ผลกระทบของปัจจัยสิ่งแวดล้อมน้ำทะเลต่ออุบัติการณ์และปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคของแบคทีเรียในสกุล Vibrio บริเวณชายฝั่งอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

พรเพ็ญ ทองสอาด

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
สิงหาคม 2559
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ พรเพ็ญ ทองสอาด ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ดร.กาญจนา หริ่มเพ็ง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร.นภาพร เลียดประถม)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดารัตน์ สวนจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.พิชาญ สว่างวงศ์)

.....กรรมการ
(ดร.กาญจนา หริ่มเพ็ง)

.....กรรมการ
(ดร.นภาพร เลียดประถม)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดารัตน์ สวนจิตร)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปภาศิริ บาร์เนท)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมของมหาวิทยาลัยบูรพา

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.เอกรัฐ ศรีสุข)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2559

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม พิษวิทยา และการบริหารจัดการสารเคมี ผู้วิจัยขอขอบคุณอย่างสูง มา ณ ที่นี้ด้วย

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ดร. กาญจนา หริ่มเพ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผศ. ดร. สุดารัตน์ สวนจิตร และ ดร. นภาพร เลียดประถม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมาผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. พิชาญ สว่างวงศ์ ประธานสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ ผศ. ดร.ปภาศิริ บาร์เนท หัวหน้าภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่กรุณาให้ความรู้ ให้คำปรึกษา ตรวจแก้ไขและวิจารณ์ผลงานทำให้งานวิจัยมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวาริชศาสตร์ และโครงการบัณฑิตศึกษาสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม และดร.กรประภา กาญจนะ พร้อมด้วยเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ให้ความรู้และความอนุเคราะห์ให้ใช้อุปกรณ์ เครื่องมือต่าง ๆ และห้องปฏิบัติการ ในการวิจัยทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการเผยแพร่ส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์นี้ในรูปแบบของผลงานวิจัยฉบับเต็มในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ “Burapha University International Conference 2015”

ขอขอบพระคุณ คุณประสิทธิ์ ทองสอาด คุณจำรัส ทองสอาด และครอบครัว ที่ให้กำลังใจและสนับสนุนทุนทรัพย์ผู้วิจัยเสมอมา นอกจากนี้ขอขอบคุณ คุณวันชัย วรรัตน์ และครอบครัว คุณโสพร รำพึงกิจ ดร. กฤตวิชญ์ สุขอึ้ง คุณสมภพ แต้บวนฮวด คุณภาวิณี อุ่นกอง คุณอลงกรณ์ พุดหอม คุณภาวนา บูรณะกิจ และครวบครัว คุณสุณัฐฐา วิงวอน และครอบครัว คุณชนะชัย บัณฑิต คุณวันเพ็ญ วงษ์กันยา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งคุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา และประสบความสำเร็จมาจนตราบ เท่าทุกวันนี้

พรเพ็ญ ทองสอาด

54910151: สาขาวิชา: วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม; วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)
คำสำคัญ: ปัจจัยสิ่งแวดล้อม/ *Vibrio* spp./ หอยนางรม/ น้ำทะเล

พรเพ็ญ ทองสอาด: ผลกระทบของปัจจัยสิ่งแวดล้อมน้ำทะเลต่ออุบัติการณ์และปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคของแบคทีเรียในสกุล Vibrio บริเวณชายฝั่งอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี (EFFECT OF ENVIRONMENTAL FACTORS IN SEAWATER ON INCIDENCE OF *Vibrio* spp. IN ANG-SILA COASTAL AREA, CHONBURI PROVINCE) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: กาญจนา หริ่มเพ็ง, Ph.D., สุดารัตน์ สวนจิตร, Ph.D., นภาพร เลียดประถม, Ph.D. 190 หน้า. ปี พ.ศ. 2559.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อปริมาณ *Vibrio* spp. ในตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรมที่เพาะเลี้ยงบริเวณชายฝั่งอ่างศิลา และศึกษาอุบัติการณ์รายเดือนของ *Vibrio* spp. ในกลุ่มตัวอย่างหอยนางรมที่เพาะเลี้ยงในบริเวณดังกล่าวในระหว่างเดือนมกราคมถึง ธันวาคม พ.ศ. 2555 จากนั้นศึกษาผลกระทบของปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพบางประการต่อปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคของ *Vibrio* spp. ในหลอดทดลอง และทดสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่เพาะแยกเชื้อได้จากตัวอย่างทดสอบ จากผลการศึกษาพบว่าปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำทะเลมีความหนาแน่นอยู่ในช่วง 2 - 14 MPN/100 mL มีปริมาณสูงสุดในเดือนเมษายนและพฤษภาคมโดยปริมาณของเชื้อที่ตรวจพบในน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้นเมื่อน้ำทะเลมีค่าความเค็มเพิ่มมากขึ้น แต่ปริมาณของเชื้อลดลงเมื่อปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิของน้ำทะเลเพิ่มมากขึ้น (สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ Pearson มีค่าเท่ากับ 0.484, -0.622 และ -0.444 ตามลำดับ, $p < 0.05$) สำหรับปริมาณ *Vibrio* spp. ในตัวอย่างหอยนางรมพบว่ามีความหนาแน่นอยู่ในช่วง 3 - 35 MPN/g และมีปริมาณมากที่สุดในเดือนกุมภาพันธ์ โดยปริมาณเชื้อที่พบในหอยนางรมเพิ่มมากขึ้นเมื่อปริมาณน้ำฝนและปริมาณไนเตรทในน้ำทะเลลดลง (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ Pearson มีค่าเท่ากับ -0.391 และ -0.507 ตามลำดับ, $p < 0.05$) เมื่อจัดจำแนกชนิดของ *Vibrio* spp. ที่แยกเชื้อได้ทั้งหมดจากตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม ด้วยชุดทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี API 20E สามารถจำแนกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* และ *V. vulnificus* การศึกษาอุบัติการณ์รายเดือนของ *Vibrio* spp. ในตัวอย่างหอยนางรม 25 ตัวต่อเดือน พบอุบัติการณ์สูงสุดของ *V. alginolyticus* (36 %), *V. vulnificus* (24 %), *V. cholerae* (12 %), *V. mimicus* (20 %) ในเดือนกุมภาพันธ์ เมษายน ตุลาคม และธันวาคม ตามลำดับ ขณะที่พบอุบัติการณ์สูงสุดของ *V. parahaemolyticus* (20 %) ในเดือนมกราคมและธันวาคม การทดสอบผลของความเค็ม อุณหภูมิ และความเป็นกรด - ด่าง ต่อความสามารถของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทในการสลายเม็ดเลือดแดง

และการสร้างไบโอฟิล์มซึ่งเป็นปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคของแบคทีเรีย พบว่า *V. parahaemolyticus* สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้อย่างสมบูรณ์ (β-hemolysis) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร Blood agar ซึ่งกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ของเชื้อมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่ออุณหภูมิและความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้น ($n = 30$, $p < 0.05$) สำหรับความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. พบว่า *V. vulnificus* สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 3 % ความเป็นกรด - ด่าง 7.5 และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และค่ากิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 90 % เป็น 48 % เมื่อลดอุณหภูมิเป็น 28 องศาเซลเซียส ($p < 0.01$) การทดสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. จำนวน 115 ไอโซเลท พบว่าแบคทีเรียทดสอบ 64 % ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin และ *V. alginolyticus* มีอุบัติการณ์การดื้อยามากที่สุด เมื่อทดสอบความสามารถของเชื้อ *V. alginolyticus* สายพันธุ์ที่ดื้อยาในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase โดยด้วยวิธี spectrophoto-metric assay ซึ่งใช้ยาปฏิชีวนะ nitrocepfin เป็นสารทดสอบ พบว่าในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 3.5 % ความเป็นกรด - ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เชื้อทดสอบมีการสร้างเอ็นไซม์สูงที่สุด ($OD_{486} = 1.17 \pm 0.11$) และการสร้างเอ็นไซม์จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($OD_{486} = 0.29 \pm 0.04$) เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ทดสอบลดลงเหลือ 28 องศาเซลเซียส ($p < 0.05$)

54910151: MAJOR: ENVIRONMENTAL SCIENCE; M.Sc.
(ENVIRONMENTAL SCIENCE)
KEYWORDS: ENVIRONMENTAL FACTOR/ *Vibrio* spp./ OYSTER/ SEAWATER

PONDPEN THONGSA-ARD: EFFECT OF ENVIRONMENTAL FACTORS IN SEAWATER ON INCIDENCE OF *Vibrio* spp. IN ANG-SILA COASTAL AREA, CHONBURI PROVINCE. ADVISORY COMMITTEE: KARNJANA HRIMPENG, Ph.D., SUDARAT SUANJIT, Ph.D., NAPAPORN LEADPRATHOM, Ph.D. 190 P. 2016.

The purposes of this thesis were to investigate the effects of environmental factors on density of *Vibrio* spp. in seawater and oyster samples collected from Ang-Sila coastal area. The montly incidence of *Vibrio* spp. in oysters was determined using 25 individual oysters as a sampling size per month. Besides, the impacts of some environmental factors, focus on physical factors, on some virulence factors of the isolated *Vibrio* spp. as well as the bacterial antimicrobial susceptibility pattern were also investigated. As a result, the density of total *Vibrio* spp. in seawater were detected in range of 2 - 14 MPN/100 mL and the highest density was observed in April and May. In addition, the bacterial density was statistically significant increased when the seawater salanity was risen (Pearson correlation coeffeicients = 0.484, $p < 0.05$). However, the decreasing in *Vibrio* spp. occurrence was occurred if the rainfall rate and seawater temperature were increased (Pearson correlation coeffeicients of -0.622 and -0.444 respectively, $p < 0.05$). As similar to those in seawater, the *Vibrio* spp. density in oysters was noticed in range of 3 - 35 MPN/g and the highest density was recognized in February. From statistic analysis using pearson correlation coefficient, the *Vibrio* spp. density in oysters was tend to be increased when the rainfall rate and nitrate level were decreased (Pearson correlation coeffeicients = -0.391 and -0.507 respectively, $p < 0.05$). All the isolated bacteria were aslo identified using commercial biochemical testing system, API 20E, and 6 species of Vibrio were determined including *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* and *V. vulnificus*. The montly incidence of *Vibrio* spp. in 25 individual oysters was also evaluated using conventional microbiological technique. The highest incidence of *V. alginolyticus* (36 %), *V. vulnificus* (24 %), *V. cholerae* (12 %), *V. mimicus* (20 %) were found in Febuary, April, October, and December whereas that of *V. parahaemolyticus* (20 %) was demonstrated in

January and December. Moreover, the effect of some environmental factors (salinity, temperature and pH) on the bacterial virulence, including hemolytic activity and biofilm formation, were also explored in some isolates of *Vibrio* spp. As a result from hemolytic activity assay, *V. parahaemolyticus* exhibited β-hemolysis on blood agar and the relative hemolytic activity was significantly increased if the temperature and NaCl concentration were elevated ($p < 0.05$). In addition, the relative biofilm formation provided by *V. vulnificus* was highest at culture condition of 35°C, 3 % NaCl, pH 7.5 for 48 hour and the formation will be significantly decreased from 90 % to 48 % when the temperature was increased from 35 °C to 28°C ($p < 0.01$). Finally, an antibiotic susceptibility testing of some isolated *Vibrio* spp. (n = 115) revealed high percentages of ampicillin resistant isolates (64 %). Among six species of Vibrio, *V. alginolyticus* possesses the highest incidence of resistant. An β-lactamase activity of some ampicillin resistant isolates of this bacteria was carried out via spectrophoto-metric assay with nitrocepfin as substrate. The highest relative β-lactamase activity ($OD_{486} = 1.17 \pm 0.11$) was observed at the testing condition of 35°C, 3.5 % NaCl and pH 7.5. Regardless of the pH level and NaCl concentration, the relative β-lactamase activity was significantly decreased to ($OD_{486} = 0.29 \pm 0.04$) if the testing temperature was switched to 28°C ($p < 0.05$).

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ฉ

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ณ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 2

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

สมมติฐานของการวิจัย..... 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 3

ขอบเขตของการวิจัย 4

ความหมายของคำศัพท์..... 4

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 6

รายละเอียดเกี่ยวกับสภาวะอากาศของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2555 6

รายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะพื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี 8

รายละเอียดเกี่ยวกับหอยนางรม 9

รายละเอียดเกี่ยวกับปัจจัยทางกายภาพ เคมี และธาตุอาหารในแหล่งน้ำ 11

รายละเอียดเกี่ยวกับการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม 19

รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียในสกุล Vibrio 22

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 29

3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 33

วัสดุอุปกรณ์..... 33

ขั้นตอนการเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ 37

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรค (Virulence factor) 46

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

4 ผลการวิจัย 53

5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย 89

บรรณานุกรม 110

ภาคผนวก 122

ภาคผนวก ก 123

ภาคผนวก ข 172

ภาคผนวก ค 174

ภาคผนวก ง 179

ภาคผนวก จ 182

ภาคผนวก ฉ 185

ภาคผนวก ช 187

ประวัติย่อของผู้วิจัย 190

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2-1 คุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Vibrio* spp. …….. 24

2-2 อาการที่มักเกิดขึ้นกับผู้ติดเชื้อ Vibrio และชนิดของ toxin ที่เชื้อสร้างขึ้น…… 28

3-1 ตำแหน่งสถานีตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและแบคทีเรียในสกุล Vibrio บริเวณชายฝั่งทะเล ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี…….. 38

3-2 ดัชนีคุณภาพน้ำ วิธีการเก็บตัวอย่าง และวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำและแบคทีเรียในน้ำ 40

4-1 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง……..... 67

4-2 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอย……..... 68

4-3 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีไกลฝั่ง……..... 69

4-3 ร้อยละ (%) ของอุบัติการณ์รายเดือนของ *Vibrio* spp. ที่พบในตัวอย่างหอยนางรม..... 73

4-5 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ บริเวณสถานีกระชังหอยกับปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างหอยนางรม วิเคราะห์ด้วยวิธี MPN…… 75

4-6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอยกับปริมาณ *Vibrio* spp. ในหอยนางรม…….. 76

4-7 แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของ Vibrio spp. จำนวน 115 ไอโซเลท จากตัวอย่างหอยนางรมและน้ำทะเลต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ……... 78

4-9 ความสามารถในการสร้างเอ็มไซม์ β-lactamase ของ *V. alginolyticus* ในสภาวะของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส), ความเค็ม (1.5 %, 2 %, 2.5 %, 3 % และ 3.5 % NaCl) และความเป็นกรด-ด่าง (7 และ 8) ที่แตกต่างกัน โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 486 นาโนเมตร……..... 80

ก-1 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิในภาคตะวันออกของประเทศไทยปี พ.ศ. 2555 เปรียบเทียบกับค่าปกติ (พ.ศ. 2514 - พ.ศ. 2543)…….....

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ก-2 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุดของน้ำทะเล บริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ระหว่าง ปี พ.ศ. 2555 กับรายงานในอดีตตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535 - พ.ศ. 2554……

ก-3 ความลึกและความโปร่งแสงเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555……

ก-4 อุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555…….. 139

ก-5 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิน้ำทะเลระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)…….. 139

ก-6 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิน้ำทะเลระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)…… 140

ก-7 ความเค็มเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555…….. 140

ก-8 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)… 141

ก-9 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)….. 141

ก-10 ความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555……

ก-11 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)…….. 142

ก-12 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)…… 143

ก-13 ค่าการนำไฟฟ้าเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555……. 143

ก-14 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าการนำไฟฟ้าระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)……..

ก-15 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าการนำไฟฟ้าระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)……

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ก-16 ออกซิเจนละลายน้ำเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเลในเขตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555……. 145

ก-17 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าออกซิเจนละลายน้ำระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)……... 145

ก-18 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าออกซิเจนละลายน้ำระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3) …… 146

ก-19 ค่าบีโอดีเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555……. 146

ก-20 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าบีโอดี ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)…. 147

ก-21 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าบีโอดี ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)….. 147

ก-22 ค่าเฉลี่ยรายเดือนของปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำทะเล บริวเณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555……... 148

ก-23 ค่าเฉลี่ยรายเดือนของปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำทะเลบริวเณชายฝั่งอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555……... 149

ก-24 ปริมาณ *Vibrio* spp. รวมทั้งหมด จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555…… 150

ก-25 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *Vibrio* spp. ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)…….. 151

ก-26 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *Vibrio* spp. ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)…… 151

ก-27 ปริมาณ *V. cholerae* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555…….. 152

ก-28 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. cholerae* ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)……..

ก-29 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. cholerae* ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)……

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ก-30 ปริมาณ *V. parahaemolyticus* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 อย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555…….. 154

ก-31 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. parahaemolyticus* ระหว่างเดือน ทั้ง 12 เดือน (n = 12)……. 155

ก-32 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. parahaemolyticus* ระหว่างสถานี ทั้ง 3 สถานี (n = 3)……. 155

ก-33 ปริมาณ *V. vulnificus* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555…….. 156

ก-34 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. vulnificus* ระหว่างเดือน ทั้ง 12 เดือน (n = 12)……. 157

ก-35 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. vulnificus* ระหว่างสถานี ทั้ง 3 สถานี (n = 3)…… 157

ก-36 ปริมาณ *V. alginolyticus* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555…….. 158

ก-37 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. alginolyticus* ระหว่างเดือน ทั้ง 12 เดือน (n = 12)……. 159

ก-38 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. alginolyticus* ระหว่างสถานี ทั้ง 3 สถานี (n = 3)……. 159

ก-39 ปริมาณ *V. mimicus* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555……... 160

ก-40 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. mimicus* ระหว่างเดือน ทั้ง 12 เดือน (n =12)…….. 161

ก-41 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. mimicus* ระหว่างสถานี ทั้ง 3 สถานี (n = 3)…….

ก-42 ปริมาณ *V. fluvialis* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555……..

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ก-43 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. fluvialis* ระหว่างเดือน ทั้ง 12 เดือน (n = 12) …… 163

ก-44 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. fluvialis* ระหว่างสถานี ทั้ง 3 สถานี (n = 3)…… 163

ก-45 ปริมาณ *Vibrio* spp. (MPN/g) จากตัวอย่างหอยนางรม บริเวณอ่างศิลา……. 164

ก-46 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะภูมิอากาศกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ ของน้ำทะเล บริเวณสถานีใกล้ฝั่ง ระหว่างเดือนมกราคม - ธันวาคม พ.ศ. 2555……..

ก-47 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะภูมิอากาศกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ ของน้ำทะเล บริเวณสถานีกระชังหอย ระหว่างเดือนมกราคม - ธันวาคม พ.ศ. 2555…..

ก-48 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะภูมิอากาศกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ ของน้ำทะเล บริเวณสถานีไกลฝั่ง ระหว่างเดือนมกราคม - ธันวาคม พ.ศ. 2555……..

ก-49 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิต่อการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase….. 167

ก-50 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มต่อการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase….. 167

ก-51 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างต่อการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase……... 167

ก-52 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของ *V. parahaemolyticus* แต่ละไอโซเลทต่อการสลายเม็ดเลือดแดง…….. 168

ก-53 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิต่อการสลายเม็ดเลือดแดง…… 168

ก-54 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มต่อการสลายเม็ดเลือดแดง…….. 168

ก-55 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของการสลายเม็ดเลือดแดงในสภาวะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส, 3.5 % โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง 7 และ 8…… 169

ก-56 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยวิธี Paired Samples T-Test ของกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. parahaemolyticus* ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 7 และ 8 ในสภาวะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์…….. 169

ก-57 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิต่อการสร้างไบโอฟิล์ม…… 170

ก-58 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มต่อการสร้างไบโอฟิล์ม…….. 170

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ก-59 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างต่อการสร้างไบโอฟิล์ม 170

ก-60 ปริมาณแอมโมเนียเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555..... 171

ก-61 ปริมาณไนโตรท์เฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555..... 171

ก-62 ปริมาณไนเตรทเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555..... 171

ก-63 ปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555..... 171

ก-64 ปริมาณซิลิเกตเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา..... 175

ก-65 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ บริเวณสถานีใกล้ฝั่ง.... 176

ก-66 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ บริเวณสถานีกระชังหอย..... 178

ก-67 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ บริเวณสถานีไกลฝั่ง.... 180

ข-1 มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ..... 183

ฉ-1 ค่ามาตรฐานสำหรับแปลผลความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ของ *Vibrio* spp. ตามมาตรฐาน CLSI ปี 2006..... 196

ช-1 MPN ระบบ 3 หลอด (0.1, 0.01 และ 0.001 กรัม) หน่วย MPN/g ตามมาตรฐาน BAM, 2004..... 198

ช-2 MPN ระบบ 5 หลอด (0.1, 0.01 และ 0.001 มิลลิลิตร) หน่วย MPN/100 mL ตามมาตรฐาน BAM, 2004..... 199

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

3-1 สถานีตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและแบคทีเรียในสกุล Vibrio บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา..... 38

4-1 เปรียบเทียบอุณหภูมิน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง, กระชังหอย และไกลฝั่ง……...…… 54

4-2 เปรียบเทียบความเค็มของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง, กระชังหอย และไกลฝั่ง……...…… 55

4-3 เปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง, กระชังหอย และไกลฝั่ง……..…….. 56

4-4 เปรียบเทียบค่าการนำไฟฟ้าของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง, กระชังหอย และไกลฝั่ง……..…… 57

4-5 เปรียบเทียบออกซิเจนละลายน้ำของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง, กระชังหอย และไกลฝั่ง……..…… 58

4-6 เปรียบเทียบค่าบีโอดีของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง, กระชังหอย และไกลฝั่ง……...…….. 59

4-7 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียรวม (CFU/mL) ของน้ำทะเลจากสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณอ่างศิลา ได้แก่ ใกล้ฝั่ง, กระชังหอย และไกลฝั่ง……...…….. 60

4-8 เปรียบเทียบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL) ของน้ำทะเลจากสถานีบริเวณอ่างศิลา ได้แก่ ใกล้ฝั่ง, กระชังหอย และไกลฝั่ง……..……... 61

4-9 เปรียบเทียบปริมาณและชนิด *Vibrio* spp. (MPN/100 mL) จากตัวอย่างน้ำทะเลแต่ละเดือนบริวเณสถานีใกล้ฝั่ง (1; ตัวอย่างที่ 1, 2; ตัวอย่างที่ 2, 3; ตัวอย่างที่ 3)…… 65

4-10 เปรียบเทียบปริมาณและชนิด *Vibrio* spp. (MPN/100 mL) จากตัวอย่างน้ำทะเลแต่ละเดือนบริวเณสถานีกระชังหอย (1; ตัวอย่างที่ 1, 2; ตัวอย่างที่ 2, 3; ตัวอย่างที่ 3)…. 65

4-11 เปรียบเทียบปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. (MPN/100 mL) จากตัวอย่างน้ำทะเลแต่ละเดือนบริวเณสถานีไกลฝั่ง (1; ตัวอย่างที่ 1, 2; ตัวอย่างที่ 2, 3; ตัวอย่างที่ 3)…… 66

4-12 เปรียบเทียบปริมาณ *Vibrio* spp. (MPN/g) จากตัวอย่างหอยนางรม 3 ตัวอย่าง…….... 72

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4-13 ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของ *V. alginolyticus* ในสภาวะต่าง ๆ ที่ระดับอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และ 35 องศาเซลเซียส, ความเค็ม (1.5 %, 2 %, 2.5 %, 3 % และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด-ด่าง (7 และ 8)……..…..... 81

4-14 ร้อยละของกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ของ *V. parahaemolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท ที่ระดับอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส, ความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 7 และ 8 และความเค็มที่ระดับ 1.5 %, 2.5 % และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์ ……..…… 83

4-15 ร้อยละของกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ของ *V. parahaemolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท ที่ระดับอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส, ความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 7 และ 8 และความเค็มที่ระดับ 1.5 %, 2.5 % และ 3.5 %โซเดียมคลอไรด์...…… 84

4-16 ร้อยละของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพันธ์ของ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* และ *V. alginolyticus* ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่สภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส, ความเค็ม (1.5 %, 2 %, 2.5 %, 3 % และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด-ด่าง 7.5, 8.0 และ 8.5 ……... 86

4-17 ร้อยละของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพันธ์ของ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* และ *V. alginolyticus* ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง ที่สภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส, ความเค็ม (1.5 %, 2 %, 2.5 %, 3 % และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด-ด่าง 7.5, 8.0 และ 8.5 ……... 87

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พื้นที่ชายฝั่งทะเลในเขตภาคตะวันออกของประเทศไทย เป็นบริเวณที่มีความสำคัญอย่างมากในหลาย ๆ ด้าน ทั้งเป็นแหล่งของอาหารทะเลที่สำคัญ และยังมีความโดดเด่นในด้านการเป็นพื้นที่อุตสาหกรรมและสถานที่ท่องเที่ยวทางทะเล ปัจจุบันพบว่าชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกกำลังประสบปัญหามลภาวะบริเวณชายฝั่ง อันเนื่องมาจากกิจกรรมของชุมชน และภาคอุตสาหกรรมที่มีการขยายตัวขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งแต่ละกิจกรรมล้วนส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของสิ่งสกปรกอย่างมาก ทั้งในรูปแบบของน้ำทิ้ง ขยะมูลฝอย และสิ่งปฏิกูลจากแหล่งต่าง ๆ ก่อให้เกิดความสกปรกทั้งบริเวณที่ประกอบกิจกรรมนั้น ๆ และพื้นที่ใกล้เคียง (สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, 2545) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการเพิ่มความเสี่ยงในการระบาดของโรคต่าง ๆ ได้ นอกจากมลภาวะที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์แล้ว สภาวะแวดล้อมของโลกที่เปลี่ยนแปลงไปในปัจจุบันก็อาจส่งผลกระทบต่อการแพร่กระจายและการเปลี่ยนแปลงของอัตราการย่อยสลายสารอาหาร สารเคมี และมลสารชนิดต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ (Noyes et al., 2009) ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิของน้ำทะเล ปริมาณความเค็ม และค่าความเป็นกรด - ด่าง เหล่านี้ที่เปลี่ยนแปลงไป อาจส่งผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตและทำให้สูญเสียสมดุลของระบบนิเวศในแหล่งน้ำ เช่น อุณหภูมิของน้ำ ปริมาณความเค็ม และค่าความเป็นกรด - ด่าง ที่เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อสรีรวิทยาของจุลินทรีย์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยดังกล่าว อาจทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิดมีอัตราการเจริญและรอดชีวิตสูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่ม Water-and Food-borne Diseases ในสกุล Vibrio (Su & Liu, 2007) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม mesophile และเจริญได้ดีในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ในขณะที่จุลินทรีย์บางชนิด (โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อ Vibrio) อาจมีอัตราการเจริญและรอดชีวิตลดลง ทำให้กระบวนการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคตามธรรมชาติลดน้อยลง จากการรายงานของ Long, Rowley, and Zamora (2005) พบว่าอุณหภูมิของน้ำที่สูงขึ้นทำให้แบคทีเรียอื่น ๆ ซึ่งยับยั้งการเจริญของ Vibrio มีปริมาณลดลง จุลินทรีย์ก่อโรคในสกุล Vibrio เหล่านี้จึงกลายเป็นประชากรส่วนใหญ่ของระบบนิเวศ เพิ่มโอกาสการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เหล่านี้ในแหล่งน้ำนั้น ๆ นอกจากนี้ยังมีรายงานแนวโน้มของความเค็มของน้ำทะเล ที่มีความผันแปรค่อนข้างสูง ซึ่งขึ้นกับปริมาณน้ำฝนที่ตกในแต่ละช่วงฤดูกาล (ฉลวย มุสิกะ, วันชัย วงสุดาวรรณ, อาวุธ หมั่นหาผล และแววตา ทองระอา, 2549) ที่อาจจะส่งผล

ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น ทำให้อุบัติการณ์ของโรคติดเชื้อในสัตว์น้ำและ/หรือมนุษย์เพิ่มสูงขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มประชากรที่มีความต้านทานโรคต่ำ

อ่างศิลาจัดอยู่ในเขตพื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันออก ซึ่งจัดอยู่ในเขตพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง มีสภาพทางภูมิศาสตร์ที่ได้รับอิทธิพลจากแม่น้ำสายต่าง ๆ ที่พัดพาสิ่งสกปรกไหลลงสู่ทะเล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูฝน มีผลต่อระดับความเค็มของน้ำทะเลที่ได้รับการเจือจางจากน้ำจืดที่ไหลลงสู่ทะเล สิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ ดินตะกอน จุลินทรีย์ จากชายฝั่งและพื้นที่ต้นน้ำจะไหลลงสู่ทะเลได้มากขึ้น (ฉลวย มุสิกะ และคณะ, 2549) อันจะเป็นผลกระทบด้านชนิด ปริมาณ และคุณภาพของทรัพยากรสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งที่พบในเขตพื้นที่แถบนี้ คือการพบแบคทีเรียก่อโรคในสกุล Vibrio ที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษในประเทศไทยพบว่า 25 % ของโรคท้องร่วงจากอาหารเป็นพิษมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียกลุ่ม Vibrio ซึ่งมักตรวจพบได้บ่อยในอาหารทะเลที่คนนิยมบริโภคดิบ เช่น หอยนางรมดิบ (Cavallo & Stabilli, 2002) เนื่องจากแบคทีเรียในสกุล Vibrio สามารถแพร่กระจายไปกับแหล่งน้ำ อาศัยอยู่ในดินตะกอนหรือแพลงก์ตอนที่เป็นอาหารของสัตว์น้ำ (Ripabelli et al., 1999) ซึ่งหอยนางรมเป็นสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่กับที่ในแหล่งน้ำที่ไม่ลึก พื้นที่เลี้ยงหอยนางรมส่วนใหญ่จึงเป็นพื้นที่ใกล้ฝั่ง หอยนางรมกินอาหารโดยการกรองกิน (filter feeding) เอาน้ำที่มีแพลงก์ตอนและตะกอนแขวนลอยเข้าไป (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2543) ซึ่งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ และสารพิษในสภาวะแวดล้อมในแหล่งน้ำเป็นการเพิ่มโอกาสที่หอยนางรมจะสะสมทั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) และสารพิษ (toxins) ในร่างกายมันได้ อาหารทะเลจึงเป็นพาหะสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อไปสู่มนุษย์ทางการบริโภคอาหาร

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่าถ้ามีอุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคเหล่านี้เพิ่มมากขึ้น โอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนและ/ หรือก่อโรคในสัตว์น้ำจะมีเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยังมีความเสี่ยงต่อผู้บริโภคที่นิยมรับประทานอาหารทะเลดิบ ที่อาจปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ ดังนั้นการศึกษาอุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคในสกุล Vibrio ในหอยนางรมบริเวณที่เป็นเขตเพาะเลี้ยงหอยนางรมชายฝั่งทะเลอ่างศิลา และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมคุณภาพน้ำทะเลต่าง ๆ ที่เปลี่ยนแปลง อาจมีผลต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคกลุ่มนี้ ในแหล่งน้ำบริเวณอ่างศิลา รวมทั้งศึกษา แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะและความสามารถในการสร้างปัจจัยความรุนแรงของโรคของแบคทีเรียก่อโรคที่ตรวจพบ สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของอุบัติการณ์ของโรคติดเชื้อนี้ในอนาคตได้โดยใช้ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมคุณภาพทางน้ำทะเลเป็นดัชนีชี้วัด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเลกับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเล อ่างศิลา จังหวัดชลบุรี
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเลกับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในหอยนางรมที่เพาะเลี้ยงบริเวณชายฝั่งทะเล อ่างศิลา จังหวัดชลบุรี
3. ศึกษาแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในสกุล Vibrio บางไอโซเลท
4. ศึกษาผลกระทบของประสิทธิภาพในการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์มและการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ต่อสภาวะของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่างที่เปลี่ยนแปลงไป ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio บางไอโซเลท

สมมติฐานของการวิจัย

1. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเลมีความผันแปรตามฤดูกาล
2. ปริมาณความหนาแน่นของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในน้ำทะเล แปรผันตามปัจจัยสิ่งแวดล้อมในน้ำทะเล
3. ปริมาณความหนาแน่นของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในหอยนางรม แปรผันตามปัจจัยสิ่งแวดล้อมในน้ำทะเล
4. อุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในตัวอย่างประชากรหอยนางรม แปรผันตามปัจจัยสิ่งแวดล้อมในน้ำทะเล
5. แบคทีเรีย *Vibrio* spp. ที่แยกได้ ดื้อต่อยาปฏิชีวนะอย่างน้อย 1 ชนิด
6. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการ เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง มีอิทธิพลต่อความสามารถในการผลิตปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคของแบคทีเรียสกุล Vibrio (การสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์ม และการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมคุณภาพน้ำทะเลต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคในสกุล Vibrio ทั้งในน้ำทะเลและหอยนางรม สามารถนำมาใช้เป็นฐานข้อมูลและใช้เป็นข้อมูลบ่งชี้ถึงคุณภาพน้ำเนื่องจากหอยนางรมจะกรองกินอาหารในน้ำ เมื่อหอยกินอาหารที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียในสกุล Vibrio เหล่านี้เข้าไป จะทำให้เกิดการสะสมของแบคทีเรียในตัวหอย และเมื่อนำไปรับประทานก็จะก่อให้เกิดโรคอาหารต่าง ๆ ตามมา และเพื่อจะได้นำข้อมูลไปใช้ในการวางแผนบริหารจัดการด้านการฟื้นฟูพื้นที่การเพาะเลี้ยงหอยนางรม การ

ฟื้นฟูระบบสุขภิบาลชุมชนบริเวณชายฝั่ง และการบริหารจัดการด้านการจัดจำหน่ายหอยนางรม ในช่วงฤดูกาลที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ขอบเขตของโครงงานวิจัย

การศึกษานี้กำหนดสถานีที่ทำการศึกษาอยู่ในบริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออกของประเทศไทย บริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำทะเล ตัวอย่างหอยนางรม (*Saccostrea cucullata*) ทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้ง โดยครอบคลุมตั้งแต่เดือนมกราคมถึงธันวาคม เป็นระยะเวลา 1 ปี สุ่มเก็บตัวอย่างครั้งละ 3 ตัวอย่าง สำหรับน้ำ และ 25 ตัวอย่างสำหรับหอยนางรม นำเฉพาะตัวอย่างน้ำ มาทำการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ใช้เป็นดัชนีคุณภาพน้ำทะเลบางค่าที่มีอิทธิพลสำคัญต่อคุณสมบัติทางสรีรวิทยาของจุลินทรีย์ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ระดับความเป็นกรด - ด่าง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำและบีโอดี ปริมาณแบคทีเรียรวม และปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม และทำการตรวจหาปริมาณและพิสูจน์ชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio โดยคุณสมบัติทางชีวเคมีจากตัวอย่างน้ำและหอยนางรม จากนั้นนำ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่แยกเชื้อได้มาทดสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะ และทดสอบคุณสมบัติการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์ม การสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase และศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิ และความเค็ม ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทั้งสามดังกล่าวในหลอดทดลอง

ความหมายของคำศัพท์

AMP	Ampicillin
APW	Alkaline Peptone Water
ATCC	American Type Culture Collection
BAM	Bacteriological Analytical Manual
BOD	Biochemical Oxygen Demand
C	Chloramphenicol
CFU	Colony Forming Unit
CIP	Ciprofloxacin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
COT	Sulfamethoxazole-Trimethoprim
CTA	Cystine Tryotone Agar Arabinose

CTX	Cefotaxime
EDTA	Ethylenediamine Triphosphate
FDA	Food and Drug Administration
FOX	Cefoxitin
GPS	Global Positioning System
DO	Dissolved Oxygen
g	Gram
I	Intermediate
l	Litre
LST	Lauryl Sulphate Tryptose broth
mL	Milliter
MPN	Most probable number
NOR	Norfloxacin
OD	Optical Density
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCA	Plate Count Agar
pH	Potential of Hydrogen ion
psu	Practical Salinity Unit
R	Resistant
S	Sensitive
TE	Tetracycline
TCBS	Thiosulfate Citrate Bile Salt sucrose
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
TSI	Triple Sugar Iron agar
µl	Microliter
µS/cm	MicroSiemens per centimeter

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 รายละเอียดเกี่ยวกับสภาวะอากาศของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2555

ปีพ.ศ. 2555 ประเทศไทยมีอุณหภูมิเฉลี่ยรายปีและรายเดือนทุกเดือนสูงกว่าค่าปกติ โดยเฉพาะในช่วงฤดูหนาวปลายปีที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงกว่าค่าปกติประมาณ 2 - 3 องศาเซลเซียส และหลายพื้นที่มีอุณหภูมิสูงสุดสูงกว่าสถิติเดิมที่เคยตรวจวัดได้ ส่วนปริมาณฝนเฉลี่ยทั้งปีของประเทศไทยในปีนี้สูงกว่าค่าปกติประมาณ 7 % และต่ำกว่าปีที่ผ่านมา (ปี พ.ศ. 2554 สูงกว่าค่าปกติประมาณ 24 %) ในปีนี้นอกจากประเทศไทยจะได้รับอิทธิพลจากมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือในช่วงฤดูหนาวและร่องมรสุมกับมรสุมตะวันตกเฉียงใต้เป็นระยะ ๆ ในช่วงฤดูฝนแล้ว ยังได้รับอิทธิพลจากพายุหมุนเขตร้อนที่เคลื่อนเข้าสู่ประเทศไทยโดยตรงในปีนี้ 1 ลูกคือพายุโซนร้อน “แกมี” (GAEMI 1220) ในช่วงต้นเดือนตุลาคมและยังมีพายุหมุนเขตร้อนที่เคลื่อนเข้ามาสลายตัวบริเวณพรมแดนระหว่างประเทศจีนตอนใต้ พม่าและลาว อีก 2 ลูก โดยในช่วงเดือนมกราคมและกุมภาพันธ์ซึ่งเป็นช่วงฤดูหนาว ประเทศไทยได้รับอิทธิพลจากบริเวณความกดอากาศสูงจากประเทศจีนที่แผ่ลงมาปกคลุมประเทศไทยตอนบนและมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือที่พัดปกคลุมประเทศไทยและอ่าวไทยเป็นระยะ ๆ โดยปริมาณฝนเฉลี่ยในเดือนมกราคมสูงกว่าค่าปกติทุกภาค และฝนเฉลี่ยทั้งประเทศมีปริมาณสูงสุดในรอบ 37 ปี (พ.ศ. 2519 - 2555) ช่วงเดือนกุมภาพันธ์อุณหภูมิเฉลี่ยเดือนกุมภาพันธ์สูงกว่าค่าปกติทุกภาคและอุณหภูมิเฉลี่ยทั้งประเทศสูงกว่าค่าปกติ 0.9 องศาเซลเซียส สำหรับฝนเดือนนี้ประเทศไทยมีฝนในบางช่วงกับมีฝนหนักบางพื้นที่ส่วนมากบริเวณภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ฝั่งตะวันตกจากอิทธิพลของลมตะวันออกเฉียงใต้ที่พัดปกคลุมบริเวณประเทศไทยตอนบนเป็นระยะ ๆ ส่งผลให้บริเวณดังกล่าวมีปริมาณฝนรวมสูงกว่าค่าปกติ

เมื่อเข้าสู่ฤดูร้อนซึ่งในปีนี้เริ่มในช่วงปลายเดือนกุมภาพันธ์และช้ากว่าปกติประมาณสองสัปดาห์ ตลอดทั้งฤดูบริเวณประเทศไทยตอนบนมีอากาศร้อนอบอ้าวเป็นช่วง ๆ และมีอุณหภูมิเฉลี่ยทั้งประเทศสูงกว่าค่าปกติเล็กน้อย ในบางช่วงของเดือนมีนาคมและเมษายนบริเวณความกดอากาศสูงจากประเทศจีนได้แผ่ลงมาปะทะกับมวลอากาศร้อนที่ปกคลุมบริเวณประเทศไทยตอนบน ทำให้มีฝนฟ้าคะนอง ลมกระโชกแรงและลูกเห็บตกบางพื้นที่ และอากาศคลายความร้อนอบอ้าวลงไปในช่วงดังกล่าว โดยปริมาณฝนเฉลี่ยทั้งประเทศตลอดทั้งฤดูสูงกว่าค่าปกติ

สำหรับฤดูฝนปีนี้เริ่มต้นเร็วกว่าปกติ เนื่องจากลมที่พัดปกคลุมประเทศไทยเริ่มเปลี่ยนเป็นลมตะวันตกเฉียงใต้ซึ่งนำความชื้นจากทะเลอันดามันพัดเข้ามาปกคลุมประเทศไทยและอ่าวไทย ประกอบกับมีฝนตกติดต่อกันในทุกภาคของประเทศตั้งแต่วันที่ 5 พฤษภาคมเป็นต้นไป ถือได้ว่าเป็นการเริ่มเข้าสู่ฤดูฝนของประเทศไทยซึ่งเร็วกว่าปกติ ประมาณ 1 สัปดาห์ และยาวนานไปจนถึงกลางเดือนตุลาคม เกือบตลอดทั้งฤดูฝนพื้นที่ส่วนใหญ่มีการกระจายของฝนไม่สม่ำเสมอและมีปริมาณต่ำกว่าค่าปกติ ฝนส่วนใหญ่เกิดจากอิทธิพลของมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ที่พัดปกคลุมทะเลอันดามันประเทศไทยและอ่าวไทยซึ่งมีกำลังแรงเป็นระยะ ๆ ร่องมรสุมที่พาดผ่านบริเวณประเทศไทยตอนบนในบางช่วง และพายุหมุนเขตร้อนที่เคลื่อนเข้าสู่ประเทศไทยและบริเวณใกล้เคียง อีกทั้งในปีนี้ประเทศไทยได้รับอิทธิพลจากพายุดีเปรสชันที่อ่อนกำลังลงจากพายุโซนร้อน “แกมี” (GAEMI, 1220) ซึ่งเคลื่อนเข้าสู่ประเทศไทยบริเวณจังหวัดสระแก้ว เมื่อเวลา 22.00 น. ของวันที่ 7 ตุลาคม ก่อนอ่อนกำลังลงเป็นหย่อมความกดอากาศต่ำปกคลุมภาคตะวันออกและภาคกลางตอนล่างของประเทศไทย พายุลูกนี้ตั้งแต่ก่อตัวจนกระทั่งอ่อนกำลังลงเป็นหย่อมความกดอากาศต่ำได้เคลื่อนตัวอยู่ในแนวของร่องมรสุมที่พาดอยู่บริเวณภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศไทย ส่งผลให้ร่องมรสุมทวีกำลังแรงขึ้นและทำให้บริเวณประเทศไทยมีฝนกระจายถึงเกือบทั่วไปกับมีฝนหนักถึงหนักมากบางพื้นที่ โดยเฉพาะภาคตะวันออกและภาคกลางตอนล่างมีฝนหนักหลายพื้นที่กับฝนหนักมากบางพื้นที่ นอกจากนี้ยังได้รับอิทธิพลจากพายุหมุนเขตร้อนอีก 2 ลูก ที่ถึงแม้จะไม่ได้เคลื่อนเข้าสู่ประเทศไทยโดยตรงแต่เคลื่อนเข้ามาสลายตัวบริเวณพรมแดนระหว่างประเทศจีนตอนใต้ พม่าและลาว ได้แก่ ไต้ฝุ่น “วีเซนเต” (VICENTE, 1208) ในช่วงปลายเดือนกรกฎาคม และไต้ฝุ่น “ไคตั๊ก” (KAI - TAK, 1213) ในช่วงกลางเดือนสิงหาคม ซึ่งส่งผลทางอ้อมให้ปริมาณและการกระจายของฝนในประเทศไทยตอนบนในช่วงดังกล่าวเพิ่มมากขึ้น สำหรับในช่วงเดือนมิถุนายนและสิงหาคมร่องมรสุมได้เลื่อนขึ้นไปพาดผ่านบริเวณประเทศพม่า ลาวและเวียดนามตอนบนและมีกำลังอ่อนไม่ปรากฏชัดในบางช่วงจึงทำให้ในช่วงเดือนดังกล่าวทุกภาคของประเทศยกเว้นภาคใต้ฝั่งตะวันตกมีปริมาณฝนต่ำกว่าค่าปกติ ส่วนเดือนอื่น ๆ มีปริมาณฝนรวมเฉลี่ยทั้งประเทศสูงกว่าค่าปกติ โดยปริมาณฝนมากที่สุดใน 24 ชั่วโมง ในช่วงฤดูฝนวัดได้ที่สถานีอากาศเกษตรพลิ้ว จังหวัด จันทบุรี เมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 242.4 มิลลิเมตร และมีรายงานพายุฝนฟ้าคะนองกับลมกระโชกแรงหลายพื้นที่และลูกเห็บตกบางพื้นที่บริเวณประเทศไทยตอนบนในช่วงเดือนพฤษภาคม โดยตลอดช่วงฤดูฝนมีอุณหภูมิเฉลี่ยทั้งประเทศสูงกว่าค่าปกติ

เมื่อถึงฤดูหนาวซึ่งเริ่มต้นใกล้เคียงปกติโดยเริ่มตั้งแต่วันที่ 18 ตุลาคม บริเวณความกดอากาศสูงจากประเทศจีนได้แผ่ลงมาปกคลุมประเทศไทยตอนบน ประกอบกับปริมาณฝนและอุณหภูมิของประเทศไทยตอนบนได้ลดลงจนมีอากาศเย็นชัดเจนบริเวณตอนบนของภาคเหนือและ

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ลมที่พัดปกคลุมบริเวณประเทศไทยภาคใต้และอ่าวไทยส่วนใหญ่เป็นลมตะวันออก โดยมีมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือพัดปกคลุมอ่าวไทยและภาคใต้ส่วนมากในช่วงครึ่งหลังของเดือนธันวาคม ทำให้อากาศในช่วงปลายปีไม่หนาวเย็นมากนัก (ศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา, 2557)

2.2 รายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะพื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

พื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันออกมีความอุดมสมบูรณ์ไปด้วยทรัพยากรธรรมชาติต่าง ๆ มากมาย ทั้งปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่มีความอุดมสมบูรณ์ ส่งผลให้พื้นที่เหล่านี้เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยและแหล่งอนุบาลของสัตว์น้ำและสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม พื้นทะเล และคุณภาพน้ำของบริเวณชายฝั่งแต่ละแห่ง จังหวัดชลบุรีก็จัดเป็นจังหวัดที่อยู่ในเขตพื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่าวไทยตอนบนฝั่งตะวันออก ที่มีการเลี้ยงกุ้งและหอยทะเลกระจายตัวตามบริเวณชายฝั่งทะเล ครอบคลุม 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง บางละมุง ศรีราชา เกาะสีชัง และสัตหีบ ซึ่งส่วนใหญ่พื้นที่เพาะเลี้ยงหอยแมลงภู่ หอยแครง และหอยนางรม จะอยู่ในบริเวณอ่าวชลบุรี ตั้งแต่ชายฝั่งทะเลตำบลอ่างศิลาจนถึงตำบลหนองไม้แดง (สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, 2556)

อ่างศิลาจัดอยู่ในเขตพื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่าวไทยตอนบนฝั่งตะวันออก มีอาณาเขตติดต่อกับแม่น้ำบางปะกง ซึ่งจัดอยู่ในเขตพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง พื้นที่ในเขตเทศบาลตำบลอ่างศิลา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี มีพื้นที่รวมทั้งสิ้น 18.60 ตารางกิโลเมตร หรือ 11,615 ไร่ มีอาณาเขตการปกครอง จำนวน 4 ตำบล ประกอบด้วย 20 หมู่บ้าน ในพื้นที่เทศบาลตำบลอ่างศิลา มีประชากรทั้งสิ้น 28,007 คน ชุมชนอ่างศิลาแต่เดิมเป็นชุมชนหมู่บ้านชายทะเลมีท่าเทียบเรือสำเภาเพื่อขนถ่ายสินค้าจากจีน เรียกว่า “ตะพานหิน” ปัจจุบันเป็นท่าเทียบเรือประมงอ่างศิลา ประชาชนในชุมชนส่วนใหญ่เป็นคนไทยชาวอ่างศิลาดั้งเดิมและเป็นชาวจีนที่อพยพมาตั้งถิ่นฐาน (กรมประมง, 2538) อ่างศิลามีลักษณะเป็นชุมชนศูนย์กลางการเกษตร ให้บริการพาณิชยการ บริการสังคม และเกษตรกรรมด้านการประมงชายฝั่ง ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพประมง เนื่องจาก อ่างศิลามีอาณาเขตติดต่อกับชายฝั่งทะเล ส่วนใหญ่เป็นการประมงชายฝั่งที่จับสัตว์น้ำด้วยวิธีต่าง ๆ เช่น การทำโป๊ะ อวนลาก อวนล้อม อวนลอย เลี้ยงหอยแมลงภู่ และเลี้ยงหอยนางรม จากอดีตจนถึงปัจจุบันชาวอ่างศิลายังคงประกอบอาชีพประมงอย่างต่อเนื่อง อ่างศิลาเป็นแหล่งเพาะเลี้ยงหอยนางรมที่สำคัญของจังหวัดชลบุรี ซึ่งใหญ่เป็นอันดับสองของพื้นที่เพาะเลี้ยงหอยนางรมทั่วประเทศรองจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยสามารถผลิตหอยนางรมได้ถึง 6,781 เมตริกตัน คิดเป็นร้อยละ 29 ของการผลิตหอยนางรมทั่วประเทศ (กรมประมง, 2538) เป็นผลให้อ่างศิลากลายเป็นย่านอาหาร

ทะเลที่มีชื่อเสียง เป็นแหล่งเศรษฐกิจ และแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญแห่งหนึ่งของจังหวัดชลบุรี นอกจากนี้อ่างศิลายังมีความสำคัญในแง่ของการเป็นแหล่งรองรับน้ำจากแผ่นดิน ได้แก่ น้ำจากแม่น้ำบางปะกงและคลองต่าง ๆ ที่ไหลมาสมทบในบริเวณใกล้กับปากแม่น้ำ และคลองหลักที่มีการระบายน้ำลงสู่บริเวณอ่าวโดยตรง เช่น คลองสังเขป คลองอุตุ และคลองบางปลาสร้อย เป็นต้น ซึ่งการเป็นแหล่งรองรับน้ำเสียทำให้คุณภาพน้ำเสื่อมโทรมลง และความเสียหายที่เกิดขึ้นนี้ก็ส่งผลกระทบย้อนกลับมายังมนุษย์ในด้านต่าง ๆ เช่นเดียวกัน ไม่ว่าจะเป็นผลกระทบด้านเศรษฐกิจ การท่องเที่ยว ผลกระทบด้านสุขภาพ

