากคลองแกลง แหลมแม่พิมพ์ อ่าวไข่ พบว่า อุณหภูมิน้ำอยู่ในช่วง 26 - 32 องศาเซลเซียส โดยค่าต่ำสุดตรวจพบในเดือนพฤศจิกายน ซึ่งตรงกับช่วงฤดูหนาว ในขณะที่ค่าสูงสุดตรวจพบในเดือนพฤษภาคมซึ่งตรงกับช่วงฤดูร้อน ความเป็นกรดและด่างอยู่ในช่วง 7.8 -8.7 ความเค็ม 2 - 34 ส่วนในพันส่วน โดย ค่าต่ำสุดตรวจพบบริเวณปากคลองแกลง ในเดือนกรกฎาคม และกันยายน ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำพบอยู่ในช่วง 3.0 - 6.8 มิลลิกรัมต่อลิตร พบส่วนใหญ่มากกว่า 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้นสถานีปากคลองแกลงในเดือนพฤษภาคม กรกฎาคมและกันยายน โดยเฉพาะในเดือนกรกฎาคม พบปริมาณต่ำสุด คือ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับตะกอนแขวนลอย พบอยู่ในช่วง 26.4 - 163.4 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยค่าสูงสุดพบบริเวณแหลมแม่พิมพ์ ในเดือนกรกฎาคม ส่วนธาตุอาหารปริมาณน้อยพบว่า แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนไตร์ท-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส อยู่ระหว่างไม่สามารถตรวจวัดได้ - 0.626, ไม่สามารถตรวจวัดได้ - 0.058, ไม่สามารถตรวจวัดได้ - 0.526, และ 0.004 - 0.085 ,มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมพบอยู่ในช่วง 4 - 16,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรได้บ่อยที่สุดถึง 4 ครั้ง ได้แก่ เดือนมีนาคม พฤษภาคม กรกฎาคมและกันยายน รองมาคือบริเวณแหลมแม่พิมพ์ในเดือนพฤษภาคมบริเวณอ่าวไข่ในเดือน

พฤษภาคม ในขณะเดียวกันฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรียมีปริมาณ 25 -1,700 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร และพบว่ามีปริมาณน้อยในทุกสถานีเว้นแต่ปากคลองแกลงโดยเฉพาะเดือนกันยายนที่พบมีปริมาณสูงสุด กล่าวคือ 1,700 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร

**เขตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง**

กรมควบคุมมลพิษ (2537) ทำการการตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออก ในระหว่างปี 2530 - 2535 สรุปได้ดังนี้

บริเวณอ่าวชลบุรี คุณภาพน้ำค่อนข้างเสื่อมโทรม ส่วนบริเวณอ่างศิลา ปากแม่น้ำประแสร์ และปากน้ำเวฬุ มีคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างดี พบว่าออกซิเจนละลายน้ำ 4.3 - 6.8 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค่ามาตรฐานกำหนดไว้ไม่ต่ำกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และค่ารวมของแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์ม 2 - 24,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร (ค่ามาตรฐานกำหนดไว้ไม่เกิน 1,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร) โดยค่าสูงตรวจวัดได้บริเวณอ่าวชลบุรี เนื่องจากการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งชุมชนบริเวณเขตอำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

จิระ เครือทราย, สุบัณฑิต เมฆขยาย, และบัญญัติ สุขศรีงาม (2543) ได้ทำการศึกษาคุณภาพน้ำทางด้านแบคทีเรียของแม่น้ำบางปะกงโดยการสุ่มตัวอย่างจากแม่น้ำบางปะกงช่วงที่ไหลผ่านสะพานรถไฟถึงวัดบางกรูดอำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2535 จำนวน 40 ตัวอย่างมาวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดโดยวิธี Standard Plate Count โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ฟีคอลโคลิฟอร์ม และ *E.coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น และทำการตรวจแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดเช่น *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus fecalis* ด้วยวิธี Spread Plate เปรียบเทียบกับวิธี Membrane Filter ปรากฏว่าคุณภาพน้ำด้านแบคทีเรียของแม่น้ำบางปะกงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของแหล่งน้ำประเภทที่ 3 ที่กำหนดโดยสำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ จำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียไม่เกิน 5,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร จำนวนฟีคอลโคลิฟอร์มไม่เกิน 2,400 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ระหว่าง 3,900 – 11,330 เซลล์/มิลลิลิตร ตรวจพบ *E.coli* 80 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด ตรวจพบ *V.parahaemolyticus* โดยวิธี Spread Plate 7.5 เปอร์เซ็นต์ และโดยวิธี Membrane Filter 17.5 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด

นัฐวุฒิ กอเซ็ม (2541) ทำการศึกษาคุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยาบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทราถึงเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมพ.ศ. 2539 ถึงเดือนกรกฎาคมพ.ศ. 2540 พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด มีค่า 1,600 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร และแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์มมีค่า 10 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร แบคทีเรียในสกุล

วิบริโอมีค่า 9.4 x $10^3$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าสูงสุดในช่วงฤดูฝน ระหว่างเดือน กรกฎาคมถึงเดือนพฤศจิกายน แต่จะมีค่าลดต่ำลงในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม คือ <2, <2 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร และ 0 โคโลนี นอกจากนี้สถานีเก็บตัวอย่างที่อยู่บริเวณปากแม่น้ำบางปะกงพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด แบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์ม และแบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอมีค่าสูงกว่าค่าของสถานีเก็บตัวอย่างที่อยู่บริเวณเกาะสีชังโดยเฉพาะสถานีเก็บตัวอย่างที่ 1 และที่ 2 อยู่ในเขตปากแม่น้ำบางปะกงด้านใน นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างน้ำที่เก็บจากผิวน้ำที่ระดับความลึก 0.5 เมตร มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด แบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์มสูงกว่าตัวอย่างน้ำที่เก็บมาจากระดับความลึกกลางน้ำในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างอย่างชัดเจน