2.3 รายละเอียดเกี่ยวกับหอยนางรม

2.3.1. ประวัติการเพาะเลี้ยงหอยนางรม

มนุษย์รู้จักหอยนางรมเมื่อประมาณ 60 ปีก่อนคริสตกาล มีการเลี้ยงที่เมืองไบอี (Bieas) โดยชาวโรมันชื่อ เซอร์จิเอียส โอราตา (Sergeius Orata) การเลี้ยงทำโดยการเลียนแบบธรรมชาติของการเกิดหอยนางรม กล่าวคือ หอยนางรมจะดำรงชีวิตด้วยการอาศัยเกาะติดอยู่กับที่ตลอดชีวิต ยกเว้นในช่วงแรกที่เกิดใหม่ ๆ ขณะที่ยังเป็นตัวอ่อนอยู่ จะสามารถเคลื่อนที่ได้เป็นช่วงเวลาสั้น ๆ การดำรงชีวิตของหอยนางรมในลักษณะที่อาศัยเกาะติดอยู่กับที่ตลอดชีวิตนี้ เรียกว่า Sessile Form บริเวณที่หอยนางรมจะอาศัยอยู่มักเป็นที่มีความลาดแข็ง เช่น บริเวณริมหาด และโขดหิน (วัฒนา ภู่เจริญ, 2521) ถิ่นกำเนิดของหอยนางรมส่วนใหญ่มีอยู่ทั่วไปทั้งในย่านทะเลเขตร้อนและอบอุ่น หอยนางรมที่พบในน่านน้ำประเทศต่าง ๆ มีประมาณ 70 ชนิด แต่ละชนิดมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันไปตามลักษณะภูมิศาสตร์

สำหรับการเลี้ยงหอยนางรมในประเทศไทยมีหลักฐานว่าเริ่มมีการเลี้ยงหอยนางรมพันธุ์เล็กขึ้นครั้งแรกที่ปากน้ำเข็นหนู ตำบลคลองขุด อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี ในปี พ.ศ. 2485 โดยชาวประมงเชื้อสายจีนได้นำก้อนหินที่มีลูกหอยเกาะติดอยู่แล้วมาวางเรียงกันเป็นแถว แต่ละก้อนห่างกัน 10 เซนติเมตร ตามบริเวณชายฝั่งและปากแม่น้ำ ที่เป็นทรายแข็ง ต่อมาการเลี้ยงในลักษณะดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้ที่บริเวณคลองหรืออ่าวบางโปรง ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี เมื่อประมาณปี พ.ศ. 2490 ซึ่งถือว่าเป็นการเลี้ยงหอยนางรมที่เกิดขึ้นครั้งแรกในจังหวัดชลบุรี (วัฒนา ภู่เจริญ, 2521) โดยการเลี้ยงเป็นวิธีการเลี้ยงเลียนแบบการเกิดตามธรรมชาติ คือ นำวัสดุต่าง ๆ ที่ผู้เลี้ยงคิดว่าหอยจะมาอาศัยเกาะติดอยู่ตลอดอายุ นำมาวางในบริเวณที่พบว่ามีลูกหอยเกิดอยู่แล้วตามธรรมชาติเพื่อเป็นที่อยู่อาศัย นอกเหนือไปจากที่หอยนางรมดำรงชีวิตอยู่แล้ว เช่น โขดหิน และรากไม้ เป็นต้น จากนั้นผู้เลี้ยงไม่ต้องให้อาหารอีกเลยเพราะหอยนางรมจะอาศัยกินอาหารที่แขวนลอยอยู่ในแหล่งน้ำ ผู้เลี้ยงจะรอจนกว่าหอยนางรมโตได้ขนาดตามที่ต้องการก็จะเก็บมาใช้

ประโยชน์ ในช่วงแรกเป็นการเลี้ยงเพื่อยังชีพ โดยเก็บหอยในธรรมชาติมาเป็นอาหาร แต่ต่อมาบริเวณชายทะเลจังหวัดชลบุรีได้รับการส่งเสริมให้เป็นแหล่งท่องเที่ยวในสมัยรัฐบาลจอมพลแปลกพิบูลย์สงคราม โดยกำหนดให้ชายทะเลบางแสนในปัจจุบันนี้เป็นสถานที่พักผ่อนสาธารณะแก่ประชาชนทั่วไปจึงมีผู้คนเดินทางมาท่องเที่ยงกันมา ทำให้มีการนำเอาหอยนางรมออกมาจำหน่ายแก่นักท่องเที่ยวจนเกิดเป็นความนิยมรับประทานหอยนางรมกันอย่างแพร่หลาย ก่อให้เกิดรายได้แก่เกษตกร จึงมีการเลี้ยงเป็นการค้ามากขึ้น ประกอบกับทางรัฐบาลได้ส่งเสริมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามบริเวณชายฝั่ง มีการเปิดอนุญาตบริเวณชายฝั่งทะเลอ่าวบางโปรงเป็นเขตอนุญาตเพื่อการเลี้ยงหอยนางรมเล็ก และต่อมาได้เปิดพื้นที่อนุญาตเพิ่มอีกบริเวณอื่น ๆ ในจังหวัดชลบุรี พันธุ์ลูกหอยที่เลี้ยงในชลบุรี นอกจากใช้ลูกหอยที่เกิดในธรรมชาติแล้ว ยังมีการสั่งซื้อจากจังหวัดระยอง จันทบุรีและชลบุรีเองด้วย เนื่องจากในระยะต่อมามีการขยายพื้นที่เพาะเลี้ยงบริเวณชายฝั่งเพิ่มมากขึ้น แต่เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงในระยะหลังไม่ได้พัฒนาเร็วเท่าที่ควร โดยเฉพาะเทคโนโลยีด้านโรงเพาะเลี้ยงและการผลิตลูกหอยในโรงเพาะเลี้ยง จึงทำให้ตั้งแต่ช่วงหลังปี พ.ศ. 2529 เป็นต้นมาผลผลิตหอยนางรมลดอย่างเด่นชัด ผู้ประกอบการต้องเผชิญกับปัญหาสิ่งแวดล้อมหลายอย่าง ส่งผลกระทบต่อปริมาณลูกหอยธรรมชาติ จึงมีการพิจารณาถึงเทคโนโลยีการผลิตลูกหอยจากโรงเพาะเลี้ยงมากขึ้น (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2543)

สำหรับวิธีการเลี้ยงหอยนางรมในจังหวัดชลบุรีนั้น เป็นการเลี้ยงแบบดังเดิม เช่น การเลี้ยงแบบหลัก การเลี้ยงแบบแขวน และการเลี้ยงบนก้อนหิน เป็นต้น พื้นที่เลี้ยงหอยนางรมส่วนใหญ่มักจะเป็นพื้นที่ชายฝั่งที่ระดับน้ำไม่ลึกนัก (ยุพา ผลวิจิตร, 2530) โดยจะมีการสั่งซื้อลูกหอยหรือภาษาทั่วไปที่ชาวบ้านเรียกว่า หอยนางรมอีแปะ (เป็นปูนซีเมนต์ผสมทราย แล้วนำมาหยอดลงบนเชือก ลักษณะเป็นแป้นปูนกลมๆ หยอดสลับกันฝั่งละ 5 ลูก ใน 1 เส้น จะมีเม็ดอีแปะอยู่ 10 เม็ด เมื่อนำมาแขวนบนราวไม้ไผ่แล้วนั้น เชื้อหอยนางรมจะมาจับที่ตัวอีแปะเองตามธรรมชาติ โดยใช้ระยะเวลา ประมาณ 2 - 3 เดือน จะได้ลูกหอยนางรมที่นำขึ้นขายได้ จะมีขนาดเล็กประมาณเล็บมือเท่านั้น) โดยนำลูกหอยมาแขวนตามหลักเสาในกระชังเพาะเลี้ยง ระยะเวลาการเลี้ยงนั้นบางแห่งจะเลี้ยง 4 - 5 เดือน บางแห่งก็เลี้ยงข้ามปีแล้วแต่คุณภาพน้ำของแต่ละท้องที่ จึงจะมีการนำมาจำหน่ายได้ ช่วงเวลาของการเก็บเกี่ยวหอยนางรมออกขายนั้น เกษตรจะอาศัยประสบการณ์ในการตัดสินใจ (รัชภูมิ รัตนเพียร, 2551)

2.3.2. ชีววิทยาของหอยนางรม

หอยนางรม มีชื่อสามัญ คือ Oyster จัดอยู่ในวงศ์ Mollusca มีหลายสายพันธุ์ สายพันธุ์ที่นิยมเลี้ยงกันอยู่ทั่วไปในประเทศไทย แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ หอยนางรมพันธุ์เล็กหรือหอยนางรมปากจีบ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Saccostrea cucullata* หอยนางรมพันธุ์นี้มีเลี้ยงมากในภาค

ตะวันออก ส่วนหอยนางรมอีกสองพันธุ์เป็นหอยนางรมที่ค่อนข้างมีขนาดใหญ่เรียกว่า หอยตะโกนกราม ได้แก่ หอยตะโกรมกรามดำ (*Crassostrea lugubris*) และหอยตะโกรมกรามขาว (*C. belcheri*) มีการเลี้ยงบ้างในภาคตะวันออก แต่ส่วนใหญ่จะอยู่ในเขตจังหวัดทางภาคใต้ (มณีย์ กรรณรงค์ และจินตนา โสภากุล, 2543)

หอยนางรมเป็นหอยทะเลกาบสองฝา มีกาบหนาแข็ง ซึ่งฝาทั้งสองมีขนาดใหญ่ไม่เท่ากัน บางชนิดมีสีน้ำตาล หรือสีเทา กาบบนจะใหญ่และแบนกว่ากาบล่าง ส่วนกาบล่างที่มีลักษณะโค้งเว้าจะเป็นส่วนที่มีตัวหอยติดอยู่ ด้านที่มีเนื้อฝังอยู่จะเว้าลึกลงไปคล้ายรูปถ้วยหรือจาน และยึดติดกับวัตถุแข็ง เช่น ก้อนหิน ไม้หลัก หรือเปลือกหอยที่จมอยู่ในทะเล ส่วนฝาปิดอีกด้านหนึ่งแบนบางขนาดความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร เปลือกหอยนางรมประกอบด้วยหินปูร้อยละ 95 (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2543) หอยนางรมดำรงชีวิตอยู่ได้โดยการกินอาหารด้วยขบวนการกรองน้ำ (filter-feeding) โดยใช้ gill cilia ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของมวลน้ำขึ้น ทำให้ตะกอนแขวนลอยในน้ำซึ่งประกอบไปด้วย เศษซากหรือขยะ (detritus) รวมถึงจุลชีพชนิดต่าง ๆ ในมวลน้ำเคลื่อนที่ผ่านไปยังเหงือกย่อย (gill filaments) ซึ่งมีเมือก (mucus) อยู่ เมือกนี่เองจะทำหน้าที่ในการจับจุลชีพ และตะกอนแขวนลอยชนิดต่าง ๆ ในมวลน้ำเอาไว้ อาหารของหอยนางรมจะถูกย่อยในกระเพาะอาหาร ตะกอนที่ไม่ถูกย่อยและไม่สามารถดูดซึมได้ก็จะถูกขับทิ้งไป จุลชีพบางชนิดสามารถทนขบวนการย่อยนี้ได้ และสามารถคงอยู่ในหอยได้เป็นเวลานาน (สุวรรณา ภาณุตระกูล ศิริโฉม ทุ่งเก้า และเยาวภา ไหวพริบ, 2549) ซึ่งอาจจะทำให้หอยนางรมสามารถสะสมจุลชีพชนิดต่าง ๆ ไว้ในร่างกายของมันได้ เมื่อมนุษย์กินหอยนางรมดิบ ก็อาจจะได้รับจุลชีพเหล่านี้เข้าไปด้วย อาหารของ หอยนางรม ได้แก่ แพลค์ตอนพืช และแพลงค์ตอนสัตว์ที่ล่องลอยอยู่ในน้ำ หอยนางรมเป็นสัตว์ที่เพศผู้และเพศเมียแยกกัน ในช่วงที่มีการผสมพันธุ์หอยตัวเมียจะปล่อยไข่ และหอยตัวผู้จะปล่อยน้ำเชื้อออกมาผสมกันในน้ำ หอยนางรมที่พบในประเทศไทยจะวางไข่ตลอดปี มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดและแหล่งที่อยู่ (สุวรรณา ภาณุตระกูล และคณะ, 2549)

2.4 รายละเอียดเกี่ยวกับปัจจัยทางกายภาพ เคมี และธาตุอาหารในแหล่งน้ำ

2.4.1. อุณหภูมิ (Temperature)

ตามธรรมชาติโดยปกติอุณหภูมิน้ำจะผันแปรตามอุณหภูมิอากาศ ซึ่งขึ้นอยู่กับฤดูกาล ระดับความสูง และสภาพภูมิประเทศ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงสว่างจากดวงอาทิตย์ กระแสลม ความลึก ปริมาณสารแขวนลอย หรือความขุ่น และสภาพแวดล้อมทั่ว ๆ ไปของแหล่งน้ำ (ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ, 2528) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำตามธรรมชาติจะค่อยเป็นค่อยไปอย่างช้า ๆ และไม่ก่อให้เกิดปัญหาต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ อุณหภูมิร่างกายของ

สัตว์น้ำจะเปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิของน้ำและสภาพแวดล้อมที่มันอาศัยอยู่ แต่ต้องอยู่ในขอบเขตที่เหมาะสม เมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นกิจกรรมต่าง ๆ ในการดำรงชีวิตก็จะสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิลดลงกิจกรรมเหล่านั้นก็จะลดลงไปด้วยตามกฎของ Van Hoff's Law ซึ่งกล่าวว่า ขบวนการเมตาโบลิซึม (Metabolic rate) ของสิ่งมีชีวิตจะเพิ่มเป็น 2 - 3 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส เช่น การหายใจ, การว่ายน้ำ, การกิน, การย่อยอาหาร, การขับถ่ายและการเต้นของหัวใจ เป็นต้น อัตรากิจกรรมเหล่านี้จะแตกต่างกันไปในสัตว์แต่ละชนิด ซึ่งขึ้นอยู่กับขบวนการทางชีวเคมีภายในร่างกายและสภาพแวดล้อม (ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ, 2528) อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของน้ำอย่างรวดเร็ว (Temperature shock) สามารถทำให้เกิดอันตรายโดยตรงต่อสัตว์น้ำได้ เช่น ทำให้ระบบการควบคุมการขับถ่ายน้ำและแร่ธาตุภายในร่างกาย (Osmoregulatory system) ผิดปกติไปทำให้ร่างกายอ่อนแอและตายได้ การปล่อยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ ที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 2 - 3 องศาเซลเซียส อาจเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต และส่งผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหารในระดับสูงขึ้น ชนิด ปริมาณ และสัดส่วนของประชากรจะถูกควบคุมโดยอุณหภูมิ นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีผลต่อสภาพแวดล้อมทางกายภาพของแหล่งน้ำหลายประการ เช่น ความหนาแน่น ความหนืด ความสามารถในการละลายก๊าซออซิเจน การแบ่งชั้นของน้ำ การหมุนเวียนของแร่ธาตุต่าง ๆ และกระแสน้ำ เป็นต้น ผลกระทบที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงขึ้นคือ ปริมาณออกซิเจนละลายอยู่ในน้ำจะลดลง ขณะเดียวกันสัตว์น้ำต้องการออกซิเจนเพิ่มมากขึ้นจึงเกิดปัญหาขาดแคลนออกซิเจนขึ้นได้และการทำงานของแบคทีเรียและจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในการย่อยสลายสิ่งปฏิกูลต่าง ๆ ในน้ำก็จะเพิ่มขึ้นและต้องการใช้ออกซิเจนมากขึ้นก็จะทำให้แหล่งน้ำขาดออกซิเจนเร็วขึ้นเป็นเหตุให้เกิดการเน่าเสีย นอกจากนี้การอพยพย้ายถิ่น การวางไข่ การฟักไข่เป็นตัวของสัตว์น้ำล้วนแต่ถูกควบคุมโดยอุณหภูมิทั้งสิ้น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของน้ำทำให้พืชน้ำโดยเฉพาะแพลงก์ตอนมีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณของสาหร่ายหลายชนิด เช่น อุณหภูมิสูงจะมีพวกสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวมาก จะไม่ก่อประโยชน์ต่อสัตว์น้ำบางชนิดอาจทำให้เป็นพิษแก่สัตว์น้ำได้ และหากมีปริมาณมากก็จะทำให้เกิดการเน่าเสียและมีกลิ่นเหม็นย่อมมีผลกระทบต่อสัตว์น้ำได้เช่นเดียวกัน (นันทนา คชเสนี, 2544)

2.4.2. ความเค็ม (Salinity)

ความเค็มของน้ำหมายถึงปริมาณของแข็ง (solid) หรือเกลือแร่ต่าง ๆ โดยเฉพาะโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ละลายอยู่ในน้ำ โดยจะแสดงผลออกมาเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังมีอินทรีย์สารต่าง ๆ ถูกออกซิไดร์โดยสมบูรณ์ด้วย นิยมคิดเป็นหน่วยน้ำหนักของโซเดียมคลอไรด์เป็นกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหรือนิยมใช้หน่วยเป็นส่วนในพันส่วน (part per thousand, ppt) ปัจจุบันนิยมใช้หน่วยเป็น psu (วิชญา กันบัว, 2541) ความเค็มจะมีความสัมพันธ์

ร่วมกับคุณสมบัติทางกายภาพอื่น ๆ บางตัวของน้ำทะเล โดยความเค็มจะสัมพันธ์กับค่า Chlorinity ประกอบด้วยปริมาณคลอไรด์, โบรไมค์และไอโอไดด์ และการนำไฟฟ้า (conductivity) จึงทำให้วิธีการหาค่าความเค็มของน้ำทะเล นอกจากจะใช้วิธีการทางเคมีแล้ว อาจใช้คุณสมบัติในการเป็นตัวนำไฟฟ้าของไอออนต่าง ๆ ในน้ำทะเลด้วย เนื่องจากพบว่าค่าความเค็มของน้ำทะเลจะมีสัดส่วนโดยตรงกับสภาพการนำไฟฟ้า

ความเค็มของน้ำจะแตกต่างตามสถานที่และประเภทของดิน ค่าความเค็มของน้ำจะแสดงให้ทราบถึงสภาพทางภูมิศาสตร์และผิวดินบริเวณดังกล่าว เช่น บริเวณที่มีฝนตกชุกและมีน้ำไหลตลอดจะส่งผลให้มีค่าความเค็มต่ำที่ประมาณ 0.1 - 25 psu ส่วนใหญ่ที่แห้งแล้งและมีการระเหยของน้ำสูงก็จะมีความเค็มสูง อย่างไรก็ตามบางพื้นที่หากมีฝนตกชุก น้ำบาดาลอาจมีค่าความเค็มสูงได้เช่นกัน โดยปกติน้ำทะเลจะมีความเค็มอยู่ในช่วง 32 - 37.5 psu ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 35 psu ค่าความเค็มของน้ำทะเลนอกจากจะเกี่ยวข้องกับปริมาณเกลือที่ละลายอยู่โดยตรงแล้ว ยังใช้เป็นตัวบ่งชี้ที่ใช้ในการจำแนกมวลน้ำในมหาสมุทรด้วย ค่าความเค็มของน้ำทะเลจะแปรเปลี่ยนไปตามฤดูกาล น้ำขึ้นน้ำลง ปริมาณหยาดน้ำฟ้า (precipitation) อัตราการระเหยของน้ำทะเล ตำแหน่งเส้นรุ้ง และระยะห่างจากปากแม่น้ำหรือชายฝั่ง (วิชญา กันบัว, 2541) โดยการที่น้ำมีความเค็มสูงขึ้นจะทำให้ความสามารถในการละลายของออกซิเจนลดลงที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, 2538) นอกจากนี้ยังพบว่าความเค็มของน้ำมีผลต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ สัตว์ที่อาศัยอยู่ในน้ำส่วนใหญ่ไม่มีระบบรักษาความเข้มข้นของของเหลวในร่างกายให้คงที่ ดังนั้นความเข้มข้นของของเหลวภายในตัวจะเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อมเสมอ (วีรศักดิ์ ซั่วต่อ, 2543)

2.4.3. ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ความเป็นกรด - ด่าง เป็นการวัดปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออน (H^+) ในน้ำ ระดับความเป็นกรด-ด่างของน้ำบอกถึงอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนเนตและไบคาร์บอเนต กล่าวคือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ยิ่งสูงปริมาณคาร์บอเนตยิ่งมาก ทำให้โอกาสการสร้างตะกรันยิ่งเพิ่มขึ้น เพราะเกลือคาร์บอเนตละลายน้ำได้น้อยมาก น้ำที่มีความเป็นกรด-ด่างในสภาพที่เป็นกรดมักกัดกร่อนโลหะ แต่ถ้าความเป็นกรด-ด่างในสภาพที่เป็นด่างมักจะสร้างตะกรันแร่บางชนิด เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต แมกนีเซียมคาร์บอเนต เมื่อละลายน้ำที่มีความเป็นกรด - ด่างต่ำจะแตกตัวให้ Ca^+ และ Mg^+ มีผลทำให้ความเป็นกรด - ด่างของน้ำสูงขึ้นได้

ความเป็นกรด - ด่างของแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วไป มีค่า 5 - 9 ซึ่งความแตกต่างนี้ ขึ้นอยู่กับลักษณะของภูมิประเทศ และสภาพแวดล้อมหลายประการ เช่น ลักษณะพื้นดิน และหิน ปริมาณฝน ตลอดจนการใช้ประโยชน์ที่ดิน โดยปกติระดับความเป็นกรด-ด่างของน้ำฝนแปรไปตามคุณสมบัติของดิน ดังนั้นในบริเวณที่ดินมีสภาพเป็นกรดก็จะทำให้น้ำมีสภาพเป็นกรดตามไปด้วย

นอกจากนี้สิ่งมีชีวิตทั้งในดินและน้ำ เช่น จุลินทรีย์และแพลงก์ตอนพืช สามารถทำให้ค่าความเป็นกรด - ด่างของน้ำมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่าง ซึ่งมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ กรมควบคุมมลพิษ (2553) ได้กำหนดค่ามาตรฐานความเป็นกรด - ด่างของน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งที่เป็นแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งเป็นแหล่งแพร่พันธุ์และอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน เป็นแหล่งอาหารและที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำ พืช หรือหญ้าทะเล ต้องมีความเป็นกรด - ด่าง อยู่ระหว่าง 7 - 8.5 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด - ด่างในน้ำ เนื่องมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ในน้ำ ซึ่งทำให้ความเป็นกรด - ด่างของน้ำเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่ลดต่ำลง

ในแหล่งน้ำจะมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างในช่วงกลางวัน และกลางคืน เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชและพืชน้ำ ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสงตอนกลางวัน ทำให้ค่าความเป็นกรด - ด่างสูงขึ้น และค่อย ๆ ลดลงตอนกลางคืน เพราะคาร์บอนไดออกไซด์ถูกปล่อยออกมาจากระบบการหายใจของสิ่งมีชีวิตในน้ำ น้ำที่มีค่าความเป็นด่างต่ำ และมีปริมาณแพลงก์ตอนพืชมากจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงถึง 9 - 10 ในตอนบ่าย แต่ถ้าน้ำมีค่าความเป็นด่างสูง การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด - ด่างจะมีไม่มากนัก อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างแม้จะอยู่ในช่วงที่ดีและสูงมาก หากเกิดขึ้นในระยะเวลาสั้น ๆ นับว่ายังไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ แหล่งน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำไม่ควรมีการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด - ด่างเกินกว่า 2 หน่วยในรอบวัน (คุณภาพน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, 2552) นอกจากมีผลต่อสัตว์น้ำโดยตรงแล้วยังมีผลทางอ้อมที่อาจทำให้สารพิษชนิดอื่น ๆ แตกตัวเพิ่มขึ้นหรือลดลง เช่น ความเป็นกรด - ด่างมีระดับสูงขึ้นทำให้ความเป็นพิษของแอมโมเนียเพิ่มมากขึ้น

2.4.4. น้ำขึ้นน้ำลง

การเกิดน้ำขึ้นน้ำลงของน้ำทะเลมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็ม ดังนั้นการเกิดน้ำขึ้นน้ำลงเช่นนี้จึงส่งผลให้สิ่งมีชีวิตต้องมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น เพรียงและหอยสองฝาจะปิดเปลือกสนิทเวลาน้ำลง เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำภายในร่างกาย ส่วนพวกหอยฝาเดียวจะขับเมือกซึ่งมีลักษณะคล้ายแผ่นฟิล์มบาง ๆ เคลือบลำตัวไว้เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำซึ่งการเกิดน้ำขึ้นน้ำลงบริเวณชายฝั่งจะเป็นปัจจัยในการควบคุมการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตและยังเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม คุณภาพน้ำ คุณภาพดิน ทั้งทางกายภาพและทางเคมี (สนิท อักษรแก้ว, 2541) ในช่วงเวลาน้ำขึ้น กระแสน้ำจะมีทิศทางอยู่ในทิศตะวันออกเฉียงเหนือและในช่วงเวลานี้ลงจะมีทิศทางเฉลี่ยอยู่ในทิศใต้ นอกจากนี้ยังพบว่าการเกิดน้ำขึ้นน้ำลงในแต่ละวันแตกต่างกัน ทำให้ช่วงเวลาที่สิ่งมีชีวิตอยู่ใต้น้ำและอยู่พ้นน้ำในแต่ละวันไม่

เท่ากัน ดังนั้นการเกิดน้ำขึ้นน้ำลงจึงมีผลต่อการแพร่กระจายของสิ่งมีชีวิตในบริเวณชายฝั่งและบริเวณป่าชายเลน (ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ และคณะ, 2549)

2.4.5. ความโปร่งแสง (Transparency)

ความโปร่งแสวของน้ำจะแสดงถึงปริมาณของแสงอาทิตย์ที่สามารถส่องผ่าน ชั้นต่าง ๆ ของน้ำเป็นระดับตามความลึกจากผิวน้ำ ถ้าแหล่งน้ำนั้นมีตะกอนแขวนลอย (particulate matter) ทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตอยู่มาก แสงจะส่องลงไปได้น้อยจึงขัดขวางหรือลดปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำและแพลงก์ตอนพืชในน้ำ ทำให้ผลผลิตขั้นปฐมภูมิของแหล่งน้ำนั้นลดลง ทำให้ปริมาณอาหารตามธรรมชาติของสัตว์น้ำลดลงตามไปด้วย (ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ, 2528) ดังนั้นความโปร่งแสงของน้ำจึงมีความสัมพันธ์กับปริมาณตะกอน และจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำ ค่าความลึกของการส่องผ่านของแสงจะผันแปรได้ขึ้นกับปริมาณแพลงก์ตอนหรืออนุภาคอินทรีย์สารในน้ำ แหล่งน้ำที่มีความโปร่งแสงอยู่ในช่วง 30 - 60 เซนติเมตร นับว่ามีความเหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ หากมีค่าต่ำกว่า 30 เซนติเมตร แสดงว่าน้ำมีความขุ่นหรือมีปริมาณแพลงก์ตอนมากเกินไป แต่ถ้าความโปร่งแสงมีค่าสูงกว่า 60 เซนติเมตรขึ้นไปแสดงว่าแหล่งน้ำนั้นไม่ค่อยมีความอุดมสมบูรณ์ (ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ, 2528)

2.4.5. ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen, DO)

ออกซิเจนเป็นปัจจัยที่นับว่ามีความสำคัญต่อการดำรงชีวิต เนื่องจากสัตว์น้ำทุกชนิดจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในขบวนการต่าง ๆ ภายในร่างกายเพื่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในรอบวัน คือปริมาณออกซิเจนที่ละลายมีแนวโน้มสูงขึ้นตั้งแต่ 8:00 นาฬิกา ไปจนถึง 15:00 นาฬิกา ซึ่งเป็นค่าสูงสุด และมีแนวโน้มลดลงตั้งแต่เวลา 18:00 นาฬิกา ไปเรื่อย ๆ จนถึง 6:00 นาฬิกา ซึ่งจะเป็นค่าต่ำสุด ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิของน้ำ 25 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณออกซิเจนอิ่มตัวประมาณ 8.24 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร แต่เมื่ออุณหภูมิน้ำเพิ่มขึ้นเป็น 30 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณออกซิเจนอิ่มตัวในน้ำ 7.54 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร ส่วนในน้ำทะเลที่ความเค็ม 30 psu และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณออกซิเจนละลายอิ่มตัวในน้ำประมาณ 6.39 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ ได้แก่ แสงแดด การไหลเวียนของน้ำ แพลงก์ตอนพืชและสัตว์ พืชน้ำ ความโปร่งแสง ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำจะเปลี่ยนไปตามฤดูกาล ถ้าอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นหรือค่าความเค็มเพิ่มขึ้น ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำจะมีค่าลดลง แต่เมื่อมีความกดอากาศเพิ่มขึ้นจะทำให้ความสามารถในการละลายของออกซิเจนในน้ำมากขึ้น (จันทิมา ไตรบัญญัติกุล, 2545)

โดยทั่วไปค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำคือ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และถ้าออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำมีค่าต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ (วีระศักดิ์ ซั่วต่อ, 2543) โดยค่ามาตราฐานปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำของน้ำทะเลบริเวณชายฝั่ง เพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติมีค่าไม่น้อยกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำได้มาจากอากาศเป็นส่วนใหญ่ และอาจมาจากการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชและคลื่นน้ำ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำขึ้นน้ำลงบริเวณปากแม่น้ำพัดพาของเสียบริเวณปากแม่น้ำเข้ามาและการฟุ้งกระจายของตะกอนบริเวณพื้นท้องน้ำ ทำให้ค่าออกซิเจนละลายน้ำมีค่าต่ำ (วีรานุช หลาง, 2554)

2.4.6. ปริมาณบีโอดี (Biological oxygen demand; BOD)

ปริมาณของออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ เมื่อมีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำหรือในน้ำเสีย แบคทีเรียจะทำการย่อยสารอินทรีย์เหล่านั้นโดยใช้ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำผ่านปฏิกิริยาชีวเคมี ถ้าการปนเปื้อนมีความเข้มข้นสูงก็ต้องใช้ออกซิเจนจำนวนมาก ดังนั้นค่าบีโอดีจึงสามารถบ่อบอกถึงความสกปรกได้ ข้อมูลยีโอดีเป็นของมูลที่สำคัญมากทั้งในคุณภาพน้ำของแหล่งน้ำผิวดินและในการบำบัดของน้ำเสีย ข้อมูลยีโอดีเป็นข้อมูลที่สำคัญในการออกแบบระบบบำบัด การบำรุงรักษา และการตรวจสอบคุณภาพการบำบัดมาตรฐานน้ำทิ้งทั้งในอาคารและบ้านเรือน สถานประกอบการต่างๆ รวมทั้งมาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม มีการควบคุมค่าบีโอดีในน้ำที่จะปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ดังนั้นค่าบีโอดีจึงจัดเป็นข้อมูลที่สำคัญมากในเรื่องคุณภาพน้ำ โดยทั่วไปจะใช้เป็นตัววัดความสกปรกของแหล่งน้ำจากการทดลองหาปริมาณออกซิเจนที่น้ำเสียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน (วีรนุช หลาง, 2554)

2.4.7. ปริมาณธาตุอาหารในแหล่งน้ำ

ธาตุอาหารในแหล่งน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่กำหนดความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำ ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แอมโมเนีย ซิลิเกต ตลอดจนอินทรีย์วัตถุ ต่าง ๆ ได้มาจากกระบวนการย่อยสลายอินทรีย์สาร นอกจากนี้ยังไม่การพัดพาตะกอนจากบนบกลงสู่แม่น้ำ ออกสู่บริเวณชายฝั่ง ซึ่งธาตุอาหารต่าง ๆ นี้ยังเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของแพลงก์ตอนพืชและสัตว์ที่เป็นอาหารของสัตว์ทะเล และยังเป็นตัวเร่งให้แพลงก์ตอนต่าง ๆ ขยายพันธุ์ได้รวดเร็วอีกด้วย แต่หากธาตุอาหารมีมากเกินไปก็อาจทำให้แพลงก์ตอนขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วมากทำให้น้ำเน่าเสียได้เช่นกัน (สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2546) ธาตุอาหารต่าง ๆ ในแหล่งน้ำได้แก่

2.4.7.1 ไนโตรเจน (Nitrogen)

ไนโตรเจนเป็นสารประกอบหลักของโปรตีน ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต แบคทีเรีย และพืชบางชนิด สามารถตรึงแก๊สไนโตรเจนจากอากาศได้โดยตรง พืชสีเขียวอาจใช้ไนโตรเจนที่อยู่ในสารประกอบ เช่น แอมโมเนีย หรือไนเตรท สำหรับการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างโปรตีน สารประกอบไนโตรเจนของแหล่งน้ำมีอยู่หลายรูปแบบ ซึ่งมีความสำคัญแตกต่างกัน คือ แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท ซึ่งปริมาณสารประกอบไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ นี้ยังสามารถใช้เป็นดัชนีชี้ให้เห็นถึงภาวะการเน่าเสียที่เกิดขึ้น (กฤษณ์ มงคลปัญญา และอมรา ทองปาน, 2546)

2.4.7.1.1 แอมโมเนีย (Ammonia)

ส่วนใหญ่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตในน้ำ และกระบวนการย่อยสลาย (Decomposition) สารอินทรีย์ของจุลทรีย์ในน้ำโดยกระบวนการแอมโมนิฟิเคชั่น แอมโมเนียที่ได้จากกระบวนการนี้อาจถูกดูดซึมไปเป็นธาตุอาหารให้แก่แพลงก์ตอนพืชบางชนิด หรือถูกย่อยสลายให้เป็นไนไตรท์และไนเตรทต่อไปโดยแบคทีเรีย แอมโมเนียที่พบในน้ำมี 2 รูป คือ แอมโมเนียไม่แตกตัว (Un-ionized ammonia, NH_3) และแอมโมเนียอิออน (Ammonia ion, NH_4^+) ซึ่งแตกตัวได้ง่าย แอมโมเนียทั้งสองรูปรวมกันเรียกว่า ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดในน้ำ (โชคชัย เหลืองธุวปราณีต, 2548)

ความเป็นพิษของแอมโมเนียที่มีต่อสัตว์น้ำส่วนใหญ่เกิดจากสัตว์น้ำไม่สามารถขับแอมโมเนียที่สะสมภายในร่างกายออกสู่ภายนอกได้ นอกจากนี้แอมโมเนียยังสามารถทำลายเหงือกสัตว์น้ำได้อีกด้วย ส่งผลให้ประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยนออกซิเจนเข้าสู่ภายในร่างกายลดลง โดยปกติแล้วเมื่อน้ำมีความเป็นกรด - ด่างและอุณหภูมิที่สูงขึ้น แอมโมเนียจะอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ แต่ถ้าความเป็นกรด - ด่างและอุณหภูมิของน้ำต่ำลง แอมโมเนียจะแตกตัวให้แอมโมเนียอิออน ซึ่งไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ซึ่งในธรรมชาติแหล่งน้ำทั่วไปจะมีแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียทั้งหมดในน้ำอยู่ประมาณ 0.001 - 0.009 มิลลิกรัมต่อลิตร ระดับความปลอดภัยของแอมโมเนียที่ยอมรับได้และไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ ไม่ควรมีค่าแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียไม่แตกตัวเกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร (โชคชัย เหลืองธุวปราณีต, 2548)

2.4.7.1.1 ไนไตรท์ (Nitrite)

ไนไตรท์เกิดจากการเปลี่ยนรูปทางเคมีของสารประกอบไนโตรเจน โดยจะเป็นสารที่อยู่กึ่งกลางของวัฏจักรไนโตรเจน ในขั้นตอนการออกซิเดชั่นของแอมโมเนียเป็นไนเตรทและในขั้นตอนการรีดักชั่นของไนเตรท ซึ่งในแหล่งน้ำธรรมชาติมักจะมีไนไตรท์ปริมาณที่ต่ำอยู่แล้ว เนื่องจากสารละลายจะถูกออกซิไดซ์ให้เป็นไนเตรทได้ง่าย สารประกอบไนโตรเจน เช่น โปรตีน เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของสัตว์น้ำ หากมีมากเกินไปจะทำให้เกิดการสะสมของของเสีย ซึ่งของ

เสียที่สะสมอยู่บริเวณพื้นจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ ในสภาวะไม่มีออกซิเจนหรือขาดออกซิเจน การย่อยสลายนั้นจะทำให้เกิดการสะสมของไนไตร์ท (ธรรมรักษ์ ละอองนวล, 2541) การสะสมของไนไตรท์ในปริมาณมากจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อมในแหล่งน้ำ โดยไนไตรท์มีคุณสมบัติในการจับกับเม็ดเลือดได้เร็วกว่าออกซิเจนจึงทำให้สัตว์น้ำใช้ออกซิเจนที่ละลายน้ำได้น้อยลง ทำให้น้ำบริเวณนั้นไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ อาจทำให้สัตว์อ่อนแอและตายในที่สุด (โชคชัย เหลืองธุวปราณีต, 2548)

2.4.7.1.2 ไนเตรท (Nitrate)

ไนเตรท - ไนโตรเจน เป็นอนินทรีย์ไนโตรเจนที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งส่วนใหญ่ได้จากผลผลิตขั้นสุดท้ายของกระบวนการไนตรีฟิเคชั่น (Nitrification) นอกจากนี้ไนเตรทยังสามารถเข้าสู่แหล่งน้ำธรรมชาติจากการเน่าเปื่อยของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ยังมาจากปุ๋ยที่ใช้เพื่อการเกษตรกรรมและน้ำเสียอีกด้วย โดยทั่วไปพบว่าแหล่งน้ำทิ้งจากชุมชนหรือการเพาะเลี้ยงแบบหนาแน่นมักมีความเข้มข้นของไนเตรทเฉลี่ย 0.3 มก. - ไนโตรเจนต่อลิตร อย่างไรก็ตามไนเตรทในแหล่งน้ำจะถูกนำไปใช้โดยแพลงก์ตอนพืชและบางส่วนถูกนำออกไปผ่านกระบวนการดีไนตริฟริเคชั่น (Denitrification) (ไมตรี สุทธิจิตต์, 2551) ในแหล่งน้ำจะมีของเสียจากสิ่งมีชีวิต (ขับถ่ายของเสีย) ซึ่งอยู่ในรูปแอมโมเนียจากนั้นแบคทีเรียก็จะเปลี่ยนแอมโมเนียให้อยู่ในรูปของไนเตรทและไนไตรท์ในที่สุด ซึ่งพืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้ สารพวกนี้ทำให้ปลาไม่แข็งแรงและป่วยในที่สุด มีผลต่อระบบภายในตัวปลา ในธรรมชาตินำ้ตามแม่น้ำหรือคลองจะไหลไปเรื่อย ๆ การสะสมจึงค่อนข้างน้อย (กรมประมง, 2546)

2.4.7.2 ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหนึ่งที่พบในแหล่งน้ำ ระบบนิเวศการหมุนเวียนฟอสฟอรัสนั้น พืชจะนำฟอสฟอรัสจากธรรมชาติเข้ามาในลักษณะของสารประกอบฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้ แล้วนำไปสะสมไว้ในเซลล์ต่าง ๆ เมื่อสัตว์กินพืชก็จะได้รับฟอสฟอรัสโดยผ่านกระบวนการกินเข้าสู่ร่างกาย สัตว์นำฟอสฟอรัสที่ได้ไปสร้างกระดูก และฟัน และอื่น ๆ เมื่อสัตว์และพืชตายลง ซากพืชซากสัตว์จะทับถมลงสู่ดินฟอสฟอรัสบางส่วนพืชจะดูดซึมไปใช้ใหม่ บางส่วนจะถูกแบคทีเรียบางกลุ่มที่อยู่ในดินย่อยสลายเป็นกรดฟอสฟอริก ทำปฏิกิริยากับสารในดินเกิดเป็นสารประกอบฟอสฟอรัส กลับคืนไปทับถมเป็นหินฟอสเฟต ในดิน ในน้ำ ในทะเล และมหาสมุทร โดยเฉพาะในทะเลสารประกอบฟอสฟอรัสจะรวมกับซากของหินปะการัง เปลือกหอย และโครงกระดูกสัตว์ต่าง ๆ เมื่อผ่านกระบวนการสึกกร่อนตามธรรมชาติ แพลงตอนพืชและสัตว์ในทะเลนำเอาสารประกอบของฟอสฟอรัสดังกล่าวไปใช้เป็นห่วงโซ่อาหารในทะเลและมหาสมุทรต่อไป หมุนเวียนแบบนี้ไปเรื่อย ๆ (วิรัช จิ๋วแหยม, 2544) ฟอสฟอรัสที่พบในธรรมชาติมี

แหล่งกำเนิดได้หลายทาง โดยเฉพาะบริเวณที่มีการระบายน้ำจากอาคารบ้านเรือน และพื้นที่ปลูกพืช เลี้ยงสัตว์ ฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำธรรมชาติมีอยู่เป็นจำนวนน้อย และส่วนใหญ่อยู่ในรูปฟอสเฟต (PO_4^{3-}) สาเหตุที่ปริมาณฟอสเฟตในแหล่งน้ำสูงขึ้นอาจเนื่องมาจากการใช้ผงซักฟอกที่มาจากน้ำทิ้งของอาคารบ้านเรือน และบางส่วนมาจากปุ๋ยที่ถูกชะล้างลงสู่แม่น้ำลำคลอง โดยทั่วไปแพลงก์ตอนพืชนำฟอสฟอรัสไปใช้ด้วยการดึงฟอสเฟตที่ละลายน้ำไปใช้ได้โดยตรง ดังนั้นอาจใช้ค่าฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำแทนค่าผลรวมของฟอสฟอรัสที่ละลายอยู่ในน้ำ (total soluble phosphorus) ทั้งหมด ซึ่งค่าเฉลี่ยของฟอสฟอรัสในน้ำทะเลอยู่ระหว่าง 70 - 75 ไมโครกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร (วุฒิชัย ชุคินันทกุล, 2543)

2.4.7.2 ซิลิเกต (Silicates)

ซิลิเกตเป็นแร่ที่เกิดจากการรวมตัวกันของซิลิคอนและออกซิเจน และยังมีสารอื่นประกอบ ทำให้เกิดลักษณะต่าง ๆ กันหลายชนิด โดยทั่วไปซิลิเกตไม่เป็นปัญหาสำหรับการบริโภคหรือใช้สอยในชีวิตประจำวันเท่าไหร่จึงไม่ได้ถูกกำจัดไปในกระบวนการผลิตน้ำประปา ความสำคัญของซิลิเกตต่อสิ่งแวดล้อมทางน้ำคือ เนื่องจากซิลิคอนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิตในทะเลบางชนิด เช่น ไดอะตอม (diatom), เรดีโอแลเรีย (radiolaria), และฟองน้ำ (sponge) เพราะถูกนำไปใช้ในการสร้างโครงสร้างส่วนแข็งของมัน ปริมาณซิลิคอนในน้ำจึงถูกควบคุมด้วยสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ ในน้ำทะเลพบได้ทั้งในรูปแบบที่ละลายน้ำและแขวนลอยในน้ำ แหล่งน้ำชายฝั่งที่มีความเค็มต่ำมาก พบว่ามีซิลิคอนมากจึงมักพบซิลิคอนที่ละลายในปริมาณสูงบริเวณใกล้ฝั่ง และไม่ค่อยพบการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลมากนัก การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นนี้ขึ้นอยู่กับการนำพาโดยน้ำในแม่น้ำ (มนุวดี หังสพฤกษ์, 2532)

2.5 รายละเอียดเกี่ยวกับการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม

ในน้ำทะเลตามธรรมชาติโดยทั่วไปสามารถตรวจพบจุลินทรีย์กลุ่มผู้ย่อยสลาย หรือพวกเฮเทอโรโทรป (heterotroph) แม้บริเวณใจกลางมหาสมุทรซึ่งมีสารอาหารอยู่ในปริมาณน้อยมากก็สามารถพบจุลินทรีย์กลุ่มนี้อาศัยอยู่ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์สารเป็นอย่างมาก ทั้งยังทำให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุกลับมาใช้ได้ใหม่ (Akagi, Taga, & Simidu, 1977) ปริมาณของจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับปริมาณแร่ธาตุในแหล่งน้ำ ถ้าในแหล่งน้ำนั้นมีแร่ธาตุสูง ปริมาณของจุลินทรีย์ก็จะสูงตามไปด้วย การปนเปื้อนของแหล่งน้ำเนื่องจากการไหลเข้ามาของน้ำจากระบบบำบัดน้ำเสีย ท่อน้ำทิ้ง หรือของเสียที่เป็นสารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายได้จากโรงงานอุตสาหกรรม มักสามารถตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำนั้นได้จำนวนมาก ในทำนองเดียวกันบริเวณปากแม่น้ำซึ่งมีปริมาณแร่ธาตุสูงมาก เนื่องจากเป็นที่รวมของสิ่งต่าง ๆ ดิน

ตะกอน สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ ที่ถูกกระแสน้ำพัดพามาตามลำแม่น้ำสายต่าง ๆ ลงสู่ทะเลบริเวณปากแม่น้ำ ดังนั้นจะพบว่าบริเวณปากแม่น้ำมักจะมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจพบสูงกว่าน้ำชายฝั่งบริเวณอื่น ๆ ส่วนในน้ำที่มีปริมาณแร่ธาตุอยู่น้อย จุลินทรีย์จะอาศัยอยู่บริเวณผิวหน้าของผิวน้ำ และอาศัยเกาะอยู่ตามวัตถุเล็ก ๆ ในน้ำเพื่อเพิ่มการสัมผัสกับสารอาหาร และแร่ธาตุต่าง ๆ ในกระแสน้ำ ทะเลเป็นแหล่งสุดท้ายที่รองรับมลสารจากแหล่งต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นทั้งโดยตรงและโดยอ้อมจากกิจกรรมบนบก ทะเล และอากาศ ไม่ว่าจะเป็นน้ำทิ้งหรือของเสียจากการเกษตรกรรม ปศุสัตว์ อุตสาหกรรมและชุมชน ซึ่งน้ำเสียที่ปล่อยออกมามักมีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบอยู่จำนวนมาก ดังนั้นจึงมีส่วนในการเพิ่มสารอาหาร โดยเฉพาะไนโตรเจน และฟอสฟอรัสให้กับแหล่งน้ำ (กรมควบคุมมลพิษ, มปป.) เพราะว่ากระบวนการทางกายภาพ เคมี และชีวภาพในแหล่งน้ำ สามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้เป็นสารอนินทรีย์ที่ละลายน้ำ ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต (ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์, 2522; Dyrssen & Wedborg, 1980) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิน้ำจากปกติ 2 - 3 องศาเซลเซียส สามารถเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต และเกิดผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหารในระดับสูงขึ้นไป ความขุ่น ทำให้กำลังผลิตในแหล่งน้ำลดลง เนื่องจากเป็นตัวขัดขวางการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืช ความเป็นกรด - ด่าง เป็นตัวจำกัดปริมาณสารอาหารที่พืชจะนำไปใช้ประโยชน์ (ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ, 2528) แหล่งน้ำใดมีสารอาหารอุดมสมบูรณ์ก็มักจะพบแพลงก์ตอนพืชอยู่หนาแน่น และบางครั้งปริมาณสารอาหารก็เป็นปัจจัยกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนแพลงก์ตอนพืชอยู่หนาแน่น และบางครั้งปริมาณสารอาหารก็เป็นปัจจัยกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนแพลงก์ตอนพืชอย่างรวดเร็ว (phytoplankton bloom) จนบางครั้งเกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสี (red tide) (สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ, 2546) ส่งผลให้ออกซิเจนในน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว สร้างความเสียหายให้กับทรัพยากรทางการประมงเป็นอย่างมาก และในช่วงหลายปีที่ผ่านมาพื้นที่บริเวณอ่าวไทยตอนบน มักพบปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีได้บ่อยครั้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูฝน (อเนก จูศิริพงษ์กุล, 2539; Thongra-ar et al, 1995) นอกจากปัจจัยด้านกายภาพเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ในน้ำทะเล โดยลักษณะของกระแสน้ำบริเวณอ่าวไทยตอนบน หรือบริเวณชายหาดบางแสนเกิดจากอิทธิพลน้ำขึ้น-น้ำลง (Tidal current) เป็นสำคัญ โดยในช่วงน้ำขึ้นกระแสน้ำหน้าชายหาดจะไหลขึ้นไปทางทิศเหนือ ขนานไปกับชายฝั่งในอัตราเร็ว 1.0 - 1.5 น็อต ส่วนในช่วงน้ำลงกระแสน้ำจะไหลในทิศทางตรงกันข้าม ด้วยความเร็วที่ใกล้เคียงหรือเท่ากัน (สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, 2545)

การตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียในน้ำสามารถทำได้ทั้งทางตรง และทางอ้อม ทางตรงคือการตรวจหาแบคทีเรียชนิดนั้น ๆ ซึ่งอาจใช้เวลาในการตรวจวัดนานและมีวิธีการที่ยุ่งยากซับซ้อน ส่วนทางอ้อมคือการตรวจวิเคราะห์หาแบคทีเรียบงชี้ (Bacteriological indicator) ซึ่งรวดเร็วกว่า เช่น

พวกโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform bacteria) โดยถ้าตรวจพบก็แสดงว่าน้ำนั้นไม่น่าจะปลอดภัย โดยทั่วไปแบคทีเรียบ่งชี้จะต้องมีคุณสมบัติคือ เมื่อพบแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในตัวอย่างน้ำ จะต้องพบแบคทีเรียบ่งชี้ในน้ำนั้นด้วย ซึ่งจะมีจำนวนแปรผันตามจำนวนของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค โดยแบคทีเรียบ่งชี้เหล่านี้จะสามารถอยู่ในน้ำได้นานกว่าแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค และเป็นแบคทีเรียที่ไม่ควรพบในน้ำบริสุทธิ์ (กรมควบคุมมลพิษ, 2545) แบคทีเรียที่ตรวจพบได้ในน้ำทะเลทั่วไปและเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ เช่น แบคทีเรียสายพันธุ์ Vibrio ที่ปนเปื้อนมาจากบริเวณชายฝั่งทะเล จากแหล่งน้ำเสียต่าง ๆ และสามารถปรับตัวจนสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในทะเล และนอกจากแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวที่อาจก่อให้เกิดโรคหรือให้โทษต่อคนแล้ว ยังสามารถก่อโรคในสัตว์น้ำได้หากอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของแบคทีเรียก่อโรคที่จะมีการแปรผันตามจำนวนแบคทีเรียบ่งชี้นั้นในบางสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญก็อาจส่งผลทำให้การเจริญของแบคทีเรียก่อโรคไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับแบคทีเรียบ่งชี้ได้ เนื่องจากแบคทีเรียอาจอยู่สภาวะแข่งขันกัน จากรายงานของ Soto, Gutierrez, Remmenga, and Nishiguchi (2009) พบว่า Vibrio สายพันธุ์เดียวกัน แต่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทำให้มีความสามารถในการปรับตัวแตกต่างกัน โดยในสภาวะแวดล้อมที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของ Vibrio อยู่แล้ว และมีการเจริญร่วมกันกับแบคทีเรียอื่น ก็ยังไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของ Vibrio มากนัก แต่เมื่ออยู่สภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยปกติทั่วไปก็จะส่งผลต่อการเจริญของแบคทีเรียอยู่แล้ว และเมื่อมีการเจริญร่วมกันกับแบคทีเรียอื่นร่วมด้วย ยิ่งส่งผลทำให้อัตราการเจริญของ Vibrio ลดลงมากยิ่งขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียอยู่ในสภาวะที่เกิดการเจริญแบบแข่งขันกัน

นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์ทั่วไปที่ตรวจพบในสิ่งแวดล้อมยังสามารถตรวจพบได้ในสัตว์ทะเลที่อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกันได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ สามารถแพร่กระจายไปกับแหล่งน้ำ อาศัยอยู่ในดินตะกอนหรือแพลงก์ตอนที่เป็นอาหารของสัตว์น้ำ อาหารทะเลจึงเป็นพาหะสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อไปสู่มนุษย์ เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับอาหารทะเลมีหลายชนิด ได้แก่ *Shigella* spp., *Salmonella* spp. และ *Vibrio* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ในประเทศไทยพบว่าประมาณ 25 % ของโรคท้องร่วงจากอาหารเป็นพิษมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียกลุ่ม Vibrio ซึ่งมักตรวจพบได้บ่อยในอาหารทะเลที่คนนิยมบริโภคดิบ เช่น ปลาดิบ และหอยนางรมดิบ (Cavallo & Stabilli, 2002) และยังมีรายงานว่าพบแบคทีเรียก่อโรคกลุ่ม Vibrio ปนเปื้อนอยู่ตลอดปี ในหอยนางรมจากแหล่งเพาะเลี้ยงหอยนางรมบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี (สุวรรณา ภาณุตระกูล และคณะ, 2549)

2.6 รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียในสกุล Vibrio

แบคทีเรียสกุล Vibrio เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนหรือท่อนโค้ง เซลล์มีขนาดความกว้าง 0.5 - 0.8 ไมโครเมตร และยาว 1.4 - 2.6 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแฟลกเจลลาชนิด polar flagella เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) บางสปีชีส์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 20 - 25 องศาเซลเซียส และบางสปีชีส์เจริญที่อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ (halophilic) สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแต่ไม่ให้แก๊ส โดยทั่วไปจะสร้าง Indole catalase และ oxidase สามารถย่อยไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ (Holt et al., 1994) สามารถเจริญได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่างเป็นกลางและความเป็นกรด-ด่างเป็นด่างได้ถึงความเป็นกรด - ด่าง 9.0 ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้คัดเลือกเชื้อ (selective) และเพิ่มจำนวนเชื้อ (enrichment media) Vibrio จึงมีความเป็นกรด - ด่างอยู่ระหว่าง 7.6 - 8.6 (Colwell *et al*., 1974) *Vibrio* spp. สามารถเจริญได้บน nutrient agar ที่มีเกลือ 0.5 % โดยทั่วไปโคโลนีมีลักษณะ กลมนูน ขอบเรียบ สีครีม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 - 5 มิลลิเมตร แต่บางสปีชีส์ เช่น *V. alginolyticus* และ *V. parahaemolyticus* โคโลนีมีลักษณะแผ่ (Swarm) อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจีนัส Vibrio ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ Thiosulfate citrate bile salt sucrose (TCBS) agar ซึ่งสามารถแยกเชื้อตามคุณสมบัติการหมักน้ำตาลซูโครสได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่สามารถหมักน้ำตาลซูโครสโคโลนีจะมีสีเหลือง ได้แก่ *V. cincinnatiensis V. cholerae V. alginolyticus V. fluvialis V. furnissii V. metschnikovii* และ *V. carchariae* ส่วนกลุ่มที่ไม่สามารถหมักน้ำตาลซูโครส โคโลนีจะมีสีเขียว ได้แก่ *V. parahaemolyticus V. mimicus V. damsel* และ *V. vulnificus* (Joseph et al., 1984) สำหรับสมบัติทางชีวเคมีของ *Vibrio* spp. แสดงในตารางที่ 2 - 1

แบคทีเรียกลุ่ม Vibrio มีแหล่งอาศัยอยู่ในน้ำที่ความเค็มในช่วงกว้าง พบได้ทั่วไปในน้ำทะเล น้ำกร่อย (Gugliandolo et al., 2005) เชื้อในกลุ่ม Vibrio สามารถที่จะอยู่ในแหล่งน้ำดังกล่าวได้ทั้งในรูปของ เซลล์อิสระ (free living form) รวมทั้งบริเวณพื้นผิวและระบบทางเดินอาหารของสัตว์ทะเล แต่บางชนิดพบได้ในน้ำจืด หลายชนิดเป็นแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ และสัตว์ทะเลทั้งชนิดที่มีกระดูกสันหลังและไม่มีกระดูกสันหลัง (Holt et al., 1994) ในธรรมชาติพบว่าอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส เชื้อไม่สามารถเจริญได้ มีการศึกษาเลี้ยงเชื้อในน้ำทะเลที่อุณภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อไม่สามรถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ heart infusion agar และ TCBS แต่เชื้อยังมีขบวนการ metabolism และเซลล์เมมเบรนยังมีสภาพสมบูรณ์ แต่มีการเปลี่ยนลักษณะรูปร่างของเซลล์จากรูปแท่งเป็นรูปกลม แต่เชื้อบางสายพันธุ์สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวได้หากมีการเพิ่มอุณหภูมิของน้ำทะเลก่อนการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Johnston & Brown, 2002) สำหรับผลของความร้อนต่อการอยู่รอดของ *V. parahaemolyticus* พบว่าที่อุณหภูมิ 60, 80 และ 100 องศา

เซลเซียส เวลา 1 นาที สามารถทำลายเชื้อจำนวน 5×10^2 เซลล์ได้ แต่หากเชื้อมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น จำเป็นต้องใช้เวลาในการทำลายเชื้อเพิ่มมากขึ้น เช่น ปริมาณ 2×10^5 เซลล์ ถูกทำลายด้วยอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หรือ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และเชื้อสามารถถูกทำลายได้ในน้ำเดือดที่เวลา 1 นาที (Vanderzant & Nickelson, 1972) จากรายงานของ Huq et al. (1983) พบว่า *V. cholera*e จำนวนมากอาศัยอยู่กับ แพลงก์ตอนสัตว์ เมื่อเปรียบเทียบกับที่พบในมวลน้ำ ปัจจัยที่ก่อให้เกิดการแพร่กระจายของแบคทีเรียในกลุ่มนี้ คือ อุณหภูมิ ความเค็ม ความลึกจากผิวทะเล และสิ่งมีชีวิตที่เป็นแหล่งสะสมของแบคทีเรีย

การก่อโรคในสัตว์

แบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. เป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญของการเกิดโรคในสัตว์ทะเลหลายชนิด ทั้งสัตว์ที่เจริญเติบโตอยู่ตามธรรมชาติ และตามแหล่งเพาะเลี้ยงต่าง ๆ โรคที่พบบ่อย จากการติดเชื้อ Vibrio คือ โรควิบริโอซิส (Vibriosis) จากการติดเชื้อ *V. anguillarum* ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในปลาทะเล (Colwell & Grimes, 1983) และอาจจะพบการติดเชื้อจาก Vibrio อื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. tubiashii* เป็นต้น (Sindermann, 1988) สัตว์ทะเลที่ติดเชื้อ Vibrio มักพบอาการจุดสีแดง ๆ (hemorrhage) เนื่องจากมีการคลั่งของเลือดบริเวณผิว โคนคีบ และรอบ ๆ รูเปิดต่าง ๆ ของลำตัว อวัยวะภายในก็จะมีอาการตกเลือดในส่วนของช่องว่างภายในลำตัว ทำให้ปลาเคลื่อนไหวช้า หยุดกินอาหาร และมักจะมีการตายเกิดขึ้นอย่างรุนแรง โดยพบโรควิบริโอซิสในกลุ่มปลาแซลมอนหลายชนิด เช่น ปลาแซลมอนชินุค (*Oncorhynchus tshawytscha*) ปลาแซลมอนชุม (*O. keta*) ปลาแซลมอนซอคเคจ (*O. gorbuscha*) ปลาแซลมอนโคโอ (*O. kisutch*) และปลาแซลมอนเชอร์รี่ (*O. masu*) เป็นต้น โดยพบว่าส่วนใหญ่มีสาเหตุจาก *V. anguillarum* โดยมีปริมาณแบคทีเรียในกระแสเลือดสูงมาก และนอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจะกระจายสู่อวัยวะภายในต่าง ๆ เช่น ม้าม ไต เหงือก เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และทางเดินอาหารตอนปลายด้วย ตรงข้ามกับ *V. ordalii* ซึ่งมักมีการสร้างโคโลนีเล็ก ๆ ในหัวใจ เหงือก ทางเดินอาหาร (ทั้งส่วนต้น และส่วนปลาย) และในกล้ามเนื้อลาย ปลาที่ใกล้ตายมักจะมีเลือดจาง และจำนวนเม็ดเลือดขาวลดลง (leukopenia) รวมทั้งการสูญเสียหน้าที่ของอิเลคโตรไลท์ (electrolytes) ในระบบไหลเวียนด้วย (Schiewe, Novotny, & Harrell, 1988)

ตารางที่ 2-1 คุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Vibrio* spp.

	V. alginolyticus	***V. cholerae***	***V. fluvialis***	***V. furnissii***	***V. hollisae***	***V. metschnikovii***	***V. mimicus***	***V. parahaemolyticus***	***V. vulnificus***
TCBS agar	Y	Y	Y	Y	NG	Y	G	G	G
Oxidase	+	+	+	+	+	−	+	+	+
Arginine dihydrolase	−	−	+	+	−	+	−	−	−
Ornithine decarboxylase	+	+	−	−	−	−	+	+	+
Lysine decarboxylase	+	+	−	−	−	+	+	+	+
Growth in :									
0% NaCl	−	+	−	−	−	−	+	−	−
3% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6% NaCl	+	−	+	+	+	+	−	+	+
8% NaCl	+	−	V	+	−	V	-	+	-
10% NaCl	+	−	−	−	−	−	−	−	−
Growth at 42°C	+	+	V	−	nd	V	+	+	+
Acid production from :									
Sucrose	+	+	+	+	−	+	−	−	−
D-Cellobiose	−	−	+	−	−	−	−	V	+
Lactose	−	−	−	−	−	−	−	−	+

Abbreviations: TCBS, thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose; Y = yellow G = green NG = no or poor growth V = variable among strains nd = not done

(ที่มา: http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070830.htm)

นอกจากปลาทะเลแล้ว แบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. ยังสามารถทำให้เกิดโรคในหอย กุ้ง ปู หรือในสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ตัวอ่อนของหอยนางรม หอยเป๋าฮื้อ และตัวอ่อนของหอยกาบคู่ต่าง ๆ โดยพบว่าโรควิบริโอซิสในหอยนางรม (*Crassostrea virginica*) เป็นโรคที่ค่อนข้างรุนแรงมาก โดยเฉพาะเมื่อเกิดขึ้นกับตัวอ่อนที่เพาะจากไข่ เนื่องจากมีการทำลายเนื้อเยื่อหอยโดยตรง โดยที่ Vibrio บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษที่สามารถทำลายเนื้อเยื่อตัวอ่อนหอยได้ทำให้เกิดการตายในที่สุด (Sindermann, 1988) แบคทีเรียในกลุ่ม Vibrio ที่ทำให้เกิดโรคในกุ้ง เช่น *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum* และ *Vibrio* spp. อื่น ๆ อีกบางชนิด โดยเชื้อจะเข้าทำลายที่ผิว ขา หรือเหงือก ปรากฏให้เห็นเป็นสีดำ หรือสีน้ำตาลขึ้นกับเมลานินที่สร้างขึ้นจากเซลฮีโมไซท์ (hemocytes) ของกุ้ง รวมทั้งมีการอักเสบเฉพาะที่ เรียกว่าโรคจุดสีน้ำตาล (brown spot)

การก่อโรคในคน

การก่อโรคในคนแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือกลุ่ม *V. cholerae* และกลุ่ม non - *V. cholerae* สำหรับกลุ่ม non-*V. cholera*e นั้นจำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่มย่อย ตามความต้องการเกลือในการเจริญเติบโต คือ กลุ่มทนเค็ม ได้แก่ *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus*, *V. vulnificus, V. fluvialis, V. hollisae*, *V. furnissii, V. cincinnatiensis* และ *V. carchariae* และกลุ่มไม่ทนเค็ม ได้แก่ *V. cholerae* และ *V. mimicus* การติดเชื้อส่วนใหญ่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อ นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิและความเค็มของน้ำล้วนมีผลต่อการระบาดของเชื้อ Vibrio ส่วนใหญ่จะก่อให้เกิดโรค gastroenteritis ทำให้ผู้ติดเชื้อมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง ถ่ายอุจจาระเป็นเลือด มีไข้ นอกจากนี้ Vibrio ยังก่อให้เกิดการติดเชื้อทางบาดแผล และติดเชื้อในกระแสเลือด กลไกการก่อโรคเกิดจาก เชื้อสามารถสร้าง toxin ได้หลายชนิด เช่น cytotoxin hemolysin และเอนไซม์ที่มีบทบาทในการทำลายเนื้อเยื่อ (ดังตารางที่ 2-2)

การติดเชื้อ Vibrio ส่วนใหญ่เกิดจากการรับประทานอาหารทะเลดิบ โดยปี ค.ศ. 1988 - 1997 ในรัฐแถบชายฝั่งทะเลจำนวน 4 รัฐคือ Alabama, Florida, Louisiana และ Texas มีผู้ป่วยทั้งหมด 445 คน โดยมีสาเหตุมาจากการรับประทานหอยนางรมดิบ (Altekruse et al., 2000) ในปี ค.ศ. 1999 มีรายงานการตรวจแยกเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลส่งออกจำนวน 686 ตัวอย่าง ซึ่งมากจากฮ่องกง อินโดนีเซีย ไทย และเวียดนาม พบ *V. parahaemolyticus* สูงถึง 45.9 % โดยส่วนใหญ่พบเชื้อในตัวอย่างที่มาจากฮ่องกงและประเทศไทยสูงกว่าตัวอย่างที่มาจากอินโดนีเซียและเวียดนามมาก ซึ่งตัวอย่างที่พบส่วนใหญ่เป็น กุ้ง ปู ปลา และหอย (Wong et al., 1999)

V. parahaemolyticus

พบการก่อโรคในมนุษย์ เมื่อ ค.ศ. 1951 ในประเทศญี่ปุ่น โดยก่อให้เกิดโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบมากถึง 50 % (Fuerst, 1983) สายพันธุ์ที่แยกได้จากโรคเหล่านี้มากกว่า 95 % ให้ผลบวกต่อการทดสอบ Kanagawa hemolysis ส่วนสายพันธุ์ที่แยกได้จากโรคติดเชื้ออื่น ๆ หรือในสภาพแวดล้อมจากทะเลจะให้ผลลบต่อการทดสอบนี้ การเกิด hemolysis ของเชื้อขึ้นอยู่กับ 4 ประการ คือ heat - stable hemolysin, heat - labile hemolysin, phospholipase และ lysophospholipase (Joklik et al., 1988) อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อนี้รุนแรงกว่าอุจจาระร่วงธรรมดา แต่ไม่รุนแรงเท่าอหิวาตกโรคที่เกิดจาก *V. cholerae* นอกจากนี้ยังทำให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารเนื่องจากอาหารเป็นพิษ โดยจะพบมากในช่วงฤดูร้อน ซึ่งเกิดจากการบริโภคอาหารทะเลดิบ เช่น ปลา ปู และหอย (Burrows et al., 1986) ปริมาณของเชื้อต้องมีปริมาณมากพอตั้งแต่ 10^6 - 10^9 เซลล์ต่อกรัม ที่จะเกิดอาหารเป็นพิษได้ สำหรับอาการจะปรากฏหลังจากบริโภคอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนประมาณ 10 - 20 ชั่วโมง บางรายอาจแสดงอาการภายใน 2 - 48 ชั่วโมง (โสภณ คงสำราญ, 2524) ทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณของเชื้อที่ได้รับหรือสภาพของอาหาร และความเป็นกรดด่างในระบบทางเดินอาหารของแต่ละบุคคล ซึ่งแตกต่างกันออกไป (Barrows & Miller, 1976) ความสามารถในการก่อโรคระบบทางเดินอาหารของ *V. parahaemolyticus* เกิดจากสารพิษพวก hemolysin เชื้อนี้ยังก่อโรคร่วมกับแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ โดยทำให้เกิดการติดเชื้อทางบาดแผลหรืออวัยวะส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น หู ตา และส่วนอื่น ๆ ที่สัมผัสกับน้ำทะเลโดยตรง (Singleton & Sainsbury, 1988) อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อนี้คือถ่ายอุจจาระเป็นน้ำและเนื่องจากเชื้อลงมาบริเวณลำไส้ใหญ่คล้ายกับโรค shigellosis อาจทำให้อุจจาระเป็นสีชมพูเนื่องจากมีเม็ดเลือดแดงปนออกมาด้วย เพราะเชื้อนี้มีการบุกรุกทำลายเนื้อเยื่อและทำให้เกิดอาการอื่นอีกด้วย ปวดศีรษะ มีไข้ อาเจียน และเกิดตะคริวบริเวณท้องน้อย อาการอาจเป็นนานถึง 10 วัน แต่โดยทั่วไปจะหายภายใน 2 - 3 วัน ดังนั้นโอกาสที่ผู้ป่วยจะแพร่เชื้อไปยังผู้อื่นจึงเกิดขึ้นได้น้อย (Pelczar & chan, 1981) การรักษาอาจใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งเชื้อนี้มีความไวต่อยา tetracycline, chloramphenicol และ aminoglycoside (Davis et al., 1990) แต่จะดื้อต่อยา penicillin, ampicillin, methicillin, lincomycin และ carbenicillin (Molitoris et al., 1985) การที่เชื้อดื้อต่อยานี้นั้นเนื่องจากสร้างเอ็นไซม์ lactamase มาย่อยยา penicillin เป็นต้น (Mckane & Kandel, 1986)

V. cholerae

เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอหิวาห์ตกโรค (cholera) ซึ่งเป็นโรคที่มีแหล่งระบาดประจำถิ่น (endermic area) อยู่ในประเทศอินเดีย และปากีสถานตะวันออกและมีการระบาดไปยังส่วนต่าง ๆ ของโลกเป็นครั้งคราว ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1817 ได้มีการระบาดทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยด้วย (Joklik et al., 1988) ระยะแรกพบเชื้อที่เป็นสาเหตุเพียงชนิดเดียวคือ *V. cholerae* biotype classical ต่อมาในปี ค.ศ. 1906 Gottslich แยกเชื้ออหิวาห์ได้อีกชนิดหนึ่งจากอุจจาระของชาวมุสลิมที่ไปแสวงบุญ ณ เมืองเมกกะและมาพักอยู่ที่ด่านตรวจโรคเมือง E1 - Tor แหลมไซไน ประเทศอียิปต์โดยบุคคลเหล่านี้ไม่มีอาการของโรคอหิวาต์แต่อย่างใด จึงตั้งชื่อเชื้อนี้ตามชื่อเมืองที่พบเชื้อเป็นครั้งแรกว่า Eltor vibrio ต่อมาได้พบเชื้อนี้จากศพผู้เสียชีวิตด้วยโรคอื่น และบางรายพบเชื้อนี้จากผู้ที่มีอาการอุจจาระร่วงเพียงเล็กน้อย ในปี ค.ศ. 1957 ได้เกิดอหิวาตกโรคระบาดอย่างรุนแรงที่เกาะซีรีเบส ประเทศอินโดนีเซีย มีผู้เสียชีวิตเป็นจำนวนมาก และ De Moor พบว่า Eltor vibrio เป็นสาเหตุในการระบาดของโรคในครั้งนี้เมื่อปี ค.ศ. 1958 (โสภณ คงสำราญ, 2524)

V. vulnificus

เป็นแบคทีเรียก่อโรคในคน และพบบ่อยในปู และหอยนางรม เมื่อบริโภคอาหารที่มีเชื้อชนิดนี้ปนเปื้อน จะมีอัตราการตายสูงถึง 50 % (Blake, Merson, Weaver, Hokkis, & Heublein, 1979) โดยจอห์นสัน, วินเบริก, ไคร์โควกิ, เวส, และโควเวล (Johson, Weinberg, Ciarkowhki, West, & Colwell, 1984) รายงานว่าพบเชื้อนี้ ในเลือดผู้ป่วยซึ่งเป็น Leukemia ภายหลังจากที่บริโภคหอยนางรมแช่แข็งแล้วนาน 4 วัน จะเกิดอาการ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดหัว ลักษณะบีบเกร็ง และอ่อนเพลีย นอกจากนี้ *V. vulnificus* ยังสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อทางบาดแผล หลังจากที่สัมผัสกับน้ำทะเลหรือสัตว์ทะเลอีกด้วย (Blake et al., 1979)

V. alginolyticus

พบมากในสภาพแวดล้อมทางทะเล เจริญได้ในที่ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 3 - 10 % จัดเป็นพวกชอบเกลืออย่างแท้จริง (Stricly Halophile) (Mahon & George, 1995) ปกติไม่ค่อยพบในสิ่งที่ส่งตรวจ ส่วนใหญ่แยกได้จากภายนอกลำไส้ (Ectraintestinal Source) ก่อโรคได้ใน ตา หู บาดแผลไฟไหม้และผู้เสี่ยงต่อการติดเชื้อ *V. alginolyticus* มากที่สุดคือชาวประมง

ตารางที่ 2-2 อาการที่มักเกิดขึ้นกับผู้ติดเชื้อ Vibrio และชนิดของ toxin ที่เชื้อสร้างขึ้น

ชนิดของอาการ	**เชื้อกลุ่ม non-*V. cholerae***	**Cytotoxin/เอนไซม์**
Gastroenteritis: อาการที่มักเกิดขึ้นท้องร่วง ปวดเกร็งช่องท้อง คลื่นไส้อาเจียน มีไข้ ถ่ายเป็นเลือด ปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ	*V. parahaemolyticus* *V. cholerae* non-O1 *V. fluvialis* *V. mimicus* *V. furnissii* *V. hollisae* *V. alginolyticus* *V. vulnificus*	Cytotoxin, Hemolysin
Wound infection: อาการที่มักเกิดขึ้นบวมพอง เจ็บปวด หนังร้อนแดง ตุ่มพอง เนื้อเยื่อตาย เนื้อเน่า	*V. alginolyticus* *V. vulnificus* *V. cholera*e non-O1 *V. damsela* *V. carchariae* *V. fluvialis* *V. parahaemolyticus* *V. mimicus*	Protease, Hemolysin
Septicemia: อาการที่มักเกิดขึ้นมีไข้ หัวใจเต้นเร็ว ผิดปกติ ช็อก ตุ่มพอง หายใจขัด อวัยวะทำงานผิดปกติ	*V. vulnificus* *V. fluvialis* *V. damsela* *V. cholerae* non-O1 *V. cincinnatiensis*	Protease, Endotoxin (lipopolysaccharide)

(ที่มา: www.emedicine.com/med/topic2375.htm)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล (2545) ได้ศึกษาคุณภาพน้ำชายฝั่งทะเลตะวันออก โดยทำการศึกษาตั้งแต่ปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา - ปากแม่น้ำตราด จังหวัดตราด พบว่าน้ำทะเลบริเวณนี้คุณภาพดี คือ มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพชายฝั่งทะเลของประเทศไทย ยกเว้นบางพื้นที่ ในบางเวลา เช่น บริเวณอ่างศิลา - ศรีราชา จังหวัดชลบุรี ในเดือนตุลาคม 2543 เนื่องจากบริเวณนี้เกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี ทำให้น้ำเน่าเสียมาก พบออกซิเจนละลายมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตาม น้ำทะเลในเขตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เขตนันทนาการเพื่อการว่ายน้ำหาดบางแสน และเขตนิคมอุตสาหกรรม คุณภาพน้ำมีแนวโน้มดีขึ้น เมื่อเทียบกับปี 2540 -2542

กนกลดา เรืองบุญ (2544) ศึกษาแบคทีเรียก่อโรคในสกุล Vibrio ในหอยนางรมบริเวณอ่างศิลา และบางพระ จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคมและกันยายน ในปี พ.ศ. 2543 ตรวจแยกเชื้อจากหอยนางรมบริเวณตำบลอ่างศิลา พบจำนวน *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* มีค่าอยู่ในช่วง 300 - 2,000 MPN/g และ < 3 - 1,100 MPN/g ตามลำดับ และตรวจพบจำนวนของ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* จากตัวอย่างหอยนางรมบริเวรตำบลบางพระ มีค่าอยู่ในช่วง < 3 - 900 MPN/g และ < 3 - 900 MPN/g ตามลำดับ

กัลยาณี ทีปะปาล (2549) ได้ศึกษาการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากหอยตะโกรม (*Crassostrea belcheri*) ที่เลี้ยงในจังหวัดพังงา ระหว่างเดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2547 จำนวน 360 ไอโซเลท ต่อยาปฏิชีวนะ 9 ชนิด โดยพบว่า *V. parahaemolyticus* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ penicillin G streptomycin และ amikacin และมีความไวต่อยา chloramphenicol tetracycline และ oxytetracycline ทั้งยังพบว่าเชื้อที่แยกได้จากปลาและกุ้งดื้อต่อยา ampicillin มากกว่าเชื้อที่แยกได้จากน้ำ ตะกอนดิน และแพลงก์ตอนอีกด้วย

Blachwell and Oliver (2008) ศึกษาความจำเพาะของการกระจายของเชื้อก่อโรคในสกุล Vibrio ในระบบนิเวศ ซึ่งเก็บตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากบริเวณปากแม่น้ำนอร์ทแคโรไลนา (North Carolina) มาหาปริมาณของ *V. parahaemolyticus V. cholerae* และ *V. vulnificus* เป็นระยะเวลา 1 ปี พบว่าปริมาณของ Vibrio รวมทั้งหมดกับอุณหภูมิของน้ำทะเลมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่านอกจากอุณหภูมิของน้ำทะเลแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเชื้อ เช่น ปัจจัยทางกายภาพต่าง ๆ ได้แก่ ความขุ่น ค่าการละลายของออกซิเจน และความเค็มของน้ำทะเล

Bockemuhl et al. (1986) ได้ตรวจหา *V. cholera*, *V. parahaemolyticus* และ *V. mimicus* จากตัวอย่างน้ำในแม่น้ำเอลบีเมืองแฮมเบริกซ์ ระหว่างเดือนมิถุนายน ค.ศ. 1981 ถึงเดือนธันวาคม ค.ศ. 1982 โดยใช้ตัวอย่างน้ำทั้งหมด 147 ตัวอย่าง Vibrio ทั้งหมด 183 สายพันธุ์ ในจำนวนนี้ 107 สายพันธุ์ เป็น non - 01 *V. cholera* (10 สายพันธุ์สามารถสร้าง cholera - like toxin) 33 สายพันธุ์ เป็น *V. mimicus* (รวมทั้ง 2 สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษได้) 42 สายพันธุ์ เป็น kanakawa - negative *V. parahaemolyticus* และ 1 สายพันธุ์เป็น *V. fluvialis* ช่วงที่พบแบคทีเรียชนิดนี้สูงที่สุดคือเดือนมิถุนายน - กันยายน คือมีจำนวน 10^2 เซลล์/ลิตร อิทธิพลจากจำนวนของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform) และฟีคอลโคลิฟอร์ม (Fecal Coliform) ไม่มีผลต่อการมีชีวิตอยู่รอดของ Vibrio ในแหล่งน้ำ อุณหภูมิของน้ำมีความสัมพันธ์กับฤดูกาลที่เปลี่ยนไป อุณหภูมิของน้ำที่เพิ่มสูงขึ้น 10 - 20 องศาเซลเซียส มีผลทำให้จำนวนของ Vibrio ที่ตรวจพบมีค่าแตกต่างกันมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิปกติ

Changchai and Saunjit (2014) ศึกษาอุบัติการณ์ของความหนาแน่นของประชากรและความรุนแรงในการก่อโรคของ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* จากตัวอย่างหอยนางรมดิบจากร้านค้าขายปลีก ที่เก็บระหว่างเดือนมีนาคม ปี 2010 และเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2011 จากชายฝั่งอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี most probable number (MPN) multiplex PCR จากตัวอย่างหอยนางรมดิบ 219 ตัวอย่าง ตรวจพบ *V. parahaemolyticus* จำนวน 29 ตัวอย่าง ที่มียีน *tdh* ค่า MPN ของ *V. parahaemolyticus* และสายพันธุ์ของเชื้อก่อโรคที่พบมากที่สุดจากตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 10 - 10^2 และ จาก 3 - 10 MPN/g ตามลำดับ

Lee et al. (2008) ศึกษาอุบัติการณ์ของ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรม (*Crassotrea gigas*) ที่เก็บจากตลาดขายปลีกในกรุงโซล สาธารณรัฐเกาหลี (เกาหลีใต้) ในช่วงเดือนเมษายน - ธันวาคม ในปี 2005 จำนวน 72 ตัวอย่าง โดยมีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* อยู่ในช่วง 1 - 3 log MPN และพบว่าปริมาณของเชื้อมีสูงมากในฤดูร้อนตอนปลายถึงต้นฤดูใบไม้ร่วง และลดลงจนไม่สามารถตรวจสอบได้ในเดือนธันวาคม ซึ่งเป็นช่วงฤดูหนาว

Reyes-Velazquez et al. (2010) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความหนาแน่นของ *V. parahaemolyticus* และ *V. alginolyticus* ในหอยนามรม (*Crassostrea virginica*) กับค่าความเค็มและอุณหภูมิของน้ำ จาก lagoon system ของ Mandinga Veracruz ประเทศเม็กซิโก โดยตรวจสอบในช่วงที่มีการเพาะเลี้ยงหอยนางรมและบริโภคหอยนางรมจำนวนมาก ในช่วงฤดูฝนและฤดูแล้ง ของปี 2008 โดยเลือกเก็บจากสถานีเก็บตัวอย่าง 4 แห่งพบว่ามีค่าความหนาแน่นของ *V. parahaemolyticus* และ *V. alginolyticus* อยู่ในช่วง 3 - 150 MPN/g ซึ่งความหนาแน่นของ *V. parahaemolyticus* ในสถานีเก็บตัวอย่างที่ 1 และ 3 มีปริมาณสูงสุดในช่วงฤดูฝน ซึ่งเป็นช่วงที่มี

อุณหภูมิสูงและความเค็มต่ำ ดังนั้นอุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยหลักที่จะเป็นตัวกำหนดการแพร่กระจายและปริมาณของ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรม *C. virginica* ส่วนความหนาแน่นของ *V. alginolyticus* จะตรวจพบในช่วงฤดูแล้งของทุกสถานีเก็บตัวอย่าง แต่ในช่วงฤดูฝนพบเพียงแค่สถานีเก็บตัวอย่างที่ 1 เท่านั้น โดยความหนาแน่นของ *V. alginolyticus* จะลดลงเมื่อมีค่าความเค็มเพิ่มขึ้น ในช่วงฤดูฝนตรวจไม่พบ *V. alginolyticus* ในสถานีเก็บตัวอย่างที่ 2, 3 และ 4 ซึ่งอาจมีผลมาจากความอุดมสมบูรณ์ (สารอินทรีย์ สารอาหาร สาหร่าย) บริเวณปากอ่าวต่ำ ทำให้สภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อโดยความหนาแน่นของ *V. alginolyticus* ไม่สัมพันธ์กับอุณหภูมิน้ำ

Sobrinho, Destro, Franco, and Landgraf (2010) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมและอุบัติการณ์ของ *V. parahaemolyticus* ในการเก็บเกี่ยวหอยนางรม ในพื้นที่ชายฝั่งทางตอนใต้ของ Sao Paulo ประเทศบราซิล พบว่าจากตัวอย่างหอยนางรม 123 ตัวอย่าง คิดเป็น 99.2 % ให้ค่าความหนาแน่นของ MPN อยู่ในช่วง $< 3 - 10^5$ MPN/g ซึ่งการเพิ่มขึ้นและ/ หรือลดลงของอุณหภูมิมีผลต่อความหนาแน่นของ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรม สำหรับความเค็มเป็นปัจจัยรองที่มีผลต่อการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรม

Soto, Gutierrez, Remmenga and Nishiguchi (2009) ศึกษาความเค็มและอุณหภูมิที่มีผลต่อการตอบสนองทางกายภาพของ *V. fischeri* จากระบบนิเวศที่หลากหลาย พบว่าระบบนิเวศมีผลโดยตรงต่อรูปแบบการเจริญและเป็นการจำกัดการอยู่รอดของเชื้อในสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทั้ง *V. fischeri* ที่ดำรงชีวิตอย่างอิสระ (free-living) และ *V. fischeri* ที่อยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกันและกันกับเจ้าบ้าน (host) มีอัตราการเจริญในช่วงความเค็ม และอุณหภูมิ ที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากความสามารถในการปรับตัวของเชื้อที่แต่ละไอโซเลทที่แยกได้จากระบบนิเวศที่แตกต่างกัน

จากรายงานวิจัยที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่ามีผู้วิจัยจำนวนมากให้ความสนใจศึกษาและตรวจสอบปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่แยกได้จากน้ำทะเลและหอยนางรม โดยพยายามศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปต่อความหนาแน่นของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่พบในน้ำและหอยนางรม ซึ่งปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ที่เปลี่ยนแปลงไปสามารถส่งผลกระทบต่อชนิดและปริมาณของแบคทีเรียในการอยู่รอดได้ในสิ่งแวดล้อม และอาจก่อให้เกิดการปรับตัวของแบคทีเรียที่อยู่แบบอิสระ (free living) ในการเข้าไปอาศัยอยู่ในสัตว์ทะเล (host) ซึ่งเป็นอาหารของมนุษย์ได้เนื่องจากสภาวะภายนอกไม่เหมาะสมต่อการเจริญ ในรายงานวิจัยนี้ก็เช่นกันที่ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเลที่มีผลกระทบต่อปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในน้ำทะเลและหอยนางรม ซึ่งหอยนางรมถือเป็นแหล่งสำคัญของการแพร่กระจายและสะสมของเชื้อในสกุล Vibrio นอกจากนี้ยังศึกษาปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรค (virulence factors) ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่ยังคงเป็นกลุ่มของ

แบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์ สำหรับการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร เนื่องมาจากการรับประทานอาหารทะเลดิบหรือติดเชื้อทางบาดแผลเนื่องจากการสัมผัสกับน้ำทะเลที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ ปัจจุบันยังคงมีรายงานการตรวจพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากอาหารทะเลอย่างต่อเนื่องและพบการเกิดโรคในผู้บริโภคที่นิยมบริโภคอาหารทะเลดิบอีกด้วย จะเห็นได้ว่าถ้าอุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคเหล่านี้เพิ่มมากขึ้น โอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนและ/ หรือก่อโรคในสัตว์น้ำจะมีเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยังมีความเสี่ยงต่อผู้บริโภค ดังนั้นการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของอุบัติการณ์ของโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียในสกุลนี้ในอนาคตได้โดยใช้ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมดังกล่าวเป็นดัชนีชี้วัด

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1. อุปกรณ์ภาคสนาม

เครื่องตรวจวัดพิกัดบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System: GPS)

เครื่องวัดพีเอชและอุณหภูมิภาคสนาม (Multi parameters; YSI 60)

เครื่องวัดคุณภาพน้ำหลายตัวแปร (Multi parameters; YSI 85)

กระบอกเก็บน้ำในแนวดิ่ง (Kemmerer)

เครื่องมือวัดความโปร่งแสง (Secchi disk; black and white Ø 30 cm)

เครื่องมือวัดความลึก (ลูกดิ่ง)

ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างน้ำ ขนาด 1 ลิตร

ขวดแก้วปราศจากเชื้อ ขนาด 250 มิลลิลิตร

กล่องโฟมสำหรับแช่ตัวอย่าง

น้ำกลั่น RO (Reverse osmosis)

ถุงซิบบรรจุตัวอย่าง

ตารางบันทึกข้อมูลภาคสนาม

3.1.2. อุปกรณ์และเครื่องแก้ว

จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Sterile Petri Dishes) ขนาด 50, 90 และ 140 มิลลิเมตร

หลอดทดลองฝาเกลียว (Centrifuge Tube) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

หลอดทดลอง (Test Tube) ขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร

หลอดทดลอง (Test Tube) ขนาด 16 × 150 มิลลิเมตร

ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

Pipette Tip ปริมาตร 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

Pipette glass ปริมาตร 1 และ 10 มิลลิลิตร

ลูปเขี่ยเชื้อ (Inoculated Loop)

เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)

ปากคีบ (Forceps)

มีดแกะหอย

กรรไกร

ตะเกียงแอลกอฮอล์

กระบอกตวง (Cylinder) ปริมาตร 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร

หลอดฉีดยา (Plastic Syringe) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

ไม้พันปลายสำลีเบอร์ M ที่ปราศจากเชื้อ (Sterile Cotton Swab)

บีกเกอร์ (Beaker) ปริมาตร 50, 100,150 และ 1,000 มิลลิลิตร

ไมโครไทเทอร์เพลท (96 well microtiter plates)

บิวเรตต์ (burette) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

ขวดบีโอดี ขนาด 300 มิลลิลิตร พร้อมจุกแก้วที่เป็น ground joint

กระดาษกรอง (Whatman No. 1.0)

หลอดดักแก๊ส (Durham tubes)

หลอดหยดพลาสติก (Plastic dropper)

3.1.3. เครื่องมือ

ปิเปตอัตโนมัติ (Autopipette) P20, P200 และ P1,000 (GILSON, France)

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) (GFL, รุ่น 1083, Germany)

หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) (TOMY, SS-325, Japan)

ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) (TERMARK, Norway)

ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) (MEMMERT, 700, Germany)

ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow) (SUPER CLEAN, 150VC, Thailand)

เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Balance) (METTLER, PM6100)

เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer) (VORTEX-GENIE 2, G-560E, Switzerland)

เครื่องไมโครเวฟ (ELECTROLUX, EMM 2005, China)

เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (THERMO, รุ่น Hexios δ, Germany)

เครื่องปั่นแรงเหวี่ยงสูง (High speed microcentrifuge) (Sartorius, รุ่น GIGMA®1-14, Germany)

เครื่องตีปั่น (Stomacher)

Microplate reader (Bio-Tex Instruments)

3.1.4. อาหารเลี้ยงเชื้อ

Alkaline peptone water (2X APW; FDA 2004)

Alkaline peptone water (APW; FDA 2004)

Arginine decarboxylase medium (HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB; Difco™, Becton, Dickinson and Company, MD, USA)

Blood agar (5 % human red blood cells)

Cystine Tryptone Agar (CTA; HIMEDIA™, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India)

CHROM™ Vibrio agar (CHROMagar™ Vibrio, Microbiology, Paris, France)

Lauryl tryptose Broth (LST; Difco™, Becton, Dickinson and Company, MD, USA)

Lysine decarboxylase medium (HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

Motility test medium-1 % โซเดียมคลอไรด์

Mueller Hinton Agar (MHA; Difco™, Becton, Dickinson and Company, MD, USA)

Mueller Hinton Broth (MHB; Difco™, Becton, Dickinson and Company, MD, USA)

Ornithine decarboxylase medium (HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

0.1% Peptone water (FDA, 2004)

Plate count agar (PCA; Difco™, Becton, Dickinson and Company, MD, USA)

Thiosulfate citrate bile salts sucrose agar (TCBS; Eiken Chemical CO., LTD., Japan)

T_1N_1 and T_1N_3 agars (1 % tryptone และ either 1 % หรือ 3 % โซเดียมคลอไรด์)

T_1N_0, T_1N_3, T_1N_6, T_1N_8, T_1N_{10} broths (1 % tryptone และ either 0 %, 3 %, 6 %, 8 % และ 10 % โซเดียมคลอไรด์)

Triple Sugar Iron Agar (TSI; Difco™, Becton, Dickinson and Company, MD, USA)

Tryptic Soy Agar (TSA; Difco™, Becton, Dickinson and Company, MD, USA)

Tryptic Soy Broth (TSB; Difco™, Becton, Dickinson and Company, MD, USA)

3.1.5. สารเคมี

Acetic acid (Merck, Germany)

API 20E diagnostic strips and reagents (BioMerieux®sa 69280 Marcy I'Etoile, France)

EDTA (Ethylene diamine tetra-acetic acid) (Ajax Finechem, Australia)

95 % เอทานอล (Merck, Germany)

Phosphate buffer saline (PBS) (Ajax Finechem, Australia)

Oxidase reagent (1 % N,N,N,N'-tetramethyl-p-phenylenediamine.2HCl in dH_2O)

Sodium chloride (Ajax Finechem, Australia)

Paraffin Liquid (Ajax Finechem, Australia)

สีย้อมแกรม

สารละลายแมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต ($MnSO_4.4H_2O$)

สารละลายอัลคาไลไอโอไดด์เอไซด์ (Alkali-iodide-azide reagent)

กรดซัลฟูริกเข้มข้น 36 นอร์มัล (concentrated H_2SO_4 acid)

น้ำแป้ง

สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต (Na_2S2O_3) 0.0250 นอร์มัล

สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไบไอโอเดต ($KH(IO_3)_2$) 0.025 นอร์มัล

3.1.6. ยาปฏิชีวนะ

Ampicillin ขนาดบรรจุ 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ (AMP; HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

Cefotaxime ขนาดบรรจุ 30 ไมโครกรัมต่อดิสก์ (CTX; HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

Cefoxitin ขนาดบรรจุ 30 ไมโครกรัมต่อดิสก์ (CX; HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

Chloramphenicol ขนาดบรรจุ 30 ไมโครกรัมต่อดิสก์ (C; HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

Ciprofloxacin ขนาดบรรจุ 5 ไมโครกรัมต่อดิสก์ (CIP; HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

Nitrocifin ชนิดผง ปริมาตร 1 มิลลิกรัม (Oxoid)

Norfloxacin ขนาดบรรจุ 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ (NX; HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

Sulphamethoxazole-Trimethoprim ขนาดบรรจุ 23.75 + 1.25 ไมโครกรัมต่อดิสก์ (COT; HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

Tetracycline ขนาดบรรจุ 30 ไมโครกรัมต่อดิสก์ (TE; HiMedia Laboratories Pvt., Ltd., Mumbai, India)

3.1.7. ตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำทะเล

ตัวอย่างหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskali*) ที่เพาะเลี้ยงในฟาร์มเพาะเลี้ยงหอยนางรมแบบอุบะแขวน บริเวณชายฝั่งอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

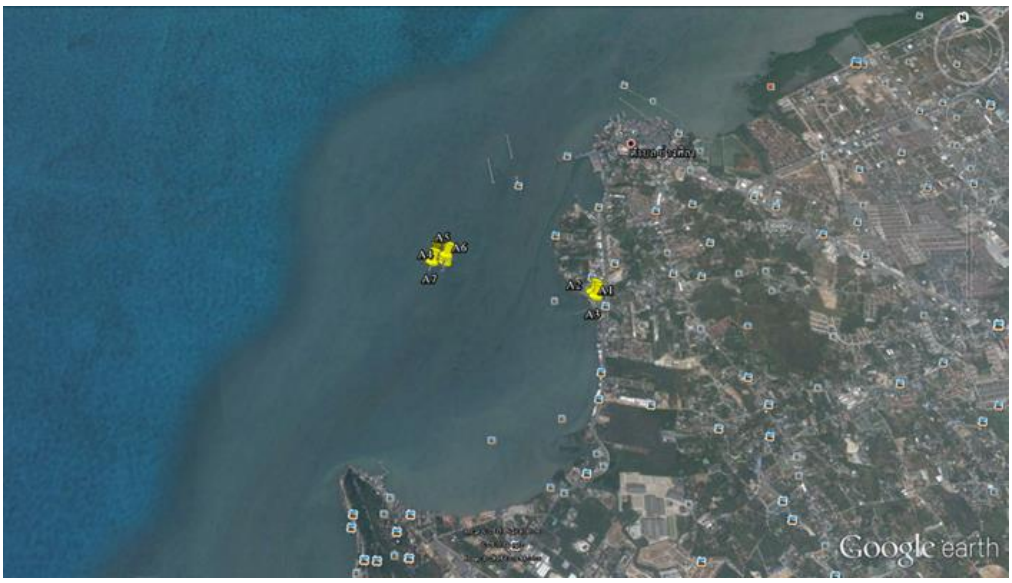
3.1.8. แบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน

แบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 และ ATCC 25923 ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ทำการเพาะเลี้ยงและแยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร Tryptic soy agar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหลังจากนั้นนำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้มาเพาะเลี้ยงในอาหาร Tryptic soy broth ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และจัดเก็บที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส ในอาหาร Tryptic soy broth ที่ผสม glycerol 40 %

3.2 ขั้นตอนการเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

3.2.1. การกำหนดสถานีเก็บตัวอย่าง

สถานีเก็บตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ซึ่งแบ่งเป็นสถานี 3 สถานี โดยในแต่ละสถานีจะทำการเก็บตัวอย่าง 3 ซ้ำจากการสุ่มเลือกจุดเก็บตัวอย่าง 3 ตำแหน่ง ได้แก่ บริเวณชายฝั่งติดกับชุมชน (เรียกว่าสถานีใกล้ฝั่ง A1, A2 และ A3) บริเวณกระชังหอย ห่างจากฝั่งประมาณ 1.20 กิโลเมตร (เรียกว่าสถานีกระชังหอย B1, B2 และ B3) และบริเวณรอบกระชังหอย โดยถัดจากกระชังหอยออกไป ห่างจากฝั่งประมาณ 1.30 กิโลเมตร (เรียกว่าสถานีไกลฝั่ง C1, C2 และ C3) โดยใช้เครื่องตรวจวัดพิกัดบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global positioning system, GPS) ช่วยในการตรวจสอบสถานี และใช้เรือประมงชายฝั่งเป็นพาหนะในการปฏิบัติงานภาคสนาม ภาพถ่ายดาวเทียมของพื้นที่เก็บตัวอย่างและรายละเอียดจุดพิกัดแสดงดังภาพที่ 3-1 และตารางที่ 3-1



ภาพที่ 3-1 สถานี ( ) ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและแบคทีเรียในสกุล Vibrio บริเวณชายฝั่งทะเล ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

ตารางที่ 3-1 ตำแหน่งสถานีตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและแบคทีเรียในสกุล Vibrio บริเวณชายฝั่งทะเล ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

พื้นที่	สถานี	รหัสสถานี	ละติจูด	ลองติจูด	กิจกรรมในพื้นที่
ท่าเรือประมง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี	ใกล้ฝั่ง	A1	N 13°19'34.21"	E 100°55'14.76	ชุมชนชายฝั่ง
		A2	N 13°19'33.99"	E 100°55'14.94"	
		A3	N 13°19'32.82"	E 100°55'15.33"	
	กระชังหอย	B1	N 13°19'51.59"	E 100°54'39.85"	เขตเพาะเลี้ยงหอยนางรม
		B2	N 13°19'50.77"	E 100°54'39.54"	
		B3	N 13°19'49.64"	E 100°54'39.28"	
	ไกลฝั่ง	C1	N 13°19'52.97"	E 100°54'36.96"	ไม่มีกิจกรรม
		C2	N 13°19'51.97"	E 100°54'36.50"	
		C3	N 13°19'50.36"	E 100°54'35.93"	

3.2.2. การเก็บตัวอย่างภาคสนาม

3.2.2.1 จำนวนตัวอย่างน้ำทะเล

เก็บตัวอย่างน้ำทะเลทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้ง ตลอดระยะเวลาการศึกษา 1 ปี โดยในแต่ละเดือนจะทำการเก็บตัวอย่างน้ำจาก 3 สถานีเก็บตัวอย่างในข้อ 3.2.1 แบบสุ่ม สถานีละ 3 ตัวอย่าง ดังนั้นตัวอย่างน้ำทะเลทั้งหมดที่เก็บได้จากแต่ละสถานีตลอดการศึกษามีจำนวนสถานีละ 36 ตัวอย่าง

3.2.2.2 วิธีเก็บตัวอย่างน้ำทะเลเพื่อวิเคราะห์ปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางเคมีและธาตุอาหาร

เก็บตัวอย่างน้ำทะเลที่ระดับกึ่งกลางความลึกด้วยกระบอกเก็บน้ำในแนวดิ่ง (Kemmerer) และถ่ายลงขวดพลาสติกขนาดความจุ 1 ลิตร ปิดฝาให้แน่นและแช่ไว้ในถังน้ำแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3-2

3.2.2.3 วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำทะเลเพื่อการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

เก็บตัวอย่างน้ำทะเลโดยใช้ขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร โดยการเปิดฝาขวดเก็บตัวอย่างใต้ผิวน้ำทะเลที่ระดับความลึกประมาณ 30 เซนติเมตร ปิดฝาขวดใต้ผิวน้ำ นำขวดเก็บตัวอย่างน้ำทะเลแช่ไว้ในถังน้ำแข็ง โดยป้องกันไม่ให้ได้รับแสงแดดและการปนเปื้อนระหว่างการนำส่งห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีดังแสดงในตารางที่ 3-2

3.2.2.4 การตรวจวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพและเคมี ณ บริเวณเก็บตัวอย่าง

สำหรับการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพและเคมีอื่น ๆ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ความโปร่งแสง ความลึก ความเป็นกรด - ด่าง และการนำไฟฟ้า จะทำการตรวจวัด ณ สถานีเก็บตัวอย่าง

3.2.2.5 การเก็บตัวอย่างหอยนางรมและวิธีวิเคราะห์

เก็บตัวอย่างหอยนางรม (ขนาดที่สามารถนำไปจำหน่ายได้ ประมาณ 5 - 7 เซนติเมตร) ที่บริเวณกระชังเพาะเลี้ยงหอยนางรม อ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้ง (พร้อมกับการเก็บตัวอย่างน้ำบริเวณสถานีเดียวกัน) ตลอดระยะเวลาการศึกษา 1 ปี โดยสุ่มเก็บครั้งละ 25 ตัวอย่าง สำหรับวิเคราะห์หาอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ในประชากรหอยนางรม และสุ่มเก็บตัวอย่างหอยนางรมแบบผสมรวม (Composite Sampling) ประมาณ 30 - 40 ตัว (นำมาใช้ในการสุ่มหอยนางรมเพื่อทำการทดสอบ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 25 กรัม) ใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์ความหนาแน่นของ Vibrio ด้วยวิธี MPN จากกระชังเพาะเลี้ยงหอยนางรม แล้วบรรจุหอยนางรมใส่ถุงซิบบรรจุตัวอย่าง และแช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง เพื่อนำกลับมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 3-2 ดัชนีคุณภาพน้ำ วิธีการเก็บตัวอย่าง และวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำและแบคทีเรียในน้ำ