**เขตนันทนาการเพื่อการว่ายน้ำ**

วิจารย์ สิฉามายา (2532) พบว่าบริเวณหาดบางแสน และพัทยาในระหว่างปี พ.ศ. 2530 - 2531 บริเวณหาดบางแสน อุณหภูมิของน้ำมีค่า 28.5 - 29.0 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดและด่าง 7.9 - 8.4 ความเค็ม 29.6 - 32.0 ส่วนในพันส่วน (ppt.) ปริมาณของออกซิเจนละลายน้ำ 6.2 - 7.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า B.O.D. 1.4 - 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยค่า B.O.D. และค่าแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดสูงสุดตรวจพบบริเวณตอนกลางหาด เนื่องจากมีการระบายน้ำทิ้งจากชุมชนลงสู่ทะเล ประกอบกับการระบายน้ำทิ้งจากแม่น้ำสายหลักต่าง ๆ ลงสู่บริเวณอ่าวไทยตอนบน จึงทำให้น้ำบริเวณนี้ค่อนข้างขุ่นและมีสารอินทรีย์สูง ส่วนหาดพัทยาพบว่าอุณหภูมิของมีค่า 27.5 - 30.0 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดและด่าง 7.3 - 8.4 ความเค็ม 20.0 - 31.5 ส่วนในพันส่วนปริมาณออกซิเจน และละลายน้ำ 5.9 - 7.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า B.O.D.มิลลิกรัมต่อลิตร ความโปร่งใส 1.7 - 4.0 เมตร และปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดมีค่า 140 – 240 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร เนื่องจากมีการระบายน้ำทิ้งจากชุมชน โดยเฉพาะจากพัทยาระบายน้ำทิ้งที่ส่งกลิ่นเหม็นเน่า

สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (2534) ได้สำรวจคุณภาพน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออก พ.ศ. 2530 - 2533 พบว่าคุณภาพน้ำทะเลแหล่งท่องเที่ยวเพื่อใช้ประโยชน์ ในการว่ายน้ำ ส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างดีตามมาตรฐานคุณภาพน้ำเพื่อการว่ายน้ำ คือ ตรวจพบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมส่วนใหญ่ไม่เกินกว่า 1,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรได้แก่บริเวณหาดวงศ์อำมาตย์ หาดจอมเทียน หาดสวนสน และแหลมแม่พิมพ์ ส่วนบริเวณที่คุณภาพน้ำมีแนวโน้มเสื่อมโทรมลง โดยมีคุณภาพน้ำต่ำกว่ามาตรฐาน ได้แก่ หาดบางแสน และหาดพัทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณชุมชนพัทยาใต้เนื่องจากการระบายน้ำทิ้ง

จากชุมชน

แววตา ทองระอา และพัฒนา ภูลเปี่ยม (2535) และแววตา ทองระอา, พัฒนา ภูลเปี่ยม และไพศาล วิยะทัศน์ (2535 ก) ได้ศึกษาคุณภาพน้ำทะเลในเขตว่ายน้ำชายหาดบางแสน หาดพัทยาและหาดจอมเทียน ในระหว่างปี พ.ศ. 2532 - 2533 ได้เก็บตัวอย่างน้ำทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้ง โดยบริเวณหาดบางแสน เก็บตัวอย่างน้ำตั้งแต่หน้าโรงแรม เอส เอส บางแสนบีช จนถึงหน้าวงเวียนบางแสน พัทยาตั้งแต่พัทยาเหนือหน้าโรงแรมออร์คิดลอจ์ด จนถึงพัทยาใต้หน้าโรงแรมคริสตัลการ์เด็น และหาดจอมเทียนตั้งแต่หาดบริเวณหัวมุมต้นตาลหน้าจอมเทียนพลาซาคอลโดเทล จนกระทั่งสุดเขตเมืองพัทยาที่หน้าโรงแรมซิดม่ารีสอร์ท พบว่าคุณภาพน้ำทะเลของทั้งสามหาดเป็นดังนี้ หาดบางแสน ปี 2532 อุณหภูมิน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 26.0 - 31.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 13.0 - 33.0 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรดและด่าง 7.88 - 8.93 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 5.1 - 8.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม 2 - 2,400 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรและปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 2 - 2,400 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร ส่วนในปี พ.ศ.2533 คุณภาพน้ำทะเลเป็นดังนี้ อุณหภูมิน้ำ 25.0 - 31.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25.0 - 33.0 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรดและด่าง 7.94 - 8.73 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดี 0 - 5.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม 2 - 3,500 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรและปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 2 - 1,800 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรเมื่อเปรียบเทียบมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลเพื่อการว่ายน้ำ พบว่าคุณภาพน้ำทะเลในเขตว่ายน้ำชายหาดบางแสนอยู่ในสภาพเสื่อมโทรมไม่เหมาะแก่การว่ายน้ำเป็นบางฤดูกาล และบางพื้นที่ โดยตรวจพบค่า โคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมสูงกว่ามาตรฐานซึ่งกำหนดไว้ให้มีค่า ไม่เกิน 1,000 เอ็มพีเอ็น /100 มิลลิลิตร หาดพัทยา ปี 2532 อุณหภูมิน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 27.5 - 33.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30.0 - 34.0 ส่วนในพันส่วนความเป็นกรดและด่าง 7.84 - 8.75 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 3.5 - 9.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม 2 - 16,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร และปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 2 - 16,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรส่วนในปี พ.ศ.2533 คุณภาพน้ำทะเลเป็นดังนี้ อุณหภูมิน้ำ 27.0 - 32.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30.0 - 35.0 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรดและด่าง 7.85 - 8.41 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 5.0 - 8.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดี 0.3 - 7.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม 20 - 92,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรและปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 2 - 24,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรคุณภาพน้ำทะเลบริเวณหาดพัทยามี แนวโน้มที่จะเสื่อมโทรมลงมากขึ้นบริเวณพัทยาใต้ ได้ตรวจพบค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมสูงเกินกว่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลเพื่อการว่ายน้ำ

หลายเท่า สำหรับบริเวณหาดจอมเทียนนั้นพบว่า คุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างดี และอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานเพื่อการว่ายน้ำ โดยในปี 2532 พบว่าอุณหภูมิน้ำ 27.5 - 33.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30.0 - 34.0 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรด และด่าง 7.87 - 8.82 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 5.5 - 8.8 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม 2 - 920 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรส่วน และปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 2 - 350 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรส่วนในปี 2533 พบว่าอุณหภูมิน้ำ 27.0 - 32.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 31.0 - 35.0 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรดและด่าง 8.04 - 8.29 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 5.9 - 8.5 มิลลิกรัมต่อลิตรค่าบีโอดี 0.1 - 5.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม 2 - 240 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร และปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 2 - 130 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรนอกจากนี้ ในปี 2534 ได้มีการศึกษาคุณภาพน้ำทะเลในเขตว่ายน้ำชายหาดบางแสนหาดพัทยา และหาดจอมเทียน จังหวัดชลบุรี ในช่วงระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม พบว่าคุณภาพน้ำในแต่ละหาดเป็นดังนี้ หาดบางแสนมีค่า อุณหภูมิน้ำ 27.0 - 32.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 17.0 - 36.0 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรดและด่าง 7.92 - 8.36 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 5.5 - 8.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดี 0.4 - 7.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม 13 – 18,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร และปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 8 - 2,400 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรหาดพัทยามีค่าอุณหภูมิน้ำ 28.0 - 32.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 27.0 - 35.0 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรดและด่าง 7.70 - 8.45 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 4.6 - 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดี 0.3 - 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม 21 -240,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรและปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 2 - 130,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร ส่วนจอมเทียนมีค่าอุณหภูมิน้ำ 28.0 - 32.0 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30.0 - 36.0 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรดและด่าง 7.75 - 8.93 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 6.1 - 8.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดี 0-8.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม 2 - 2,800 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรและปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 2 - 2,400 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรตามมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลเพื่อการว่ายน้ำ ซึ่งกำหนดให้มีค่าของปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมได้ไม่เกิน 1,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรพบว่าคุณภาพน้ำทะเลทั้งสามหาด มีสภาพเสื่อมโทรมไม่เหมาะแก่การว่ายน้ำเป็นบางพื้นที่ และ ในบางเดือนเท่านั้นยกเว้นหาดพัทยาโดยเฉพาะพัทยาใต้มีสภาพเสื่อมโทรมเกือบตลอดทั้งปี เมื่อเปรียบเทียบน้ำทะเลทั้ง สามหาดพบว่านาจอมเทียนมีคุณภาพน้ำที่ดีที่สุด และรองลงมาได้แก่หาดบางแสน และหาดพัทยามีสภาพเสื่อมโทรมมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าคุณภาพน้ำทะเลทั้ง สามหาดในปี 2534 มีสภาพ

เสื่อมโทรมลงมากขึ้นจากปี 2532 และ ปี 2533

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล (2537) ได้ทำการศึกษาคุณภาพน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออก ในระหว่างเดือนตุลาคม 2535 ถึงเดือนมีนาคม 2536 ในส่วนของเขตนันทนาการ เพื่อการว่ายน้ำ ซึ่งได้แก่ หาดบางแสน หาดพัทยา หาดจอมเทียน และบริเวณสวนรุกขชาติเพ-แหลมแม่พิมพ์ พบว่าส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำเพื่อการว่ายน้ำ คือ ตรวจพบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมส่วนใหญ่ไม่เกิน 1,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร ยกเว้นบริเวณหาดพัทยา โดยเฉพาะบริเวณพัทยาใต้ มีคุณภาพน้ำต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานมาก

กรมควบคุมมลพิษ (2537) ทำการการตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออก ในระหว่างปี 2530 - 2535 สรุปได้ดังนี้

หาดบางแสน คุณภาพน้ำมีแนวโน้มที่จะเสื่อมโทรมลง โดยตรวจพบค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรียค่อนข้างสูงระหว่าง 70 - 9,200 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรเนื่องจากการระบายน้ำทิ้งจากโรงแรมประกอบกันระบายน้ำทิ้งจากแม่น้ำสายหลักต่าง ๆ ลงสู่อ่าวไทยตอนบน