ดัชนีคุณภาพน้ำ	วิธีการและภาชนะที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง	วิธีวิเคราะห์
1. ความลึก	ตรวจวัด ณ สถานีเก็บตัวอย่าง	ลูกดิ่ง
2. ความโปร่งแสง	ตรวจวัด ณ สถานีเก็บตัวอย่าง	Secchi disc (black and white ø 30 cm)
3. ออกซิเจนละลายน้ำ (DO)	ตรวจวัด ณ สถานีเก็บตัวอย่าง	Multi parameters (YSI 85)
4. อุณหภูมิ (Temperature)	ตรวจวัด ณ สถานีเก็บตัวอย่าง	Multi parameters (YSI 85)
5. ความเค็ม (Salinity)	ตรวจวัด ณ สถานีเก็บตัวอย่าง	Multi parameters (YSI 85)
6. ความเป็นกรด-เบส (pH)	ตรวจวัด ณ สถานีเก็บตัวอย่าง	Multi parameters (YSI 60)
7. บีโอดี (BOD)	กระบอกเก็บตัวอย่างน้ำในแนวดิ่ง เก็บตัวอย่างน้ำลงในขวดพลาสติก ขนาด 1 ลิตร	Azide Modification สำหรับตัวอย่างที่จะนำไปวิเคราะห์ Direct Method (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2551)
8. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Total Coliform Bacteria)	กระบอกเก็บตัวอย่างน้ำในแนวดิ่ง เก็บตัวอย่างน้ำลงในขวดแก้วปลอดเชื้อ ขนาด 250 มิลลิลิตร	Most Probable Number (Bacteriological Analytical Manual, US FDA)
9. ปริมาณและชนิดของแบคทีเรียสกุล Vibrio	กระบอกเก็บตัวอย่างน้ำในแนวดิ่ง เก็บตัวอย่างน้ำลงในขวดแก้วปลอดเชื้อ ขนาด 250 มิลลิลิตร	Most Probable Number (Bacteriological Analytical Manual, US FDA)
10. แบคทีเรียรวมทั้งหมด (Total Bacterial Count)	กระบอกเก็บตัวอย่างน้ำในแนวดิ่ง เก็บตัวอย่างน้ำลงในขวดแก้วปลอดเชื้อ ขนาด 250 มิลลิลิตร	Total plate count (Bacteriological Analytical Manual, US FDA)

3.2.3. การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO) จากตัวอย่างน้ำทะเล

3.2.3.1 เติมตัวอย่างน้ำทะเลของแต่ละสถานีที่จะวิเคราะห์ลงในขวดบีโอดีให้เต็มโดยใช้วิธีกาลักน้ำช้า ๆ และปล่อยน้ำให้ล้นพ้นคอขวดออกมาสักพัก ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ

3.2.3.2 เติมสารละลายแมงกานิสซัลเฟต และสารละลายอัลคาไลไอโอไดด์เอไซด์อย่างละ 1 มิลลิลิตร โดยให้ปลายปิเปตจุ่มใต้ผิวน้ำตัวอย่างในขวดบีโอดี

3.2.3.3 ปิดจุกขวด ระวังอย่าให้มีฟองอากาศเหลืออยู่ที่คอขวดบีโอดี เขย่าขวดโดยคว่ำขวดขึ้นลงประมาณ 15 ครั้ง จะเกิดตะกอนสีน้ำตาลปล่อยให้ตกตะกอน (ถ้าเกิดตะกอนสีขาวแสดงว่าตัวอย่างน้ำไม่มีออกซิเจนละลาย) ตั้งทิ้งไว้ให้ตะกอนตกตะกอนประมาณครึ่งขวด

3.2.3.4 เปิดจุกออกแล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงไป 1 มิลลิลิตร โดยปล่อยให้กรดค่อย ๆ ไหลลงไปตามข้าง ๆ คอขวดโดยให้ปลายปิเปตอยู่เหนือผิวน้ำ ปิดจุกขวดบีโอดี แล้วเขย่าขวดบีโอดีโดยคว่ำขวดขึ้นลงจนกระทั่งตะกอนละลายหมด

3.2.3.5 คำนวณปริมาตรของตัวอย่างที่จะใช้ในการไตเตรต โดยยึดถือปริมาตรเริ่มต้นของตัวอย่าง 200 มิลลิลิตร เป็นหลัก นั่นคือ ถ้าขวดบีโอดีขนาด 300 มิลลิลิตร เติมสารละลายแมงกานิสซัลเฟตและสารละลายอัลคาไลไอโอไดด์เอไซด์ อย่างละ 1 มิลลิลิตร ปริมาตรที่ต้องนำมาไตเตรตจะเป็น (200 × 300)/ (300 - 2) เท่ากับ 201 มิลลิลิตร ดังนั้นจึงตวงสารละลายตัวอย่างน้ำในขวดบีโอดี 201 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปกรวยเพื่อนำไปไตเตรต

3.2.3.6 ไตเตรตสารละลายตัวอย่างด้วย โซเดียมไธโอซัลเฟต 0.0250 นอร์มัล จนกระทั่งสีเหลืองเริ่มจางลง (สีฟางข้าว)

3.2.3.7 เติมน้ำแป้ง 2 - 3 หยด (สีสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน) แล้วไตเตรทต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไปสารละลายกลายเป็นสีขาวใส

3.2.3.8 บันทึกปริมาตร (มิลลิลิตร) ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.025 นอร์มอล ที่ใช้ไปปริมาณ (มิลลิลิตร) ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.025 นอร์มอล เท่ากับปริมาณ มิลลิกรัมต่อลิตร ของแก๊สออกซิเจน

3.2.4. การวิเคราะห์ค่าบีโอดี (Biochemical Oxygen Demand, BOD) จากตัวอย่างน้ำทะเล (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2551)

3.2.4.1 เติมตัวอย่างน้ำทะเลของแต่ละสถานีที่จะวิเคราะห์ลงในขวดบีโอดีให้เต็ม 2 ขวด ปิดจุกให้สนิทและมีน้ำหล่อที่ปากขวด

3.2.4.2 นำขวดที่หนึ่ง มาหาค่าออกซิเจนละลายน้ำ (ดูวิธีวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในข้อที่ 3.2.3.1) ถือว่าเป็นค่าออกซิเจนละลายน้ำที่มีเริ่มต้น สมมุติเป็น DO_0

3.2.4.3 นำอีกขวดหนึ่งใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

3.2.4.4 เมื่อครบ 5 วัน แล้วนำตัวอย่างนั้นมาหาค่าออกซิเจนละลายน้ำที่เหลืออยู่ สมมติเป็น DO_5

3.2.4.5 คำนวณปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (BOD_5^{20}) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ดังสมการต่อไปนี้

$$BOD_5^{20} \text{ (mg/l)} = DO_0 - DO_5$$

เมื่อ DO_0 คือ ค่าปริมาณออกซิเจนในน้ำที่ไทเทรตได้ในวันแรก

DO_5 คือ ค่าปริมาณออกซิเจนในน้ำที่ไทเทรตได้ในวันที่ 5

3.2.5. การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Coliform bacteria) จากตัวอย่างน้ำทะเล (FDA, 2004)

3.2.5.1 การเตรียมสารละลายเจือจางตามวิธี MPN (5-tube MPN)

3.2.5.2 ปิเปตสารตัวอย่างน้ำทะเล จากขวดเก็บตัวอย่างของแต่ละสถานี ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มี Lauryl Tryptose Broth (LST) ความเข้มข้นสองเท่า ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และมีหลอดดักแก๊สคว่ำอยู่ จำนวน 5 หลอด (ให้สังเกตด้วยว่าไม่มีฟองอากาศอยู่ในหลอดดักแก๊ส)

3.2.5.3 ปิเปตตัวอย่างน้ำทะเลปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากขวดเก็บตัวอย่างของแต่ละสถานี ใส่ในหลอดที่มีอาหาร Lauryl Tryptose Broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และมีหลอดดักแก๊สคว่ำอยู่ จำนวน 5 หลอด

3.2.5.4 ปิเปตสารตัวอย่างน้ำทะเลปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากขวดเก็บตัวอย่างของแต่ละสถานี ใส่ในหลอดที่มีอาหาร Lauryl Tryptose Broth ปริมาต 10 มิลลิลิตร และมีหลอดดักแก๊สคว่ำอยู่ จำนวน 5 หลอด

3.2.5.5 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

3.2.5.6 ตรวจดูหลอดที่ให้ผลบวก โดยคัดหลอดที่เกิดแก๊สที่เวลา 24 ± 2 ชั่วโมง สำหรับหลอดที่ให้ผลลบหรือไม่เกิดแก๊สให้บ่มต่อไปอีก ให้ครบเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง เลือกหลอดที่เกิดแก๊ส และบันทึกผล

3.2.5.7 ถ่ายเชื้อจากหลอด LST ที่เกิดแก๊สลงในหลอด BGLB หลอดละ 1 ลูป

3.2.5.8 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

3.2.5.9 การรายงานผลจะนำหลอดทดสอบที่ตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มจะพบแก๊สในหลอดดักแก๊ส เมื่อบ่มเชื้อครบเวลา 24 - 48 ชั่วโมง บันทึกจำนวนหลอดทดสอบแต่ละชุด (ตัวอย่าง 10, 1 และ 0.1 มิลลิลิตร) ที่ให้ผลบวก โดยหลอดทดสอบที่ตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มจะพบแก๊สในหลอดดักแก๊ส จากนั้นนำผลที่ได้ไปอ่านค่า MPN ของแบคทีเรียโคลิฟอร์มจากตาราง MPN 5:5:5 (FDA, 2004) รายงานผลเป็น MPN/100 mL ของตัวอย่างน้ำทะเล

3.2.6. การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนทั้งหมด ด้วยวิธี Total aerobic plate Count) จากตัวอย่างน้ำทะเล (FDA, 2004)

3.2.6.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำทะเลปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดบรรจุสารละลายเปบโตนเข้มข้น 0.1 % ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย จะได้ตัวอย่างน้ำทะเลที่มีระดับความเจือจาง 10^{-1}

3.2.6.2 เจือจางสารละลายตัวอย่างน้ำทะเลในข้อ 3.2.6.1 ให้มีความเข้มข้นลดลงครั้งละ 10 เท่า (ten-fold serial dilution) โดยใช้สารละลายเปบโตนเข้มข้น 0.1 % เป็นตัวเจือจาง ให้ได้ตัวอย่างน้ำทะเลที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} - 10^{-3} ตามลำดับ

3.2.6.3 ปิเปตตัวอย่างน้ำทะเลในแต่ละระดับความเจือจาง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานแก้วที่ปราศจากเชื้อ (ทำ 3 ซ้ำ)

3.2.6.4 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) ที่เติม 3 % โซเดียมคลอไรด์ ที่อุณหภูมิประมาณ 45 ± 1 องศาเซลเซียส ปริมาตร 12 - 15 มิลลิลิตรต่อจาน ผสมให้ตัวอย่างกระจายทั่วจานเพาะเชื้อโดยวนไปด้านขวา ด้านซ้าย ไปข้างหน้า และข้างหลัง ทิศทางละ 5 ครั้ง ระยะเวลาตั้งแต่ถ่ายตัวอย่าง จนกระทั่งเทจานเพาะเชื้อด้วย PCA ไม่ควรเกิน 15 นาที ตั้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง กลับจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ด้านบน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ± 1 ชั่วโมง

3.2.6.5 นับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนจานเพาะเชื้อ โดยเลือกจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25 - 250 โคโลนี บันทึกจำนวนโคโลนีที่นับได้ทั้งหมด และระบุระดับความเจือจางที่ทำการตรวจนับ บันทึกผล คำนวณปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่อน้ำทะเล 1 มิลลิลิตร มีหน่วยเป็น Colony forming unit ต่อมิลลิลิตร (CFU/mL)

3.2.7. การวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของเชื้อ Vibrio spp. *จากตัวอย่างน้ำทะเล ตามวิธี MPN (5-tube MPN) (FDA, 2004)*

3.2.7.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำทะเลจากขวดเก็บตัวอย่างของแต่ละสถานี ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มี Alkaline Peptone Water (APW) ความเข้มข้นสองเท่า ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด

3.2.7.2 ปิเปตตัวอย่างน้ำทะเลปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากขวดเก็บตัวอย่างของแต่ละสถานี ใส่ในหลอดที่มี Alkaline Peptone Water ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด

3.2.7.3 ปิเปตตัวอย่างน้ำทะเลปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากขวดเก็บตัวอย่างของแต่ละสถานี ใส่ในหลอดที่มี Alkaline Peptone Water ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด

3.2.7.4 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.2.7.5 นำลูบเขี่ยเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ APW ที่มีการเจริญของเชื้อ ขีดแยกเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS (Streak Plate)

3.2.7.6 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.2.7.7 สังเกตลักษณะโคโลนีที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นเลือกลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียสกุล Vibrio ซึ่งจะมีสีเขียวหรือเหลือง โคโลนีกลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ

3.2.7.8 นำเชื้อที่มีลักษณะดังกล่าวขีดแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ T_1N_1 agar ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

3.2.7.9 นำเชื้อที่แยกได้ไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆ เพื่อยืนยันว่าเป็น *Vibrio* spp. ได้แก่ การติดสีแกรมและลักษณะสัณฐานของเซลล์ การสร้างเอนไซม์ Cytochrome oxidase การเจริญในอาหาร TSI การเคลื่อนที่ การเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือความเข้มข้นต่าง ๆ การใช้กรดอะมิโน (Arginine, Lysine และ Ornithine) และยืนยันชนิดของเชื้อด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ด้วย API 20E จากนั้นจัดเก็บเชื้อที่แยกได้ที่อุณหภูมิ - 70 องศาเซลเซียส และอาหาร CTA ที่ปราศจากน้ำตาล

3.2.7.10 รายงานผลโดยการนับจำนวนหลอดของแต่ละความเข้มข้นที่มีเชื้อเจริญและตรวจสอบยืนยันแล้วว่าเป็น *Vibrio* spp. แล้ว นำไปอ่านค่า MPN จากตารางแปลผล MPN 5:5:5 (FDA, 2004) รายงานผลเป็น MPN/100 mL ของตัวอย่าง

3.2.8. การตรวจหาอุบัติการณ์ของ Vibrio* spp. *ในประชากรหอยนางรม (FDA, 2004)

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างหอยนางรม โดยทำการตรวจหาอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ในประชากรหอยนางรมด้วยวิธีการเพาะเชื้อ และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีด้วยวิธี conventional biochemical test และทดสอบยืนยันด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป API 20E โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

3.2.8.1 นำตัวอย่างหอยนางรมมาทำความสะอาดโคลนและเพรียงที่ติดตามเปลือกหอยนางรมออก

3.2.8.2 ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เช็ดทำความสะอาดบริเวณรอยหยักรอบ ๆ ปากหอยนางรม จากนั้นทำการเปิดฝาหอยนางรมด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ และเก็บเฉพาะเนื้อหอย ป้ายลงบนจานเพาะเชื้อที่บรรจุอาหาร TCBS โดยตรง (Direct plate) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.2.8.3 นำส่วนเนื้อหอยที่เหลือใส่ลงในขวดแก้วบรรจุอาหาร APW (Enrichment broth) ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ต่อจากนั้นถ่ายเชื้อลงบนอาหาร TCBS นำไปบ่มที่บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.2.8.4 คัดเลือกโคโลนีที่เจริญบนอาหาร TCBS ทั้งชนิดที่หมักย่อยและไม่หมักย่อยน้ำตาลซูโครส นำมาทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Vibrio* spp. ตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual, US FDA โดยทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเช่นเดียวกันกับข้อ 3.2.7.9 และจัดเก็บเชื้อที่แยกได้ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส และอาหาร CTA ที่ปราศจากน้ำตาล

3.2.8.5 รายงานผลอุบัติการณ์ของเชื้อ Vibrio เป็นร้อยละของจำนวนตัวอย่างที่พบต่อจำนวนตัวอย่างหอยนางรมทั้งหมดของแต่ละเดือน (% อุบัติการณ์)

3.2.9. การวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของเชื้อ Vibrio* spp. *จากตัวอย่างหอยนางรมด้วยวิธี MPN (3-tube MPN) (FDA, 2004)

3.2.9.1 แกะตัวอย่างหอยนางรมโดยวิธีปลอดเชื้อ และแบ่งตัวอย่างหอยนางรมแบบสุ่มเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 3 ตัวอย่าง

3.2.9.2 ชั่งตัวอย่างหอยนางรมแต่ละตัวอย่างๆ ละ 25 กรัม (หอยนางรมประมาณ 12 ตัว) จากนั้นตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ด้วยกรรไกรที่ปราศจากเชื้อ เติมสารละลาย Phosphate Buffer Saline (PBS) ปริมาตรเท่ากัน นำไปตีผสมด้วยเครื่องตีปั่นตัวอย่างให้ละเอียดด้วยความเร็วสูง เป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจางที่ 10^{-1}

3.2.9.3 เจือจางตัวอย่างในข้อ 3.2.9.2 ให้มีระดับความเจือจางลดลงครั้งละ 10 เท่าด้วยสารละลาย PBS ที่มีปริมาตรหลอดละ 9 มิลลิลิตร ให้ได้ตัวอย่างหอยนางรมที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3} ตามลำดับ

3.2.9.4 ปิเปตตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น ๆ ละ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มี APW 10 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 หลอด ตามลำดับ

3.2.9.5 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.2.9.6 บันทึกจำนวนหลอดทดสอบที่มีการเจริญ และถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ APW ที่มีการเจริญของเชื้อ ขีดแยกเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS

3.2.9.7 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.2.9.8 บันทึกจำนวนหลอดทดสอบในข้อ 3.2.9.6 ที่มีการเจริญของเชื้อบน TCBS ซึ่งคาดว่าจะโคโลนีของแบคทีเรียสกุล Vibrio (โคโลนีกลม ขอบเรียบ มีสีเขียวหรือเหลือง)

3.2.9.9 นำเชื้อที่มีลักษณะดังกล่าวขีดแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ T_1N_1 agar ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเช่นเดียวกันกับข้อ 3.2.7.9 และจัดเก็บเชื้อที่แยกได้ที่อุณหภูมิ - 70 องศาเซลเซียส และอาหาร CTA ที่ปราศจากน้ำตาล

3.2.9.10 การรายงานผลโดยการนับจำนวนหลอดของแต่ละความเข้มข้นที่ตรวจพบ *Vibrio* spp. แล้วนำจำนวนหลอดไปเปิดเทียบกับตาราง MPN 3:3:3 รายงานผลเป็น MPN/g ของตัวอย่าง (FDA, 2004)

3.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรค (Virulence factor)

การตรวจวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อการก่อโรคของแบคทีเรียในสกุล Vibrio โดยการตรวจวิเคราะห์แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะ และตรวจวิเคราะห์ปัจจัยของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส), ความเค็ม (2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และ ความเป็นกรด - ด่าง (7.5, 8.0 และ 8.5) ต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) การสร้างไบโอฟิล์ม (Biofilm) และการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของเชื้อในกลุ่มนี้

3.3.1. การตรวจสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่ตรวจพบบางไอโซเลท

ทำการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่รวบรวมได้ โดยคัดเลือกตัวแทนของแบคทีเรียในสกุล Vibrio แต่ละชนิด ๆ ละ 25 - 30 ไอโซเลท นำมาใช้ในการทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion (Hanan, 2006 citing CLSI (M45-P), 2006) ตามมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะกลุ่มต่าง ๆ โดยเฉพาะกลุ่ม β-lactamase ซึ่งพิจารณาจากขนาดเส้นผ่าน

ศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เพื่อนำมาทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ในขั้นตอนต่อไป ซึ่งการตรวจสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในสกุล Vibrio มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.3.1.1 เตรียมเชื้อทดสอบ

3.3.1.1.1 นำแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบจาก Stock Solution ที่เก็บในอาหาร CTA มาเลี้ยงในอาหาร TSA ที่เติม 2 % โซเดียมคลอไรด์ โดยวิธีการขีดเชื้อลงผิวหน้าอาหารแข็ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.3.1.1.2 เลือกโคโลนีเดี่ยวมา 5 - 7 โคโลนี เพาะลงในอาหาร TSB ที่เติม 2 % โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 - 4 ชั่วโมง

3.3.1.1.3 นำสารแขวนลอยเชื้อในข้อ 3.3.1.1.2 มาปรับปริมาณเชื้อให้ได้ 1.5×10^{8} เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 0.5

3.3.1.2 ทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio

3.3.1.2.1 ใช้ไม้พันสำลีเบอร์ M ที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงในสารแขวนลอยเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 3.2.11.1 บิดพอหมาดแล้วนำมาป้ายให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ในแนว 3 ระนาบและตั้งทิ้งไว้สักครู่ แต่ไม่เกิน 15 นาที

3.3.1.2.2 คีบแผ่นดิสก์ยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ได้แก่ Ampicillin (AM-10), Cefotaxime (CTX-30), Cefoxitin (CX-30), Chloramphenicol (C-30), Ciprofloxacin (CIP-5), Norfloxacin (NX-10), Sulphamethoxazole-Trimethoprim (Co-trimethoprim; COT-23.75 + 1.25) และ Tetracycline (TE-30) วางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วกดเบา ๆ ให้แผ่นดิสก์ยาปฏิชีวนะดังกล่าวแนบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ตามลำดับ

3.3.1.2.3 นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่บรรจุแผ่นดิสก์ยาปฏิชีวนะจากข้อ 3.3.1.2.2 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.3.1.3 การอ่านผล

ตรวจสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิด โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่บริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone Diameter) มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร นำไปแปลผลตามตารางมาตรฐานการแปลผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ของ CLSI โดยในการทดสอบจะใช้ *E. coli* ATCC 25922 เป็นเชื้อมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพของระบบการทดสอบ

3.3.2. การตรวจวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio (Calbiochem, 2006)

การทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase โดยคัดเลือกแบคทีเรียทดสอบจากข้อมูลเบื้องต้นที่ได้จากการทดสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะซึ่งให้ผลดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β-lactam สูงที่สุดคือ *V. alginolyticus* จำนวน 1 ไอโซเลท เพื่อดูประสิทธิภาพการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ในสภาวะต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7.5, 8.0 และ 8.5) ด้วยวิธี Spectrophoto-metric assay โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.3.2.1 เตรียมเชื้อทดสอบ

3.3.2.1.1 นำแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบจาก Stock Solution ที่เก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ CTA มาเลี้ยงในอาหาร TSA ที่เติม 2 % โซเดียมคลอไรด์ โดยวิธีการขีดเชื้อลงผิวหน้าอาหารแข็ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.3.2.1.2 เลือกโคโลนีเดี่ยวมา 5 - 7 โคโลนี เพาะลงในอาหาร TSB ที่เติม 1.5 % โซเดียมคลอไรด์ ที่ความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 7.5 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 - 4 ชั่วโมง

3.3.2.1.3 นำสารแขวนลอยเชื้อในข้อ 3.3.2.1.2 มาปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้ปริมาณ 12×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 4

3.3.2.2 ทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio

3.3.2.2.1 เจือจางสารละลายยาปฏิชีวนะ Nitrocefin เข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ลงครั้งละ10 เท่า (10-fold dilution) ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (0.1 โมล PBS; 1 มิลลิโมล EDTA, ความเป็นกรด - ด่าง 7)

3.3.2.2.2 ปิเปตสารแขวนลอยเชื้อในข้อ 3.3.2.1 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในถาดหลุมพลาสติก 96 well microtiter plate จากนั้นหยดสารละลายยาปฏิชีวนะ Nitrocefin ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงไปและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

3.3.2.2.3 การทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase จะทำการทดสอบที่สภาวะต่าง ๆ ควบคู่กัน ได้แก่ อุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส), ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และ ความเป็นกรด - ด่าง (7.5, 8.0 และ 8.5)

3.3.2.3 การอ่านผล

นำ microtiter plate ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 486 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader ซึ่งวัดการดูดกลืนแสงของสีส้มที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างเชื้อทดสอบกับยาปฏิชีวนะ nitrocepfin ถ้าให้สีส้มเข้มแสดงว่าเชื้อทดสอบมีการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ในปริมาณสูง โดยใช้เชื้อ *S. aureus* ATCC 43300 ใช้เป็นชุดควบคุมบวก และเชื้อ *V. alginolyticus* ที่ไม่ดื้อต่อยา ampicillin เป็นชุดควบคุมลบ

3.3.3. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการสลายเม็ดเลือดแดงของแบคทีเรียในสกุล Vibrio (Manns, Mosser & Buckley, 1994)

การทดสอบการสลายเม็ดเลือดแดงของแบคทีเรียในสกุล Vibrio โดยสุ่มเลือก *V. parahaemolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท ทดสอบโดยวิธีเพาะเลี้ยงบนอาหาร Blood agar ภายใต้สภาวะของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2.5 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7 และ 8) ที่แตกต่างกัน และตรวจสอบการเกิดบริเวณที่มีการสลายเม็ดเลือดแดง

3.3.3.1 เตรียมเชื้อทดสอบ

3.3.3.1.1 นำแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบจาก Stock Solution ที่เก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ CTA มาเลี้ยงในอาหาร TSA ที่เติม 2 % โซเดียมคลอไรด์ โดยวิธีการขีดเชื้อลงผิวหน้าอาหารแข็ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.3.3.1.2 เลือกโคโลนีเดี่ยวมา 5 - 7 โคโลนี เพาะลงในอาหาร TSB ที่เติม 2 % โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 - 4 ชั่วโมง

3.3.3.1.3 นำสารแขวนลอยเชื้อในข้อ 3.3.3.1.2 มาปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้ปริมาณ 1.5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 0.5

3.3.3.2 ทดสอบการสลายเม็ดเลือดแดงของแบคทีเรียในสกุล Vibrio

3.3.3.2.1 ปิเปตสารแขวนลอยเชื้อในข้อ 3.3.3.1 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood agar ที่เติม 1.5 % โซเดียมคลอไรด์ ที่ความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 7

3.3.3.2.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 % เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.3.3.2.3 การทดสอบความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงทุกครั้งจะทำ

การทดสอบที่สภาวะต่าง ๆ ควบคู่กันทั้งการทดสอบทุกครั้ง ได้แก่ อุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2.5 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และ ความเป็นกรด-ด่าง (7 และ 8)

3.3.3.3 การอ่านผล

ตรวจสอบการสร้าง hemolysin ของเชื้อแต่ละไอโซเลท โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (Ø) ของ hemolytic zone รอบโคโลนีของเชื้อ มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร จากนั้นคำนวณกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ (Relative hemolytic activity) เป็นร้อยละโดยเปรียบเทียบกับขนาดของโคโลนี ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{Relative hemolytic activity (\%)} = \frac{(\text{ขนาด Ø hemolytic zone} - \text{ขนาด Ø โคโลนี}) \times 100}{\text{ขนาด Ø โคโลนี}}$$

3.3.4. การตรวจวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการสร้างไบโอฟิล์มของ Vibrio spp. (Merrit, Kadouri & Toole, 2005)

ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างของแบคทีเรียในสกุล Vibrio โดยสุ่มเลือกแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบที่เป็นตัวแทนของแต่ละชนิด ภายใต้สภาวะของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส), ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7.5, 8.0 และ 8.5) ที่แตกต่างกัน และตรวจวัดโดยการติดสีย้อม crystal violet โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.3.4.1 เตรียมเชื้อทดสอบ

3.3.4.1.1 นำแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบจาก Stock Stock Solution ที่เก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ CTA มาเลี้ยงในอาหาร TSA ที่เติม 2 % โซเดียมคลอไรด์ โดยวิธีการขีดเชื้อลงผิวหน้าอาหารแข็ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3.3.4.1.2 เลือกโคโลนีเดี่ยวมา 5 - 7 โคโลนี เพาะลงในอาหาร TSB ที่เติม 2 % โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 - 4 ชั่วโมง

3.3.4.1.3 นำสารแขวนลอยเชื้อในข้อ 3.3.4.1.2 มาปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้ปริมาณ 12×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 4

3.3.4.2 ทดสอบการสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรียในสกุล Vibrio

3.3.4.2.1 ปิเปตสารแขวนลอยเชื้อปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในถาดหลุมพลาสติก 96 well microtiter plate ที่มีอาหาร TSB ที่เติม 1.5 % โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 180 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

3.3.4.2.2 นำ microtiter plate ที่บ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มาตรวจสอบการปริมาณมวลชีวภาพทั้งหมดของเซลล์ โดยนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร กำหนดให้เป็นค่าดูดกลืนแสงของมวลชีวภาพทั้งหมด ($OD_{biomass}$)

3.3.4.2.3 นำ microtiter plate ที่วัดค่าดูดกลืนแสงของเซลล์ในข้อ 3.3.4.2.2 นำมาวัดปริมาณเซลล์ที่สร้างไบโอฟิล์ม โดยดูดน้ำเลี้ยงเชื้อออกจากหลุมทดสอบให้หมดและล้างเซลล์แบคทีเรียที่ไม่เกาะติดผิวหน้าพลาสติกออกด้วย 0.85 % โซเดียมคลอไรด์ (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

3.3.4.2.4 เติมสารละลาย 0.1 % crystal violet ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ล้างสีออกด้วยน้ำ 3 ครั้ง ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.3.4.2.5 เติม 30 % acetic acid ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ในแต่ละหลุมทดสอบเพื่อละลายสี crystal violet ตั้งทิ้งไว้นาน 10 - 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นดูดสารละลาย crystal violet ออกจาก microtiter plate เดิม ถ่ายลงใน microtiter plate อันใหม่

3.3.4.2.6 นำสารละลาย crystal violet ในข้อ 3.3.4.2.5 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

3.3.4.2.7 การทดสอบความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มทุกครั้งจะทำการทดสอบที่สภาวะต่าง ๆ ควบคู่กันทั้งการทดสอบทุกครั้ง ได้แก่ อุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7.5, 8.0 และ 8.5) โดยใช้เชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ใช้เป็นชุดควบคุมบวก

3.3.4.3 การอ่านผล

คำนวณปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่อยู่ในรูปไบโอฟิล์มเปรียบเทียบกับปริมาณเซลล์แบคทีเรียทั้งหมด รายงานเป็นร้อยละของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ (Relative biofilm formation) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{Relative biofilm formation (\%)} = \frac{(\text{ค่า OD ของเซลล์ที่ย้อม crystal violet}) \times 100}{(\text{ค่า OD ปริมาณมวลชีวภาพทั้งหมดของเซลล์})}$$

3.3.5. การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิจัย

3.3.5.1 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปัจจัยสิ่งแวดล้อมแต่ละชนิดที่ตรวจวัดได้ในแต่ละสถานีและแต่ละเดือนด้วย one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (*p*-value = 0.05) โดยวิเคราะห์จากโปรแกรม SPSS Statistics version 16

3.3.5.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ด้วยวิธี Pearson โดยวิเคราะห์จากโปรแกรม SPSS Statistics version 16

3.3.5.3 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์และปริมาณของแบคทีเรียก่อโรคในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ด้วยวิธี Pearson

3.3.5.4 วิเคราะห์ความแตกต่างของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง ของการเจริญต่อความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase การสลายเม็ดเลือดแดง และการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม ด้วยวิธี one way ANOVA และ Paired Samples T-Test ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 โดยวิเคราะห์จากโปรแกรม SPSS Statistics version 16

บทที่ 4
ผลการวิจัย

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของน้ำทะเลต่อปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. ในตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม โดยสถานีเก็บตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และทำการศึกษาแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่แยกได้บางไอโซเลท ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสร้างปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคของ Vibrio บางไอโซเลท ได้แก่ การสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase การสลายเม็ดเลือดแดง และการสร้างไบโอฟิล์ม ได้ผลการศึกษาดังต่อไปนี้

4.1 คุณภาพของปัจจัยสิ่งแวดล้อมในน้ำทะเลรายเดือน ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2555

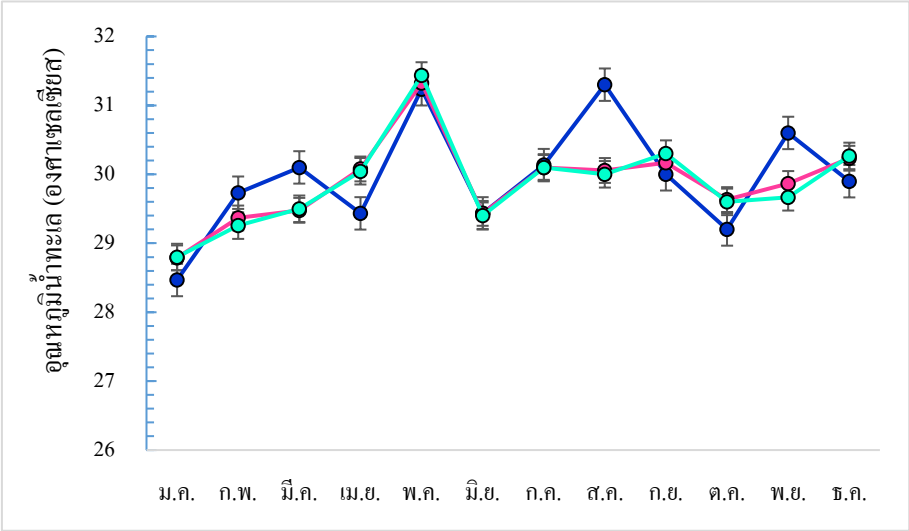
คุณภาพของปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ ในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งอ่างศิลา เก็บข้อมูลภาคสนามและเก็บตัวอย่างน้ำทะเลจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี ๆ ละ 3 จุดเก็บตัวอย่าง ได้แก่ สถานีใกล้ฝั่ง (บริเวณชายฝั่งติดกับชุมชน) สถานีกระชังหอย (ห่างจากฝั่งประมาณ 1.20 กิโลเมตร) และสถานีไกลฝั่ง (ห่างจากฝั่งประมาณ 1.30 กิโลเมตร) โดยปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเลที่ทำการตรวจวิเคราะห์ในการศึกษานี้ ได้แก่ ความลึก ความโปร่งแสง อุณหภูมิน้ำทะเล ความเค็มของน้ำทะเล ความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้า ออกซิเจนละลายน้ำ ค่าบีโอดี ปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งหมด และปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

4.2.1. ความลึกและความโปร่งแสง

การเก็บข้อมูลภาคสนามบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี พบว่าความลึกเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเลในสถานีใกล้ฝั่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.00 - 1.80 เมตร สถานีกระชังหอยมีค่าอยู่ในช่วง 3.00 - 4.60 เมตร และสถานีไกลฝั่งมีความลึกอยู่ในช่วง 3.17 - 4.80 เมตร ในขณะที่ค่าความโปร่งแสงเฉลี่ยรายเดือนของสถานีใกล้ฝั่ง สถานีกระชังหอย และสถานีไกลฝั่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.00 - 1.50, 0.20 - 3.00 และ 0.15 - 3.20 เมตร ตามลำดับ ดังรายละเอียดในภาคผนวก ดังตาราง ก-3

4.2.2. อุณหภูมิน้ำทะเล

ผลการตรวจวัดอุณหภูมิน้ำทะเลในเขตเพาะเลี้ยงหอยนางรมชายฝั่งอ่างศิลาจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี พบว่าในช่วงเดือนมกราคมน้ำทะเลมีอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำที่สุดบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง และอุณภูมิสูงที่สุดตรวจพบที่บริเวณสถานีไกลฝั่งในเดือนพฤษภาคม โดยมีค่าเฉลี่ยต่ำสุด - สูงสุด อยู่ในช่วง 28.7 ± 0.19 - 31.3 ± 0.10 องศาเซลเซียส (ตารางภาคผนวก ก-2, ภาพที่ 4-1) ซึ่งจากข้อมูลของอุณหภูมิน้ำทะเลจะเห็นได้ว่าในปี พ.ศ. 2555 อุณหภูมิของน้ำทะเลในแต่ละเดือนมีความผันแปรไม่มากนัก โดยผลต่างระหว่างอุณหภูมิสูงสุดและอุณหภูมิต่ำสุดในรอบปีของน้ำทะเลบริเวณอ่างศิลามีค่าเท่ากับ 2.6 องศาเซลเซียส เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิน้ำทะเลในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าอุณหภูมิน้ำทะเลในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-3) แต่อุณหภูมิน้ำทะเลในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางภาคผนวก ก-4)



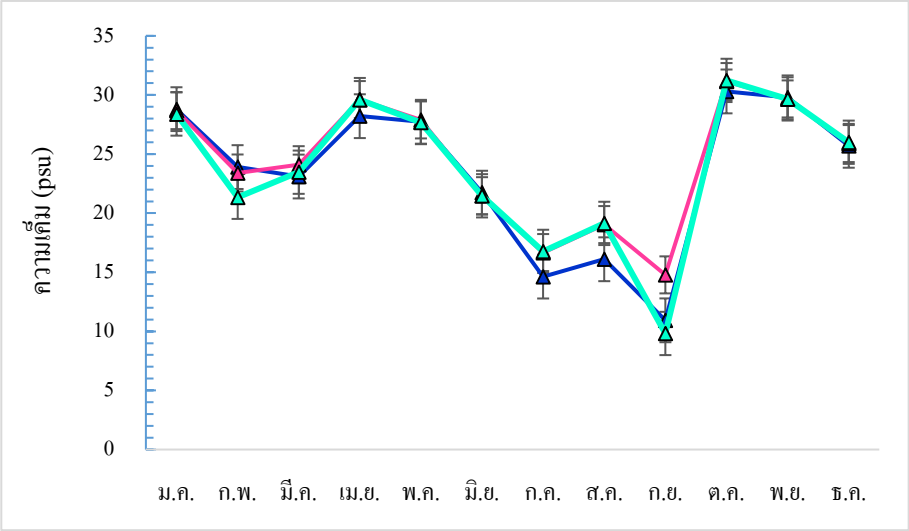
ภาพที่ 4-1 เปรียบเทียบอุณหภูมิน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง (—●—), กระชังหอย (—●—) และไกลฝั่ง (—●—)

การศึกษาเปรียบเทียบอุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุดของน้ำทะเลชายฝั่งตะวันออกในเขตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ บริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ระหว่างปีที่ทำการศึกษา (พ.ศ. 2555) และรายงานในอดีตของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา (2556) ระหว่างปี พ.ศ. 2535 ถึง พ.ศ. 2554 (ตารางภาคผนวก ก-2) พบว่าอุณหภูมิต่ำสุดในปีที่ทำการศึกษามีค่าเท่ากับ 28.7 องศาเซลเซียส

ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิต่ำสุด (26.4 องศาเซลเซียส) ที่มีรายงานในอดีต ประมาณ 2.3 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิสูงสุดในปีที่ทำการศึกษามีค่าเท่ากับ 31.3 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิสูงสุด (31.7 องศาเซลเซียส) ที่มีรายงานในอดีต ประมาณ 0.4 องศาเซลเซียส

4.2.3 ความเค็มของน้ำทะเล

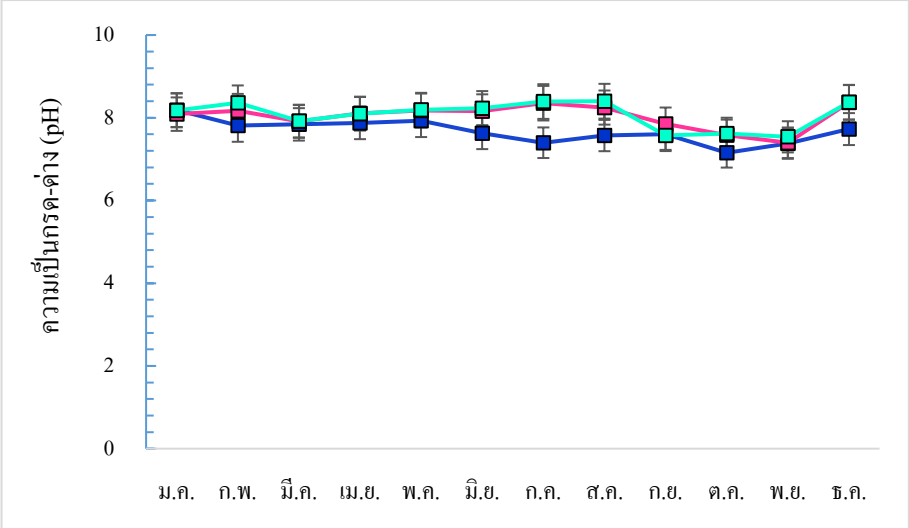
จากข้อมูลความเค็มเฉลี่ยรวมรายเดือนพบว่าสถานีกระชังหอยมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือสถานีไกลฝั่งและสถานีใกล้ฝั่งมีค่าต่ำสุด เท่ากับ 24.40 ± 5.40, 23.70 ± 6.30 และ 23.40 ± 6.40 psu ตามลำดับ ซึ่งค่าต่ำสุดตรวจพบในเดือนกันยายนจากทั้ง 3 สถานี และพบค่าสูงสุดเดือนในตุลาคมตรวจพบจากทั้ง 3 สถานีเช่นเดียวกัน (ตารางภาคผนวก ก-7, ภาพที่ 4-2) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างของความเค็มแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าความเค็มในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-8) แต่ความเค็มในแต่ละสถานีไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางภาคผนวก ก-9)



ภาพที่ 4-2 เปรียบเทียบความเค็มของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง (—▲—), กระชังหอย (—▲—) และไกลฝั่ง (—▲—)

4.2. 4 ความเป็นกรด - ด่างของน้ำทะเล

ความเป็นกรด - ด่างของน้ำทะเล พบค่าสูงสุดบริเวณสถานีไกลฝั่ง รองลงมาคือสถานีกระชังหอย และต่ำสุดที่สถานีใกล้ฝั่ง มีค่าเฉลี่ยรวมเท่ากับ 8.08 ± 0.09, 8.05 ± 0.06 และ 7.67 ± 0.04 ตามลำดับ ซึ่งพบค่าเฉลี่ยต่ำที่สุดในเดือนตุลาคมจากสถานีใกล้ฝั่ง เท่ากับ 7.20 ± 0.06 และพบค่าสูงสุดในเดือนกรกฎาคมบริเวณสถานีกระชังหอยและสถานีไกลฝั่ง มีค่าเท่ากันทั้งสองสถานี เท่ากับ 8.4 ± 0.03 (ตารางภาคผนวก ก-10, ภาพที่ 4-3) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าความเป็นกรด - ด่างในแต่ละเดือนและแต่ละสถานีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-11 และตารางภาคผนวก ก-12)

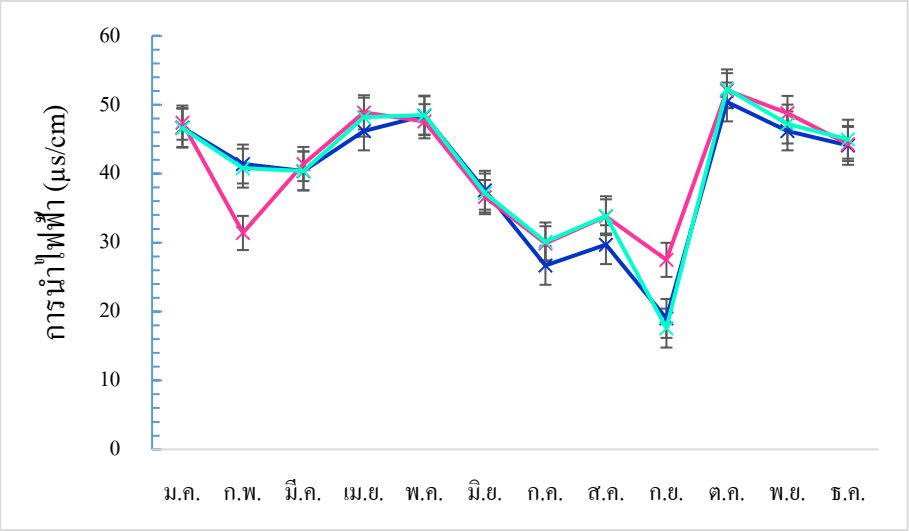


ภาพที่ 4-3 เปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง (▪), กระชังหอย (▪) และไกลฝั่ง (▪)

4.2.5 ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำทะเล

ค่าการนำไฟฟ้าเฉลี่ยรวมรายเดือนบริเวณสถานีกระชังหอยมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือสถานีไกลฝั่ง และสถานีใกล้ฝั่งมีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 40.81 ± 1.72, 40.65 ± 0.91 และ 39.73 ± 0.41 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งค่าต่ำสุดตรวจพบในเดือนมกราคมบริเวณสถานีใกล้ฝั่งมีค่า 46.7 ± 1.78 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร และค่ามากที่สุดพบในเดือนตุลาคมจากสถานีกระชังหอยและไกลฝั่ง มีค่าประมาณ 52 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร (ตารางภาคผนวก ก-13, ภาพที่ 4-4)

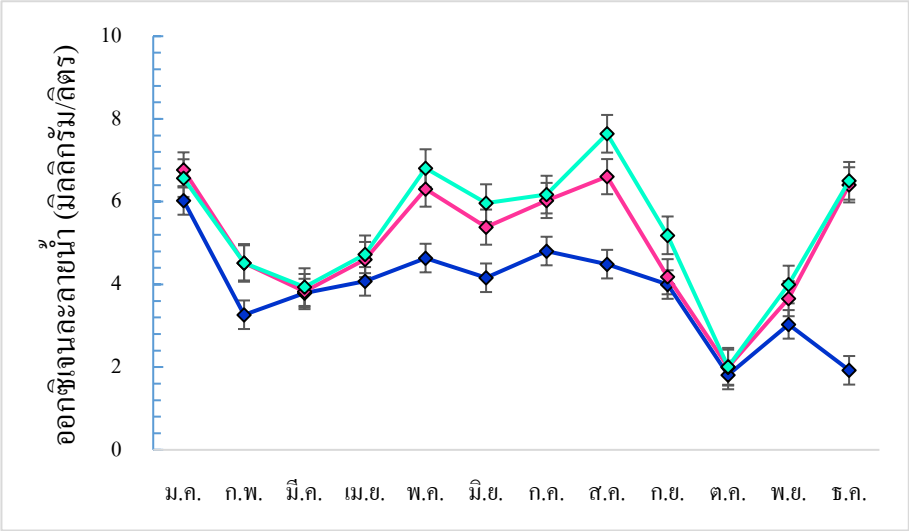
เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าการนำไฟฟ้าแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างของค่าการนำไฟฟ้าในแต่ละสถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าค่าการนำไฟฟ้าในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-14) แต่ค่าการนำไฟฟ้าในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางภาคผนวก ก-15)



ภาพที่ 4-4 เปรียบเทียบค่าการนำไฟฟ้าของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง (—), กระชังหอย (—) และไกลฝั่ง (—)

4.2.6 ออกซิเจนละลายน้ำของน้ำทะเล

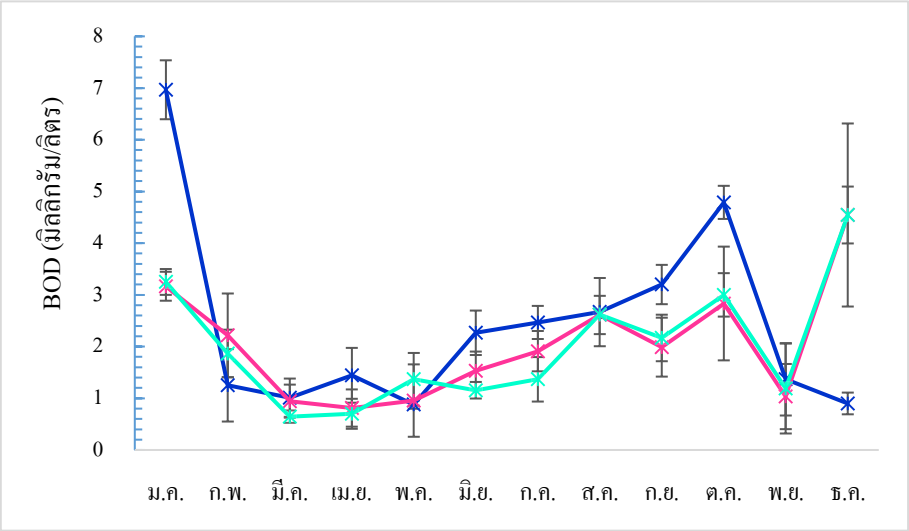
ออกซิเจนละลายน้ำมีค่าเฉลี่ยรวมตลอดปีสูงสุดบริเวณสถานีไกลฝั่ง รองลงมาคือสถานีกระชังหอย และมีค่าต่ำสุดที่สถานีใกล้ฝั่ง มีค่าเท่ากับ 6.5 ± 0.23, 6.4 ± 0.11 และ 3.83 ± 0.14 มิลลกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งพบค่าต่ำสุดในเดือนเมษายนบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง (5.27 มิลลิกรัมต่อลิตร) และมีค่าสูงสุดในเดือนธันวาคมบริเวณสถานีไกลฝั่ง (7.6 ± 0.14 มิลลิกรัมต่อลิตร) (ตารางภาคผนวก ก-16, ภาพที่ 4-5) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าออกซิเจนละลายน้ำในแต่ละเดือน และความแตกต่างของค่าออกซิเจนละลายน้ำในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่าง โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าค่าออกซิเจนละลายน้ำในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-17) แต่ค่าออกซิเจนละลายน้ำในแต่ละสถานีไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางภาคผนวก ก-18)



ภาพที่ 4-5 เปรียบเทียบออกซิเจนละลายน้ำของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง (—◆—), กระชังหอย (—◆—) และไกลฝั่ง (—◆—)