อ่าวพัทยา คุณภาพน้ำทะเลอยู่ในลักษณะที่เสื่อมโทรม โดยตรวจพบค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ส่วนใหญ่เกินกว่า 1,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร (คุณภาพน้ำเพื่อการว่ายน้ำ) โดยมีค่าสูงสุด 240,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรเนื่องจากการระบายน้ำจากชุมชนโดยเฉพาะบริเวณพัทยาใต้ ทางคลองพัทยาซึ่งน้ำในคลองมีสีดำและส่งกลิ่นเหม็น (ค่าออกซิเจนละลายน้ำมีค่าเป็นศูนย์) นอกจากนี้ยังมีท่อระบายน้ำทิ้งบริเวณอื่น ๆ ตลอดแนวหาด ได้แก่ หน้าธนาคารไทยพาณิชย์ ข้างสโมสรเรือใบ และข้างโรงแรมดุสิตรีสอร์ท เป็นต้น

หาดจอมเทียน คุณภาพน้ำค่อนข้างดีแต่มีแนวโน้มเสื่อมโทรมลง โดยตรวจพบค่าโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 220 - 2,400 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร (ค่าเฉลี่ย 800 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร)

อ่าวเพ-สวนสน คุณภาพน้ำทะเลบริเวณนี้เสื่อมโทรมลง ความโปร่งใส 2.0 - 5.0 เมตร และโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 50 - 17,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรโดยน้ำทะเลค่อนข้างสกปรก (ออกซิเจนละลายน้ำต่ำ และค่ารวมของแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มสูง) พบบริเวณสะพานปลาเก่าเนื่องจากการระบายน้ำทิ้งจากชุมชนที่รุกล้ำชายฝั่ง และมีการขับถ่ายลงสู่ทะเลโดยตรง ประกอบกับการระบายน้ำทิ้งจากสะพานปลา และโรงงานปลาป่น จึงทำให้น้ำมีสีค่อนข้างดำและมีกลิ่นเหม็น ถ้าปริมาณของเสียมากขึ้น จะส่งผลกระทบต่อหาดสวนสนได้เนื่องจากการพัดพาของกระแสน้ำ

แววตา ทองระอา และคณะ (2538) ตรวจวัดคุณภาพน้ำในแหล่งท่องเที่ยวทางทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออก ทำการเก็บตัวอย่าง 2 เดือนต่อครั้งในแต่ละพื้นที่ ระหว่างเดือน

กุมภาพันธ์ ถึงเดือนธันวาคม 2537 รวม 6 ครั้ง ผลการตรวจวิเคราะห์

คุณภาพน้ำทะเลบริเวณหาดบางแสน พบว่า อุณหภูมิน้ำมีค่าระหว่าง 27.0 – 31.0 องศาเซลเซียสความเค็มมีค่า 15.0 – 35.0 ส่วนในพันส่วน โดยความเค็มต่ำในเดือนสิงหาคมซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน และ สูงในเดือนเมษายนซึ่งเป็นช่วงฤดูร้อน ความเป็นกรดและด่างมีค่า 8.0 – 9.1 ออกซิเจนละลายน้ำมีค่า 3.1 – 6.9 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยส่วนใหญ่มีค่าเกิน 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้นในเดือนตุลาคมที่ตรวจพบว่าหาดบางแสนบริเวณตอนบนที่แหลมแท่นมีค่าน้อยกว่า 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร บีโอดีมีค่า 0 – 2.9 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนียมีค่า ไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ – 0.443 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนไตรท์มีค่า 0.001 – 0.059 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรทมีค่า ไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ – 0.309 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสเฟตมีค่า 0.003 – 0.038 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมส่วนใหญ่มีค่าค่อนข้างต่ำอยู่ระหว่าง 2 – 1,600 เอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร โดยค่าสูงสุดตรวจพบที่แหลมแท่นในเดือนตุลาคม ส่วนปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรียมีค่าระหว่าง 2 – 300 เอ็นพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร ความโปร่งใสของน้ำมีค่า 1.0 – 5.0 เมตร และ ปริมาณตะกอนแขวนลอยมีค่าระหว่าง 18.2 – 71.4 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสูงในเดือนมิถุนายน

คุณภาพน้ำทะเลบริเวณหาดพัทยา ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ไปจนถึงบริเวณเกาะล้าน พบว่า อุณหภูมิน้ำมีค่าระหว่าง 27.0 – 31.5 องศาเซลเซียส ความเค็มมีค่า 16.0 – 33.0 ส่วนในพันส่วน โดยความเค็มต่ำพบได้ในช่วงเดือนมิถุนายน และ ตุลาคม ที่บริเวณหน้าธนาคารไทยพาณิชย์ ซึ่งมีท่อระบายน้ำ (น้ำทิ้งรวมกับน้ำฝน) ปล่อยลงสู่ทะเล ความเป็นกรดและด่างมีค่า 7.7 – 8.6 ออกซิเจนละลายน้ำมีค่า 4.3 – 8.1 มิลลิกรัมต่อลิตร บีโอดีมีค่า 0 – 8.2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยค่าสูงสุดพบที่หน้าบริเวณธนาคารไทยพาณิชย์ในเดือนสิงหาคม และ บริเวณนี้ยังเป็นสถานีที่ตรวจพบว่ามีค่าบีโอดีสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับสถานีอื่น ๆ รองลงมาได้แก่บริเวณปากคลองพัทยา ซึ่งมีคลองพัทยาระบายน้ำทิ้งลงสู่ทะเล โดยมีปริมาณความสกปรกที่ตรวจพบในคลองพัทยา สำหรับแอมโมเนียมีค่าระหว่าง ไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ – 4.190 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนไตรท์มีค่าไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ – 0.051 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรทมีค่า ไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ – 1.603 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสเฟตมีค่า ไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ – 0.882 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณธาตุอาหารดังกล่าวตรวจพบว่ามีค่าสูงมากที่บริเวณหน้าธนาคารไทยพาณิชย์ โดยเฉพาะในเดือนสิงหาคม ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมมีค่าระหว่าง 2 – 160,000

กรมควบคุมมลพิษ (2540) รายงานคุณภาพน้ำตะวันออกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 - 2539 ในเขตเพื่อการว่ายน้ำ ครอบคลุมพื้นที่ถึงบริเวณหาดบางแสน หาดพัทยา หาดจอมเทียนและสวน

รุกขชาติเพ-แหลมแม่พิมพ์ ผลการสำรวจสรุปได้ดังนี้

หาดบางแสน คุณภาพน้ำมีความสกปรกอยู่ในรูปของแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์ม ซึ่งส่วนใหญ่มีค่าเกินกว่ามาตรฐานเพื่อการว่ายน้ำ 1,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรที่สถานีชายฝั่ง และ 3 - 6,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร ที่สถานีห่างฝั่ง 500 เมตร และคุณภาพน้ำอื่น ๆ คือ อุณหภูมิมีค่า 24 - 30 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่าง มีค่าระหว่าง 8.1 - 8.3 ค่าความเค็ม 29.4 -30.6 ส่วนในพันส่วน ค่าออกซิเจนละลายในน้ำ 6.1 - 8.2 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาณตะกอนแขวนลอยมีค่า 12.3 - 43.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรท-ไนโตรเจน มีค่าระหว่าง 0.03 - 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัสทั้งหมด 0.02 - 0.09 มิลลิกรัมต่อลิตร

หาดพัทยา พบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดที่สถานีชายฝั่งมีค่าสูงมาก แต่ในปี 2538 มีต่ำลงมาก โดยมีค่าอยู่ในระหว่าง 400 - 315,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร และที่สถานีห่างฝั่ง 500 เมตร มีค่าระหว่าง 20 - 1,540 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร อุณหภูมิของน้ำมีค่า 27.5 - 29.5 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดและด่าง 8.1 - 8.4 ค่าความเค็ม 28.5 - 32.1 ส่วนในพันส่วน ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 6.1 - 8.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณตะกอนแขวนลอย 23.4 - 32.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรท-ไนโตรเจนและ ฟอสฟอรัสทั้งหมดมีค่า 0.02 - 0.54 และ 0.01 - 0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

หาดจอมเทียน พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดมีค่าไม่เกินมาตรฐานเพื่อการว่ายน้ำ ยกเว้นในปี 2536 และ 2537 ที่มีค่าเกินมาตรฐานคุณภาพน้ำโดยที่สถานีชายฝั่งตรวจวิเคราะห์ได้ 20 - 1,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร ที่สถานีห่างฝั่ง 500 เมตร มีค่า 20 -420,000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร สำหรับคุณภาพน้ำอื่น ๆ พบว่าอุณหภูมิวัดได้ 27.9 - 29.7 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่าง 8.0 - 8.4 ความเค็ม 30.4 - 33.2 ส่วนในพันส่วน ออกซิเจนละลายน้ำ 6.2 - 9.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณตะกอนแขวนลอย 23.4 - 44.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรท-ไนโตรเจนและ ฟอสฟอรัสทั้งหมดมีค่า 0.02 - 0.06 และ 0.02 - 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ฉลวย มุสิกะและวันชัย วงสุดาวรรณ (2542) ได้ทำการศึกษาคุณภาพน้ำบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดชลบุรี และจังหวัดระยอง ในพื้นที่ซึ่งใช้ประโยชน์เป็นแหล่งท่องเที่ยวชายฝั่งทะเล หรือเขตนันทนาการเพื่อการว่ายน้ำในช่วงระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2541 รวม 6 ครั้ง ได้ผลดังนี้

หาดบางแสน คุณภาพน้ำทะเลบริเวณหาดบางแสน พบว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสำหรับการว่ายน้ำ กล่าวคือ อุณหภูมิของมีค่าอยู่ในช่วง 29 – 32 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่าง 8.0 - 8.5 ค่าความเค็ม 27 – 32 ส่วนในพันส่วน ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 5.1 - 8.0 มิลลิกรัม

ต่อลิตร ตะกอนแขวนลอย 23.0 - 159.7 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปริมาณต่ำสุดพบในเดือนพฤศจิกายน บริเวณหน้าวงเวียนบางแสน แต่ปริมาณสูงสุดพบในบริเวณหน้าโรงแรมบางแสนบีชรีสอร์ท ในเดือนพฤษภาคมตรงกับช่วงฤดูร้อนและช่วงลมแรงส่วนของธาตุอาหารปริมาณน้อย พบว่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน มีค่าอยู่ในช่วง ไม่สามารถตรวจวัดได้ - 0.040 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนไตร์ท-ไนโตรเจน 0.001 - 0.010 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรท-ไนโตรเจน ไม่สามารถตรวจวัดได้-0.032 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส 0.008 - 0.028 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับแบคทีเรีย พบว่าปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมมีค่าอยู่ในช่วง 23 - 1,600 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตรโดยที่ค่าสูงสุดตรวจพบในบริเวณ สถานีบางแสนตอนบน หรือแหลมแท่นในเดือนพฤษภาคม สำหรับฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย มีปริมาณอยู่ในช่วง 2 - 500 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร หาดพัทยา คุณภาพน้ำทะเลบริเวณชายหาดพัทยาตั้งแต่หน้าโรงแรมวงศ์อำมาตย์ถึงหน้าโรงแรมรอยัลคลิฟ พบว่าอุณหภูมิของมีค่าอยู่ในช่วง 28 - 33 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่าง 7.9-8.5 ค่าความเค็ม 27ด่าง35 ส่วนในพันส่วน โดยตรงพบค่าต่ำสุดบริเวณสถานีหน้าธนาคารไทยพาณิชย์ ในเดือนมกราคม