4.2.7 ค่าบีโอดีของน้ำทะเล

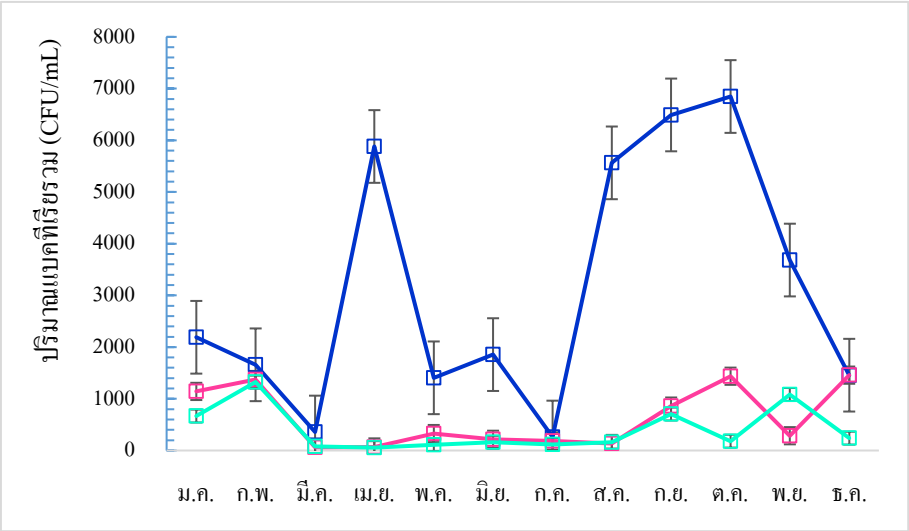
การตรวจวิเคราะห์ค่าบีโอดีเฉลี่ยรวมรายเดือนของน้ำทะเลพบค่าสูงสุดบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง รองลงมาคือสถานีกระชังหอย และสถานีไกลฝั่งมีค่าต่ำสุด มีค่าเท่ากับ 2.44 ± 0.44, 2.04 ± 0.64 และ 1.99 ± 0.38 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งพบค่าต่ำสุดในเดือนมีนาคมบริเวณสถานีไกลฝั่ง เท่ากับ 0.64 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าสูงสุดพบเดือนมกราคมในสถานีใกล้ฝั่ง เท่ากับ 6.97 ± 0.57 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางภาคผนวก ก-19, ภาพที่ 4-6) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าบีโอดีในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างของค่าบีโอดีในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าค่าบีโอดีในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-20) แต่ค่าบีโอดีในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางภาคผนวก ก-21)



ภาพที่ 4-6 เปรียบเทียบค่าบีโอดีของน้ำทะเลรายเดือนจากสถานีเก็บบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง (✳), กระชังหอย (✳) และไกลฝั่ง (✳)

4.1.8 ปริมาณแบคทีเรียรวมจากตัวอย่างน้ำทะเล

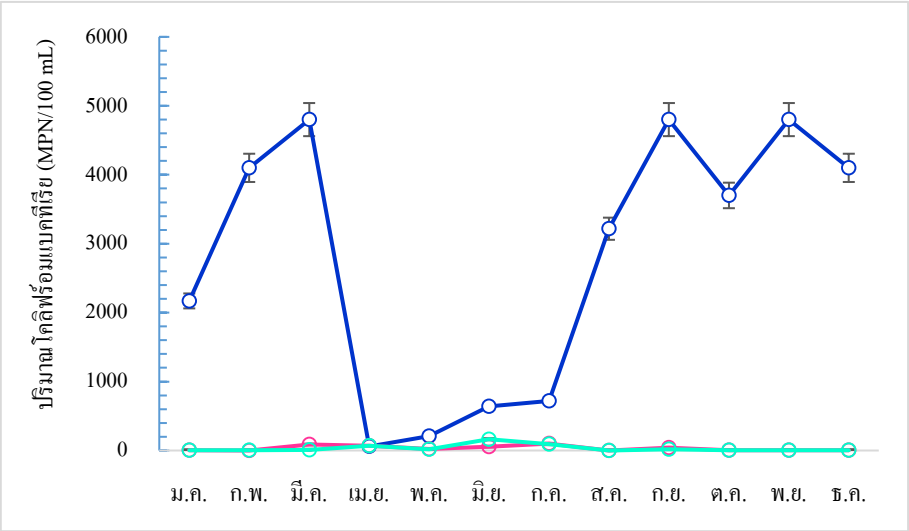
ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียในกลุ่ม aerobic heterotroph ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณเขตเพาะเลี้ยงหอยนางรมชายฝั่งอ่างศิลา พบว่าตัวอย่างน้ำทะเลที่เก็บจากสถานีใกล้ฝั่งมีปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งหมดปนเปื้อนอยู่ในช่วง 7.90×10^{1} - 5.60×10^{3} CFU/mL โดยน้ำทะเลบริเวณสถานีใกล้ฝั่งจำนวน 12 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดสูงมากกว่า 1.0×10^{3} CFU/mL คิดเป็นร้อยละ 33.3 ของตัวอย่างน้ำทะเลที่ศึกษาทั้งหมด (n = 36) ซึ่งตัวอย่างดังกล่าวเป็นน้ำทะเลที่เก็บในเดือนเมษายน (3 ตัวอย่าง) มิถุนายน (1 ตัวอย่าง) สิงหาคม (3 ตัวอย่าง) กันยายน (1 ตัวอย่าง) ตุลาคม (3 ตัวอย่าง) และพฤศจิกายน (1 ตัวอย่าง) สำหรับตัวอย่างน้ำทะเลที่เก็บจากบริเวณสถานีกระชังหอยนางรมเกือบทั้งหมด (ยกเว้นตัวอย่างที่เก็บในเดือนธันวาคม จำนวน 1 ตัวอย่าง) และตัวอย่างน้ำทะเลที่เก็บจากบริเวณสถานีไกลฝั่งทั้งหมดมีปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งหมดปนเปื้อนไม่เกิน 1.0×10^{3} CFU/mL (ตารางภาคผนวก ก-22, ภาพที่ 4-7)



ภาพที่ 4-7 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียรวม (CFU/mL) ของน้ำทะเลจากสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง (-□-), กระชังหอย (-□-) และไกลฝั่ง (-□-)

4.1.2.9 ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำทะเล

ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดของตัวอย่างน้ำทะเลจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี พบว่าน้ำทะเลบริเวณสถานีใกล้ฝั่งมีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียปนเปื้อนมากที่สุดโดยตรวจพบแบคทีเรียดังกล่าวในตัวอย่างน้ำทะเลทุกตัวอย่าง โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 13 - > 1,600 MPN/100 mL รองลงมาคือสถานีกระชังหอยและสถานีไกลฝั่ง ซึ่งพบว่าตัวอย่างน้ำทะเลส่วนใหญ่มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียปนเปื้อนต่ำกว่า 100 MPN/100 mL ยกเว้นเพียงตัวอย่างที่เก็บจากสถานีไกลฝั่ง ในเดือนมิถุนายนเพียงหนึ่งตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 130 MPN/100 mL (ตารางภาคผนวก ก-23) แผนภูมิเปรียบเทียบโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ถูกตรวจพบในตัวอย่างน้ำทะเลทุกตัวอย่างที่เก็บจากสถานีใกล้ฝั่ง สถานีกระชังหอยและสถานีไกลฝั่ง ในแต่ละเดือนระหว่างเดือนมกราคม - ธันวาคม พ.ศ. 2555 แสดงในภาพที่ 4-8



ภาพที่ 4-8 เปรียบเทียบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL) ของน้ำทะเลจากสถานีบริเวณอ่างศิลา 3 สถานี ได้แก่ ใกล้ฝั่ง (-o-), กระชังหอย (-o-) และไกลฝั่ง (-o-)

4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

4.2.1. ปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเล

การตรวจนับปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี ๆ ละ 3 ตัวอย่าง ได้แก่ สถานีใกล้ฝั่ง สถานีกระชังหอย และสถานีไกลฝั่ง พบว่าตลอดทั้งปีที่ทำการศึกษาสามารถตรวจแยกแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลได้ 6 ชนิด ได้แก่ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. mimicus* และ *V. fluvialis* ซึ่งปริมาณ *Vibrio* spp. รวมทั้งหมดตลอดปีมีค่าอยู่ในช่วง 2 - 14 MPN/100 mL โดยตรวจพบค่าสูงสุดบริเวณสถานีกระชังหอย ในเดือนเมษายนและพฤษภาคม (ตารางภาคผนวก ก-24) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *Vibrio* spp. รวมในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างของปริมาณ *Vibrio* spp. รวมในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้งสามสถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าปริมาณ *Vibrio* spp. รวมทั้งหมดในแต่ละเดือนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-25) เช่นเดียวกันกับปริมาณ *Vibrio* spp. รวมทั้งหมดของในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-26) ซึ่งการเปรียบเทียบปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในแต่ละเดือนของแต่ละสถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) แสดงดังภาพที่ 4-9 ภาพที่ 4-10 และภาพที่ 4-11 ตามลำดับ

ปริมาณ *V. cholerae* ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลาตลอดปีที่ทำการศึกษามีค่า MPN อยู่ในช่วง < 2 - 7 MPN/100 mL โดยพบว่าบริวณสถานีใกล้ฝั่ง ตรวจพบ *V. cholerae* ในช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม ในปริมาณไม่มากนัก มีค่า MPN อยู่ที่ 2 MPN/100 mL ขณะที่เดือนเมษายนตรวจพบปริมาณแบคทีเรียดังกล่าวมีค่า MPN สูงสุดของปริมาณ *V. cholerae* ในการศึกษานี้ มีค่าเท่ากับ 7 MPN/100 mL และในเดือนถัดมา (พฤษภาคม) พบว่ามีค่า MPN ลดลง เท่ากับ 2 MPN/100 mL ในช่วงเดือนมิถุนายน - เดือนกันยายน และเดือนพฤศจิกายน ไม่สามารถตรวจพบปริมาณของ *V. cholerae* จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีใกล้ฝั่งได้ สำหรับเดือนตุลาคมและเดือนธันวาคม มีค่า MPN ที่ตรวจพบได้ไม่เกิน 4 MPN/100 mL สำหรับตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอยสามารถตรวจพบปริมาณ *V. cholerae* ได้เพียงบางเดือนเท่านั้น ได้แก่ เดือนมกราคม มีนาคม เมษายน และตุลาคม โดยมีค่า MPN ไม่เกิน 4 MPN/100 mL และพบว่าบริเวณสถานีไกลฝั่งสามารถตรวจพบปริมาณแบคทีเรียดังกล่าวได้เพียง 2 เดือนคือเดือนเมษายนและพฤษภาคม ซึ่งมีค่า MPN ไม่เกิน 4 MPN/100 mL (ตารางภาคผนวก ก-27) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. cholerae* ในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างของปริมาณ *V. cholerae* ในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้งสามสถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าปริมาณ *V. cholerae* ในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-28) เช่นเดียวกันกับปริมาณ *V. cholerae* ของในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-29)

ปริมาณ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลตลอดปี มีค่า MPN อยู่ในช่วง < 2 - 6 MPN/100 mL พบปริมาณสูงสุดซึ่งแยกได้จากน้ำทะเลบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง ในเดือนกุมภาพันธ์ นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถตรวจพบ *V. parahaemolyticus* ได้ในเดือนมกราคม มีนาคม พฤษภาคม กรกฎาคม ตุลาคม และธันวาคม ในสถานีเดียวกัน ซึ่งมีค่าไม่เกิน 2 MPN/100 mL สำหรับตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอยตรวจแยก *V. parahaemolyticus* ได้เพียง 4 เดือน ได้แก่ เดือนกุมภาพันธ์ พฤษภาคม พฤศจิกายน และธันวาคม โดยมีค่า MPN สูงสุดที่ตรวจพบในเดือนพฤษภาคม เท่ากับ 4 MPN/100 mL ขณะที่ตัวอย่างน้ำทะเลจากสถานีไกลฝั่ง ตรวจแยกแบคทีเรียดังกล่าวได้จากเดือนกุมภาพันธ์ พฤษภาคม กรกฎาคม และธันวาคม มีค่า MPN เท่ากับ 2 MPN/100 mL (ตารางภาคผนวก ก-30) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. parahaemolyticus* ในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างของปริมาณ *V. parahaemolyticus* ในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้งสามสถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าปริมาณ *V. parahaemolyticus* ในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-31) เช่นเดียวกันกับปริมาณ *V. parahaenolyticus*

ของในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-32)

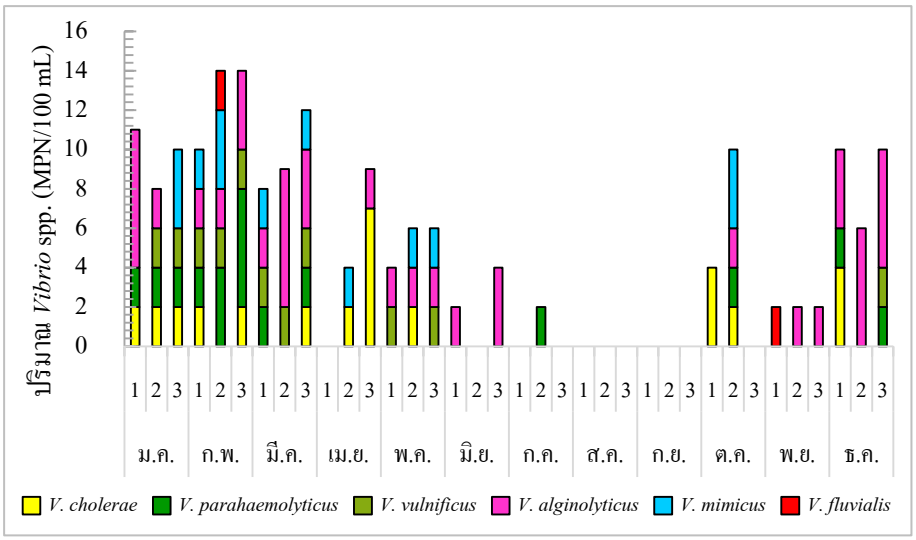
ปริมาณ *V. vulnificus* ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเล มีค่า MPN อยู่ในช่วง < 2 - 4 MPN/100 mL พบปริมาณสูงสุดจากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอย ในเดือนพฤษภาคม โดยสถานีกระชังหอยตรวจแยก *V. vulnificus* จากตัวอย่างน้ำทะเลได้เพียง 2 เดือน ได้แก่ เดือนพฤษภาคมและมิถุนายน สำหรับตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีไกลฝั่ง ตรวจพบแบคทีเรียดังกล่าวได้จากเดือนมีนาคมเท่านั้น มีค่า MPN เท่ากับ 2 MPN/100 mL ในขณะที่บริเวณสถานีใกล้ฝั่ง สามารถตรวจพบ *V. vulnificus* ได้จากตัวอย่างน้ำทะเล 5 เดือนของปีที่ทำการศึกษา ได้แก่ เดือนมกราคม กุมภาพันธ์ มีนาคม พฤษภาคม และธันวาคม ซึ่งค่า MPN ที่ตรวจวัดได้ในแต่ละเดือนมีค่า 2 MPN/100 mL (ตารางภาคผนวก ก-33) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. vulnificus* ในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้งสามสถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าปริมาณ *V. vulnificus* ในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-34) เช่นเดียวกันกับปริมาณ *V. vulnificus* ของในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-35)

ปริมาณ *V. alginolyticus* ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลมีค่า MPN อยู่ในช่วง < 2 - 13 MPN/100 mL ซึ่ง *V. alginolyticus* เป็นชนิดที่ตรวจพบได้มากที่สุดจากทั้ง 6 ชนิด ที่แยกได้จากการศึกษานี้ โดยตรวจพบปริมาณสูงสุดในบริเวณสถานีไกลฝั่ง ของเดือนมีนาคม นอกจากนี้ในบริเวณสถานีเก็บตัวอย่างเดียวกันยังตรวจแยกแบคทีเรียดังกล่าวได้จากตัวอย่างน้ำทะเลในเดือนกุมภาพันธ์ เมษายน พฤศจิกายน และธันวาคม มีค่า MPN อยู่ในช่วง < 2 - 6 MPN/100 mL ขณะที่บริเวณสถานีใกล้ฝั่ง มีค่า MPN อยู่ในช่วง < 2 - 7 MPN/100 mL ซึ่งตรวจพบได้จากเดือนมกราคม -มิถุนายน และเดือนตุลาคม - ธันวาคม แต่ไม่สามารถตรวจพบ *V. alginolyticus* ได้ในช่วงเดือนกรกฎาคม - เดือนกันยายน สำหรับตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอยสามารถตรวจพบ *V. alginolyticus* มีค่า MPN อยู่ในช่วง < 2 - 9 MPN/100 mL ตรวจวัดได้จากตัวอย่างน้ำทะเลของเดือนกุมภาพันธ์ - มิถุนายน และตุลาคม - ธันวาคม แต่ไม่สามารถตรวจพบได้ในเดือนกรกฎาคม - เดือนกันยายน (ตารางภาคผนวก ก-36) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. alginolyticus* ในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างของปริมาณ *V. alginolyticus* ในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้งสามสถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าปริมาณ *V. alginolyticus* ในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

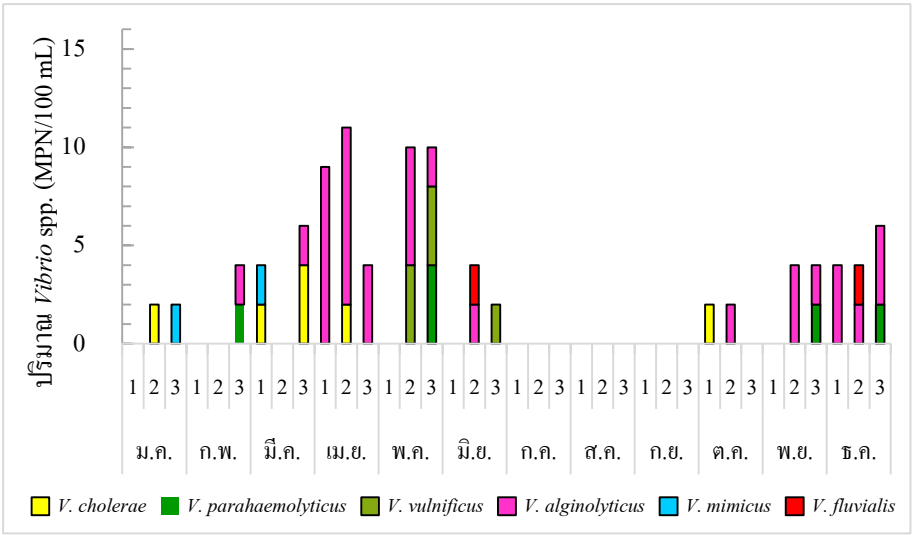
(ตารางภาคผนวก ก-37) แต่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างปริมาณ *V. alginolyticus* ในแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-38)

ปริมาณ *V. mimicus* มีค่า MPN อยู่ในช่วง < 2 - 4 MPN/100 mL พบปริมาณสูงสุดบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง ในเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และตุลาคม นอกจากนี้ในบริเวณสถานีเดียวกันยังตรวจพบแบคทีเรียชนิดดังกล่าวได้จากเดือนมีนาคม เมษายน และพฤษภาคม มีค่า MPN เท่ากับ 2 MPN/100 mL ขณะที่สถานีกระชังหอย (ช่วงเดือนมกราคมและมีนาคม) และสถานีไกลฝั่ง (ช่วงเดือนมีนาคม พฤษภาคม และกันยายน) ตรวจพบ *V. mimicus* ได้จากตัวอย่างน้ำทะเล โดยค่า MPN ที่ตรวจวัดได้จากทั้ง 2 สถานี เท่ากับ 2 MPN/100 mL (ตารางภาคผนวก ก-39) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. mimicus* ในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างของปริมาณ *V. mimicus* ในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้งสามสถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าปริมาณ *V. mimicus* ในแต่ละเดือนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-40) แต่มีความแตกต่างกันระหว่างปริมาณ *V. mimicus* ในแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-41)

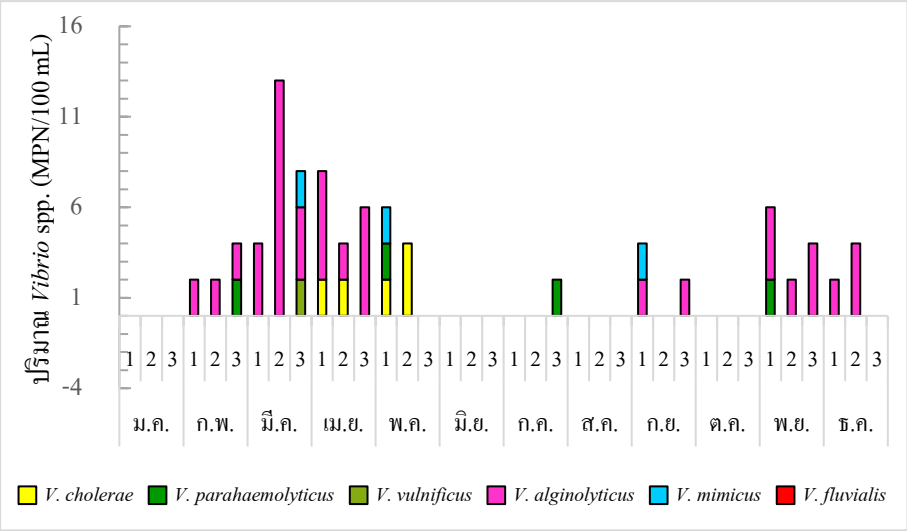
ปริมาณ *V. fluvialis* มีค่า MPN เท่ากับ < 2 MPN/100 mL ซึ่งตรวจพบเพียงบางเดือนเท่านั้น โดยตรวจพบบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง ในเดือนกุมภาพันธ์และพฤศจิกายน และบริเวณสถานีกระชังหอย ในเดือนมิถุนายนและธันวาคม (ตารางภาคผนวก ก-42) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. fluvialis* ในแต่ละเดือนทั้ง 12 เดือน และความแตกต่างของปริมาณ *V. fluvialis* ในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างทั้งสามสถานี โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าปริมาณ *V. fluvialis* ในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-43) แต่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างปริมาณ *V. fluvialis* ในแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-44)



ภาพที่ 4-9 เปรียบเทียบปริมาณและชนิด *Vibrio* spp. (MPN/100 mL) จากตัวอย่างน้ำทะเล แต่ละเดือนบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง (1; ตัวอย่างที่ 1, 2; ตัวอย่างที่ 2, 3; ตัวอย่างที่ 3)



ภาพที่ 4-10 เปรียบเทียบปริมาณและชนิด *Vibrio* spp. (MPN/100 mL) จากตัวอย่างน้ำทะเล แต่ละเดือนบริเวณสถานีกระชังหอย (1; ตัวอย่างที่ 1, 2; ตัวอย่างที่ 2, 3; ตัวอย่างที่ 3)



ภาพที่ 4-11 เปรียบเทียบปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. (MPN/100 mL) จากตัวอย่างน้ำทะเลแต่ละเดือนบริเวณสถานีไกลฝั่ง (1; ตัวอย่างที่ 1, 2; ตัวอย่างที่ 2, 3; ตัวอย่างที่ 3)

4.2.2. ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่างกับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลรายเดือนที่ตรวจวัดได้ ด้วยวิธี Pearson ซึ่งการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ในที่นี้ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ผู้วิจัยนำมาวิเคราะห์ ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิน้ำทะเล ความเค็ม ความเป็นกรด - ด่าง ออกซิเจนละลายน้ำ ค่าบีโอดีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและแบคทีเรียรวม รวมทั้งปริมาณธาตุอาหารอนินทรีย์ ได้แก่ ไนเตรท-ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (ชนะชัย บัณฑิต, 2555) (ตาราง ก-60 ถึง ตาราง ก-64) เนื่องจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างก่อนหน้านี้จะเห็นได้ว่าปัจจัยสิ่งแวดล้อมดังกล่าวให้ค่าความสัมพันธ์ที่น่าสนใจ ผู้วิจัยจึงนำเฉพาะปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่น่าสนใจและคาดว่าจะมีอิทธิพลต่อปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio เท่านั้นที่นำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ร่วมกับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ในน้ำทะเล และเนื่องจาก *V. fluvialis* ที่ตรวจพบมีปริมาณน้อยมาก จึงไม่นำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ วิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Pearson ของแต่ละสถานีเก็บตัวอย่าง ได้แก่ สถานีใกล้ฝั่ง สถานีกระชังหอย และสถานีไกลฝั่ง ซึ่งได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ของ Pearson แสดงดังตารางที่ 4-1 ตารางที่ 4-2 และตารางที่ 4-3 ตามลำดับ

ตารางที่ 4-1 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเล		ชนิดของแบคทีเรีย				
		V. cholerae	***V. parahaemolyticus***	***V. vulnificus***	***V. alginolyticus***	***V. mimicus***
ปริมาณน้ำฝน	Pearson Correlation	-0.392*	-0.441**	-0.409*	-0.524**	-0.254
	Sig. (2-tailed)	0.018	0.007	.013	0.001	0.134
อุณหภูมิน้ำทะเล	Pearson Correlation	-0.400*	-0.413*	-0.099	-0.282	-0.155
	Sig. (2-tailed)	0.016	0.012	0.565	0.096	0.367
ความเค็ม	Pearson Correlation	0.397*	0.139	0.217	0.319	0.285
	Sig. (2-tailed)	0.016	0.420	0.205	0.058	0.092
ความเป็นกรด - ด่าง	Pearson Correlation	0.210	0.258	0.236	0.166	0.161
	Sig. (2-tailed)	0.218	0.129	0.165	0.332	0.348
ออกซิเจนละลายน้ำ	Pearson Correlation	-0.089	-0.040	0.128	-0.178	0.040
	Sig. (2-tailed)	0.606	0.819	0.455	0.298	0.815
บีโอดี	Pearson Correlation	0.199	0.100	-0.107	-0.205	0.083
	Sig. (2-tailed)	0.244	0.561	0.533	0.231	0.632
ไนเตรท-ไนโตรเจน	Pearson Correlation	-0.286	-0.336*	-0.430**	-0.269	-0.399*
	Sig. (2-tailed)	0.091	0.045	0.009	0.112	0.016
ฟอสฟอรัส	Pearson Correlation	0.022	0.139	-0.124	-0.341*	0.095
	Sig. (2-tailed)	0.897	0.420	0.470	0.042	0.582
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	Pearson Correlation	-0.171	0.129	0.220	0.085	-0.061
	Sig. (2-tailed)	0.317	0.454	0.197	0.622	0.724
แบคทีเรียรวม	Pearson Correlation	0.074	-0.252	-0.362*	-0.360*	-0.103
	Sig. (2-tailed)	0.669	0.139	0.030	0.031	0.551

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4-2 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอย

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเล		ชนิดของแบคทีเรีย				
		V. cholerae	***V. parahaemolyticus***	***V. vulnificus***	***V. alginolyticus***	***V. mimicus***
ปริมาณน้ำฝน	Pearson Correlation	-0.275	-0.052	0.173	-0.337*	-0.211
	Sig. (2-tailed)	0.105	0.763	0.313	0.044	0.216
อุณหภูมิน้ำทะเล	Pearson Correlation	-0.261	0.205	0.406*	0.295	-0.327
	Sig. (2-tailed)	0.124	0.230	0.014	0.081	0.052
ความเค็ม	Pearson Correlation	0.183	0.165	0.129	0.432**	0.095
	Sig. (2-tailed)	0.286	0.335	0.454	0.008	0.581
ความเป็นกรด - ด่าง	Pearson Correlation	-0.372*	0.111	0.217	0.228	-0.070
	Sig. (2-tailed)	0.026	0.518	0.203	0.181	0.684
ออกซิเจนละลายน้ำ	Pearson Correlation	-0.246	0.073	0.195	-0.010	0.045
	Sig. (2-tailed)	0.149	0.670	0.255	0.953	0.796
บีโอดี	Pearson Correlation	-0.104	0.063	-0.184	-0.104	0.068
	Sig. (2-tailed)	0.546	0.714	0.281	0.546	0.694
ไนเตรท-ไนโตรเจน	Pearson Correlation	-0.283	-0.014	0.242	-0.066	-0.274
	Sig. (2-tailed)	0.094	0.934	0.156	0.704	0.105
ฟอสฟอรัส	Pearson Correlation	-0.132	-0.113	-0.117	-0.230	-0.174
	Sig. (2-tailed)	0.442	0.511	0.496	0.178	0.311
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	Pearson Correlation	0.457**	-0.106	-0.041	0.166	-0.129
	Sig. (2-tailed)	0.005	0.540	0.813	0.333	0.454
แบคทีเรียรวม	Pearson Correlation	0.022	0.244	-0.139	-0.100	0.129
	Sig. (2-tailed)	0.899	0.152	0.418	0.561	0.452

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4-3 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีไกลฝั่ง

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเล		ชนิดของแบคทีเรีย				
		V. cholerae	***V. parahaemolyticus***	***V. vulnificus***	***V. alginolyticus***	***V. mimicus***
ปริมาณน้ำฝน	Pearson Correlation	0.008	-0.030	-0.145	-0.355*	0.225
	Sig. (2-tailed)	0.964	0.861	0.400	0.033	0.188
อุณหภูมิน้ำทะเล	Pearson Correlation	0.478**	0.066	-0.111	-0.090	0.197
	Sig. (2-tailed)	0.003	0.703	0.521	0.603	0.249
ความเค็ม	Pearson Correlation	0.254	0.161	0.000	0.132	-0.153
	Sig. (2-tailed)	0.135	0.347	1.000	0.443	0.372
ความเป็นกรด - ด่าง	Pearson Correlation	0.224	0.016	-0.202	-0.295	-0.360*
	Sig. (2-tailed)	0.189	0.928	0.238	0.081	0.031
ออกซิเจนละลายน้ำ	Pearson Correlation	0.117	0.001	-0.178	-0.341*	-0.033
	Sig. (2-tailed)	0.496	0.995	0.300	0.042	0.848
บีโอดี	Pearson Correlation	-0.308	-0.134	-0.180	-0.331*	-0.134
	Sig. (2-tailed)	0.068	0.436	0.295	0.049	0.436
ไนเตรท-ไนโตรเจน	Pearson Correlation	0.178	0.044	-0.149	-0.177	0.147
	Sig. (2-tailed)	0.300	0.800	0.386	0.301	0.392
ฟอสฟอรัส	Pearson Correlation	-0.147	-0.019	-0.126	-0.157	0.128
	Sig. (2-tailed)	0.393	0.912	0.463	0.361	0.457
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	Pearson Correlation	0.030	-0.108	-0.065	-0.108	-0.117
	Sig. (2-tailed)	0.862	0.531	0.704	0.530	0.498
แบคทีเรียรวม	Pearson Correlation	-0.229	0.292	-0.129	-0.017	-0.090
	Sig. (2-tailed)	0.179	0.083	0.452	0.923	0.603

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

จากค่า Pearson วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างกับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลแสดงให้เห็นว่าปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อ *Vibrio* spp. ได้แก่ปริมาณน้ำฝนที่มีผลกระทบโดยตรงต่อ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* และ *V. alginolyticus* บริเวณสถานีใกล้ฝั่ง โดยในช่วงฝนตกมากจะส่งผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียชนิดดังกล่าวมีปริมาณลดลง ขณะที่ปริมาณน้ำฝนที่ตกมากบริเวณสถานีกระชังหอยและสถานีไกลฝั่งมีผลทำให้ปริมาณของ *V. alginolyticus* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากความสัมพันธ์ของปริมาณฝนที่ตกมากซึ่งมีผลทำให้อุณหภูมิของน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลทำให้ *V. vulnificus* (สถานีกระชังหอย) และ *V. cholerae* (สถานีไกลฝั่ง) เพิ่มขึ้นตามไปด้วย แต่อุณหภูมิของน้ำทะเลที่สูงขึ้นจะส่งผลทำให้ปริมาณของ *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* บริเวณสถานีใกล้ฝั่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณน้ำฝนที่ตกมากและส่งผลทำให้อุณหภูมิของน้ำทะเลสูงขึ้น แต่ทำให้ค่าความเค็มของน้ำทะเลลดลงนั้นจะส่งผลทำให้ปริมาณ *V. cholerae* (สถานีใกล้ฝั่ง) และ *V. alginolyticus* (สถานีกระชังหอย) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยบริเวณสถานีใกล้ฝั่งนั้นจะพบว่า *V. alginolyticus* จะมีปริมาณลดลงเมื่อมี ปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ *V. vulnificus* จะมีปริมาณลดลงเมื่อมีปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกัน สำหรับบริเวณสถานีกระชังหอยจะพบว่า *V. cholerae* จะแปรผันตามปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น แต่แปรผกผันกับค่าความเป็นกรด - ด่างที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนบริเวณสถานีไกลฝั่งจะเห็นได้ว่าค่าความเป็นกรด - ด่างที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณ *V. mimicus* ลดลง และค่าออกซิเจนละลายน้ำและค่าบีโอดีที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณ *V. alginolyticus* มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้แล้วยังพบว่าปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิของน้ำทะเลที่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจนนั้นจะแปรผกผันกับปริมาณของแบคทีเรียบางชนิดบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง กล่าวคือเมื่อปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้นบริเวณสถานีใกล้ฝั่งจะส่งผลให้ปริมาณ *V. vulnificus, V. parahaemolyticus* และ *V. mimicus* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

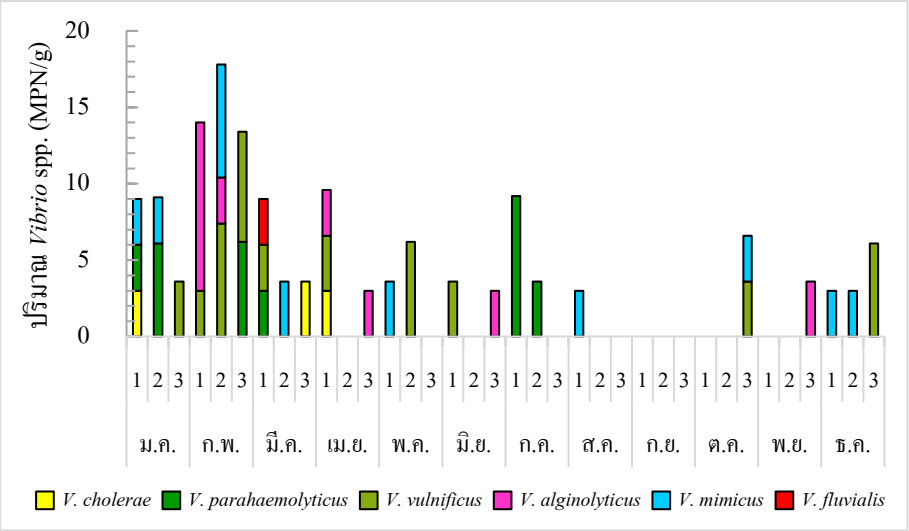
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในหอยนางรมบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

4.3.1. ปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างหอยนางรม

4.3.1.1 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. ด้วยวิธี MPN

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยนางรมแบบผสมรวม (Composite Sampling) ประมาณ 30 - 40 ตัว (นำมาใช้ในการสุ่มหอยนางรมเพื่อทำการทดสอบ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 25 กรัม) ตรวจวิเคราะห์ความหนาแน่นของ Vibrio ด้วยวิธี MPN จากตัวอย่างหอยนางรมพบว่าตลอดทั้งปีที่ทำการศึกษาสามารถตรวจแยกแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างหอยนางรมได้ 6 ชนิด ได้แก่ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V.* mimicus และ *V. fluvialis* การเปรียบเทียบปริมาณและชนิดของแบคทีเรียสกุล Vibrio ในแต่ละเดือน (เดือนละ 3 ตัวอย่าง) แสดงดังตารางภาคผนวก ก-45 และภาพที่ 4-12

ปริมาณ *V. cholerae* ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยนางรมตลอดปีที่ทำการศึกษามีค่าอยู่ในช่วง < 3 - 3.6 MPN/g โดยค่า MPN สูงสุดแยกได้จากตัวอย่างที่ 3 เดือนมีนาคม ซึ่ง *V. cholerae* จะตรวจแยกได้ในเดือนมกราคม มีนาคม และเมษายน เพียง 3 เดือนเท่านั้น ส่วนปริมาณ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างหอยนางรมมีค่าอยู่ในช่วง < 3 - 9.2 MPN/g ซึ่งตรวจพบในเดือนมกราคม - มีนาคม นอกจากนี้ยังตรวจพบในเดือนกรกฎาคม โดยพบปริมาณสูงสุดของ *V. parahaemolyticus* แยกได้จากเดือนนี้ สำหรับปริมาณ *V. vulnificus* ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยนางรม มีค่าอยู่ในช่วง < 3 - 7.4 MPN/g ซึ่งปริมาณสูงสุดตรวจแยกได้จากตัวอย่างที่ 2 ของเดือนกุมภาพันธ์ และจากชนิดของแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากตัวอย่างหอยนางรมในปีที่ทำการศึกษาจะเห็นได้ว่า *V. vulnificus* เป็นชนิดที่ตรวจพบได้บ่อยกว่าชนิดอื่น คือตรวจพบได้ในตัวอย่าง 8 เดือนจากทั้งหมด 12 เดือนของการสุ่มเก็บตัวอย่างในการศึกษานี้ ปริมาณ *V. alginolyticus* ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยนางรมบริเวณอ่างศิลา มีค่า MPN อยู่ในช่วง < 3 - 11 MPN/g โดยเป็นชนิดที่ตรวจพบปริมาณค่า MPN สูงที่สุดจากทั้งหมด 6 ชนิด ปริมาณสูงสุดของ *V. alginolyticus* ตรวจแยกได้จากตัวอย่างที่ 1 ของเดือนกุมภาพันธ์ ส่วนปริมาณ *V. mimicus* ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยนางรมมีค่า MPN อยู่ในช่วง < 3 - 7.4 MPN/g พบปริมาณสูงสุดแยกได้จากตัวอย่างที่ 2 ของเดือนกุมภาพันธ์ และสามารถตรวจแยกแบคทีเรียชนิดดังกล่าวได้จากเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ มีนาคม พฤษภาคม สิงหาคม ตุลาคม และธันวาคม ขณะที่ปริมาณ *V. fluvialis* ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยนางรม สามารถตรวจพบได้ในเดือนมีนาคมเพียงเดือนเดียวเท่านั้น จากตัวอย่างที่ 1 มีค่า MPN เท่ากับ 3 MPN/g



ภาพที่ 4-12 เปรียบเทียบปริมาณ *Vibrio* spp. (MPN/g) จากตัวอย่างหอยนางรม 3 ตัวอย่าง

4.3.1.2 การตรวจวิเคราะห์อุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างหอยนางรม

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยนางรมทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้ง โดยเก็บครั้งละ 25 ตัวอย่าง สำหรับวิเคราะห์หาอุบัติการณ์ของ Vibrio ในประชากรหอยนางรม โดยคิดเป็นร้อยละอุบัติการณ์ของปริมาณ Vibrio ที่พบต่อตัวอย่างหอยนางรม 25 ตัวอย่างที่สุ่มเก็บในแต่ละเดือน ซึ่งตลอดปีที่ทำการศึกษาสามารถตรวจแยกแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างได้ 5 ชนิด ได้แก่ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* และ *V. mimicus* การเปรียบเทียบร้อยละของอุบัติการณ์รายเดือนของ *Vibrio* spp. ที่พบในตัวอย่างหอยนางรม แสดงดังตารางที่ 4-4

ร้อยละของอุบัติการณ์รายเดือนของ *V. cholerae* ที่ตรวจพบมีค่าสูงสุดในเดือนตุลาคม (12 %) รองลงมาคือธันวาคม (8 %) และมีค่าต่ำสุดซึ่งมีค่าเท่ากันทั้ง 2 เดือน ได้แก่ เดือนมิถุนายนและพฤศจิกายน (4 %) ส่วนร้อยละของอุบัติการณ์รายเดือนของ *V. parahaemolyticus* จากตัวอย่างหอยนางรมสามารถตรวจพบร้อยละของอุบัติการณ์สูงสุดได้ในเดือนมกราคมและธันวาคม มีค่าร้อยละของอุบัติการณ์เท่ากับ 20 % รองลงมาคือเดือนกรกฎาคม มีค่าร้อยละของอุบัติการณ์เท่ากับ 16 % เดือนธันวาคมมีค่าร้อยละของอุบัติการณ์เท่ากับ 12 % และมีค่าร้อยละของอุบัติการณ์ต่ำสุดในเดือนกุมภาพันธ์ มีนาคม และพฤศจิกายน โดยมีค่าร้อยละของอุบัติการณ์เท่ากันทั้ง 3 เดือน มีค่าเท่ากับ 8 % สำหรับร้อยละของอุบัติการณ์รายเดือนของ *V. vulnificus* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างหอยนางรมมีค่าสูงสุดตรวจพบในเดือนเมษายน (24 %) รองลงมาคือเดือนกุมภาพันธ์และเดือนธันวาคมซึ่งมีค่าเท่ากันทั้งสองเดือน (20 %) และพบค่าร้อยละของอุบัติการ์ต่ำสุดเท่ากันทั้ง 2 เดือน ได้แก่ เดือนพฤษภาคมและตุลาคม (4 %) ขณะที่ *V. alginolyticus* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างหอยนางรม

เป็นชนิดที่มีร้อยละของอุบัติการณ์สูงที่สุดและสามารถตรวจพบได้เกือบทุกเดือนของปีที่ทำการศึกษา ยกเว้นเดือนมิถุนายน กรกฎาคม และตุลาคม ร้อยละของอุบัติการณ์สูงสุดตรวจพบในเดือนกุมภาพันธ์ มีค่าเท่ากับ 36 % รองลงมาคือเดือนเมษายน มกราคม มีนาคม กันยายน ธันวาคม สิงหาคม พฤษภาคม และพฤศจิกายน มีค่าร้อยละของอุบัติการณ์เท่ากับ 32, 28, 16, 12, 12, 8, 4 และ 4 % ตามลำดับ และจากตัวอย่างหอยนางรมสามารถตรวจพบ *V. mimicus* ที่มีค่าร้อยละของอุบัติการณ์สูงสุดได้ในเดือนธันวาคม มีค่าเท่ากับ 20 % รองลงมาคือเดือนตุลาคม มีค่า 8 % และร้อยละของอุบัติการณ์ต่ำสุดตรวจพบได้ในเดือนมีนาคม พฤษภาคม และสิงหาคม ซึ่งมีค่าเท่ากันทั้ง 3 เดือน มีค่าเท่ากับ 4 %

ตารางที่ 4-4 ร้อยละ (%) ของอุบัติการณ์รายเดือนของ *Vibrio* spp. ที่พบในตัวอย่างหอยนางรม

เดือน	**% อุบัติการ์ของ *Vibrio* spp. จากหอยนางรม**				
	V. cholerae	***V. parahaemolyticus***	***V. vulnificus***	***V. alginolyticus***	***V. mimicus***
มกราคม	0	20	0	28	0
กุมภาพันธ์	0	8	20	36	0
มีนาคม	0	8	0	16	4
เมษายน	0	0	24	32	0
พฤษภาคม	0	0	4	4	4
มิถุนายน	4	0	0	0	0
กรกฎาคม	0	16	0	0	0
สิงหาคม	0	0	0	8	4
กันยายน	0	0	0	12	0
ตุลาคม	12	20	4	0	8
พฤศจิกายน	4	8	0	4	0
ธันวาคม	8	12	20	12	20

4.3.2. ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในหอยนางรมบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างหอยนางรม (วิเคราะห์ด้วยวิธี MPN) ที่ตรวจวัดตลอดปีที่ทำการศึกษาด้วยวิธี Pearson ซึ่งการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ในที่นี้ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ผู้วิจัยนำมาวิเคราะห์ ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิน้ำทะเล ความเค็ม ความเป็นกรด - ด่าง ออกซิเจนละลายน้ำ ค่าบีโอดีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและแบคทีเรียรวม รวมทั้งปริมาณธาตุอาหารอนินทรีย์ ได้แก่ ไนเตรท-ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส (ชนะชัย บัณฑิต, 2555) วิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Pearson ของแต่ละสถานีเก็บตัวอย่าง ได้แก่ สถานีใกล้ฝั่ง สถานีกระชังหอย และสถานีไกลฝั่ง ซึ่งได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ของ Pearson แสดงดังตารางที่ 4-5

จากค่า Pearson วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างหอยนางรม แสดงให้เห็นว่าปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อ *Vibrio* spp. มีเพียง 3 ปัจจัยเท่านั้นคือ ปริมาณไนแตรท-ไนโตรเจน ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และแบคทีเรียรวม โดยพบว่าปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจนที่สูงขึ้น จะส่งผลให้ปริมาณ *V. vulnificus* ลดลง ในขณะที่ปริมาณของ *V. vulnificus* จะแปรผันตามปริมาณที่เพิ่มขึ้นของแบคทีเรียรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่าปริมาณของ *V. cholerae* จะแปรผันตามปริมาณของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย กล่าวคือเมื่อปริมาณโคลิฟอร์มสูงขึ้นจะส่งผลให้มีปริมาณ *V. cholerae* เพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4-5 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ บริเวณสถานีกระชังหอยกับปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างหอยนางรม วิเคราะห์ด้วยวิธี MPN

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเล		ชนิดของแบคทีเรีย				
		V. cholerae	***V. parahaemolyticus***	***V. vulnificus***	***V. alginolyticus***	***V. mimicus***
ปริมาณน้ำฝน	Pearson Correlation	-0.265	-0.042	-0.311	-0.226	-0.302
	Sig. (2-tailed)	0.118	0.810	0.065	0.185	0.073
อุณหภูมิน้ำทะเล	Pearson Correlation	-0.208	-0.217	-0.102	-0.143	-0.149
	Sig. (2-tailed)	0.224	0.205	0.552	0.405	0.385
ความเค็ม	Pearson Correlation	0.159	-0.157	0.146	0.065	0.132
	Sig. (2-tailed)	0.353	0.361	0.394	0.705	0.444
ความเป็นกรด - ด่าง	Pearson Correlation	-0.009	0.058	0.264	0.170	0.074
	Sig. (2-tailed)	0.960	0.738	0.120	0.322	0.670
ออกซิเจนละลายน้ำ	Pearson Correlation	-0.002	0.205	-0.003	-0.143	0.146
	Sig. (2-tailed)	0.989	0.230	0.984	0.404	0.394
บีโอดี	Pearson Correlation	-0.145	0.165	0.145	-0.153	0.144
	Sig. (2-tailed)	0.400	0.338	0.400	0.374	0.401
ไนเตรท-ไนโตรเจน	Pearson Correlation	-0.225	-0.207	-0.383*	-0.206	-0.351
	Sig. (2-tailed)	0.186	0.227	0.021	0.228	0.036
ฟอสฟอรัส	Pearson Correlation	-0.179	-0.125	-0.072	-0.020	-0.134
	Sig. (2-tailed)	0.297	0.466	0.676	0.909	0.437
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	Pearson Correlation	0.475**	0.080	-0.236	-0.057	-0.317
	Sig. (2-tailed)	0.003	0.643	0.166	0.741	0.059
แบคทีเรียรวม	Pearson Correlation	-0.142	-0.018	0.418*	0.035	0.006
	Sig. (2-tailed)	0.410	0.919	0.011	0.837	0.973

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

4.3.3. ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio แต่ละชนิดในน้ำทะเลกับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio แต่ละชนิดในหอยนางรม

จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในน้ำทะเลแต่ละชนิด ที่แยกได้จากน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอยกับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio แต่ละชนิดในหอยนางรม ที่ตรวจวัดตลอดปีที่ทำการศึกษาด้วยวิธี Pearson ซึ่งได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ของ Pearson แสดงดังตารางที่ 4-6

จากค่า Pearson วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio แต่ละชนิดพบว่าสามารถตรวจวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ *Vibrio* spp. ในน้ำทะเลและในหอยนางรม ได้เพียงชนิดเดียว คือ *V. cholerae* โดยเมื่อปริมาณของ *V. cholerae* ในน้ำทะเลเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณ *V. cholerae* ในหอยนางรมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4-6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอยกับปริมาณ *Vibrio* spp. ในหอยนางรม

ชนิด *Vibrio* spp. ในหอยนางรม		**ชนิด *Vibrio* spp. ในน้ำทะเล**				
		V. cholerae	***V. parahaemolyticus***	***V. vulnificus***	***V. alginolyticus***	***V. mimicus***
V. cholerae	Pearson Correlation	0.397*	0.115	-0.134	-0.137	-0.090
	Sig. (2-tailed)	0.016	0.502	0.436	0.427	0.603
V. parahaemolyticus	Pearson Correlation	-0.100	0.058	0.194	-0.003	-0.176
	Sig. (2-tailed)	0.563	0.735	0.256	0.986	0.305
V. vulnificus	Pearson Correlation	-0.087	-0.117	0.147	-0.020	-0.153
	Sig. (2-tailed)	0.615	0.497	0.393	0.909	0.372
V. alginolyticus	Pearson Correlation	0.257	-0.185	0.188	0.036	-0.208
	Sig. (2-tailed)	0.130	0.281	0.272	0.837	0.223
V. mimicus	Pearson Correlation	-0.073	0.072	0.210	-0.088	-0.129
	Sig. (2-tailed)	0.673	0.676	0.220	0.611	0.455

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

4.4 แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในสกุล Vibrio บางไอโซเลท

จากผลการศึกษาแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะตามเกณฑ์มาตรฐาน Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและตัวอย่างหอยนางรม จำนวน 115 ไอโซเลท ได้แก่ *V. cholerae* (25 ไอโซเลท), *V. parahaemolyticus* (30 ไอโซเลท), *V. vulnificus* (30 ไอโซเลท) และ *V. alginolyticus* (30 ไอโซเลท) ต่อยาปฏิชีวนะจำนวน 8 ชนิดได้แก่ ampicillin (AMP), tetracycline (TE), ciprofloxacin (CIP), cefotaxime (CTX), co-trimethoprim (COT), cefoxitin (CX) และ chloramphenicol (C) พบว่า 50 % (15 ไอโซเลท จาก 30 ไอโซเลท) ของ *V. parahaemolyticus* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin ขณะที่ร้อยละสูงสุดของไอโซเลทที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β-lactam ที่พบใน *V. vulnificus* (16 ไอโซเลท จาก 30 ไอโซเลท), *V. cholerae* (16 ไอโซเลท จาก 25 ไอโซเลท) และ *V. alginolyticus* (27 ไอโซเลท จาก 30 ไอโซเลท) มีค่าเท่ากับ 53, 64 และ 90 % ตามลำดับ ถึงแม้ว่าการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ cefotaxime จะไม่พบในจำนวนทั้งหมดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่ทำการทดสอบ แต่พบ 1 ไอโซเลทของ *V. parahaemolyticus* ที่มีความไวน้อย (intermediate susceptible) ต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าว ขณะที่พบการดื้อของ *V. vulnificus* (3 %) และ *V. alginolyticus* (7 %) ต่อยาปฏิชีวนะ cefoxitin นอกจากนี้ยังไม่พบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ tetracycline ของ *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ขณะที่ 3 % ของ *V. alginolyticus* พบการดื้อต่อยา tetracycline นอกจากนี้การทดสอบส่วนใหญ่ของความไวต่อยาปฏิชีวนะ ciprofloxacin ยกเว้น 1 ไอโซเลทของ *V. vulnificus* ที่แสดงความไวน้อยต่อยาปฏิชีวนะที่อยู่ในกลุ่ม quinolone อย่างไรก็ตามทั้งหมดของแบคทีเรียที่ทำการทดสอบนั้นไวต่อยาปฏิชีวนะ norfloxacin, co-trimoxazole และ chloramphenicol แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* และ *V. alginolyticus* แสดงผลดังตารางที่ 4-7