หาดจอมเทียน คุณภาพน้ำทะเลโดยทั่วไป บริเวณชายฝั่งจอมเทียนอยู่ในเกณฑ์ดีกล่าวคือ ตรวจพบว่ามีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 29-35 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่าง 8.0-8.4 ความเค็ม 27-35 ส่วนในพันส่วน ออกซิเจนละลายน้ำ 4.8-7.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าที่พบส่วนมากเกินกว่า 6.0 มิลลิกรัมยกเว้นบริเวณกลางหาด (ป้อมตำรวจ) และสุดหาดจอมเทียน ในเดือนมกราคมที่ตรวจวัดได้ 5.7 และ 4.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ยังอยู่ในเกณฑ์ปกติของน้ำทะเลทั่วไปโดยส่วนของตะกอนแขวนลอยพบอยู่ในช่วง 27.6-75.8 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับธาตุอาหารปริมาณน้อย พบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนไตร์ท-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน และฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส อยู่ระหว่าง ไม่สามารถตรวจวัดได้-0.05, 0.001-0.009, 0.001-0.217 และ 0.008-0.027 ,มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในด้านจุลวิทยา พบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมพบได้ในช่วง 2-500 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร ขณะที่ฟีคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 2-300 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร

**เขตเมืองและการใช้ประโยชน์อื่น ๆ**

สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (2534) ตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลในระหว่างปี 2530-2533 ผลการวิเคราะห์สรุปได้ดังนี้คือ คุณภาพน้ำทะเลบริเวณปากน้ำระยอง อุณหภูมิน้ำมีค่า 28.0-31.0 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่างของน้ำมีค่า 7.8-8.3 ความเค็มของน้ำมีค่า 25.5-34.0 ส่วนในพันส่วน ออกซิเจนละลายน้ำมีค่า 5.7-8.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค่าบีโอดีมีค่า 1.3-3.8 มิลลิกรัมต่อลิตร โคลิฟอร์มแบคทีเรียมีค่าเฉลี่ย 81,700 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร สถานีห่างจากฝั่ง 500เมตร มีค่าลดลงโดยมีค่าเฉลี่ยไม่เกิน 1000 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร (45-890เอ็มพีเอ็น/100มิลลิลิตร) ค่าความโปร่งใสอยู่ระหว่าง 1.1-7.0 เมตร และตะกอนแขวนลอยมีค่า 2.9-30.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรมอนามัย (2535) ตรวจพบว่าคุณภาพน้ำแม่น้ำระยอง ในปี พ.ศ. 2534 บริเวณสะพานเฉลิมชัย และบริเวณสะพานบ้านเนินพระ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง พบปริมาณไนโตรเจนในรูปไนเตรทอยู่ในช่วง 33.0-56.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบปริมาณตะกั่วในบริเวณบ้านเนินพระ และสะพานเปี่ยมพงศ์ศานต์ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง อยู่ในช่วง 0.180-0.190 มิลลิกรัมต่อลิตร คุณภาพน้ำจัดอยู่ในประเภทแหล่งน้ำประเภทที่ 5 ไม่สามารถใช้อุปโภคได้ ใช้ได้เพื่อการคมนาคมเท่านั้น

กรมควบคุมมลพิษ (2537) รายงานว่า คุณภาพน้ำในแม่น้ำระยอง ในปี พ.ศ. 2536 โดยทั่วไปอยู่ในเกณฑ์ที่ดี โดยมีปริมาณออกซิเจนละลาย 4.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความสกปรกของน้ำในรูปสารอินทรีย์ (บีโอดี) มีค่า 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดมีค่า 11,900 หน่วย ทั้งนี้เนื่องจากมีการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งชุมชนที่ตั้งอยู่บนสองฝั่งแม่น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตเทศบาลเมืองระยอง

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล (2537) ตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลบริเวณปากน้ำระยอง ในระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนธันวาคม 2535 และเดือนมีนาคม 2536 พบว่า อุณหภูมิน้ำมีค่า 27.0 - 31.0 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่างของน้ำมีค่า 8.10 - 8.59 ความเค็มของน้ำมีค่า 32.0 - 35.0 ส่วนในพันส่วน ออกซิเจนละลายน้ำมีค่า 4.6 - 11.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดีมีค่า 0.4 - 6.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัสรวมมีค่า 0.011 - 0.509 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรท - ไนโตรเจนมีค่าระหว่าง 0.002 - 0.152 มิลลิกรัมต่อลิตร ไขมันและน้ำมันมีค่าระหว่าง 0.002 - 0.280 มิลลิกรัมต่อลิตรโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมมีค่าระหว่าง <2 - 3,000 เอ็มพีเอ็น/100มิลลิลิตร ค่าความโปร่งใสอยู่ระหว่าง 1.0 - 4.5 เมตร และตะกอนแขวนลอยมีค่า 28.1 -61.6 มิลลิกรัมต่อลิตร