ตารางที่ 4-7 แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. จำนวน 115 ไอโซเลท จากตัวอย่างหอยนางรมและน้ำทะเลต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ

ชนิดของยาปฏิชีวนะ	ระดับความไวของยาปฏิชีวนะ	ร้อยละของจำนวนไอโซเลททั้งหมด (%) ของ Vibrio แต่ละชนิด			
		V. parahaemolyticus (n=30)	*V. cholerae* (n=25)	*V. vulnificus* (n=30)	*V. alginolyticus* (n=30)
Ampicillin	R	50	64	53	90
	I	27	0	37	0
	S	23	36	10	10
Cefoxitin	R	0	0	3	7
	I	20	8	27	33
	S	80	92	70	60
Cefotaxime	R	0	0	0	0
	I	3	0	0	0
	S	97	100	100	100
Tetracycline	R	0	0	0	3
	I	0	0	0	0
	S	100	100	100	97
Ciprofloxacin	R	0	0	0	0
	I	0	0	3	0
	S	100	100	97	100
Chloramphenicol	R	0	0	0	0
	I	0	0	0	0
	S	100	100	100	100
Co-trimethoprim	R	0	0	0	0
	I	0	0	0	0
	S	100	100	100	100
Norfloxacin	R	0	0	0	0
	I	0	0	0	0
	S	100	100	100	100

หมายเหตุ S; Susceptibility, I; Intermediate, R; Resistant

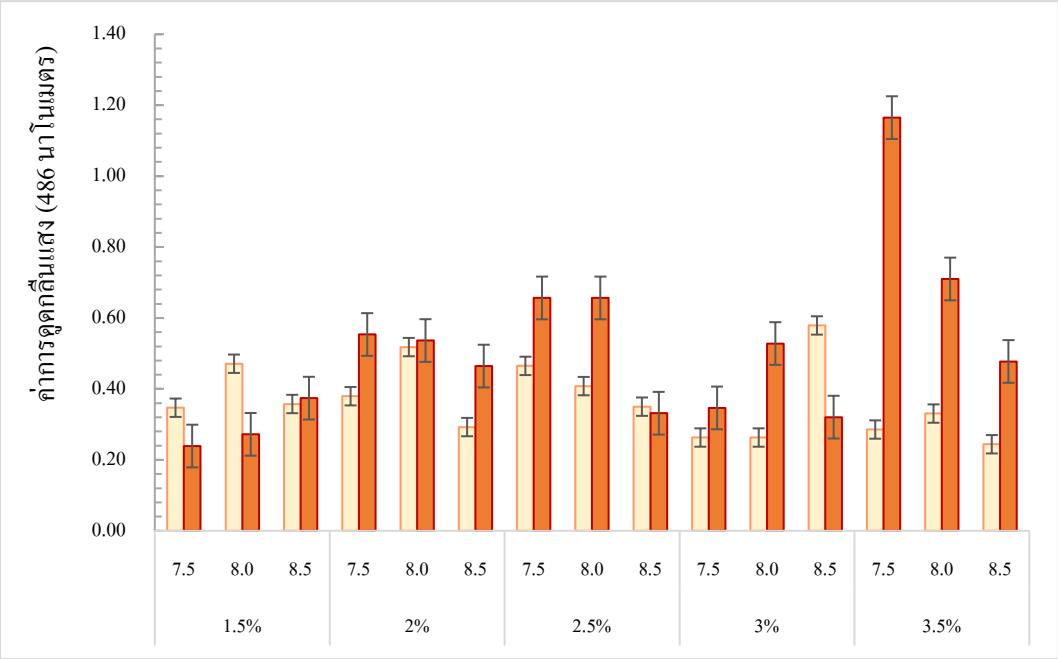
4.5 ผลกระทบของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด-ด่างต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase การสลายเม็ดเลือดแดง และการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลท

4.5.1. ผลกระทบของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรดด่าง ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของ Vibrio spp. *บางไอโซเลท*

จากการศึกษาแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ พบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin สูงที่สุด ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β-lactam จึงได้ทำการทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของ *V. alginolyticus* ซึ่งพบร้อยละของการดื้อยา ampicillin สูงสุดในการศึกษานี้ จำนวน 1 ไอโซเลท ทดสอบด้วยวิธี spectrophotometric assay ซึ่งใช้ยาปฏิชีวนะ nitrocepfin เป็นสารทดสอบ ภายใต้สภาวะต่าง ๆ ของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7.5, 8 และ 8.5) วัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 486 นาโนเมตร วัดค่าดูดกลืนแสงของสีส้มที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างยาปฏิชีวนะกับเชื้อทดสอบ ถ้าให้สีส้มเข้มส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าสูง แสดงว่าแบคทีเรียมีการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ในปริมาณสูง ซึ่งพบว่าความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ในแต่ละระดับของอุณหภูมิที่ใช้ในการทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-49) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าความเค็มและความเป็นกรด - ด่าง ในแต่ละระดับที่ใช้ในการทดสอบ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-50, ตารางภาคผนวก ก-51) โดยพบว่าในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 3.5 % ความเป็นกรด - ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เชื้อทดสอบมีการสร้างเอ็นไซม์สูงที่สุด ($OD_{486} = 1.17 \pm 0.11$) และการสร้างเอ็นไซม์จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($OD_{486} = 0.29 \pm 0.04$) เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ทดสอบลดลงเหลือ 28 องศาเซลเซียส ($p < 0.05$) แสดงผลการทดสอบดังตารางที่ 4-8 และภาพที่ 4-13

ตารางที่ 4-8 ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของ *V. alginolyticus* ในสภาวะของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7 และ 8) ที่แตกต่างกัน โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 486 นาโนเมตร

ความเค็ม	**ความเป็นกรด - ด่าง**	**ค่าการดูดกลืนแสงที่ 486 นาโนเมตร**	
		28 องศาเซลเซียส	**35 องศาเซลเซียส**
1.5 %	7.5	0.35 ± 0.05	0.24 ± 0.01
	8.0	0.47 ± 0.01	0.27 ± 0.03
	8.5	0.36 ± 0.00	0.37 ± 0.08
2 %	7.5	0.38 ± 0.02	0.55 ± 0.33
	8.0	0.52 ± 0.13	0.54 ± 0.13
	8.5	0.29 ± 0.02	0.46 ± 0.14
2.5 %	7.5	0.47 ± 0.12	0.66 ± 0.17
	8.0	0.41 ± 0.06	0.66 ± 0.08
	8.5	0.35 ± 0.19	0.33 ± 0.07
3 %	7.5	0.26 ± 0.02	0.35 ± 0.14
	8.0	0.26 ± 0.02	0.53 ± 0.17
	8.5	0.58 ± 0.25	0.32 ± 0.03
3.5 %	7.5	0.29 ± 0.04	1.17 ± 0.11
	8.0	0.33 ± 0.08	0.71 ± 0.33
	8.5	0.24 ± 0.08	0.48 ± 0.21

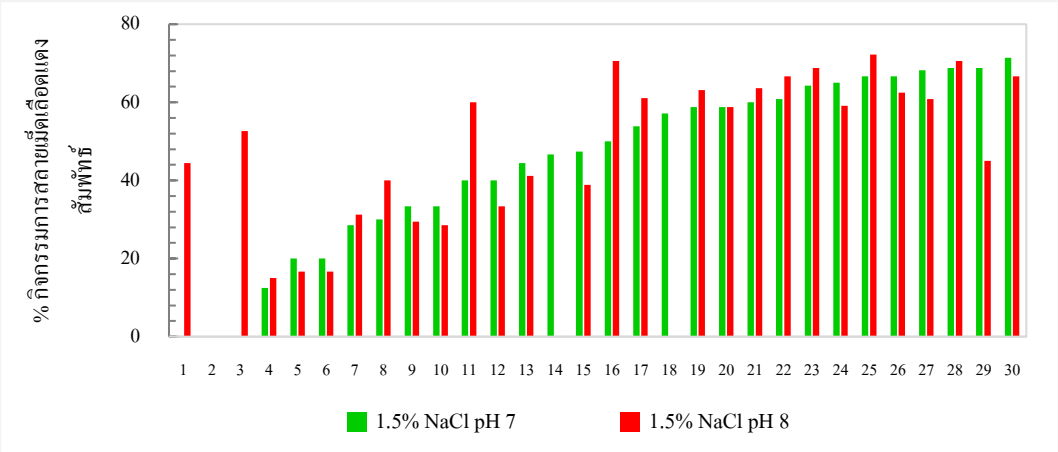


ภาพที่ 4-13 ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของ *V. alginolyticus* ในสภาวะต่าง ๆ ที่ระดับอุณหภูมิ (□) 28 องศาเซลเซียส และ (■) 35 องศาเซลเซียส ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7 และ 8)

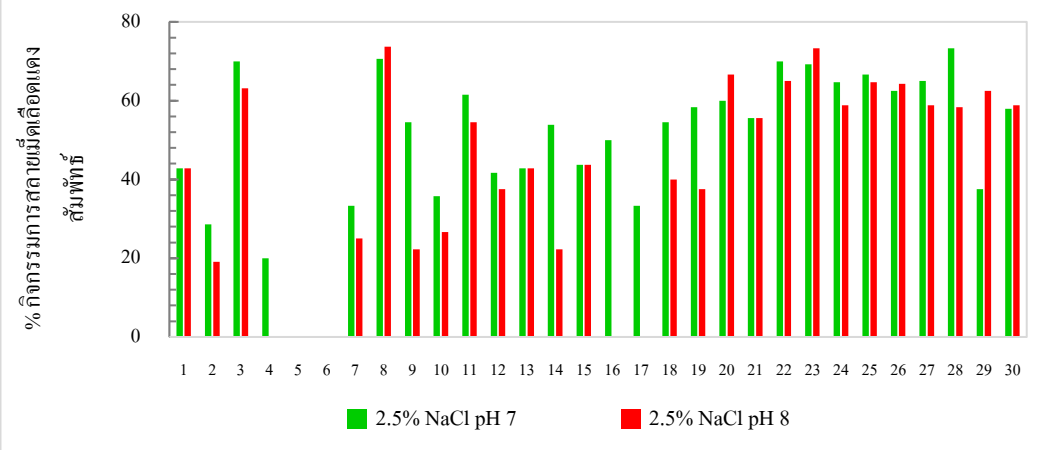
4.5.2. ผลกระทบของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ Vibrio spp. บางไอโซเลท

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพการสลายเม็ดเลือดแดงโดยสุ่ม *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและตัวอย่างหอยนางรม จำนวน 30 ไอโซเลท เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการสลายเม็ดเลือดแดงที่สภาวะของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2.5 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7 และ 8) ที่แตกต่างกัน พบว่า *V. parahaemolyticus* สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้อย่างสมบูรณ์ (β-hemolysis) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร Blood agar ซึ่งกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ของเชื้อคำนวณจากสัดส่วนของค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ถูกย่อยสลาย (บริเวณใสบนอาหาร Blood agar รอบโคโลนี) ต่อค่าของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อทดสอบ โดยความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. parahaemolyticus* แต่ละไอโซเลท มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-52) กล่าวคือแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทที่อยู่ในสภาวะของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่างเดียวกัน สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงได้แตกต่างกัน ซึ่งกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ของเชื้อมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่ออุณหภูมิและความ

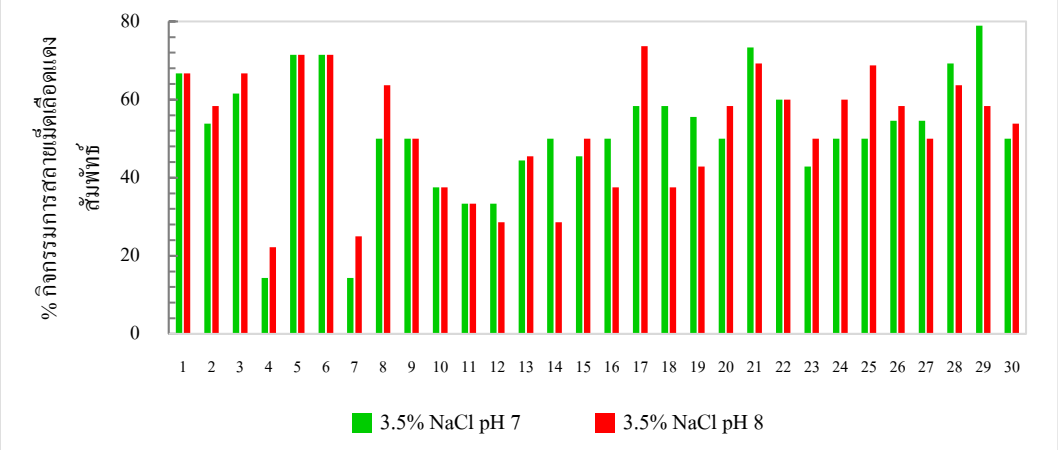
เข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้น (n = 30, $p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-53 ตารางภาคผนวก ก-54) และเมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ของเชื้อทดสอบระหว่างค่าความเป็นกรด - ด่างมีค่า 7 และ 8 ในสภาวะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์ พบว่ากิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงของเชื้อทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อความเป็นกรด - ด่างมีค่าแตกต่างกัน ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-55) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ด้วย Paired Samples T-Test พบว่ากิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อมีค่าความเป็นกรด - ด่างเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) จากผลการทดสอบในการศึกษานี้จึงพบว่ากิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์เพิ่มสูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเค็ม 3.5 % โซเดียมคลอไรด์ และค่าความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-56) แสดงดังภาพที่ 14 และภาพที่ 15



(ก)

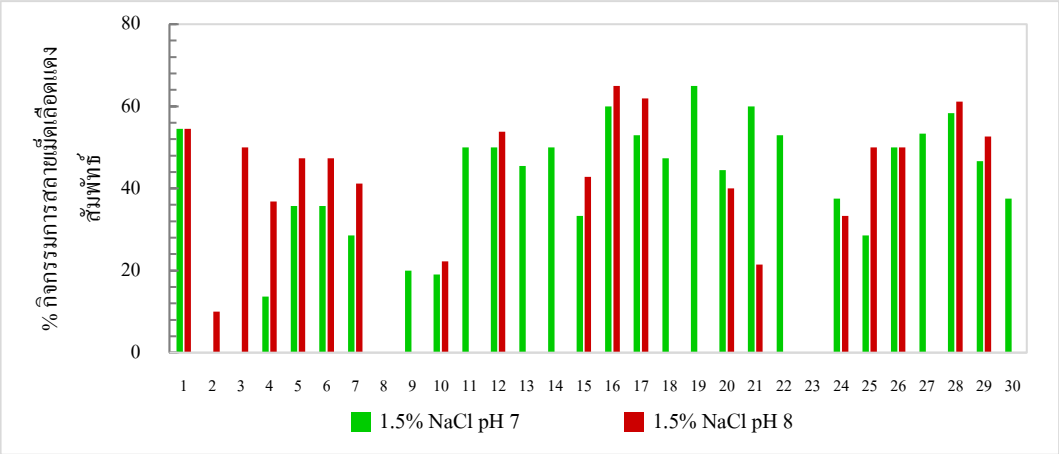


(ข)

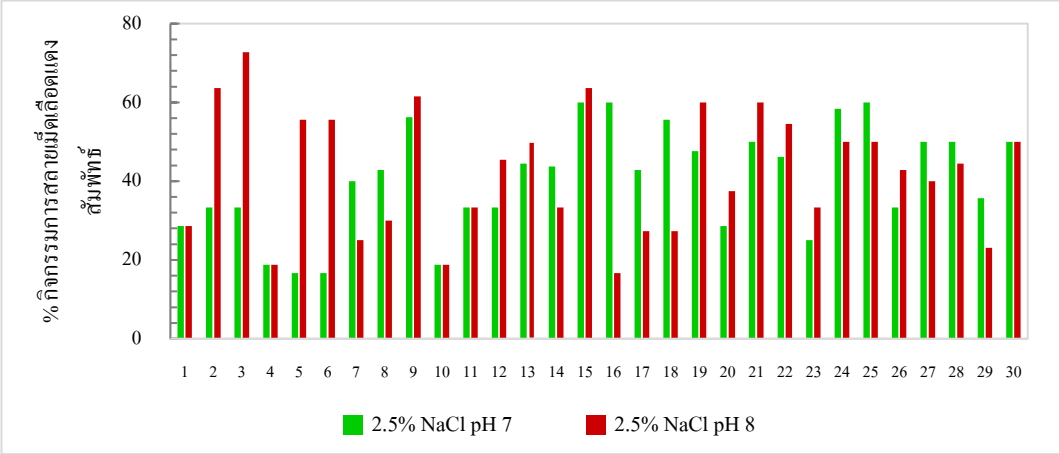


(ค)

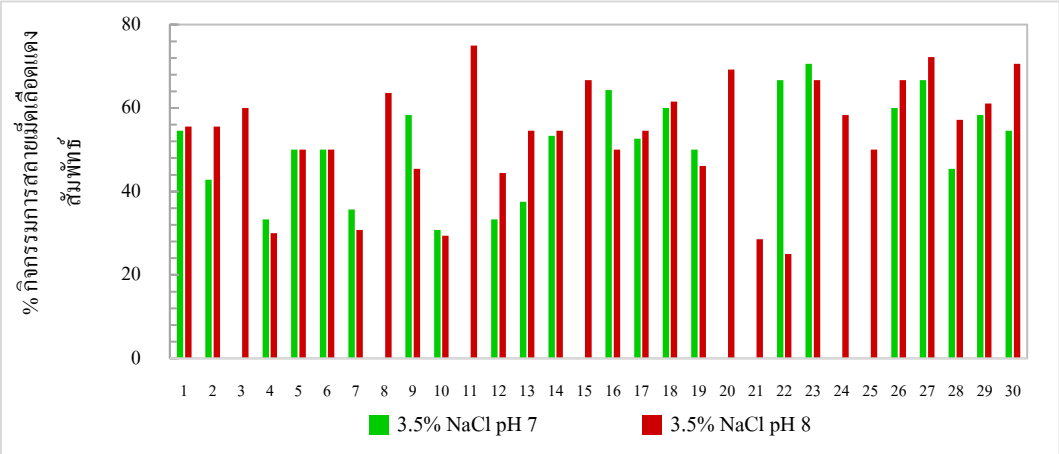
ภาพที่ 4-14 ร้อยละของกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ของ *V. parahaemolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท ที่ระดับอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส, ความเป็นกรด - ด่าง ที่ระดับ 7 และ 8 และความเค็มที่ระดับ 1.5 % (ก), 2.5 % (ข) และ 3.5 % (ค) โซเดียมคลอไรด์



(ก)



(ข)



(ค)

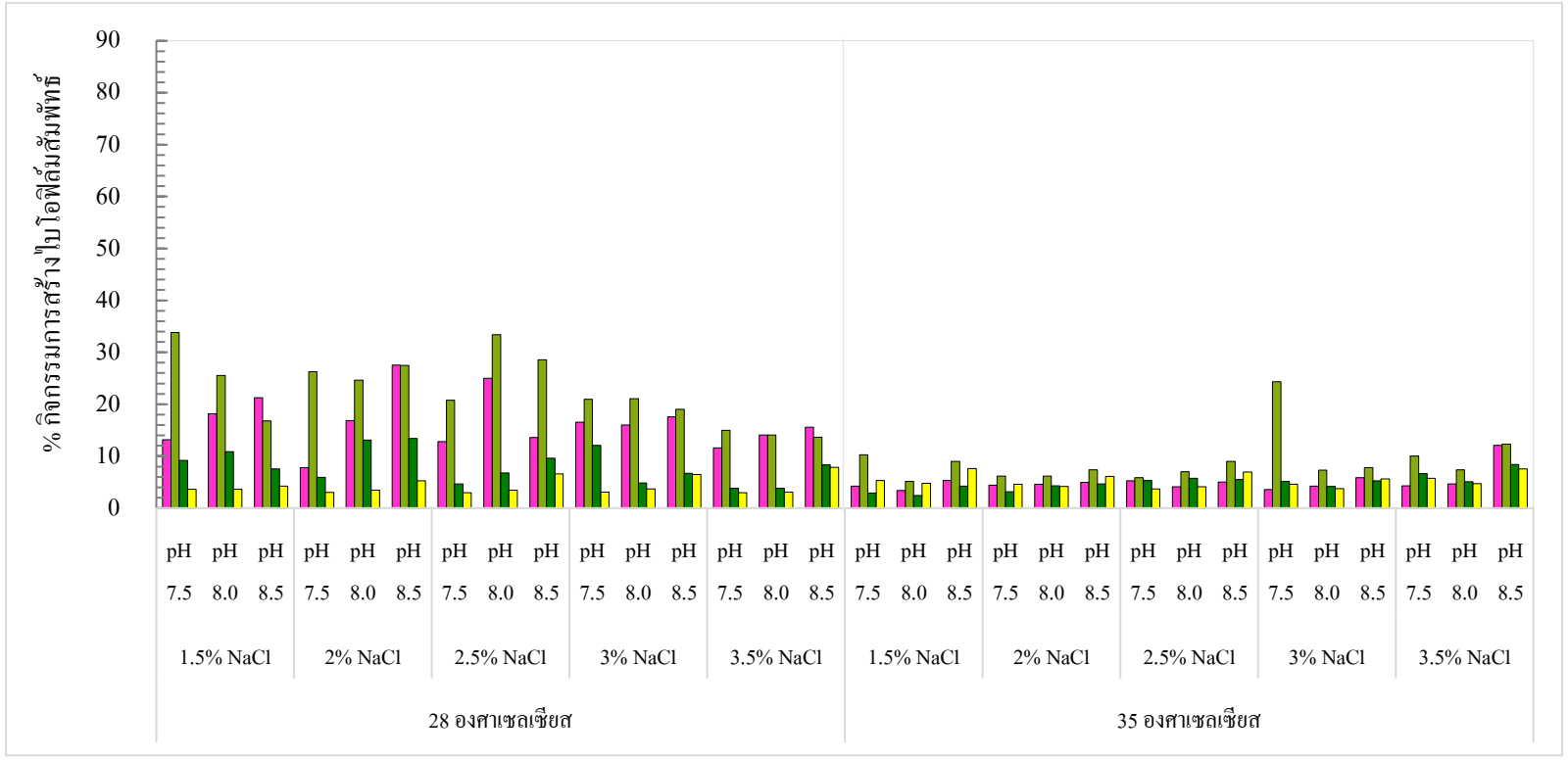
ภาพที่ 4-15 ร้อยละของปริมาณกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ ของ *V. parahaemolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท ที่ระดับอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส, ความเป็นกรด - ด่าง ที่ระดับ 7 และ 8 และความเค็มที่ระดับ 1.5 % (ก), 2.5 % (ข) และ 3.5 % (ค) โซเดียมคลอไรด์

4.5.3. ผลกระทบของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของ Vibrio spp. บางไอโซเลท

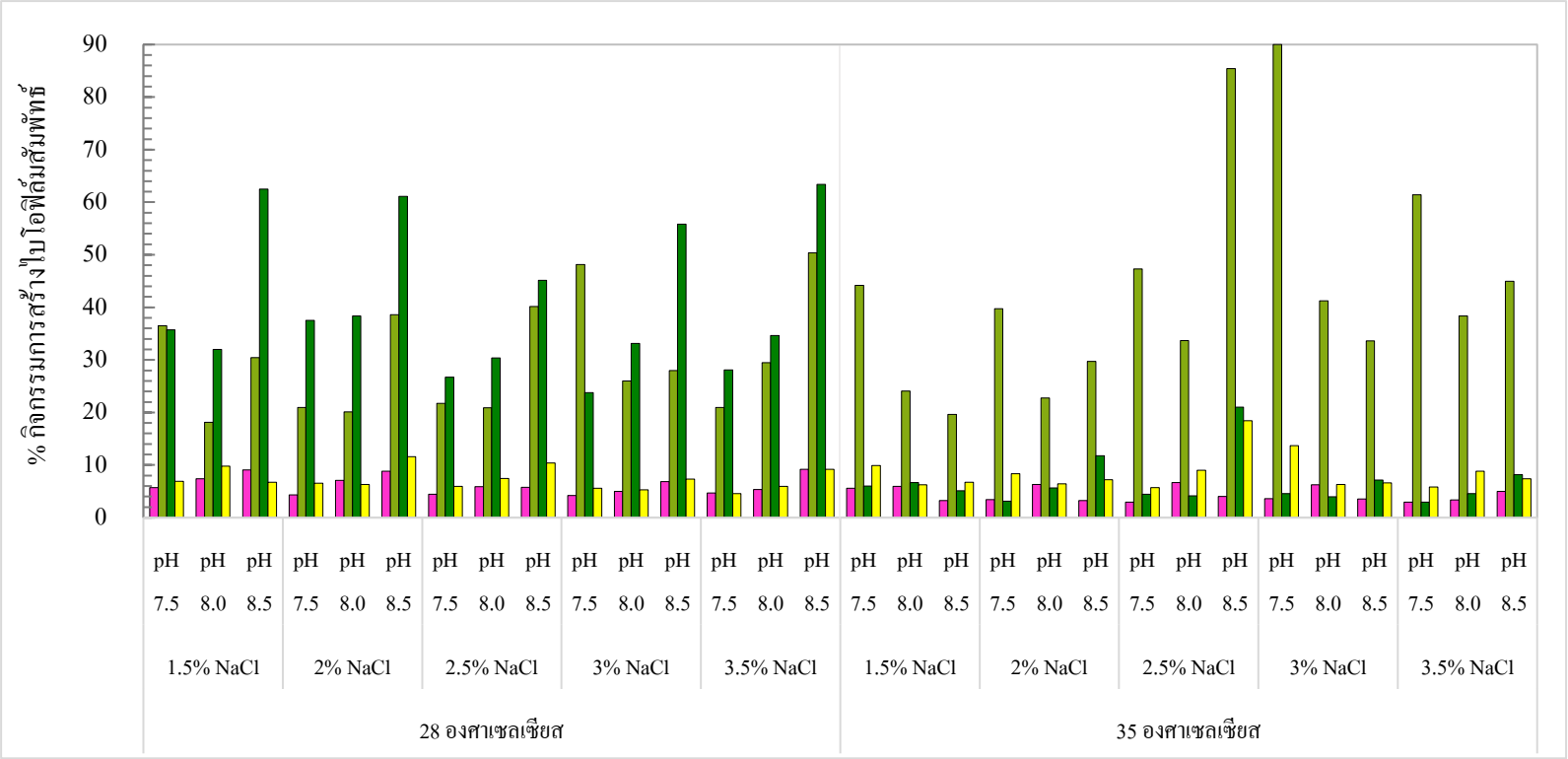
จากการทดสอบความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม โดยสุ่มตัวแทนของแบคทีเรียแต่ละชนิด ๆ ละ 1 ไอโซเลท ของ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* และ *V. alginolyticus* มาทดสอบภายใต้สภาวะต่าง ๆ ของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7.5, 8 และ 8.5) ในช่วงระยะเวลาในการบ่มเชื้อที่ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งจะเห็นได้ว่าที่ระดับอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีค่าร้อยละของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ได้มากกว่า 35 องศาเซลเซียส เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิในแต่ละระดับที่ใช้ในการทดสอบ โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าอุณหภูมิในแต่ละระดับมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-57) ในขณะที่ค่าความเค็มและความเป็นกรด - ด่างในแต่ละระดับให้ค่ากิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ของเชื้อทดสอบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางภาคผนวก ก-58 และตารางภาคผนวก ก-59)

กิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ของแบคทีเรียแต่ละชนิดคำนวณจากสัดส่วนของค่า OD ที่วัดได้ของสารละลาย crystal violet ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ต่อ ค่า OD ที่วัดได้ของเซลล์ก่อนการย้อมสี crystal violet ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร พบว่าที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส *V. cholerae* ให้ค่ากิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ในสภาวะต่าง ๆ ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งมีค่าสูงสุด (8 %) ที่สภาวะ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์ ความเป็กรด - ด่าง 8.5 ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และมีค่าเพิ่มขึ้น (9 %) เมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง ในสภาวะของความเค็ม ความเป็นกรด - ด่าง และอุณหภูมิ เดียวกัน สำหรับ *V. parahaemolyticus* พบกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์สูงสุดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทั้งระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยมีค่าสูงสุด (13 %) เมื่ออยู่ในสภาวะที่มี 2 % โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด - ด่างทั้ง 8 และ 8.5 ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเมื่อเวลา 48 ชั่วโมง มีค่าสูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะของความเค็มเดียวกันและความความเป็นกรด - ด่าง 8 และ 8.5 มีค่าเท่ากับ 38 % และ 61 % ตามลำดับ ส่วน *V. alginolyticus* พบค่าสูงสุดของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทั้งระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เช่นเดียวกันกับ *V. parahaemolyticus* พบค่าสูงสุด (28 %) ในสภาวะที่มี 2 % โซเดียมคลอไรด์ ความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 8.5 แต่พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปนาน

48 ชั่วโมง มีค่าของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ลดลง (9 %) ในสภาวะของค่าความเค็ม, ความเป็นกรด - ด่าง และอุณหภูมิเท่ากัน ในขณะที่ *V. vulnificus* ให้ค่ากิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ของระยะเวลา 24 ชั่วโมง ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับชนิดอื่น โดยมีค่าสูงสุด (34 %) ในสภาวะที่ 1.5 % โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด - ด่าง 7.5 แต่เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง *V. vulnificus* สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ที่สูงกว่าอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 44 % เมื่ออยู่ในสภาวะของความเค็มและความเป็นกรด - ด่าง เท่ากันกับสภาวะที่พบค่าสูงสุดของการสร้างไบโอฟิล์มที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง แต่มีความแตกต่างที่ระดับอุณหภูมิเท่านั้น (1.5 % โซเดียมคลอไรด์ ความเป็นกรด - ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส) และพบว่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง *V. vulnificus* สามารถให้ค่ากิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ ได้สูงที่สุดถึง 90 % เมื่ออยู่ในสภาวะ 3 % โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7.5 แสดงการเปรียบเทียบผลของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ของแบคทีเรียแต่ละชนิดในสภาวะต่าง ๆ ดังภาพที่ 4-16 และภาพที่ 4-17



ภาพที่ 4-16 ร้อยละของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพันธ์ของ *V. cholerae* (□), *V. parahaemolyticus* (■), *V. vulnificus* (■) และ *V. alginolyticus* (■)ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่สภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง 7.5, 8.0 และ 8.5



ภาพที่ 4-17 ร้อยละของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพันธ์ของ *V. cholerae* (□), *V. parahaemolyticus* (■), *V. vulnificus* (■) และ *V. alginolyticus* (■)ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง ที่สภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง 7.5, 8.0 และ 8.5

บทที่ 5
อภิปรายผลและสรุปผลการวิจัย

จากข้อมูลสภาพภูมิอากาศในเขตภาคตะวันออกของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2555 (ศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา, 2557) จะเห็นได้ว่าสภาพภูมิอากาศในปีที่ทำการศึกษานั้นมีสภาพไม่รุนแรงมากนัก โดยมีปริมาณน้ำฝนมากกว่าค่าปกติ 7 % อุณหภูมิอากาศสูงกว่าค่าปกติเพียงเล็กน้อย (0.6 องศาเซลเซียส) จากการเปรียบเทียบปริมาณน้ำฝนปกติและปริมาณน้ำฝนในปี พ.ศ. 2555 โดยพบว่าปริมาณน้ำฝนในปีที่ทำการศึกษาส่วนใหญ่จะให้ค่าสูงกว่าค่าปกติ พบปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยสูงสุดในเดือนกันยายน (513 มิลลิเมตร) ซึ่งสูงกว่าค่าปกติมาก เนื่องจากในปีนี้ประเทศไทยเข้าสู่ช่วงฤดูฝนเร็วกว่าปกติ ตั้งแต่ต้นเดือนพฤษภาคมและยาวนานไปจนถึงกลางเดือนตุลาคม ฝนส่วนใหญ่เกิดจากอิทธิพลของมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ที่พัดปกคลุมทะเลอันดามันและอ่าวไทยซึ่งมีกำลังแรงเป็นระยะ ๆ อีกทั้งยังได้รับอิทธิพลจากพายุหมุนเขตร้อน ได้แก่ ไต้ฝุ่น “วีเซนเต” ในช่วงปลายเดือนกรกฎาคม และไต้ฝุ่นไคตั๊ก ในช่วงกลางเดือนสิงหาคม และได้รับอิทธิพลจากพายุดีเปรสชั่น “แกมี” ช่วงเดือนตุลาคม จึงส่งผลทำให้ในบางเดือนของปีที่ทำการศึกษมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยสูงกว่าค่าปกติจากปีที่ผ่านมา สำหรับช่วงฤดูหนาว (มกราคมและกุมภาพันธ์, พฤศจิกายนและธันวาคม) ยังคงพบฝนตกเล็กน้อยแต่เริ่มมีปริมาณน้ำฝนลดน้อยลง แต่จะเห็นได้ว่าในช่วงฤดูดังกล่าวอุณหภูมิอากาศมีค่าสูงกว่าค่าปกติ โดยเฉพาะช่วงปลายปี คือเดือนพฤศจิกายนและธันวาคม อุณหภูมิอากาศมีค่าเท่ากับ 28.0 และ 28.1 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งอุณหภูมิมีค่าสูงและสูงมากกว่าค่าปกติ ประมาณ 1.2 และ 2.4 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ดังนั้นอากาศในช่วงฤดูหนาวของปีที่ทำการศึกษาจึงร้อนเช่นเดียวกับอากาศโดยปกติของประเทศไทยโดยทั่วไป แต่อุณหภูมิในช่วงเดือนดังกล่าว (ฤดูหนาว) ยังมีค่าสูงไม่เท่ากับอุณหภูมิอากาศในช่วงฤดูร้อนที่มีค่าสูงสุดในเดือนเมษายน (30 องศาเซลเซียส) โดยการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในช่วงฤดูหนาวมีความแตกต่างจากปีที่ผ่านมาประมาณ 1 - 2 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่าง ๆ ของสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตในน้ำทะเลได้

5.1 ผลกระทบของสภาวะอากาศต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ของน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

5.1.1. อุณหภูมิน้ำทะเล

จากข้อมูลอุณหภูมิน้ำทะเลบริเวณอ่างศิลาที่มีรายงานในอดีต (สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, 2556) เปรียบเทียบกับอุณหภูมิที่ตรวจวัดได้ในปีที่ทำการศึกษา พบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำทะเลในปีที่ทำการศึกษามีค่าไม่แตกต่างจากอุณหภูมิน้ำทะเลเฉลี่ยในรอบ 20 ปี อย่างไรก็ตามถ้าเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุดของน้ำทะเลในปีที่ทำการศึกษา (พ.ศ. 2555) กับอุณหภูมิน้ำทะเลย้อนหลัง 20 ปี (พ.ศ. 2535) ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 28.7 - 31.3 และ 22 - 25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่าน้ำทะเลมีอุณหภูมิสูงขึ้นมากกว่า 6 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิของน้ำในเขตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งบริเวณอ่างศิลามีแนวโน้มสูงขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำตามธรรมชาติจะขึ้นอยู่กับฤดูกาลและปัจจัยอื่น ๆ ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน จากรายงานของ นันทนา คชเสนี (2544) ระบุว่าการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของน้ำอย่างรวดเร็วประมาณ 2 - 3 องศาเซลเซียส อาจเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต และส่งผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหารในระดับสูงขึ้น ซึ่งชนิด ปริมาณ และสัดส่วนของประชากรจะถูกควบคุมโดยอุณหภูมิ

5.1.2. ความเค็มและความเป็นกรด - ด่าง

ค่าความเค็มที่ตรวจพบในแต่ละสถานีให้ค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่พบว่าในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงกันยายนค่าความเค็มที่ตรวจวัดได้มีค่าเฉลี่ยต่ำมาก (อยู่ในช่วง 9.80 ± 2.03 - 19.10 ± 0.06 psu) ซึ่งความเค็มของน้ำทะเลปกติทั่วไป จะมีค่าอยู่ในช่วง 32 - 37.5 psu โดยเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 35 psu ซึ่งความเค็มของน้ำทะเลจะแปรเปลี่ยนไปตามฤดูกาลและปริมาณน้ำฝน (วิชญา กันบัว, 2541) โดยจากข้อมูลการรายงานสภาวะภูมิอากาศของศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยาตรวจพบปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยรายปีของปีที่ทำการศึกษา (พ.ศ. 2555) มีค่าสูงสุดในเดือนกันยายน (513 มิลลิเมตร) จึงอาจเป็นผลทำให้ค่าความเค็มลดลงได้ เช่นเดียวกับค่าการนำไฟฟ้าที่มีความผันแปรตามค่าความเค็มของน้ำทะเล ส่วนค่าความเป็นกรด - ด่างที่ตรวจวัดได้บริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่างศิลา มีค่าอยู่ในช่วง 7.2 - 8.4 ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่กำหนดโดยกรมควบคุมมลพิษ (2553) ต้องมีค่าความเป็นกรด - ด่างอยู่ในช่วง 7 - 8.5 โดยการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด - ด่างในน้ำ เนื่องมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ในน้ำ ซึ่งทำให้ความเป็นกรด - ด่างของน้ำเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่ลดต่ำลงได้

5.1.3. ออกซิเจนละลายน้ำ

สำหรับค่าออกซิเจนละลายน้ำตรวจพบค่าต่ำสุดในทุกสถานีเก็บตัวอย่างของเดือนตุลาคม มีค่าอยู่ในช่วง 1.8 ± 0.04 - 2.0 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้พบว่าเดือนกุมภาพันธ์ มีนาคม พฤศจิกายน และธันวาคม มีค่าออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำทะเลชายฝั่ง ที่ต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) โดยพบว่าค่าออกซิเจนละลายน้ำที่ตรวจพบในแต่ละสถานีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งพบว่าออกซิเจนละลายน้ำที่ตรวจพบในเดือนกุมภาพันธ์ มีนาคม ตุลาคม พฤศจิกายน และธันวาคม มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งส่วนใหญ่พบค่าออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง สอดคล้องกับรายงานคุณภาพน้ำทะเลของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล (2556) ที่ทำการตรวจวัดออกซิเจนละลายน้ำบริเวณสะพานปลาท่าเทียบเรืออ่างศิลาในปีเดียวกัน (พ.ศ. 2555) ที่ตรวจพบค่าออกซิเจนละลายน้ำในเดือนกุมภาพันธ์ ตุลาคม พฤศจิกายน และธันวาคม มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานเช่นเดียวกัน แต่ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของฉลวย มุสิกะ และคณะ (2549) ที่ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลในบริเวณชายฝั่งภาคตะวันออกในปี 2548 พบว่าเดือนมีนาคมและตุลาคม มีค่าออกซิเจนละลายน้ำ เท่ากับ 6.9 และ 5.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าออกซิเจนละลายน้ำในแต่ละปีที่ตรวจพบมีค่าแตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันไปในแต่ละปีที่ทำการตรวจวัด โดยค่าออกซิเจนละลายน้ำจะลดลงเมื่อมีค่าความเค็มสูงขึ้น (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, 2538) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยในครั้งนี้ที่พบว่าค่าความเค็มสูงสุดตรวจพบได้จากเดือนตุลาคม และมีค่าออกซิเจนละลายน้ำต่ำสุดในเดือนตุลคม นั้นคือค่าความเค็มจึงอาจปัจจัยที่ส่งผลทำให้ค่าออกซิเจนละลายน้ำมีค่าลดลงได้

5.1.4. บีโอดี

การตรวจวิเคราะห์ค่ากิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์ของแบคทีเรีย (บีโอดี) จากการศึกษานี้พบว่าค่าเฉลี่ยของบีโอดีสูงสุดตรวจพบในเดือนมกราคมของทั้ง 3 สถานี มีค่าอยู่ในช่วง 3.17 ± 0.28 - 6.97 ± 0.57 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าเกินค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งที่กำหนดโดยกรมควบคุมมลพิษ (2553) ที่ระบุให้ค่าบีโอดีไม่ควรเกิน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และยังพบว่าค่าบีโอดีของแต่ละสถานีเก็บตัวอย่าง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยส่วนใหญ่ค่าบีโอดีที่ตรวจวิเคราะห์ได้ในแต่ละเดือนจะพบค่าสูงสุดบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง ยกเว้นเดือนธันวาคมที่พบว่าสถานีกระชังหอยและสถานีไกลฝั่งมีค่าบีโอดีสูงกว่าสถานีใกล้ฝั่งและมีค่าเกินค่ามาตรฐาน เท่ากับ 4.54 ± 1.77 และ 4.54 ± 0.55 ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากบริเวณสถานีใกล้ฝั่งเป็นบริเวณที่ติดกับแหล่งชุมชนจึงอาจได้รับผลกระทบมาจากกิจกรรมที่เกิดขึ้นของชุมชนและ

เกิดการชะล้างสิ่งสกปรกจากแหล่งชุมชนลงสู่น้ำทะเล ก่อให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ในน้ำ ซึ่งทำให้ค่าบีโอดีที่ตรวจพบในบางเดือนให้ค่าที่เกินเกณฑ์มาตรฐาน แต่พบว่าค่าบีโอดีที่ลดลงในแต่ละเดือนไม่มีความสัมพันธ์กับค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานของ ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และอุษา วิเศษสุมน (2532) ที่ระบุว่า ถ้าบีโอดีมีค่าสูงแสดงว่าในน้ำนั้นมีอินทรียสารอยู่มาก การย่อยสลายอินทรีย์สารของจุลินทรีย์ต้องใช้ออกซิเจน ทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดน้อยลง จากผลการตรวจติดตามเฝ้าระวังคุณภาพแม่น้ำบางประกงโดยห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด (2553) ได้ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำ 50 จุด ซึ่งรวมทั้งพื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่างศิลาด้วย โดยทำการศึกษาระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2553 พบว่าในช่วงฤดูฝนและฤดูหนาวของปีที่ทำการตรวจติดตามคุณภาพน้ำพบค่าบีโอดีที่มีค่าเกินค่ามาตรฐาน (< 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ได้แก่ เดือนกันยายน ตุลาคม และพฤศจิกายน ปี พ.ศ. 2552 และเดือนพฤษภาคม และมิถุนายน ปี พ.ศ. 2553 มีค่าบีโอดีเท่ากับ 3.08, 3.28, 2.43, 2.92 และ 3.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และพบว่าค่าบีโอดีที่สูงขึ้นไม่มีความสัมพันธ์กับค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เช่นเดียวกันกับผลการวิจัยในครั้งนี้

5.1.5. แบคทีเรียรวมทั้งหมดและโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยาพบว่าปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งหมดที่ตรวจพบจากทั้ง 3 สถานี พบปริมาณสูงสุดบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง มีค่าเท่ากับ 5.60×10^3 CFU/mL โดยน้ำทะเลบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง จำนวน 12 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดสูงมากกว่า 1.0×10^3 CFU/mL ตรวจพบในเดือนเมษายน สิงหาคม ตุลาคม และพฤศจิกายน สำหรับตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอยเกือบทั้งหมด (ยกเว้นตัวอย่างที่เก็บในเดือนธันวาคม จำนวน 1 ตัวอย่าง) และตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณสถานีไกลฝั่งทั้งหมดมีปริมาณแบคทีเรียรวมปนเปื้อนไม่เกิน 1.0×10^3 CFU/mL โดยจะเห็นได้ว่าแนวโน้มส่วนใหญ่ของปริมาณแบคทีเรียรวมจะพบค่าสูงในช่วงฤดูฝนและมีปริมาณลดลงในช่วงฤดูร้อน ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ พัฒนา ภูลเปี่ยม และสายสมร ศรีแก้ว (2549) ที่ทำการศึกษาคุณภาพน้ำในเขตพื้นที่ภาคตะวันออก พบว่าบริเวณอ่างศิลาพบปริมาณแบคทีเรียรวมในฤดูแล้ง (มีนาคม) สูงกว่าฤดูฝน (ตุลาคม) มีค่าเท่ากับ 1.88×10^6 และ 8.80×10^4 CFU/mL ตามลำดับ ซึ่งให้ว่าสูงกว่าปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งหมดที่พบและมีค่าสูงสุดของการศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นถึงการเสื่อมโทรมของคุณภาพน้ำด้านชีวภาพในบริเวณนี้มีแนวโน้มลดลง โดยบริเวณที่พบปริมาณแบคทีเรียรวมสูงที่สุดคือบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง โดยรวมพบว่าในช่วงฤดูฝนจะมีความหนาแน่นของแบคทีเรียรวมสูงกว่าช่วงฤดูแล้ง อาจมีผลมาจากการ ชะล้างสิ่งสกปรก สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ต่าง ๆ ลงสู่

แหล่งน้ำปริมาณมาก มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่อยู่ตามธรรมชาติให้มีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะบริเวณพื้นที่ชุมชนชายฝั่งอ่างศิลา

ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียส่วนใหญ่มีค่าไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งคือ ไม่เกิน 1,000 MPN/100 mL (กรมความคุมมลพิษ, 2553) ยกเว้นบริเวณสถานีใกล้ฝั่งที่พบการปนเปื้อนสูงเกินค่ามาตรฐานเกือบทุกเดือนในรอบปีที่ทำการศึกษา มีค่าปริมาณของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย > 1,600 MPN/100 mL แต่จะเห็นได้ว่าในช่วงของเดือนเมษายนถึงกรกฎาคม (ฤดูร้อน) ของปีที่ทำการศึกษาพบว่าบริเวณสถานีใกล้ฝั่งตรวจพบ โคลิฟอร์มแบคทีเรียได้ในปริมาณที่ไม่สูงนัก มีค่าอยู่ในช่วง 13 - 500 MPN/100 mL สอดคล้องกับงานวิจัยของ เจษฎาพร ปาคำวัง (2556) พบว่าในช่วงฤดูฝนจะตรวจพบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียสูงกว่าช่วงฤดูร้อน และสอดคล้องกับรายงานของ พัฒนา ภูลเปี่ยม และสายสมร ศรีแก้ว (2549) ที่ทำการศึกษาคุณภาพน้ำในเขตพื้นที่ภาคตะวันออก พบว่าบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลามีค่าของปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในช่วงฤดูฝนสูงกว่าช่วงฤดูร้อนและเกินค่ามาตรฐาน เนื่องจากมีการปนเปื้อนส่วนใหญ่เกิดจากการระบายน้ำทิ้งและมีการปนเปื้อนมาจากพื้นดินชายฝั่ง ทำให้มีค่าการปนเปื้อนสูงแม้จะได้รับการเจือจางจากน้ำฝนที่เพิ่มขึ้นก็ยังมีระดับการปนเปื้อนสูงเกินค่ามาตรฐาน กล่าวคือน้ำฝนที่ตกลงมาในช่วงฤดูฝนนั้นจะพัดพาสิ่งสกปรกและสิ่งปฏิกูลต่าง ๆ ที่มาจากกิจกรรมของชุมชนบริเวณชายฝั่งไหลลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้แหล่งน้ำบริเวณใกล้ชายฝั่งมีการปนเปื้อนสูง ซึ่งนอกจากน้ำฝนที่ตกลงมาจะไม่สามารถเจือจางสิ่งสกปรกในแหล่งน้ำได้แล้วยังทำให้มีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำเพิ่มสูงขึ้นอีกด้วย (พัฒนา ภูลเปี่ยม และสายสมร ศรีแก้ว, 2549) แต่ในทางกลับกันจากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าบริเวณสถานีกระชังหอยและบริเวณสถานีไกลฝั่งที่อยู่ห่างจากฝั่งออกไป 1.20 และ 1.30 เมตร ตามลำดับ พบว่าในช่วงฤดูร้อน สามารถตรวจพบปริมาณของโคลิฟอร์มแบคทีเรียได้สูงกว่าช่วงฤดูฝน ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง < 2 - 80 และ < 2 - 130 MPN/100 mL ของสถานีกระชังหอยและสถานีไกลฝั่ง ตามลำดับ เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มจะสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิในช่วง 35 - 37 องศาเซลเซียส (Ashbolt, Grabow & Mario, 2001) ซึ่งช่วงในฤดูร้อนเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิสูงและมีค่าสูงสุดในเดือนพฤษภาคม (31 องศาเซลเซียส) จึงอาจส่งผลให้สามารถตรวจพบปริมารความหนาแน่นของโคลิฟอร์มแบคทีเรียได้สูงในช่วงฤดูร้อน สอดคล้องกับรายงานของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล (2556) ที่ตรวจวัดคุณภาพน้ำบริเวณสะพานปลาท่าเทียบเรืออ่างศิลาในปี 2555 พบว่าปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียมีค่าเกินค่ามาตรฐานในช่วงเดือนพฤษภาคมและมิถุนายน มีค่าเท่ากับ 1,600 และ 3,000 MPN/100 mL และระบุค่าคุณภาพน้ำตามเกณฑ์ค่าดัชนีบ่งชี้ MWQI (Marine Water Quality Index) (กรมควมคุมมลพิษ, 2553) ของบริเวณสะพานปลาท่าเทียบเรืออ่างศิลาของเดือนพฤษภาคมและมิถุนายนให้อยู่ในเกณฑ์ที่เสื่อมโทรมมาก และจากงานวิจัยของ พัฒนา ภูลเปี่ยม

และสายสมร ศรีแก้ว (2549) ระบุว่าสามารถตรวจพบโคลิฟอร์มแบคทีเรียบริเวณอ่างศิลาในช่วงฤดูแล้งได้มากกว่าฤดูฝนโดยการปนเปื้อนส่วนใหญ่มาจากการระบายน้ำจากท่อน้ำทิ้ง ซึ่งเมื่อเข้าสู่ฤดูฝนจะเกิดการเจือจางของการปนเปื้อนจากปริมาณน้ำฝนจึงทำให้ช่วงฤดูฝนตรวจพบโคลิฟอร์มแบคทีเรียได้น้อยกว่าฤดูแล้ง โดยโคลิฟอร์มแบคทีเรียในแหล่งน้ำเป็นกลุ่มของแบคทีเรียบงชี้ (Bacteriological indicator) ความสกปรกของน้ำ (นันทนา คชเสนี, 2544) โดยถ้าตรวจพบก็แสดงว่าน้ำนั้นไม่น่าจะปลอดภัย โดยทั่วไปแบคทีเรียบ่งชี้จะต้องมีคุณสมบัติคือ เมื่อพบแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในตัวอย่างน้ำจะต้องพบแบคทีเรียบ่งชี้ในน้ำนั้นด้วย ซึ่งจะมีจำนวนแปรผันตามจำนวนของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค โดยแบคทีเรียบ่งชี้เหล่านี้จะสามารถอยู่ในน้ำได้นานกว่าแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค และเป็นแบคทีเรียที่ไม่ควรพบในน้ำบริสุทธิ์ (กรมควบคุมมลพิษ, 2545)

5.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ของน้ำทะเลกับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

แบคทีเรียในสกุล Vibrio เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนโค้ง (comma shape) หรือท่อนสั้น จัดเรียงตัวไม่แน่นอน ไม่สร้างเอนโดสปอร์ สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ polar flagella และเจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) สามารถสร้างเอ็นไซม์ออกซิเดส (oxidase) จัดเป็นแบคทีเรียใน family Vibrionaceae โดยแบคทีเรียในสกุล Vibrio มีสมาชิกมากกว่า 30 ชนิด พบได้ทั่วไปทั้งในน้ำทะเล น้ำกร่อย และน้ำจืด (Gugliandolo, Carboneb, Fera, Irreraa & Maugri, 2005; Holt & Krieg, 1994) ดังนั้นถ้าแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียในสกุลนี้ตามความสามารถในการเจริญที่สภาวะมีเกลือโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่าง ๆ สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ พวกที่ชอบเกลือเล็กน้อย (slightly halophilic bacteria) เป็นพวกที่เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 0.5 – 3 %, พวกชอบเกลือปานกลาง (moderate halophilic bacteria) เป็นพวกที่เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 3 – 15 % และพวกชอบเกลือสูง (extreme halophiles) เป็นพวกที่เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 15 – 30 % นอกจากนี้ยังมีพวกที่ทนเกลือ (halotolerant) คือสามารถเจริญได้ทั้งในสภาพมีเกลือและไม่มีเกลือ โดยทั่วไปพวกนี้สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 5 % หรือมากกว่าอีกด้วย ดังนั้นแบคทีเรียในสกุล Vibrio จึงมีทั้งกลุ่มที่เจริญได้ดีในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ (halophile) และสภาวะที่ไม่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ (halotolerant และ non-halophilic) (Holt & Krieg, 1994) โดยทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทางทะเลแบคทีเรียในสกุล Vibrio สามารถอาศัยอยู่ได้แบบเซลล์อิสระ (free living form), อยู่ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์หรือตามอวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์เจ้าบ้าน (host) เช่น หอยนางรมซึ่งเป็นสัตว์ที่มีการกินอาหารแบบการกรองกินอาหาร เป็นต้น และ

สามารถอาศัยอยู่ได้กับวัตถุต่าง ๆ ในทะเล โดยการเกาะติดกับวัตถุในรูปแบบของการสร้างไบโอฟิล์มเพื่อป้องกันตัวเองจากสิ่งแวดล้อมที่กดดันหรือไม่เหมาะสมต่อการเจริญ (Yildiz & Schoolnik, 1999)

จากผลการศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม พบว่าปริมาณ *Vibrio* spp. รวมที่ตรวจวัดได้จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณอ่างศิลา มีค่าอยู่ในช่วง < 2 - 14 MPN/100 mL ขณะที่ปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่ตรวจวัดได้จากตัวอย่างหอยนางรม มีค่าอยู่ในช่วง < 3 - 35 MPN/g โดยสามารถตรวจแยก *Vibrio* spp. จากทั้งสองตัวอย่างได้ 6 ชนิด ได้แก่ *V. cholerae, V. parahaemolyticus, V. vulnificus, V. alginolyticus*, *V. mimicus* และ *V. fluvialis* โดยผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทะเลบริเวณแหล่งเพาะเลี้ยงหอยนางรมชายฝั่งทะเลอ่างศิลาพบว่าคุณภาพน้ำทะเลบริเวณสถานีกระชังหอยมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) ยกเว้นค่าออกซิเจนละลายน้ำ และค่าบีโอดี ปัจจัยสิ่งแวดล้อมส่วนใหญ่ได้รับอิทธิพลจากปริมาณน้ำฝนที่ตกตลอดปี เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางด้านต่าง ๆ ต่อปริมาณของ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม โดยภาพรวมจะเห็นได้ว่าในช่วงต้นปี (เดือนมกราคม - มีนาคม) ของปีที่ทำการศึกษาบริเวณสถานีใกล้ฝั่งจะพบปริมาณของ *Vibrio* spp. ในปริมาณมากโดยพบปริมาณของ Vibrio แต่ละชนิดไม่แตกต่างกันมากนัก แต่เมื่อเข้าสู่ช่วงฤดูร้อนจนถึงช่วงกลางของฤดูฝนคือเดือนเมษายน - กรกฎาคมจะพบปริมาณของ *Vibrio* spp. ลดน้อยลงและตรวจพบเพียงแค่บางชนิดเท่านั้น จากนั้นตรวจไม่พบปริมาณของ *Vibrio* spp. ในช่วงของเดือนสิงหาคมและกันยายน และสามารถตรวจพบ *Vibrio* spp. ได้อีกครั้งในช่วงเดือนตุลาคม - ธันวาคม โดยสาเหตุที่ตรวจไม่พบ *Vibrio* spp. ในเดือนสิงหาคมและกันยายนดังกล่าวอาจเป็นผลมาจากปริมาณฝนที่ตกลงมามาก จึงส่งผลให้น้ำทะเลมีความเค็มลดลงและอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ซึ่งสภาวะดังกล่าวอาจไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการดำรงชีวิตของแบคทีเรียในสกุล Vibrio โดยแบคทีเรียในสกุลนี้ส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีในสภาวะที่มีเกลือ (Holt & Krieg, 1994) จากสภาวะดังกล่าวอาจส่งผลให้แบคทีเรียมีการเคลื่อนย้ายแหล่งที่อยู่ได้ เพื่อหาแหล่งที่อยู่ใหม่ในหลบภัยหรือแหล่งที่อยู่ที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต ขณะที่แนวโน้มของการตรวจพบ *Vibrio* spp. บริเวณสถานีไกลฝั่ง ในช่วงเดือนมกราคมไม่สามารถตรวจพบปริมาณของ *Vibrio* spp. ได้ และเริ่มตรวจพบได้ในเดือนกุมภาพันธ์จนถึงพฤษภาคม โดยในช่วงเดือนมิถุนายนจนถึงตุลาคม สามารถตรวจพบปริมาณ *Vibrio* spp. ได้เป็นบางเดือนเท่านั้นและตรวจพบเป็นบางชนิด ได้แก่ *V. parahaemolyticus* ตรวจพบในเดือนกรกฎาคม และตรวจพบ *V. alginolyticus* และ *V. mimicus* ในเดือนกันยายน สำหรับในเดือน

พฤศจิกายนและธันวาคมสามารถตรวจพบปริมาณ Vibrio ได้ในระดับปานกลางซึ่งส่วนใหญ่จะตรวจพบ *V. alginolyticus*

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ *Vibrio* spp. บริเวณสถานีกระชังหอยจากตัวอย่างน้ำทะเลและตัวอย่างหอยนางรม พบว่าปริมาณ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำทะเลที่ตรวจพบจะมีปริมาณน้อยในช่วงต้นปี แต่เมื่อเข้าสู่ฤดูร้อนในเดือนเมษายนซึ่งมีค่าของอุณหภูมิที่สูงขึ้น และปริมาณความเค็มมีค่าเท่ากับ 29.60 ± 0.04 psu พบว่าสามารถตรวจพบปริมาณ *Vibrio* spp. ได้สูงขึ้น โดยส่วนใหญ่จะตรวจพบ *V. alginolyticus* และจะตรวจไม่พบปริมาณ *Vibrio* spp. ในเดือนกรกฎาคมถึงเดือนกันยายนน แต่ในทางกลับกันพบว่าในช่วงต้นปีสามารถตรวจพบปริมาณของ *Vibrio* spp. ได้สูงในตัวอย่างหอยนางรม โดยเฉพาะ *V. vulnificus* แต่เมื่อเข้าสู่ช่วงฤดูร้อนกลับพบว่าปริมาณ *Vibrio* spp. ในตัวอย่างหอยนางรมมีปริมาณลดลงอย่างเห็นได้ชัด และพบว่าสามารถตรวจพบเชื้อได้ในปริมาณน้อยลงเมื่อเข้าสู่ช่วงฤดูฝนและไม่สามารถตรวจพบเชื้อได้เลยในช่วงเดือนกันยายน ซึ่งเป็นเดือนที่มีค่าปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยสูงที่สุดในรอบปี และพบว่าสามารถตรวจพบ *Vibrio* spp. ได้อีกครั้งเมื่อเข้าสู่เดือนตุลาคมจนถึงสิ้นปี ดังนั้นปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio จะสัมพันธ์กับฤดูกาลและปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ของน้ำทะเล สอดคล้องกับรายงานของ DePaola, Nordstrom, and Bowers (2003) ที่พบว่าฤดูกาลและการกระจายของแบคทีเรียในสกุล Vibrio มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ ปริมาณ *Vibrio* spp. จะมีปริมาณสูงเมื่อตรวจวัดในช่วงฤดูใบไม้ผลิและฤดูร้อน โดยพบว่าปริมาณความหนาแน่นของ *Vibrio* spp. จะแปรผันตามอุณหภูมิของน้ำทะเล แต่จะแปรผกผันกับค่าความเค็ม ปริมาณแบคทีเรียรวม และปริมาณฟีคอลแบคทีเรีย (DePaola, Nordstrom, & Bowers, 2003) จากผลของการศึกษาในงานวิจัยนี้พบว่าโดยทั่วไปถ้าตรวจพบ *Vibrio* spp. ได้จากตัวอย่างหอยนางรมก็จะสามารถตรวจพบ *Vibrio* spp. ได้ในตัวอย่างน้ำทะเล โดยจะพบว่าในบางเดือนที่ทำการตรวจวัดในตัวอย่างหอยนางรมจะมีปริมาณของ *Vibrio* spp. สูงกว่าในตัวอย่างน้ำทะเล โดยการตรวจพบปริมาณ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างหอยนางรมได้สูงกว่าในน้ำ สาเหตุดังกว่าอาจเนื่องมาจากสภาวะสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ของน้ำทะเลไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย จึงส่งผลให้แบคทีเรียมีการเคลื่อนย้ายเข้าสู่เจ้าบ้าน (host) ที่เป็นสัตว์น้ำ โดยหอยนางรมดำรงชีวิตอยู่ได้โดยการกินอาหารด้วยขบวนการกรองน้ำ (filter-feeding) โดยใช้ gill cilia ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของมวลน้ำขึ้น ทำให้ตะกอนแขวนลอยในน้ำ ซึ่งประกอบไปด้วย เศษซากหรือขยะ (detritus) รวมถึงจุลชีพชนิดต่าง ๆ ในมวลน้ำเคลื่อนที่ผ่านไปยังเหงือกย่อย (gill filaments) ซึ่งมีเมือก (mucus) อยู่ เมือกนี่เองจะทำหน้าที่ในการจับจุลชีพ และตะกอนแขวนลอยชนิดต่าง ๆ ในมวลน้ำเอาไว้ อาหารของหอยนางรมจะถูกย่อยในกระเพาะอาหาร ตะกอนที่ไม่ถูกย่อยและไม่สามารถดูดซึมได้ก็จะถูกขับทิ้งไป จุลชีพบางชนิดสามารถทนต่อขบวนการย่อยนี้ได้ และสามารถคงอยู่ในหอยได้เป็นเวลานาน

(สุวรรณา ภาณุตระกูล และคณะ, 2549) สอดคล้องกับงานวิจัยของ DePaola, Hopkins, and Peeler (1990) รายงานว่าปริมาณความหนาแน่นเฉลี่ยของ *V. parahaemolyticus* จากเนื้อของหอยนางรมในบางเดือนของการเก็บตัวอย่างจะสามารถตรวจพบได้มากกว่าในน้ำทะเล ซึ่งการที่จุลินทรีย์เข้าไปอยู่ในหอยนางรมไม่จำเป็นว่าจะถูกย่อยหรือตายและอาจจะยังคงเจริญและมีชีวิตอยู่ได้เป็นระยะเวลานานภายในลำไส้ของหอยนางรม (Rowse & Fleet, 1982; Timoney et al., 1984)

จากงานวิจัยส่วนใหญ่พบว่าฤดูกาลที่แตกต่างกันมีผลต่ออุบัติการณ์ของ *Vibiro* spp. จากงานวิจัยของ Kelly (1982) รายงานว่าฤดูกาลมีผลต่ออุบัติการณ์ของ *V. vulnificus* โดยมีแนวโน้มของการพบแบคทีเรียดังกล่าวระหว่างฤดูร้อน เมื่ออุณหภูมิน้ำมีค่าเฉลี่ยมากกว่า 20 องศาเซลเซียส แตกต่างจากช่วงฤดูใบไม้ผลิ ซึ่งจะเจริญได้ดีเมื่อน้ำมีค่าความเค็มต่ำกว่า 16 psu และจะตรวจไม่พบ *V. vunificus* ในหอยนางรมเมื่อเก็บตัวอย่างในเดือนมีนาคมที่มีอุณหภูมิของน้ำ 15 องศาเซลเซียส แต่จะสามารถกลับมาตรวจพบได้อีกครั้ง (70 % ของตัวอย่างหอยนางรม) ในเดือนกรกฎาคมเมื่ออุณหภูมิของน้ำ มีค่า 28 องศาเซลเซียส จากงานวิจัยของ Kelly and Stroh (1988) รายงานว่าสามารถตรวจพบ *V. vulnificus* ได้จากสิ่งแวดล้อมบริเวณปากแม่น้ำใน British Columvia ระหว่างฤดูร้อนที่อุณหภูมิมากกว่า 20 องศาเซลเซียส แต่จะตรวจไม่พบในช่วงเวลาอื่นของปีที่น้ำทะเลมีอุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่า *V. cholerae* สามารถตรวจพบได้ในน้ำจืดและตัวอย่างน้ำที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำใน British Columvia โดยจะมีรูปแบบของการอาศัยอยู่ในสิ่งมีชีวิตคล้ายกับ *V. vulnificus* และสามารถตรวจพบได้ในน้ำทะเลช่วงฤดูร้อน ซึ่งสัมพันธ์กับช่วงที่มีความเค็มต่ำ ในช่วงที่ความเค็มมีค่าต่ำเช่นในช่วงที่มีฝนตกพบว่า *V. parahaemolyticus* จะชอบและอยู่รอดได้นานในสิ่งแวดล้อมทางทะเล (Lee et al., 2006) แต่อย่างไรก็ตามในบางช่วงยังสามารถตรวจพบ *V. parahaemolyticus* ได้เมื่ออุณหภูมิและความเค็มมีระดับขึ้น ๆ ลง ๆ (DePaola, Nordstrom, & Bowers, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่าหอยนางรมอาจเป็นแหล่งที่อยู่ (host) และเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลในการตรวจพบ *Vibrio* spp. ชนิดที่แตกต่างกันในช่วงที่มีค่าความเค็มและอุณหภูมิผันแปรขึ้น ๆ ลง ๆ (DePaola, et al., 2003) จากปรากฏการณ์เหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถของหอยนางรมในการสะสมเชื้อที่อาจก่อโรคในมนุษย์ได้ ดังนั้นตัวอย่างน้ำทะเลเพียงอย่างเดียวอาจจะไม่เพียงพอสำหรับการประเมินการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรค ต้องตรวจสอบจากหอยนางรมด้วย

จากผลการศึกษาตรวจแยกแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างหอยนางรมที่เก็บจากสถานีกระชังหอย แต่เก็บจากจุดที่แตกต่างกันในบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงหอยนางรม ซึ่งพบว่าปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. มีความหลากหลายที่ไม่เท่ากัน หอยนางรมแต่ละตัวอย่างสามารถตรวจพบชนิดและปริมาณของ *Vibrio* spp. ได้แตกต่างกันมาก โดยพบว่าบางตัวอย่างที่นำมาทดสอบสามารถตรวจพบ *Vibrio* spp. ได้บางชนิด ในขณะเดียวกันพบว่าบางตัวอย่างที่นำมา

ทดสอบไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียที่อยู่ในสกุล Vibrio ได้ จากข้อมูลดังกล่าวอาจเป็นไปได้ว่าหอยนางรมที่นำมาทดสอบไม่ได้มีการปนเปื้อนของ *Vibrio* spp. ทุก ๆ ชนิดอยู่ในเนื้อหอย เนื่องจากการเก็บตัวอย่าง แต่ละครั้งเป็นการเก็บแบบผสมรวม (composite sampling) ให้ตัวอย่างมีน้ำหนักเท่ากับ 25 กรัม ซึ่งจากผลการทดสอบแสดงค่าปริมาณของ *Vibrio* spp. ที่มีค่าแตกต่างกัน อาจเป็นไปได้ว่าหอยนางรมแต่ละตัวอาจมีอุบัติการณ์ของการปนเปื้อนแบคทีเรียในสกุล Vibrio แตกต่างกัน ดังนั้นจึงมีการศึกษาอุบัติการณ์จากหอยนางรม 25 ตัว ในแต่ละเดือน ซึ่งพบว่าในแต่ละเดือนสามารถตรวจพบแบคทีเรียในสกุล Vibrio ได้เพียงบางชนิดจากตัวอย่างหอยนางรม 25 ตัว เท่านั้น โดยอาจบ่งชี้ได้ว่าการตรวจหาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio อาจมีความแปรปรวนขึ้นอยู่กับตัวอย่างหอยนางรมที่นำมาทดสอบ ซึ่งควรเพิ่มปริมาณของตัวอย่างในการตรวจหาปริมาณ *Vibrio* spp. ด้วยวิธี MPN โดยการสำรวจที่ใช้ในการเฝ้าระวังความปลอดภัยทางอาหารสำหรับผู้บริโภคหอยนางรมสด ควรคำนึงถึงอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ด้วย และจากข้อสังเกตุจะพบแนวโน้มที่น่าสนใจจากผลการตรวจวิเคราะห์อุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ที่เกิดขึ้น คือปริมาณของ *V. alginolyticus* ที่ตรวจพบจะเห็นได้ว่าตรวจพบได้ในปริมาณสูง แม้ปัจจุบัน *V. alginolyticus* จะไม่ใช่แบคทีเรียเป้าหมายอันดับต้น ๆ ที่มีความสำคัญทางการแพทย์ของการก่อโรคที่มีสาเหตุมาจากการบริโภคอาหารทะเล ไม่ค่อยพบในสิ่งที่ส่งตรวจ แต่แบคทีเรียดังกล่าวสามารถก่อโรคได้โดยการติดเชื้อทางตา หู ผิวหนัง บาดแผลไฟไหม้ และผู้เสี่ยงต่อการติดเชื้อ *V. alginolyticus* มากที่สุดคือชาวประมง และผู้ที่สัมผัสกับน้ำทะเลในบริเวณที่มีการปนเปื้อนของเชื้อสูง

จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณของ *Vibrio* spp. แต่ละชนิดที่ตรวจพบในน้ำทะเลพบว่าไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณ *Vibrio* spp. แต่ละชนิดที่ตรวจพบในหอยนางรม ($p < 0.05$) ยกเว้น *V. cholerae* ที่พบว่าปริมาณที่ตรวจพบได้ในหอยนางรมแปรผันตามปริมาณ *V. cholerae* ที่ตรวจพบในน้ำทะเล เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่ม non-halophilic คือเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีเกลือ (Holt & Krieg, 1994) แต่อาจมีบางสายพันธุ์ที่อาจทนต่อการมีอยู่ของเกลือในสิ่งแวดล้อม (halotolerant) (Holt & Krieg, 1994) จากข้อมูลดังกล่าวจึงอาจสรุปได้ว่าค่าความเค็มที่ได้รับอิทธิพลมาจากปริมาณน้ำฝนที่ตกลงมามาก และทำให้มีค่าความเค็มลดลงนั้น ก่อให้เกิดผลกระทบต่อแบคทีเรียที่ชอบเกลือโซเดียมคลอไซด์ในการเจริญ (halophile) ได้แก่ *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* และ *V. alginolyticus* เป็นต้น เนื่องจากเป็นสภาวะแวดล้อมที่ ไม่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย แต่สภาวะดังกล่าวไม่มีผลกระทบต่อ *V. cholerae* จึง ทำให้ปริมาณที่ตรวจพบในหอยนางรมมีค่าแปรผันตามปริมาณที่ตรวจพบได้ในน้ำทะเล

จากผลการวิจัยยังพบว่าปริมาณ *Vibrio* spp. บางชนิดและปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียบริเวณสถานีกระชังหอย มีแนวโน้มแปรผันไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งสามารถตรวจพบปริมาณ *Vibrio* spp. และปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียบริเวณสถานีกระชังหอยได้สูงในช่วงเดือนฤดูร้อนมากกว่าในช่วงฤดูอื่นเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Soto, Gutierrez, Remmenga, and Nishiguchi (2009) ที่ทำการตรวจเชื้อจากหอยนางรมพบว่าปริมาณ *Vibrio* spp. มีความสัมพันธ์กับปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่อยู่ในหอยนางรม โดยมีความสัมพันธ์ที่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน เช่นเดียวกันกับปริมาณของแบคทีเรียรวมที่ตรวจพบ ซึ่งมีความสัมพันธ์ที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณของ *Vibrio* spp. บางชนิด แต่อย่างไรก็ตามในบางสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียก็อาจส่งผลทำให้การเจริญของแบคทีเรียก่อโรคไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับแบคทีเรียบ่งชี้หรือแบคทีเรียอื่น ๆ ได้ เนื่องจากแบคทีเรียอาจอยู่สภาวะแข่งขันกัน นอกจากนี้ยังพบว่าในสภาวะแวดล้อมที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของ Vibrio อยู่แล้ว และมีการเจริญร่วมกันกับแบคทีเรียอื่น ก็ยังไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของ Vibrio มากนัก แต่เมื่ออยู่สภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยปกติทั่วไปก็จะส่งผลต่อการเจริญของแบคทีเรียอยู่แล้ว และเมื่อมีการเจริญร่วมกันกับแบคทีเรียอื่นร่วมด้วย ยิ่งส่งผลทำให้อัตราการเจริญของ Vibrio ลดลงมากยิ่งขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียอยู่ในสภาวะที่เกิดการเจริญแบบแข่งขันกัน

จากผลการวิจัยนี้เป็นการศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในห้องปฏิบัติการ โดยมีขั้นตอนการแกะเปลือกหอยนางรมด้วยวิธีปราศจากเชื้อ (aseptic techniques) ซึ่งจะเห็นได้ว่าผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *Vibrio* spp. พบว่าปริมาณ *Vibrio* spp. จากการศึกษานี้มีค่าต่ำกว่างานวิจัยอื่น อาทิงานวิจัยของ Davis, Dulbecco, Eisen, and Ginsberg (1990) เก็บตัวอย่างหอยนางรมจากสถานประกอบการต่าง ๆ (ร้านอาหาร ตลาดค้าปลีก ตลาดขายส่งอาหารทะเล) ทั่วประเทศสหรัฐอเมริกา ระหว่างเดือนมิถุนายน ปี 1998 ถึงเดือนกรกฎาคม ปี 1999 ซึ่งตรวจพบปริมาณความหนาแน่นของ *V. vulnificus* และ *V. parahaemolyticus* ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี MPN มีปริมาณมากกว่า 1,000 MPN/g ของ Vibrio ทั้งสองชนิด และจากงานวิจัยของ Changchai and Saunjit (2014) ตรวจพบ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* จากตัวอย่างหอยนางรมที่เก็บจากร้านค้าขายปลีกบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทย ซึ่งตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี most probable number (MPN) multiplex PCR พบว่ามีค่า MPN ของ *V. parahaemolyticus* อยู่ในช่วง 10 - 10^2 จากตัวอย่างหอยนางรม 219 ตัวอย่าง และพบว่า *V. vulnificus* 10 - 10^2 MPN/g จากตัวอย่างหอยนางรม 53 ตัวอย่าง

5.3 แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในสกุล Vibrio บางไอโซเลท

จากผลการศึกษาแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. จำนวน 140 ไอโซเลท ที่ได้จากตัวอย่างหอยนางรมและน้ำทะเล พบว่า 74 ไอโซเลทของ *Vibrio* spp. ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin สอดคล้องกับการศึกษาของ Joseph, DeBell, and Brown (1978) ที่ศึกษา *V. parahaemolyticus* และ *V. alginolyticus* สายพันธุ์ที่ได้จากสิ่งแวดล้อมซึ่งพบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นับตั้งแต่นั้นมาได้มีงานวิจัยหลายงานในต่างประเทศที่มีการรายงานการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin ของ *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* และ*V. alginolyticus* ซึ่งอยู่ในช่วง 40 - 100 เปอร์เซ็นต์ (Akinbowale, Peng, & Batrton, 2006; Maluping et al., 2005; Zanetti et al., 2001; Han et al., 2007; Mustapha, Mustapha, & Nozha, 2013) โดยอุบัติการณ์การดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin (ampicillin-resistant) นั้นมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกันระหว่างการดื้อต่อ ampicillin และการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase (Joseph, 1978) จากรายงานของ Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ไม่แนะนำให้ใช้ยา ampicillin ในการรักษาโรคติดเชื้อที่ เกิดจาก *V. parahaemolyticus* (Han et al., 2007) อย่างไรก็ตามผลจากการศึกษาส่วนใหญ่ในการทดสอบกับ *Vibrio* spp. มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ tetracycline, cefotaxime, chloramphenicol, co-trimoxazole และ fluoroquinolones ซึ่งยาปฏิชีวนะทั้ง 5 ชนิดนี้ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้ง *Vibrio* spp. ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Khantho (2008) ที่ทำการศึกษายาปฏิชีวนะ tetracycline และยาที่อยู่ในกลุ่ม third generation cephalosporin ตัวอย่างเช่น cefotaxime หรือ single regimen ร่วมกับ fluoroquinolone เช่น ciprofloxacin และ norfloxacin ที่ใช้เป็นยาทางเลือก (drug of choice) ในการรักษาอาการที่น่าสงสัยหรือใช้ในการรักษาการติดเชื้อในกระแสเลือดเบื้องต้น (primary bacteremia) ที่มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียในสกุล Vibrio โดยยาในกลุ่ม fluoroquinolones เป็นยาที่ห้ามใช้กับเด็ก ดังนั้นจึงจะรักษาด้วย co-trimoxazole ร่วมกับ aminoglycoside (Khantho, 2008) นอกจากนี้ยังพบว่า ciprofloxacin ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการรักษาบาดแผลที่เกิดจากการติดเชื้อ *V. vulnificus* ยากลุ่มแรกที่เลือกใช้ในการรักษา (first-line drugs)ได้แก่ tetracycline, cefotaxime, ceftacidime และ ciprofloxacin ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้ง *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* และ *V. vulnificus* (Hogberg, Heddini, & Cars, 2010; Huhulescu et al., 2007; Petsaris et al., 2010)

ในการศึกษานี้เป็นตัวแทนของการตรวจสอบแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในสกุล Vibrio จากตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม โดยแหล่งที่อยู่อาศัยในธรรมชาติของ *Vibrio* spp. คือบริเวณชายฝั่งทะเลและปากแม่น้ำซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของน้ำเสียจากบ้านเรือนที่ไหลลงมาและน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างจะก่อให้เกิดสภาวะ

กดดันที่นำไปสู่การกระตุ้นให้แบคทีเรียที่อยู่ในน้ำมีการพัฒนาการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ (Gordon et al., 2007; Jorgensen & Hindler, 2007) นอกจากนี้แบคทีเรียที่มียีนดื้อยายังสามารถถ่ายทอดยีนระหว่างแบคทีเรียด้วยกัน โดยภายในสายพันธุ์เดียวกันหรือต่างสายพันธุ์ได้ (horizontal gene transfer) (Hogberg, 2010) ซึ่งการตรวจติดตามการแพร่กระจายของการดื้อต่อยาปฏิชีวนะมีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับการประเมินความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรคในสัตว์น้ำและอาจแพร่กระจายมาสู่มนุษย์ได้จากวงจรของห่วงโซ่อาหาร (Lagana, Caruso, Minutolo, Zaccone, & Santi, 2011)

5.4 ผลกระทบของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase การสลายเม็ดเลือดแดง และการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลท

5.4.1. ผลกระทบของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของ V. alginolyticus บางไอโซเลท

การดื้อต่อยาปฏิชีวนะในสิ่งแวดล้อมเป็นดัชนีบ่งชี้ภาวะการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะในสิ่งแวดล้อมนั้น ๆ ได้ จากอุบัติการณ์ของ *V. alginolyticus* ที่พบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin สูง แสดงให้เห็นว่าน่าจะมีการปนเปื้อนของยากลุ่มดังกล่าวในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งอ่างศิลา ซึ่งการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากความประมาทในการใช้ยาปฏิชีวนะของมนุษย์ พฤติกรรมของมนุษย์ที่เป็นสาเหตุและส่งเสริมการดื้อยาปฏิชีวนะในแบคทีเรีย ได้แก่ 1) การใช้ยาปฏิชีวนะที่มากเกินไปทางการแพทย์ 2) การเปลี่ยนแปลงของลักษณะประชากรที่มีรูปแบบการดำเนินชีวิตที่ทันสมัยมากขึ้นและเชื่อมโยงอย่างมากกับการท่องเที่ยว ซึ่งเป็นสาเหตุของการแพร่กระจายการดื้อยาปฏิชีวนะ 3) การขยายตัวเพิ่มขึ้นในเชิงพาณิชย์และผลิตภัณฑ์อาหารปลอดเชื้อที่ผู้ประกอบการด้านอาหารมีการใช้ยาฏิชีวนะกันอย่างมากเพื่อการแสวงหาผลประโยชน์

กลไกสำหรับการถ่ายทอดการดื้อยาปฏิชีวนะในแบคทีเรียในพลาสมิด (plasmid) ซึ่งสามารถถ่ายทอดคุณสมบัติการดื้อยาจากแบคทีเรียสายพันธุ์หนึ่งไปสู่แบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ ได้ (horizontal gene transfer) การผลิตเอ็นไซม์ β-lactamase และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิต Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) ในแบคทีเรีย ซึ่งดูเหมือนว่าจะเป็นภัยคุกคามที่ร้ายแรงต่อสุขภาพของประชาชน เนื่องจากยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β-lactam เป็นยาปฏิชีวนะที่ถูกนำมาใช้อย่างต่อเนื่องในการรักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรีย (Kristiansen, 2011) นอกจากนี้ยาปฏิชีวนะยังมีผลต่อการสื่อสารกันระหว่างเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งบทบาทของเอ็นไซม์ β-lactamaes คือการปรับเปลี่ยนสัญญาณการติดต่อสื่อสาร (quorum sensing signals) ของแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม (Kristiansen, 2011)

การปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะในสิ่งแวดล้อม อาจเกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะเกินความจำเป็น เช่น การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำบริเวณชายฝั่ง ซึ่งอาจก่อให้เกิดการดื้อต่อยาปฏิชีวนะและปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำได้ นอกจากนี้อาจเกิดจากการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในมนุษย์ เมื่อมนุษย์มีการขับถ่ายของเสียออกจากร่างกาย ส่งผลแบคทีเรียดื้อยาสามารถปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมได้ ปัจจุบันถือว่าการดื้อต่อยาปฏิชีวนะเป็นปัญหาสำคัญอย่างมากทางการแพทย์ ซึ่งแบคทีเรียดื้อยาดังกล่าวยังสามารถถ่ายทอดยีนระหว่างแบคทีเรียด้วยกันได้ ทั้งแบคทีเรียที่มีสายพันธุ์เดียวกันหรือต่างสายพันธุ์ (Hogberg et al., 2010)

ยาปฏิชีวนะกลุ่ม β-lactam เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มใหญ่ที่รู้จักกันโดยทั่วไป โดยมีโครงสร้างแบบ β-lactam ring ยาปฏิชีวนะกลุ่มนี้จะมีอวัยวะเป้าหมายอยู่ที่กระบวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ทำได้โดยการยับยั้ง PBP (Penicillin Binding Protein) ซึ่งเป็นสาเหตุของความผิดปกติในโครงสร้าง peptidoglycan โดย peptidoglycan เป็นโครงสร้างสำคัญของการสร้างผนังเซลล์ในแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังทำให้เกิดความผิดปกติในส่วนประกอบของผนังเซลล์และนำไปสู่การขัดขวางการเจริญและนำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด (Kristiansen, 2011)

สองปัจจัยสำคัญที่กำหนดระดับการดื้อยาในกลุ่ม β-lactam ในแบคทีเรียแกรมลบคือ chromosomal class C β-lactamases และการซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ การแสดงออกยีนโดยปกติแล้วจะมีการสร้าง β-lactamase ในระดับต่ำ แต่บางสายพันธุ์สามารถถูกเหนี่ยวนำด้วยสาร β-lactam จึงส่งผลให้มีการสร้างได้ในระดับสูง นอกจากนี้ยังพบว่าการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase จะสัมพันธ์กับการสร้างไบโอฟิล์ม ซึ่งพบว่าถ้าอยู่ในสภาวะที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะจะส่งผลให้มีการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase และการสร้างไบโอฟิล์มได้สูง (Phillips & Shannon, 1993) การผลิตสารพิษหรือยาปฏิชีวนะ และการผลิตเอ็มไซม์ β-lactamase เป็นส่วนหนึ่งของวิวัฒนาการของการแข่งขันเพื่อการอยู่รอดในสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมของสิ่งมีชีวิต (Kristiansen, 2011) การสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ โดยสร้างได้ดีที่อุณหภูมิ 28 – 32 องศาเซลเซียส ของอุณหภูมิในสิ่งแวดล้อม แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ผลิตเอ็นไซม์ส่วนใหญ่จะสร้างได้ไม่ดีเมื่ออุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (Cullmann & Dick, 1990)

จากการผลการวิจัยพบว่า *V. alginolyticus* สามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ได้ดีในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 3.5 % ความเป็นกรด - ด่าง 7.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เชื้อทดสอบจะมีการสร้างเอ็นไซม์สูงที่สุด (OD_{486} = 1.17 ± 0.11) และการสร้างเอ็นไซม์จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OD_{486} = 0.29 ± 0.04) เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ทดสอบเท่ากับ 28 องศาเซลเซียส

($p < 0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ Debell, Hicley, & Uddin (1978) ได้ศึกษาผลของค่าความเป็นกรด - ด่างและอุณหภูมิในการเจริญต่อการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของ Vibrio พบว่าแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่ดื้อต่อยา penicillin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β-lactam ที่อุณหภูมิในการเจริญแตกต่างกัน คือ 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 และ 40 องศาเซลเซียส มีการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ได้สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส ที่ช่วงความเป็นกรด - ด่าง 6.5 - 7

5.4.2. ผลกระทบของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ V. parahaemolyticus บางไอโซเลท

การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษา *V. parahaemolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท ที่แยกได้จากน้ำทะเลและหอยนางรม ซึ่งถือว่าเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม จากการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเม็เลือดแดงบนอาหาร Blood agar ที่เติมเลือดมนุษย์ โดยจากงานวิจัยของ Twedt, Novelli, Spaulding, and Hall (1970) ได้ศึกษารูปแบบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงบนอาหาร Blood ager ที่เติมเลือด โดยเปรียบเทียบกันระหว่างเลือดจาก มนุษย์, ลิง, แกะ, วัว, หนู, ไก่ และห่าน ซึ่งพบว่าการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. parahaemolyticus* บนอาหาร Blood agar ที่เติมเลือดมนุษย์มีการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงได้อย่างสมบูรณ์ (Kanagawa hemolysis) เช่นเดียวกันกับรูปแบบการย่อบสลายเม็ดเลือดแดงบนอาหาร Wagatsuma agar

จากงานวิจัยของ แวนูรมา เจ๊ะเมาะ (2552) รายงานว่าการตรวจหาความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน Thermal direct hemolysin (TDH) และยังสามารถยืนยันการเป็นเชื้อก่อโรคได้ โดยการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของเชื้อบนอาหาร Wagatsuma agar แบบ α-hemolysis แสดงว่าเชื้อเป็นไอโซเลทที่ไม่มียีน *tdh* เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์ที่มียีน *tdh* เท่านั้นที่จะให้ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงเป็นแบบ β-hemolysis (Kanagawa phenomenon) บน Wagatsuma agar นอกจากนี้การสร้าง TDH บน Wagatsuma agar ยังเกี่ยวข้องกับความเป็นกรด - ด่าง และชนิดคาร์โบไฮเดรตที่มีในอาหาร โดยมีรายงานว่าความเป็นกรด - ด่างที่เหมาะสมต่อการสร้าง TDH อยู่ในช่วง 5.5 - 6.5 แต่ถ้าค่าความเป็นกรด - ด่างมีค่าต่ำกว่า 5.5 จะยับยั้งการเจริญและการสร้าง TDH ของ *V. parahaemolyticus* (Cherwonogrodzk & Clark, 1981)

จากผลการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. parahaemolyticus* ที่สภาวะของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2.5 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7 และ 8) ที่แตกต่างกันพบว่าสามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้อย่างสมบูรณ์ (β-hemolysis) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร Blood agar ที่ผสมเลือดมนุษย์ *V. parahaemolyticus* แต่ละไอโซเลท ให้ค่าของกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออยู่ในสภาวะของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่างเดียวกัน

ซึ่งกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ของเชื้อมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่ออุณหภูมิและความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้น ($p < 0.05$) *V. parahaemolyticus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความเค็ม อยู่ในช่วง 2 - 4 % โซเดียมคลอไรด์ (Food and Environmental Hygiene Department; FEHD, 2005) จากผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการศึกษานี้พบว่าอุณหภูมิที่ดีที่สุดสำหรับในการศึกษานี้คือ 35 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 3.5 % ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิ และความเค็มที่ใกล้เคียงกับค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อทดสอบ และพบว่ากิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อมีค่าความเป็นกรด - ด่างเพิ่มขึ้น ค่าความเป็นกรด - ด่างที่ให้ค่ากิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์สูงสุดเท่ากับ 8 โดยสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด - ด่างที่เหมาะสมของ *V. parahaemolyticus* ที่อยู่ในช่วง 7.8 - 8.6 (FEHD, 2005)

จากผลการวิจัยที่พบในศึกษานี้อาจสันนิษฐานได้ว่า *V. parahaemolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบ และให้ผลการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงได้อย่างสมบูรณ์ (β-hemolysis) บนอาหาร Blood agar เป็นเชื้อที่มียีน *tdh* อาจบ่งชี้ได้ถึงความสัมพันธ์ที่สามารถก่อโรคได้ จากรายงานของ Janda, Powers, Bryant, & Abbott (1988) พบว่า *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากการติดเชื้อทางคลินิกมักจะให้ผลบวกของ Kanagawa phenomenon ขณะที่ไอโซเลทที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม (อาหารทะเล) ให้ผลที่ค่อนข้างเป็นไปในทางลบของ Kanagawa phenomenon และไม่ก่อความรุนแรงในการก่อโรค (non-virulent) นอกจากนี้ยังพบว่าการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบ β-hemolysis ซึ่งให้ผลบวกของ Kanagawa phenomenon บนอาหาร Wagatsuma agar มีความสัมพันธ์กับสายพันธุ์ที่ก่อโรคได้สูง ซึ่งมีเพียง 1 % - 2 % ที่ให้ผลบวกของ Kanagawa phenomenon แต่ไม่พบการก่อโรคเกิดขึ้น จากรายงานการวิจัยต่าง ๆ ที่กล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการตรวจหาความสามารถในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงและการตรวจหาผลบวกของ Kanagawa phenomenon เป็นการทดสอบเบื้องต้นที่มีความสำคัญในการบ่งชี้การสร้าง TDH ซึ่งสัมพันธ์กับความสามารถของการก่อโรคใน *V. parahaemolyticus* และนอกจากนี้ควรมีการตรวจยืนยันปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคของแบคทีเรียด้วยวิธีอื่นร่วมด้วย เช่น การทดสอบโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction; PCR) โดยตรวจหายีนก่อโรคในแบคทีเรียทดสอบ เพื่อความแม่นยำมากขึ้นในการยืนยันผลการทดสอบ

5.4.3. ผลกระทบของอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของ Vibrio spp. *บางไอโซเลท*

ปัจจัยก่อโรคที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของแบคทีเรียในสกุล Vibrio คือการสร้างไบโอฟิล์ม ซึ่งเป็นสารจำพวกโพลิเมอร์ (polymers) ไกลโคคัลลิกซ์ (glycocalyx) และเมือก (slime) ที่กลุ่ม

แบคทีเรียสร้างออกมาและใช้เป็นที่อยู่อาศัย เพื่อให้เชื้อรวมกลุ่มกันเจริญเติบโต ไบโอฟิล์มมีความสำคัญอย่างมากในทางการแพทย์ เนื่องจากไบโอฟิล์มเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลให้จุลินทรีย์มีความไวต่อยาปฏิชีวนะลดน้อยลง เนื่องจากการสร้างไบโอฟิล์มคือความสามารถของแบคทีเรียในการปกป้องตนเองจากยาปฏิชีวนะ (Kristiansen, 2011) ความไวต่อยาปฏิชีวนะขึ้นอยู่กับ การเจริญและประสิทธิภาพในการสร้างไบโอฟิล์มโดยธรรมชาติของจุลินทรีย์แต่ละชนิด หรือขึ้นอยู่กับการได้รับอิทธิพลจากการถ่ายทอดสารพันธุกรรมที่อยู่นอกโครโมโซม (extrachromosomal DNA) ระหว่างจุลินทรีย์ด้วยกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการสร้างไบโอฟิล์มจะทำให้แบคทีเรียมีความทนทานต่อการทำลายของระบบภูมิคุ้มกันในมนุษย์ได้ (Christensen et al., 2007)

การสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรีย เกิดจากการส่งสัญญาณการสื่อสารระหว่างเซลล์แบคทีเรียด้วยกันเพื่อรวมตัวและมีจำนวนของเซลล์ที่เพียงพอต่อการผลิตไบโอฟิล์ม กระบวนการส่งสัญญาณของแบคทีเรียสำหรับใช้ติดต่อสื่อสารระหว่างเซลล์ กลไกการติดต่อสื่อสารระหว่างเซลล์แบคทีเรียนี้เรียกว่า quorum sensing ซึ่งการสื่อสารที่เกิดขึ้นระหว่างแบคทีเรียเป็นกลไกสำคัญอันหนึ่งที่แบคทีเรียใช้ควบคุมการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม และควบคุมการแสดงออกของยีนหลายชนิด รวมทั้งยีนที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยก่อโรค (virulence gene) ในแบคทีเรียก่อโรค (มณฑล เลิศวรปรีชา และญฏารัตน์ สุวรรณมณี, 2557)

จากผลการศึกษาความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ *V. cholerae, V. parahaemolyticus, V. vulnificus* และ *V. alginolyticus* ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม ซึ่งถือว่าเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม พบว่าแบคทีเรียทุกไอโซเลทที่นำมาทดสอบมีการสร้างไบโอฟิลม์ สอดคล้องกับรายงานของ Frischkorn, Stojanovski, and paranjpye (2013) ที่พบว่า *Vibrio* spp. สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ทั้งแบบล่องลอยอยู่อย่างอิสระตามธรรมชาติและแบบเกาะติดกับสิ่งมีชีวิตในทะเล โดยสามารถสร้างไบโอฟิล์มเพื่อการยึดเกาะกับพื้นผิวต่าง ๆ เช่นบริเวณเปลือกหรือบริเวณอวัยวะภายในของสัตว์ทะเลได้ เช่น หอยนางรม (Aagesen, Phuvasate, & Hease, 2013; Vezzulli, Pezzati, Repetto, & Stauder, 2008) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ แวนูรมา เจ๊ะเมาะ (2552) ที่พบว่าแบคทีเรียในสกุล Vibrio สายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมสามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ไม่แตกต่างจากสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย นอกจากนี้ยังพบว่าบางไอโซเลทของ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้มากกว่า *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ *Vibrio* spp. ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมจำเป็นต้องสร้างไบโอฟิล์มเพื่อการอยู่รอดได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีปัจจัยต่าง ๆ ที่หลากหลายมากกว่าในร่างกายผู้ป่วย เช่น สภาวะทางกายภาพ ได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ ความเป็นกรด - ด่าง เป็นต้น ที่ทำให้แบคทีเรียเกิดความเครียดหรืออยู่ในสภาวะกดดัน

รวมทั้งการถูกล่าโดยโปรโตซัวหรือแม้แต่พวกแบคเทอริโอฟาจที่อยู่ในสิ่งแวดล้อม (Huq, Whitehouse, Grim, Alam, & Colwell, 2008)

จากการศึกษาครั้งนี้ได้ทดสอบความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มภายใต้สภาวะของอุณหภูมิ (28 และ 35 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (1.5, 2, 2.5, 3 และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์) และความเป็นกรด - ด่าง (7.5, 8 และ 8.5) ที่แตกต่างกัน ในช่วงระยะเวลาในการบ่มเชื้อที่ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิในแต่ละระดับมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยแบคทีเรียจะสร้างไบโอฟิล์มเมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตและจากผลที่ได้ในการวิจัยครั้งนี้แบคทีเรียทดสอบจะให้ค่ากิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์สูงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทั้งระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง สอดคล้องกับรายงานของ Food and Environmental Hygiene Department (2005) ที่ระบุว่า *V. cholerae, V. alginolyticus*, *V. vulnificus* และ *V. alginolyticus* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเช่นเดียวกัน ซึ่งอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย จึงส่งผลให้แบคทีเรียทดสอบมีการสร้างไบโอฟิล์มได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต อย่างไรก็ตามพบว่า *V. vulnificus* แสดงค่ากิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ของระยะเวลา 48 ชั่วโมง สูงกว่าที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส อาจเป็นผลมาจากในช่วงระยะแรกของระยะเวลา 24 ชั่วโมง แบคทีเรียมีการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของทุกสภาวะที่ทำการศึกษา (อุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง) ได้น้อยจึงส่งผลให้ความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มมีค่าต่ำกว่าระยะเวลา 48 ชั่วโมง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Li and Burne (2001) ที่พบว่าแบคทีเรียบางชนิดมีการสร้างไบโอฟิล์มได้น้อยในช่วงระยะแรกเมื่ออยู่ในสภาวะสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (น้อยกว่า 48 ชั่วโมง) หลังจากนั้นจะมีการสร้างไบโอฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วส่งผลให้ตรวจพบปริมาณการสร้างไบโอฟิล์มที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ได้น้อยกว่า 48 ชั่วโมง โดยขึ้นอยู่กับระบบ quorum sensing ที่ควบคุมการสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรียแต่ละชนิด จากผลการศึกษาจะพบว่าการสร้างไบโอฟิล์มของ *V. vulnificus* ที่ระดับอุณหภูมิและระยะเวลาเดียวกันแต่สภาวะความเค็มและความเป็นกรด - ด่างแตกต่างกันให้ค่าร้อยละของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก สอดคล้องกับรายงานของ McDougald, Lin, Rice, and Kjelleverg (2006) พบว่าที่ระดับความเค็มต่ำหรือสูง ก็ไม่ส่งผลกระทบให้เกิดการผันแปรต่อการสร้างไบโอฟิล์มของ *V. vulnificus* (Cheng, Hsiao, Hsu, & Chen, 2004; Kalburge, Whitaker, & Boyd, 2014) เช่นเดียวกันกับ *V. parahaemolyticus* ที่สามารถสร้างไบโอฟิล์มที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

ได้ปริมาณสูงกว่าที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการสร้างไบโอฟิล์มได้ช้าในระยะแรกที่เช่นเดียวกัน (Li and Burne, 2001)

จากผลของกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์มสัมพัทธ์ของ *V. cholerae* จะให้ค่าไม่แตกต่างกันมากนักในทุกสภาวะที่ใช้ในการทดสอบ สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Yildiz and Schoolnik (1999) ที่ระบุว่า *V. cholerae* บางสายพันธุ์ จะพบว่าไบโอฟิล์มที่สร้างจากสายพันธุ์นี้จะบางมาก และไม่มีโครงสร้างไบโอฟิล์มที่สมบูรณ์ ซึ่งจะมีความล่าช้าเล็กน้อยในการสร้างไบโอฟิล์ม (Davey and O'Toole, 2000) สำหรับการสร้างไบโอฟิล์มของ *V. alginolyticus* ที่พบในการศึกษานี้ สามารถสร้างไบโอฟิล์มที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ได้ดีกว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง อาจเนื่องมาจากการสร้าง ไบโอฟิล์มของ *V. alginolyticus* เกิดขึ้นในระยะเวลารวดเร็วและเข้าสู่ระยะของการกระจายตัว (dispersion) ของเซลล์ออกจากไบโอฟิล์มเร็วขึ้น (O'Toole, Kaplan, & Kolter, 2000) จึงทำให้ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีค่าของการสร้างไบโอฟิล์มที่ลดลง มีการตั้งสมมุติฐานว่าความอดอยากอาจนำไปสู่การกระจายตัวของเชื้อออกจากไบโอฟิล์มเพื่อค้นหาที่อยู่ใหม่ที่อุดมไปด้วยสารอาหาร (O'Toole et al., 2000)

ผลการวิจัยของเราแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในสกุล Vibrio ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ในปี พ.ศ. 2555 พบว่าส่วนใหญ่ยังคงมีความไวต่อยาปฏิชีวนะกลุ่มแรก (first-line drugs) และยาทางเลือก (drug of choice) ได้แก่ tetracycline, cefotaxime, ciprofloxacin, norfloxacin, co-trimoxazole และ chloramphenicol ที่ใช้ในการรักษาโรคที่ติดเชื้อที่เกิดจากแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในปัจจุบัน แต่พบว่าแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบส่วนใหญ่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin ในปริมาณสูง การดื้อต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียที่แยกได้ในการทดสอบนั้นแสดงให้เห็นว่าน่าจะมีการปนเปื้อนของยากลุ่มดังกล่าวในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งอ่างศิลา ซึ่งการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะกลุ่ม β-lactam ยังเชื่อมโยงต่อการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ของแบคทีเรียซึ่งมีบทบาทเกี่ยวข้องกับความสามารถในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะในแบคทีเรีย โดยพบว่าการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase จะพบสูงสุดเมื่อมีสภาวะโซเดียมคลอไรด์ 3.5 % ความเป็นกรด - ด่าง 7.5 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้การสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase ยังมีผลต่อการปรับเปลี่ยนสัญญาการติดต่อสื่อสาร (quorum sensing) ของแบคทีเรีย ซึ่งควบคุมการสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลให้จุลินทรีย์มีความไวต่อยาปฏิชีวนะลดน้อยลง และมีความทนทานต่อภูมิต้านทานต่อการทำลายของระบบภูมิคุ้มกันในมนุษย์ได้ โดยระยะเวลาการสร้างไบโอฟิล์มในระยะเวลาเร็วหรือช้าจะขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียและสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ร่วมด้วย จากผลในการศึกษานี้พบว่า *V. vulnificus* สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ปริมาณสูงที่สุดมากกว่าแบคทีเรียในสกุล Vibrio ชนิดอื่น โดยสร้างได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา

48 ชั่วโมง การก่อโรคของแบคทีเรียในสกุล Vibrio นอกจากจะมีผลมาจากความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase และการสร้างไบโอฟิล์มแล้ว ยังขึ้นอยู่กับการมีอยู่ของยีน *tdh* ในแบคทีเรียที่อาจบ่งชี้ความสามารถในการก่อโรคเบื้องต้นได้จากการศึกษาการทดสอบย่อยสลายเม็ดเลือดแดง จากผลการวิจัยในการศึกษานี้พบว่าค่าของกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงสัมพัทธ์ส่วนใหญ่จะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่าง เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพการสลายเม็ดเลือดแดงขึ้นอยู่กับแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทด้วย

5.5 สรุปผลการทดลอง

1. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ของน้ำทะเลในแต่ละสถานีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นปริมาณแบคทีเรียรวมและปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียบริเวณสถานีใกล้ฝั่ง ที่มีค่าสูงกว่าสถานีกระชังหอยและสถานีไกลฝั่ง และมีค่าเกินค่าเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่ง ดังนั้นพื้นที่บริเวณสถานีใกล้ฝั่งจึงไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงหอยนางรม และควรมีการควบคุมคุณภาพน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งรวมถึงการการจัดการระบบการปล่อยน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ แต่ถ้าไม่สามารถหลีกเลี่ยงการเพาะเลี้ยงหอยนางรมบริเวณที่ติดกับชุมชนชายฝั่งได้ เมื่อมีการเก็บหอยนางรมจากบริเวณดังกล่าวควรนำไปผ่านกระบวนการ Depuration เพื่อลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียในหอยนางรมก่อนนำไปจำหน่ายสู่ผู้บริโภค

2. ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของแบคทีเรียในสกุล Vibrio กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางชนิด ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม และการนำไฟฟ้า มีแนวโน้มว่าจะมีอิทธิพลต่อปริมาณของแบคทีเรียในสกุล Vibrio แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากธรรมชาติของจุลินทรีย์นั้นสามารถเจริญได้ในสภาวะแวดล้อมที่มีช่วงกว้างจำกัด เช่น Vibrio มีช่วงการเจริญที่เหมาะสมของอุณหภูมิมีค่า 20 - 37 องศาเซลเซียส ความเค็มมีค่าอยู่ในช่วง 0 - 25 psu เป็นต้น ดังนั้นในปีที่ทำการศึกษาอุณหภูมิและค่าความเค็มของน้ำทะเลมีความผันแปรไม่มากนัก จึงไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในหอยนางรม แต่อย่างไรก็ตามพบว่า *V. cholerae* มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับปริมาณ *V. vulnificus* เพิ่มสูงเมื่อมีปริมาณแบคทีเรียรวมเพิ่มขึ้น

3. แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียในสกุล Vibrio แสดงผลดื้อต่อยา ampicillin สูงที่สุดใน *V. alginolyticus* คิดเป็น 90 % โดยแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β-lactam นี้ สามารถผลิตเอ็นไซม์ β-lactamase ที่ทำให้แบคทีเรียมีคุณสมบัติดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β-lactam และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างไบโอฟิล์มเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้แบคทีเรียสามารถทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญได้ โดยอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ *V. alginolyticus* สามารถผลิตเอ็นไซม์ β-lactamase ได้เพิ่มมากขึ้น

4. ความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มมีความผันแปรแตกต่างกันไป โดยเฉพาะ *V. vulnificus* ในช่วงระยะเวลา 24 ชั่วโมง แบคทีเรียทดสอบทุกไอโซเลทสามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ดีที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส แต่ในทางกลับกันเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง *V. vulnificus* สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ดีและสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

5. การก่อโรคของแบคทีเรียในสกุล Vibrio นอกจากการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase และการสร้างไบโอฟิล์มแล้ว ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง โดยความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรด - ด่างมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพการสลายเม็ดเลือดแดงขึ้นอยู่กับแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทด้วย

5.6 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาแบคทีเรียบ่งชี้ในตัวอย่างหอยนางรมร่วมกับการทดสอบเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio และแบคทีเรียบ่งชี้ เนื่องจากอาจมีอิทธิพลต่อการเพิ่มขึ้น/ ลดลง ของปริมาณแบคทีเรียในสกุล Vibrio ในหอยนางรมร่วมด้วย

2. ควรมีการตรวจหายีนจากตัวอย่างแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและหอยนางรม เพื่อตรวจยืนยัน ความสามารถในการก่อโรคของแบคทีเรียที่พบ

3. ควรมีการตรวจติดตามอย่างต่อเนื่องเกี่ยวกับความเสี่ยงต่อสุขภาพในการบริโภคหอยนางรมที่เพาะเลี้ยงบริเวณที่ติดกับชายฝั่ง และเป็นการส่งเสริมการฟื้นฟูบริเวณพื้นที่เพาะเลี้ยงหอยนางรม โดยการยกระดับคุณภาพน้ำให้ดีขึ้น

4. สำหรับผู้บริโภค ในด้านการบริหารจัดการด้านความปลอดภัยของผู้บริโภคหอยนางรมสด อาจมีการอบรมวิธีการแกะเปลือกหรือใช้วิธีอื่นในการกำจัดเชื้อ ถ้าผู้ประกอบการปฏิบัติได้จริงจะมีความปลอดภัยกับผู้บริโภค

บรรณานุกรม

กนกลดา เรืองบุญ. (2544). *การสำรวจ Vibrio สปีชีส์ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณอ่างศิลาและบางพระ จังหวัดชลบุรี*. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาวิชาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

กรมควบคุมมลพิษ. (2545). *รายงานประจำปีสำนักจัดการคุณภาพน้ำ พ.ศ. 2545*. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพฯ.