สำนักงานแผนและนโยบายสิ่งแวดล้อม (2539) รายงานว่า ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำของแม่น้ำระยองในปี พ.ศ. 2537 พบว่า ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำมีค่าประมาณ 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยบริเวณที่มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำค่อนข้างต่ำคือ บริเวณสะพานบ้านเนินพระ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง ปริมาณความสกปรกบีโอดีมีค่าประมาณ 1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดมีค่าประมาณ 144,000 หน่วย โดยมีค่าสูงสุดตรวจวัด

ได้ที่สะพานเปี่ยมพงศ์ศานต์ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 240,000 หน่วย

**เขตอุตสาหกรรม**

สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (2534) ตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลในระหว่างปี 2530 - 2533 ผลการวิเคราะห์สรุปได้ดังนี้คือ คุณภาพน้ำทะเลบริเวณอุตสาหกรรมมาบตาพุด อุณหภูมิน้ำมีค่า 28.0 - 31.0 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่างของน้ำมีค่า 8.0 - 8.4 ความเค็มของน้ำมีค่า 31.0 - 34.0 ส่วนในพัน ส่วนออกซิเจนละลายน้ำมีค่า 5.2 -8.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดีมีค่า 1.0 - 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โคลิฟอร์มแบคทีเรียบริเวณใกล้ฝั่งมีค่าค่อนข้างสูงโดยมีค่าเฉลี่ย ระหว่าง 1,900 - 9,400 เอ็มพีเอ็น/100มิลลิลิตร บริเวณห่างฝั่งมีค่าลดลงระหว่าง 2 - 920 เอ็มพีเอ็น/100มิลลิลิตร ค่าความโปร่งใสอยู่ระหว่าง 2.0 - 4.0 เมตร และตะกอนแขวนลอยมีค่า 2.5 - 11.0 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำมันและไขมันมีค่า 0.18 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัสรวม และไนเตรทมีค่าน้อยระหว่าง 0.08 และ 0.10 - 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ

กรมควบคุมมลพิษ (2537) ทำการ การตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออก ในระหว่างปี 2530 - 2535 สรุปได้ดังนี้

บริเวณท่าเรือน้ำลึกแหลมฉบัง ปี 2532 กำลังดำเนินการก่อสร้างท่าเรือน้ำลึก การฟุ้งกระจายของตะกอนดิน เนื่องจากการถมทะเล และการขุดลอกร่องน้ำมีผลกระทบต่อบริเวณพื้นที่โครงการ กล่าวคือปริมาณตะกอนแขวนลอยเฉลี่ยมีค่า 1.70 - 24.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความโปร่งใสเฉลี่ย 3.1 - 5.9 เมตร ซึ่งยังไม่มีผลกระทบถึงบริเวณแหล่งท่องเที่ยวที่พัทยาและเกาะล้าน และในปี 2533 - 2535 ตรวจวัดค่าความโปร่งใสได้ 3.0 - 5.0 เมตร และตะกอนแขวนลอยมีค่าระหว่าง 25.5 - 38.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

บริเวณมาบตาพุดเป็นพื้นที่อุตสาหกรรมหนัก จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำในปี 2533 ซึ่งกำลังเริ่มดำเนินการของโรงงานอุตสาหกรรมบริเวณนี้ พบว่าคุณภาพน้ำส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างดี คือ ความโปร่งใส 2.0 - 6.5 เมตร ค่าออกซิเจนละลายน้ำ 4.2 - 8.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่ารวมของแบคทีเรียโคลิฟอร์มมีแนวโน้มสูงขึ้นระหว่าง 20 - 1,600 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล (2537) ตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลบริเวณนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด ในระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนธันวาคม 2535 และเดือนมีนาคม 2536 พบว่า อุณหภูมิน้ำมีค่า 27.0 - 30.8 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่างของน้ำมีค่า 7.95 - 8.39 ความเค็มของน้ำมีค่า 32.0 - 35.0 ส่วนในพันส่วน ออกซิเจนละลายน้ำมีค่า 6.1 - 7.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดีมีค่า 1.1 - 1.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัสรวมมีค่า 0.010 - 0.162 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรท-ไนโตรเจนมีค่าระหว่าง 0.013 - 0.059 มิลลิกรัมต่อลิตร ไขมันและ

น้ำมันมีค่าระหว่าง 0.001 - 0.010 มิลลิกรัมต่อลิตร โคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมมีค่าต่ำยกเว้นบริเวณใกล้ฝั่งที่บ้านหนองแฟบ ในเดือนมีนาคม 2536 มีค่าสูงเป็น 2,200 เอ็มพีเอ็น/100 มิลลิลิตร และบริเวณห่างฝั่งหน้าโรงงานปิโตรเคมี ในเดือนธันวาคม 2535 มีค่าสูงเป็น 1,600 เอ็มพีเอ็น/100มิลลิลิตร ค่าความโปร่งใสอยู่ระหว่าง 1.5 - 4.5 เมตร และตะกอนแขวนลอยมีค่า 25.1 - 51.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

อูลิซิโน, โวลเทอรา, และโบนาโดมา (Aulicino, Volterra, & Bonadoma, 1984) ได้วิเคราะห์ความสอดคล้องของลักษณะทางชีวเคมีของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มและฟีคอลโคลิฟอร์มจากบริเวณชายหาด Ivory ประเทศอิตาลี พบว่า การแยกเชื้อจากแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มที่แยกได้จากอุจจาระของคนและสัตว์ โดยทำการแยกกลุ่มเป็นชนิดโคลิฟอร์มและฟีคอลโคลิฟอร์ม และวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวเคมีอาจเกิดการผิดพลาดได้เมื่อแยกเชื้อจากน้ำบางประเภท โดยพบว่าแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดให้ผล Citrate เป็นบวกในอาหาร I ไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ Ole ให้ผลเป็นลบ และ Amygodallin ให้ผลเป็นบวก ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์มให้ผลการทดสอบเช่นเดียวกัน ดังนั้นการหาปริมาณแบคเทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดและแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์มควรมีการพิจารณา-แหล่งกำเนิดของอุจจาระด้วย

ฮัค, คลาวด์เฮอรี, เฟ่ลเซนส์ไท, โคลเวล, แรซแมน, และโฮสเซน (Huq, Chowdhury, Felsenstei, Colwell, Rahman, & Hossain, 1985) ได้ทำการศึกษาการแพร่กระจายตามฤดูกาลของ *V. cholerae* ในหนองน้ำและแม่น้ำ Matlab ประเทศบังคลาเทศ ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยทางกายภาพเคมี และชีวภาพของสิ่งแวดล้อมในน้ำ ตัวอย่างที่สุ่มมาจากตำแหน่งต่าง ๆ จะใช้วัดการเกิดมลภาวะของสิ่งแวดล้อมได้ ผลการทดลองจะพบว่าจากระยะเวลาการทดลองทั้งหมด 6 เดือน พบเชื้อ *V. cholerae* และ *V. mimicus* ที่แยกได้จากน้ำโดยตรงมากกว่าที่แยกได้จากแพลงก์ตอน การทดลองด้วยวิธีฟลูออเรสเซนท์ แอนติบอดี (Fluorescent Antibldy) กับ *V. cholerae* ในตัวอย่างแพลงก์ตอน 110 ตัวอย่าง พบว่า 50 ตัวอย่างให้ผลบวก แต่อย่างไรก็ตาม *V. cholerae* 01 จากตัวอย่างที่นำมาไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้โดยวิธีการเลี้ยงเชื้อปกติ จึงบอกได้ว่า *V. cholerae* 01 จะต้องเจริญอยู่ในสภาวะของการเลี้ยงที่เหมาะสมเท่านั้นจึงจะเจริญ การเติมเกลือลงไปในอาหารจะเพิ่มโอกาสในการแยก *V. cholerae* 01 จากสิ่งแวดล้อมได้มากขึ้น อิทธิพลของปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ค่าความเป็นกรดและด่าง และอุณหภูมิของน้ำจะมีผลต่อการแยก *V. cholerae* นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยทางเคมีต่าง ๆ เช่นการมีอยู่ของไนเตรท, ไนเตรท์, ฟอสเฟต, แมงกานีส, เหล็ก, ไอโอดีน, โลหะหนัก, ฟลูออไรด์, ทองแดง, โครเมียม, คาร์บอนได้ออกไซด์ และแคลเซียม เป็นต้น

ลาร์เซน, ฟาริด, และดาลส์การ์ด (Larsen, Farid, & Dalsgard, 1981) ทำการสำรวจหาแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* และ *V. alginolyticus* ในสถานที่เล่นน้ำบริเวณชายฝั่งและปากแม่น้ำของเมือง Danish ประเทศอิตาลี จำนวน 17 แห่ง และปากแม่น้ำ 2 แห่งทำการเก็บตัวอย่างเป็นระยะเวลาช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนพฤศจิกายน ปี 1979 พบ *V. parahaemolyticus* ( 5 สายพันธุ์จากน้ำทะเล และ 3 สายพันธุ์จากน้ำบริเวณปากแม่น้ำ) และพบ *V. alginolyticus* คิดเป็น 8.33 และ 15.63 เปอร์เซ็นต์ จากแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ทั้งหมดที่พบบนอาหาร TCBS Agar

ชิมิดุ, และทรึซคาโมโต (Simidu & Tsukamoto, 1980) ศึกษาการแยกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Vibrio* ในทะเลโดยการแยกตะกอนดินและน้ำทะเล แบคทีเรียที่ได้จากน้ำทะเลและตะกอนดินสามารถเจริญและสร้างโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของ *Vibrio* โดย *Vibrio* จะพบมากในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งบนผิวของแพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น ฟองน้ำจะมี *Vibrio* sp. เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น

ทิล (Till, 1979) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาศัยอยู่ในน้ำกับหอยและสัตว์ที่กินอาหารโดยการกรองในน้ำ พบว่าจุลินทรีย์ก่อโรคมีความสัมพันธ์โดยตรงแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์ม โดยทั่วไปเป็นดัชนีสำหรับมลภาวะเป็นพิษ หอยและสัตว์ที่กินอาหารโดยการกรองต้องการน้ำที่มีคุณภาพดีเพื่อป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรค สำหรับการบริโภคของมนุษย์ที่รับประทานสด ๆ หรือปรุงเป็นอาหาร การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในหอยจะพบมาก ถ้าแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มและแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์มมีปริมาณสูงในแหล่งอาศัยของหอยและสัตว์ที่กินอาหารโดยการกรองในน้ำและตะกอนดิน การหลีกเลี่ยงการบริโภคหอยที่เจริญในน้ำที่เกิดปัญหามลภาวะจากอุจจาระเป็นการปฏิบัติเพื่อป้องกันสุขภาพอนามัยของผู้บริโภคมาตรฐานของน้ำสำหรับการเจริญของสิ่งมีชีวิตในน้ำ เป็นหลักเกณฑ์ที่ใช้ควบคุมความปลอดภัยของสุขภาพอนามัยจากการบริโภคหอย