กรมควบคุมมลพิษ. (2553). *มาตรฐานคุณภาพน้ำประเทศไทย*. ฝ่ายคุณภาพน้ำ กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.

กรมควบคุมมลพิษ. (ม.ป.ป.). *โครงการจัดการคุณภาพนี้และจัดทำแผนปฏิบัติการในพื้นที่ลุ่มน้ำภาคตะวันออก*. รายงานหลัก. กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม.

กรมประมง. (2538). *กลุ่มสถิติและสารสนเทศการประมง*. กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมประมง. (2546). *วิธีวิเคราะห์น้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง*. กลุ่มงานวิจัยระบบและการจัดการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง, กระทรวงการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร.

กรมประมง. (2552). *คุณภาพน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง*. เข้าถึงได้จาก http:// www. thaishrimpkm.blogspot.com/2009/03/1.html

กรมอุตุนิยมวิทยา. (2555). *สรุปสภาวะอากาศรายปี สรุปสภาวะอากาศทั่วไปในรอบปี 2555 ออกประกาศ 28 มกราคม 2556*. เข้าถึงได้จาก http://www.tmd.go.th/climate/climate.php?FileID=5

กฤษณ์ มงคลปัญญา และอมรา ทองปาน. (2546). *ชีววิทยา* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กัลยาณี ทีปะปาล. (2549). *การดื้อต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อ Vibrio parahaemolyticus ในหอยตะโกรม (Crassostrea belcheri) ที่เลี้ยงในจังหวัดพังงา*. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง. กรมประมง.

คเชนทร เฉลิมวัฒน์. (2543). *การเพาะเลี้ยงหอย*. เอกสารการสอน. ชลบุรี: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

จันทิมา ไตรบัญญัติกุล. (2545). *ชนิด ปริมาณและการกระจายตัวของสัตว์หน้าดินและแพลงก์ตอน*

ในป่าชายเลนบริเวณโครงการวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมากจากพระราชดำริ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เจษฎาพร ปาคำวัง. (2556). *การศึกษาคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำ คลองลำกง อำเภอหนองไผ่ จังหวัดเพชรบูรณ์*. เพชรบูรณ์: มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

ฉลวย มุสิกะ, วันชัย วงสุดาวรรณ, อาวุธ หมั่นหาผล และแววตา ทองระอา. (2549). *รายงานการวิจัยการสำรวจคุณภาพน้ำทะเลในบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก ปี 2548*. ชลบุรี: สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.

ชนะชัย บัณฑิต. (2555). *การเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารอนินทรีย์ในบริเวณชายฝั่งอ่างศิลา อ.เมือง จ.ชลบุรี*. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางทะเล, คณะเทคโนโลยี-ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.

โชคชัย เหลืองธุวปราณีต. (2548). *หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: โฟร์เพซ.

ณิฏฐารัตน์ ปภาวะสิทธิ์, ศิริวรรณ ศิริบุญ, อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์, อิชฌกา ศิวสยพราหมณ์ และสุริยัณห์ สาระมูล. (2549). *สถานภาพและทางการจัดการทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนในฝั่งตะวันออก*. กรุงเทพฯ: ประสุขชัยการพิมพ์.

ณิฏฐารัตน์ ปภาวะสิทธิ์. (2522). *สมุทรศาสตร์ชีวภาพของเอสทูรี่*. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และอุษา วิเศษสุมน. (2532). *คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย*. กรุงเทพฯ: สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมไทย.

ธรรมรักษ์ ละอองนวล. (2541). *การวิเคราะห์คุณภาพน้ำเพื่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ*. อุดรธานี: คณะเกษตรและอุสาหกรรม, สถาบันราชภัฏอุดรธานี.

นันทนา คชเสนี. (2544). *คู่มือปฏิบัติการนิเวศวิทยาน้ำจืด* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต. (2528). *แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษ* (พิมพ์ครั้งที่ 8). กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พัฒนา ภูลเปี่ยม และสายสมร ศรีแก้ว. (2549). *ดรรชนีทางแบคทีเรียของน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก ปี 2548*. ชลบุรี: สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.

มณฑล เลิศวรปรีชา และญฏารัตน์ สุวรรณมณี. (2557). ระบบควอรัมเซนซิง การสื่อสารของแบคทีเรีย: กลไกการควบคุมการก่อโรคในเชื้อ Pseudomonas aeruginosa. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข, 42*(1), 1-12.

มณีย์ กรรณรงค์ และจินตนา โสภากุล. (2543). เปรียบเทียบการเจริญเติบโต การปนเปื้อนของแบคทีเรียในหอยตะโกรมกรามขาว หอยตะโกรมกรามดำ และหอยนางรมปากจีบบริเวณแหล่งเลี้ยงอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี. *วารสารการประมง*, *53*, 565-571.

มนูวดี หังสพฤกษ์. (2532). *สมุทศาสตร์เคมี*. เอกสารการสอน. กรุงเทพฯ: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศน์. (2538). *คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ*. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ (2528). *คุณสมบัติของน้ำและวิธีวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางการประมงฝ่ายวิจัยสิ่งแวดล้อมสัตว์น้ำ*. กรุงเทพฯ: สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง.

ยุพา ผลวิจิตร. (2530). *การศึกษาเปรียบเทียบต้นทุนและผลตอบแทนจากการเลี้ยงหอยนางรมพันธุ์เล็กตามชายฝั่งทางภาคตะวันออกของประเทศไทย*. วิทยานิพนธ์บัญชีมหาบัณฑิต, สาขาวิชาการบัญชี, บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รัชภูมิ รัตนเพียร. (2551). *ปัจจัยในการบริหารจัดการธุรกิจแปรรูปหอยนางรมเพื่อนจำหน่ายในรูปแบบผลิตภัณฑ์สดของผู้ประกอบการในเขตอำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี*. วิทยานิพนธ์การจัดการมหาบัณฑิต, สาขาวิชาการจัดการวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม, คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

วัฒนา ภู่เจริญ. (2521). *การเลี้ยงหอยนางรมในปัจจุบันของประเทศไทย*. กรุงเทพฯ: กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วิชญา กันบัว. (2541). *ความหลากหลายและความชุกชุมของแพลงกตอนพืชในป่าชายเลนอำเภอสิเกา จังหวัดตรัง*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิรัช จิ๋วแหยม. (2544). *ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับคุณภาพน้ำและการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ*. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วีระศักดิ์ ชั่วต่อ. (2543). *ความชุกชุมและการแพร่กระจายของสัตว์พื้นท้องน้ำในแม่น้ำท่าจีน*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วีรานุช หลาง. (2554). *จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม* (พิมพ์ครั้งที่ 2). นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

วุฒิชัย ชุคินันทกุล. (2543). *การแพร่กระจายของธาตุอาหารและโลหะหนัก บริเวณชายฝั่งทะเลแหลมผักเบี้ย จ.เพชรบุรี*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

แวนูรมา เจ๊ะเมาะ. (2552). *ลักษณะของ Vibrio parahaemolyticus สายพันธุ์ tdh- trh- ที่แยกได้จากโรงพยาบาลหาดใหญ่.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหา วิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา กรมอุตุนิยมวิทยา. (2557). *รายงานปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในพื้นที่ภาคตะวันออก ประจำปี พ.ศ. 2557.* เข้าถึงได้จาก http://www.tmd.go.th

สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ. (2546). *12 ปีสถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ.* กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สถาบันวิทยาศาสต์ทางทะเล. (2545). *รายงานการวิจัยสภาวะแวดล้อมทางทะเลในบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก.* ชลบุรี: สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล. (2556). *รายงานการศึกษาคุณภาพน้ำบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก.* ชลบุรี: สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สนิท อักษรแก้ว. (2541). *ป่าชายเลน นิเวศวิทยาและการจัดการ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: คอมพิวเตอร์แอดเวอร์ไทซิ่งด์.

สุวรรณา ภาณุตระกูล, ศิริโฉม ทุ่งเก้า และเยาวภา ไหวพริบ. (2549*). การประเมินความเสี่ยงการได้รับโลหะหนักและเชื้อในกลุ่ม Vibrio จากการบริโภคหอยนางรมจากแหล่งเลี้ยงตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี.* รายงานวิจัย. ชลบุรี: คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

โสภณ คงสำราญ. (2524). *แบคทีเรียทางการแพทย์.* กรุงเทพฯ: พิฆเนศ.

ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย). (2553). เข้าถึงได้จาก http://www.centrallabthai.com/web/th/main/content.php?page=content&category=39&id=1099

อเนก จูศิริพงษ์กุล. (2539). *การแปรผันในรอบปีของสารอาหารที่สิ่งมีชีวิตนำไปใช้ได้ในบริเวณอ่าวไทยตอนบน.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Aagesen, A.M., Phuvasate, S., Su, Y.C., & Hease, C.C. (2013). Persistence of *Vibrio parahaemolyticus* in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, is a multifactorial process involving pili and flagella but not type III secretion systems or phase variation. *Applied Environmental Microbiology, 79*, 3303-3305.

Akagi, Y., Taga N., & Simidu, U. (1977). Isolation and distribution of oligotrophic marine bacteria. *Canadian Journal of Microbiology, 23*, 981-987.

Akinbowale, O. L., Peng, H., & Batrton, M. D. (2006). Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *Journal Applied Microbiology, 100,* 1103-1113.

Altekruse, S. F., Bishop, R. D., Baldy, L. M., Thompson, S. G., Wilson, S. A., Ray, B. J., & Griffn, P. M. (2000). Vibrio gastroenteritis in the US Gulf of Mexico region: the role of raw oysters. *Journal of Epidemiology and Infection, 124*, 489-495.

Barrow, G.J., & Miller, D.C. (1976). *Microbiology in Agriculture, Fisheries and Food.* London: Academic Press.

Blachwell, K. D., & Oliver, J. D. (2008). The ecology of *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholera* and *Vibrio parahaemolyticus* in North Carolina Estuaries. *The Journal of Microbiology*, *46*, 146-153.

Blake, A. A., Merson, M. M., Weaver, R. E., Hokkis, D. G., & Heublein, P. C. (1979). Disease caused by a marine vibrio clinical characteristics and epidemiology. *The New England Journal of Medicine, 300*, 1-5.

Bockemuhl, J., Roch, K., Wohlers, B., Aleksic, V., Aleksic, S., & Wokatsch, R. (1986). Seasonal distribution of facultatively enteropathogenic vibrios (*Vibrio cholerae*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio parahaemolyticus*) in the freshwater of the Elbe River at Hamburg. *Journal of Applied Bacteriology*, *60*, 435-442.

Burrows, W., James, W., & Rabert, M. L. (1986). *Textbook of Microbiology.* Philadelphia: W.B. Saunders.

Calbiochem®. (2006). *Nitrocefin Cat. No. 484400. Data sheet 484400*. Retrieved from http://www.nugi-zentrum.de/fileadmin/website_uni_ulm/nugi/ Experimente/Biochemie/Beta-Lactamase/Nitrocefin_Beschreibung.pdf

Cavallo, R. A., & Stabilli, L. (2002). Presence of vibrios in seawater and mytilus galloprovincialis from the mar Piccolo of Taranto (Ionian Sea). *Journal of Water Research, 36*, 3719-3726.

Centers for Disease Control and Prevention. (2015). *Vibrio parahaemolyticus. Disease listing*. *Centers for Disease Control and Prevention*, *Atlanta, GA*. Retrieved from http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo /vibrioparahaemolyticus_g.htm.

Changchai, N., & Saunjit, S. (2014). Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in retail raw oysters from the eastern coast of Thailand. *SE Asian Journal of Tropical Medicine*, *45*, 662-669.

Cheng, W., Hsiao, I. S., Hsu, C. H., & Chen, J. C. (2004). Change in water temperature on the immune response of Taiwan abalone Haliotis diversicolor supertexta and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology, 17*, 235-243.

Cherwonogrodzky, J. W., & Clark, A. G. (1981). Effect of pH on the production of the Kanagawa hemolysin by *V. parahaemolyticus*. *Infection and Immunity*, *34,* 115-119.

Christensen, L. D., Moser, C., Jensen, P. O., Rasmussen, T. B., Christophersen, L., Kjelleberg, S., Kumar, N., Hoiby, N., Givskov, M., & Bjarnsholt, T. (2007). Impact of *Pseudomonas aeruginosa* in an in vivo intraperitoneal foreign-body infection model. *Microbiology, 153*(7), 2312-2320.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2006). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Sixteenth informational supplement (M45-P).* Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Colwell, R. R., & Grimes, D. J. (1983). Vibrio diseases of marine fish populations. *Journal book Helgolander Meeresunters*, *37*, 309-315.

Cullmann,W., & Dick, W. (1990). Influence of temperature on beta-lactamase production and outer membrane proteins in gram-negative rods. *Chemotherapy, 36*(4), 277-286.

Davey, M. E., & O'Toole, G. A. (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64*, 847-867.

Davis, B. D., Dulbecco, R., Eisen, H. N., & Ginsberg, H. S. (1990). *Microbiology.* Philadelphia: J.B. Lippincott.

DeBell, R. M., Hickey, T. M., & Uddin, D. E. (1978). Partial characterization of a beta-lactamase from *Vibrio parahaemolyticus* by a new automated micrioodometric technique. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *13*, 165-169.

DePaola, A., Hopkins, L. H., & Peeler, J. T. (1990). Incidence of *V. parahaemolyticus* in U.S. coastal waters and oyster. *Applied and Environmental Microbiology*, *56*, 2299-2302.

DePaola, A., Nordstrom, J. L., & Bowers, J. C. (2003). Seasonal abundance of total and pathogenic *V. parahaemolyticus* in Alabama oyster. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*, 1521-1526.

Dryssen, D., & Wedborg, M. (1980). Major and Minor elements, chemical speciation in estuarine waters. In E. Olausson, & I. Cato (Eds.), *Chemistry and Biogeochemistry of Estuaries*. United Kingdom: John Wiley & Sons.

Food & Drug Administration. (2004). *Draft Risk assessment on the public health Impact of Vibrio parahaemolyticus in raw molluscam shellfish*. Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, Washington, D.C.

Food and Environmental Hygiene Department. (2005). *Draft* Risk assessment studies on microwave cooking and food safety. *The Government of the Hong Kong Special Administrative Region*, *19,* 1-28.

Frischkorn, K. R., Stojanovski, A., & Paranjpye, R. (2013). *Vibrio parahaemolyticus* type IV pili mediate interactions with diatom-derived chitin and point to an unexplored mechanism of environmental persistence. *Environmental Microbiology, 15*, 1416-1427.

Fuerst, R. (1983). *Frobisher and Fuerst's Microbiology in Health & Disease.* Philadelphia: W.B. Saunders.

Gordon, L., Giraud, E., Ganiere, J. P., Armand, F., Bouju-Albert, A., Cotte, N. D. L., Mangion, C., & Bris, H. L. (2007). Antimicrobial resistance survey in a river receiving effluents from freshwater fish farms. *Journal Applied Microbiology, 102*, 1167–1176.

Gugliandolo, C. M., Carboneb, M. T., Fera, G. P., Irreraa, T. L., & Maugri. (2005). Occurrence of potentially pathogenic vibrios in the marine environment of the Straits of Messina (Italy). *Journal of Marine Pollution Bulletin, 50*, 682-697.

Han, F., Walker, R. D., Janes, M. E., Prinyawiwatkul, W., & Ge, B. (2007). Antimicrobial susceptibilities of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* isolates from Louisiana Gulf and retail raw oysters. *Journal Applied Environmental Microbiology 73*(21), 7096-7098.

Hogberg, L. D., Heddini, A., & Cars, O. (2010). The global need for effective antibiotics: challenges and recent advances. *Trend in Pharmacological Sciences, 30*(11), 509-515.

Holt, J. G., & Krieg, N. R. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology* (9th ed.). USA: Williums & Wilkins, Maryland.

Huang, W. S., & Wong, H. C. (2012). Characterization of low salinity stress in *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Protection, 75*, 231–237.

Huhulescu S., Indra A., Feierl G., Stoeger A., Ruppitsch W., Sarkar B., & Allerberger, F. (2007). Occurrence of *Vibrio cholerae* serogroups other than O1 and O139 in Austria. *Jounal of Wiener klinsche Wochenschrift, 119*, 235-241.

Huq, A., Small, E. B., West, P. A., Huq, M. I., Rahman, R., & Colwell, R. R. (1983). Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Journal of Applied and Environmental Microbiology, 45*, 275-283.

Huq, A., Whitehouse, C. A., Grim, C. A. J., Alam, M., & Colwell, R. R. (2008). Biofilms in water, its role and impact in human disease transmission. *Current Opinion Biotechnology, 19,* 244-247.

Janda, J. M., Powers, C., Bryant, R. G., & Abbott, S. L. (1988). Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp.. *Clinical Microbiology Reviews, 1*(3), 245-267.

Johnson, D. E., Weinberg, L., Ciarkowhki, J., West, P. A., & Colwell, R. R. (1984). Wound infection caused by kanagawa negative *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Clinical Microbiology, 20*(4), 811-814.

Johnston, M. D., & Brown, M. H. (2002). An investigation into the changed physiological state of Vibrio bacteria as a survival mechanism in response to cold temperatures and studies on their sensitivity to heating and freezing. *Journal of Applied Microbiology, 92*(6), 1066-1078.

Joklik, W. K., Willett, H. P., Amos, D. B., Wilfret, C. M., Appleton, E. D., & Lange, N. C. T. (1988). *Zinsser Microbiology.* Sydney: Prentice-Hall International.

Jorgensen, J. H., & Hindler, J. F. (2007). New consensus guidelines from the Clinical and Laboratory Standards Institute for antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. *Clinical Infections Diseases, 44*, 280–286.

Joseph, S. W., DeBell, R. M., & Brown, W. P. (1978). In vitro response to chloramphenicol, tetracycline, ampicillin, gentamicin, and beta-lactamase production by halophilic vibrios from human and environmental sources. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 13*, 244-248.

Joseph, S.W., Colwell, R. R., & Kaper, J. B. (1982). *V. parahaemolyticus* and related halophilic vibrios. *Journal of Critical Reviews in Microbiology, 10*, 77-124.

Kalburge, S. S., Whitaker, W. B., & Boyd, E. F. (2014). High-salt preadaptation of *Vibrio parahaemolyticus* enhances survival in response to lethal environmental stresses. *Journal of Food Protection, 77*, 246-253.

Kelly, M. T. (1982). Effects of temperature and salinity on *Vibrio (Beneckea) vulnificus* occurrence in a Gulf Coast environment. *Applied and Environmental Microbiology*, *44*, 820-824.

Kelly, M. T., & Stroh, M. D. (1988). Temporal relationship of *V. parahaemolyticus* in patients and environment. *Journal of Clinical Microbiology, 26,* 1754-1756.

Khantho, R. (2008). *Prevalence and antimicrobial resistant patterns of Vibrio parahaemolyticus and Vibrio vulnificus isolated from Pacific oysters (Crassostrea Belcheri) in Thailand*. Master's thesis, Medical Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Kristiansen, A. (2011*). Purification and characterization of a salt tolerant metallo-bera-lactamase from Aliivibrio salmonicida*. Master's thesis, Chemistry, Faculty of Science and Technology, University of Troms.

Lagana, P., Caruso, G., Minutoli, E., Zaccone, R., & Santi, D. (2011). Susceptibility to antibiotics of *Vibrio* spp. and *Photobacterium damsel* sp. piscicida strains isolated from Italian aquaculture farms. *Journal of New Microbiologica, 34*, 53-63.

Lee, K. J., Jung, D. W., Eom, S. Y., Oh, S. W., Kim, Y., Kwak, H. S., & Kim, Y. H. (2008). Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters from Korean retail outlets. *Journal Food Control*, *19*, 990-994.

Li, Y. H., & Burne, R. A. (2001). Regulation of the gtfBC and ftf genes of *Streptococcus mutans* in biofilms in response to pH and carbohydrate. *Microbiology, 147*, 2841-2848.

Long, R. A., Rowley, D. C., & Zamora, E. (2005). Antagonistic interactions among marine bacteria impede the proliferation of *Vibrio cholera*. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, *71*, 8531-8536.

Mahon, C., & George, M. (1995). *Texbook of diagnostic microbiology.* Philadelphia: W.B. Saunders.

Maluping, R. P., Lavilla-Pitogo, C. R., DePaola, A., Janda, J. M., Krovacek, K., & Greko, C. (2005). Antimicrobial susceptibility of *Aeromonas spp.*, *Vibrio* spp. and *Plesiomonas shigelloides* isolated in the Philippines and Thailand. *International Journal of Antimicrobial Agents, 25,* 348–350.

Manns, J. M., Mosser, D. M., & Buckley, H. R. (1994). Production of a hemolytic factor by *Candida albicans*. *Infection and Immunity*, *62*, 5154-5156.

McDougald, D., Lin, W.H., Rice, S.A., & Kjelleberg, S. (2006). The role of quorum sensing and the effect of environmental conditions on biofilm formation by strains of *Vibrio vulnificus*. *Biofouling, 22*, 133-144.

Mckane, L., & Kandel, J. (1986). *Microbiology: Essentials and Applications*. New York: McGraw-Hill Book.

Merritt, J. H., Kadouri, D. E., & O'Toole, G. A. (2005). Growing and Analysing Static Biofilms. *Current Protocols in Microbiology, 22,* 1-29. doi: 10.1002/9780471729259.mc01b01s00

Molitoris, E., Joseph, S. W., Krichevsky, M. I., Sindhuhardja, W., & Cokwell, R. R. (1985). Characterization and Distribution of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*: Isolation in Indonesia". *Applied and Environmental Microbiology, 50*, 1388-1394.

Noyes, P. D., McElwee, M. K., Miller, H. D., Clark, B. W., Van Tiem, L. A., Walcott, K. C., Erwin, K. N., & Levin, E. D. (2009). The toxicology of climate change: Environmental contaminants in a warming world. *Journal of Environment International*, *35*, 971-986.

O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology, 54*, 49-79.

Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1981). *Elements of Microbiology*. Auckland: International Book.

Petsaris, O., Nousbaum, J. B., Quilici M. L., Le Coadou, G., Payan, C., & Abalain, M. L. (2010). Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* bacteraemia in a cirrhotic patient. *Journal of Medical microbial*, *59*, 1260–1262.

Phillips, I., & Shannon, K. (1993). Importance of beta-lactamase induction. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, *12,* S19-S26.

Reyes-Velazquez, C., Castaneda-Chavez, M. R., Landeros-Sanchez, C., Galaviz-Villa, I., Lango Reynoso, F., Minguez-Rodriguez, M. M., & Nikolskii-Gavrilov, I. (2010) Pathogenic vibrios in the oyster *Crassostrea virginica* in the lagoon system of Mandinga, Veracruz, Mexico. *Journal of Hidrobiologica, 20*(3), 238-245.

Ripabelli, G., Sammarco, M. L., Grasso, G. M., Fanelli, I., Caprioli, A., & Luzzi, I. (1999). Occurrence of Vibrio and other pathogenic bacteria in *Mytilus galloprovincialis* (mussels) harvested from Adriatic Sea, Italy. *International Journal of Food Microbiology, 49*, 43-48.

Schiewe, M. H., Novotny, A. J., & Harrell, L. W. (1988). *Vibriosis of salmonids*, *In Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture.* New York: Elsevier Science.

Sindermann, C. J. (1988). *Vibriosis of juvenile oysters*, *In Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture.* New York: Elsevier Science.

Singleton, P., & Sainsbury, D. (1988). *Sainsbury Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*. Singapore: John Wiley & Sons.

Sobrinho, P. D. S. C., Destro, M. T., Franco, D. E. M., & Landgraf, M. (2010). Correlation between environmental factors and prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in Oysters harvested in the southern coastal area of Sao Paulo state. *Journal of Applied and Environment Microbiology,* 1290-1293.

Soto, W., Gutierrez, J., Remmenga, M. D., & Nishiguchi, M. N. (2009). Salinity and temperature effects on physiological responses of *Vibrio fischeri* from diverse ecological niches. *Journal of Microbiology of Aquatic Systems*, *57*, 140-150.

Su, Y-C., & Liu, C. (2007) *Vibrio parahaemolyticus* a concern of food safety. *Journal of Food Microbiology, 24*, 549-558.

Thongra-ar, W., Putchakarn, S., Musika, C., Sangkasila, R., & Lohsili, W. (1995). Coastal Water Quality in chon Buri Province (Sriracha-Muangmai) in 1992-1993. In *Proceedings of the International Seminar on Marine Fisheries Environment* (pp. 235-249). Rayong: Resort, Rayong, Thailand.

Timoney, J. F., & Abston, A. (1984). Accumulation and elimination of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* by hard clams in an in vitro system. *Applied and Environmental Microbiology*, *47*, 986-988.

Twedt, R.M., Novelli, R.E., Spaulding, P.L., & Hall, H.E. (1970). Comparative Hemolytic Activity of Vibrio parahaemolyticus and Related Vibrios. *American Society for Microbiology, 4*, 394-399.

U.S. Food and Drug Administration (USFDA). (2004). *Bacteriological Analytical Manual Chapter 9 Vibrio.*Retrieved from http://www.fda.gov/food.ScienceResearch/ laboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070830.htm.

Vanderzant, C., & Nickelson, R. (1972). Procedure for isolation and enumeration of *Vibrio parahaemolyticus. Journal of Applied Microbiology, 23*, 26–33.

Vezzulli, L., Pezzati, E., Repetto, B., & Stauder, M. (2008). A general role for surface membrane proteins in attachment to chitin particles and copepods of environmental and clinical vibrios. *Letters in Applied Microbiology, 46*, 119-125.

Wong, H. C., Chen, M. C., Liu, S. H., & Liu, D. P. (1999). Incidence of highly genetically diversified Vibrio parahaemolyticus in seafood imported from Asian countries. *International Journal of Food Microbiology, 52*, 181-188.

Yildiz, F. H., & Schoolnik, G. K. (1999). *Vibiro cholerae* O1 El Tor: identification of a gene cluster required for the rugose colony type, exopolysaccharide production, chlorine resistance, and biofilm formation. In *Proceedings of the National Academy of Science* (pp. 4028-4033). Stanford: Stanford University Medical School, Beckman Center.

Zanetti, S., Spanu, T., Deriu, A., Romano, L., Sechi, L.A., & Fadda, G. (2001). In vitro susceptibility of *Vibrio* spp. isolated from the environment. *International Journal of Antimicrobial Agents, 17*, 407-409.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ผลการวิจัย

ตาราง ก-1 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิในภาคตะวันออกของประเทศไทยปี พ.ศ. 2555 เปรียบเทียบกับค่าปกติ (พ.ศ. 2514 - พ.ศ. 2543) (ศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา, 2557)

เดือน	**ปริมาณฝนปกติ (มม.)**	**ปริมาณฝน พ.ศ. 2555 (มม.)**	**อุณหภูมิปกติ (องศาเซลเซียส)**	**อุณหภูมิ พ.ศ. 2555 (องศาเซลเซียส)**
มกราคม	14.7	45.7	26.2	27.2
กุมภาพันธ์	29.0	48.7	27.5	28.2
มีนาคม	54.6	50.3	28.7	29.3
เมษายน	96.3	42.7	29.5	30.0
พฤษภาคม	211.4	260.6	29.1	29.3
มิถุนายน	272.2	228.2	28.6	29.0
กรกฎาคม	265.9	310.6	28.2	28.2
สิงหาคม	311.5	201.7	28.0	28.4
กันยายน	333.2	513.0	27.6	27.5
ตุลาคม	228.4	169.9	27.3	28.1
พฤศจิกายน	61.3	159.1	26.8	28.0
ธันวาคม	7.6	11.8	25.7	28.1
ปริมาณฝนรวม	1,886.1	2,042.3	-	-
อุณหภูมิเฉลี่ย	-	-	27.8 ± 1.15	28.4 ± 0.81

ตาราง ก-2 อุณหภูมิต่ำสุด-สูงสุดของน้ำทะเล บริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ระหว่าง ปี พ.ศ. 2555 กับรายงานในอดีตตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535 - พ.ศ. 2554 (สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, 2556)

ปี พ.ศ.	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)
พ.ศ. 2535	22.0	25.0
พ.ศ. 2536	29.0	30.0
พ.ศ. 2542	30.0	32.0
พ.ศ. 2543	25.0	32.0
พ.ศ. 2544	26.0	34.0
พ.ศ. 2547	29.0	33.0
พ.ศ. 2548	27.0	32.0
พ.ศ. 2549	27.0	32.0
พ.ศ. 2550	26.0	32.0
พ.ศ. 2551	25.0	33.0
พ.ศ. 2552	28.0	32.0
พ.ศ. 2553	25.0	33.0
พ.ศ. 2554	24.0	32.0
พ.ศ. 2555	28.7	31.3

ตาราง ก-3 ความลึกและความโปร่งแสงเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ความลึก (เมตร)			ความโปร่งแสง (เมตร)		
	ใกล้ฝั่ง	กระชังหอย	ไกลฝั่ง	ใกล้ฝั่ง	กระชังหอย	ไกลฝั่ง
มกราคม	0.00 ± 0.00	4.60 ± 0.00	4.60 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.33 ± 0.57	0.92 ± 0.02
กุมภาพันธ์	0.00 ± 0.00	4.20 ± 0.00	4.20 ± 0.00	0.00 ± 0.00	3.00 ± 0.00	1.97 ± 0.20
มีนาคม	0.00 ± 0.00	3.70 ± 0.00	4.00 ± 0.20	0.00 ± 0.00	1.30 ± 0.00	1.57 ± 0.38
เมษายน	0.00 ± 0.00	3.13 ± 0.23	3.60 ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.87 ± 0.18	3.07 ± 0.12
พฤษภาคม	0.00 ± 0.00	3.03 ± 0.10	3.17 ± 0.06	0.00 ± 0.00	1.10 ± 0.00	1.30 ± 0.17
มิถุนายน	0.00 ± 0.00	3.00 ± 0.00	3.20 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.50 ± 0.00	1.70 ± 0.00
กรกฎาคม	1.10 ± 0.00	3.97 ± 0.21	4.37 ± 0.12	0.50 ± 0.00	1.93 ± 0.12	1.80 ± 0.00
สิงหาคม	0.00 ± 0.00	3.10 ± 0.00	3.33 ± 0.06	0.00 ± 0.00	0.90 ± 0.00	1.33 ± 0.05
กันยายน	1.20 ± 0.00	3.70 ± 0.00	4.17 ± 0.12	0.10 ± 0.00	0.20 ± 0.00	0.18 ± 0.03
ตุลาคม	0.00 ± 0.00	3.73 ± 0.12	3.77 ± 0.06	0.00 ± 0.00	2.20 ± 0.35	2.27 ± 0.23
พฤศจิกายน	0.00 ± 0.00	3.97 ± 0.06	4.20 ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.03 ± 0.06	2.00 ± 0.00
ธันวาคม	1.80 ± 0.00	4.40 ± 0.17	4.80 ± 0.00	1.50 ± 0.00	0.77 ± 0.23	0.70 ± 0.00
ค่าสูงสุด	0.00 ± 0.00	3.00 ± 0.00	3.17 ± 0.06	0.00 ± 0.00	0.20 ± 0.00	0.18 ± 0.03
ค่าต่ำสุด	1.80 ± 0.00	4.60 ± 0.00	4.80 ± 0.00	1.50 ± 0.00	3.00 ± 0.00	3.07 ± 0.12

หมายเหตุ ความลึกและความโปร่งแสงแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-4 อุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	อุณหภูมิของน้ำทะเล (องศาเซลเซียส)			
	สถานีใกล้ฝั่ง	สถานีกระชังหอย	สถานีไกลฝั่ง	เฉลี่ย
มกราคม	28.47 ± 0.06	28.79 ± 0.02	28.80 ± 0.00	28.7 ± 0.19
กุมภาพันธ์	29.70 ± 0.02	29.37 ± 0.03	29.26 ± 0.09	29.4 ± 0.23
มีนาคม	30.10 ± 0.00	29.48 ± 0.04	29.5 ± 0.00	29.7 ± 0.35
เมษายน	29.43 ± 0.06	30.08 ± 0.02	30.04 ± 0.02	29.9 ± 0.36
พฤษภาคม	31.23 ± 0.40	31.32 ± 0.10	31.43 ± 0.00	31.3 ± 0.10
มิถุนายน	29.43 ± 0.05	29.43 ± 0.05	29.40 ± 0.00	29.4 ± 0.02
กรกฎาคม	30.13 ± 0.06	30.10 ± 0.00	30.10 ± 0.00	30.1 ± 0.02
สิงหาคม	31.30 ± 0.00	30.06 ± 0.05	30.00 ± 0.00	30.5 ± 0.73
กันยายน	30.00 ± 0.00	30.17 ± 0.11	30.30 ± 0.10	30.2 ± 0.15
ตุลาคม	29.20 ± 0.00	29.63 ± 0.06	29.60 ± 0.00	29.5 ± 0.24
พฤศจิกายน	30.60 ± 0.00	29.87 ± 0.12	29.67 ± 0.12	30.0 ± 0.49
ธันวาคม	29.90 ± 0.00	30.23 ± 0.06	30.27 ± 0.06	30.1 ± 0.20
ค่าเฉลี่ย	29.96 ± 0.80	29.88 ± 0.60	29.86 ± 0.70	29.9 ± 0.70
ค่าต่ำสุด	28.47 ± 0.06	28.79 ± 0.02	28.80 ± 0.00	28.7 ± 0.19
ค่าสูงสุด	31.30 ± 0.00	31.32 ± 0.10	31.43 ± 0.00	31.3 ± 0.10

หมายเหตุ อุณหภูมิน้ำทะเลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-5 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิน้ำทะเลระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	58.630	11	5.330	50.055	0.000
ภายในกลุ่ม	10.222	96	0.106		
รวม	68.852	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-6 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิน้ำทะเลระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	0.130	2	0.065	0.099	0.906
ภายในกลุ่ม	68.722	105	0.654		
รวม	68.852	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-7 ความเค็มเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	**ความเค็มของน้ำทะเล (psu)**			
	สถานีใกล้ฝั่ง	**สถานีกระชังหอย**	**สถานีไกลฝั่ง**	**เฉลี่ย**
มกราคม	28.80 ± 0.00	28.70 ± 0.18	28.40 ± 0.05	28.60 ± 0.20
กุมภาพันธ์	23.90 ± 0.10	23.40 ± 0.21	21.30 ± 4.19	22.90 ± 1.40
มีนาคม	23.10 ± 0.00	24.10 ± 0.06	23.50 ± 0.34	23.60 ± 0.50
เมษายน	28.20 ± 0.09	29.60 ± 0.04	29.60 ± 0.04	29.10 ± 0.80
พฤษภาคม	27.70 ± 0.29	27.90 ± 0.20	27.70 ± 0.06	27.80 ± 0.10
มิถุนายน	21.70 ± 0.05	21.50 ± 0.21	21.50 ± 0.13	21.60 ± 0.20
กรกฎาคม	14.60 ± 0.06	16.70 ± 0.20	16.80 ± 0.12	16.00 ± 1.20
สิงหาคม	16.10 ± 0.00	19.00 ± 0.06	19.10 ± 0.06	18.10 ± 1.70
กันยายน	10.90 ± 0.05	14.80 ± 3.89	9.80 ± 2.03	11.80 ± 2.60
ตุลาคม	30.30 ± 0.00	31.10 ± 0.29	31.20 ± 0.06	30.90 ± 0.50
พฤศจิกายน	29.80 ± 0.00	29.70 ± 0.15	29.70 ± 0.05	29.70 ± 0.10
ธันวาคม	25.70 ± 0.00	25.90 ± 0.12	26.00 ± 0.00	25.90 ± 0.20
ค่าเฉลี่ย	23.40 ± 6.40	24.40 ± 5.40	23.70 ± 6.30	23.80 ± 6.00
ค่าต่ำสุด	10.90 ± 0.05	14.80 ± 3.89	9.80 ± 2.03	11.80 ± 2.60
ค่าสูงสุด	30.30 ± 0.00	31.10 ± 0.29	31.20 ± 0.06	30.90 ± 0.50

หมายเหตุ ความเค็มแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-8 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	3585.883	11	325.989	195.889	0.000
ภายในกลุ่ม	159.759	96	1.664		
รวม	3745.642	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-9 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	16.007	2	8.004	0.225	0.799
ภายในกลุ่ม	3729.635	105	35.520		
รวม	3745.642	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-10 ความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล			
	สถานีใกล้ฝั่ง	สถานีกระชังหอย	สถานีไกลฝั่ง	เฉลี่ย
มกราคม	8.20 ± 0.09	8.10 ± 0.15	8.20 ± 0.14	8.20 ± 0.04
กุมภาพันธ์	7.80 ± 0.10	8.20 ± 0.06	8.40 ± 0.02	8.10 ± 0.15
มีนาคม	7.80 ± 0.00	7.90 ± 0.00	7.90 ± 0.04	7.90 ± 0.19
เมษายน	7.90 ± 0.05	8.10 ± 0.01	8.10 ± 0.02	8.00 ± 0.10
พฤษภาคม	7.90 ± 0.00	8.20 ± 0.00	8.20 ± 0.01	8.10 ± 0.11
มิถุนายน	7.60 ± 0.02	8.20 ± 0.05	8.20 ± 0.07	8.00 ± 0.20
กรกฎาคม	7.40 ± 0.09	8.40 ± 0.03	8.40 ± 0.03	8.00 ± 0.35
สิงหาคม	7.60 ± 0.00	8.20 ± 0.04	8.40 ± 0.01	8.10 ± 0.38
กันยายน	7.60 ± 0.06	7.90 ± 0.09	7.60 ± 0.56	7.70 ± 0.33
ตุลาคม	7.20 ± 0.06	7.60 ± 0.16	7.60 ± 0.04	7.50 ± 0.20
พฤศจิกายน	7.40 ± 0.03	7.40 ± 0.12	7.50 ± 0.01	7.40 ± 0.15
ธันวาคม	7.70 ± 0.01	8.40 ± 0.02	8.40 ± 0.08	8.20 ± 0.44
ค่าเฉลี่ย	7.67 ± 0.04	8.05 ± 0.06	8.08 ± 0.09	7.93 ± 0.22
ค่าต่ำสุด	7.20 ± 0.06	7.40 ± 0.12	7.50 ± 0.01	7.40 ± 0.15
ค่าสูงสุด	8.20 ± 0.09	8.40 ± 0.02	8.40 ± 0.08	8.20 ± 0.44

หมายเหตุ ความเป็นกรด-ด่างแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-11 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	12.991	11	1.181	7.186	0.000
ภายในกลุ่ม	15.778	96	0.164		
รวม	28.769	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-12 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	7.407	2	3.704	18.205	0.000
ภายในกลุ่ม	21.361	105	0.203		
รวม	28.769	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-13 ค่าการนำไฟฟ้าเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	**ค่าการนำไฟฟ้า (ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร)**			
	สถานีใกล้ฝั่ง	**สถานีกระชังหอย**	**สถานีไกลฝั่ง**	**เฉลี่ย**
มกราคม	46.70 ± 1.78	47.40 ± 0.02	46.60 ± 0.67	46.90 ± 0.41
กุมภาพันธ์	41.40 ± 0.20	31.40 ± 7.47	40.80 ± 0.05	37.80 ± 5.58
มีนาคม	40.40 ± 0.00	41.40 ± 0.05	40.40 ± 0.73	40.70 ± 0.61
เมษายน	46.20 ± 2.07	48.90 ± 0.03	48.20 ± 1.20	47.80 ± 1.36
พฤษภาคม	48.40 ± 0.20	47.60 ± 1.20	48.50 ± 0.00	48.20 ± 0.47
มิถุนายน	37.60 ± 0.01	36.60 ± 0.30	37.20 ± 0.12	37.10 ± 0.51
กรกฎาคม	26.70 ± 0.04	29.90 ± 0.42	30.10 ± 0.36	28.90 ± 1.94
สิงหาคม	29.70 ± 0.00	33.80 ± 0.01	33.90 ± 0.05	32.50 ± 2.39
กันยายน	19.00 ± 0.56	27.50 ± 7.19	17.60 ± 5.20	21.40 ± 5.35
ตุลาคม	50.40 ± 0.06	52.10 ± 0.50	52.30 ± 0.13	51.60 ± 1.03
พฤศจิกายน	46.20 ± 0.00	48.80 ± 2.54	47.20 ± 2.40	47.40 ± 1.31
ธันวาคม	44.10 ± 0.01	44.30 ± 0.94	45.00 ± 0.05	44.50 ± 0.48
ค่าเฉลี่ย	39.73 ± 0.41	40.81 ± 1.72	40.65 ± 0.91	40.40 ± 1.79
ค่าต่ำสุด	19.00 ± 0.56	27.50 ± 7.19	17.60 ± 5.20	21.40 ± 5.35
ค่าสูงสุด	50.40 ± 0.06	52.10 ± 0.50	52.30 ± 0.13	51.60 ± 1.03

หมายเหตุ ค่านำไฟฟ้าแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-14 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าการนำไฟฟ้าระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	8319.356	11	756.305	94.320	0.000
ภายในกลุ่ม	769.773	96	8.018		
รวม	9089.129	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-15 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าการนำไฟฟ้าระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	24.376	2	12.188	0.141	0.869
ภายในกลุ่ม	9064.754	105	86.331		
รวม	9089.129	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-16 ออกซิเจนละลายน้ำเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเลในเขตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	สถานีใกล้ฝั่ง	สถานีกระชังหอย	สถานีไกลฝั่ง	เฉลี่ย
มกราคม	6.0 ± 0.06	6.8 ± 0.13	6.6 ± 0.21	6.5 ± 0.30
กุมภาพันธ์	3.3 ± 0.07	4.5 ± 0.16	5.5 ± 0.07	4.4 ± 1.30
มีนาคม	3.8 ± 0.00	3.8 ± 0.05	3.9 ± 0.09	3.9 ± 0.40
เมษายน	4.1 ± 0.25	4.6 ± 0.18	4.7 ± 0.11	4.5 ± 0.40
พฤษภาคม	4.6 ± 0.40	6.3 ± 0.30	6.8 ± 0.14	5.9 ± 1.00
มิถุนายน	4.2 ± 0.03	5.4 ± 0.06	6.0 ± 0.31	5.2 ± 0.90
กรกฎาคม	4.8 ± 0.13	6.0 ± 0.50	6.2 ± 0.14	5.7 ± 0.70
สิงหาคม	4.5 ± 0.00	6.6 ± 0.18	7.6 ± 0.14	6.2 ± 1.00
กันยายน	4.0 ± 0.04	4.2 ± 0.61	5.2 ± 0.40	4.5 ± 1.30
ตุลาคม	1.8 ± 0.04	2.0 ± 0.17	2.0 ± 0.09	1.9 ± 1.40
พฤศจิกายน	3.0 ± 0.01	3.7 ± 0.25	4.0 ± 0.14	3.6 ± 0.90
ธันวาคม	1.9 ± 0.02	6.4 ± 0.11	6.5 ± 0.23	4.9 ± 1.60
ค่าเฉลี่ย	3.83 ± 0.14	5.03 ± 0.19	5.42 ± 0.17	4.77 ± 0.10
ค่าต่ำสุด	1.8 ± 0.04	2.0 ± 0.17	2.0 ± 0.09	1.9 ± 1.40
ค่าสูงสุด	6.0 ± 0.06	6.8 ± 0.13	7.6 ± 0.14	6.5 ± 0.30

หมายเหตุ ออกซิเจนละลายน้ำแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-17 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าออกซิเจนละลายน้ำระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	44.358	11	4.033	8.838	0.000
ภายในกลุ่ม	43.802	96	0.456		
รวม	88.161	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-18 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าออกซิเจนละลายน้ำระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	3.354	2	1.677	2.076	0.131
ภายในกลุ่ม	84.807	105	0.808		
รวม	88.161	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-19 ค่าบีโอดีเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือน มกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	**บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)**			
	สถานีใกล้ฝั่ง	**สถานีกระชังหอย**	**สถานีไกลฝั่ง**	**เฉลี่ย**
มกราคม	6.97 ± 0.57	3.17 ± 0.28	3.25±0.25	4.46 ± 2.17
กุมภาพันธ์	1.25 ± 0.70	2.22 ± 0.81	1.87 ± 0.46	1.78 ± 0.49
มีนาคม	1.01 ± 0.37	0.94 ± 0.32	0.64 ± 0.12	0.87 ± 0.20
เมษายน	1.44 ± 0.53	0.81 ± 0.36	0.70 ± 0.29	0.99 ± 0.40
พฤษภาคม	0.88 ± 0.08	0.96 ± 0.70	1.37 ± 0.51	1.07 ± 0.26
มิถุนายน	2.27 ± 0.43	1.53 ± 0.37	1.16 ± 0.16	1.65 ± 0.56
กรกฎาคม	2.47 ± 0.32	1.91 ± 0.39	1.37 ± 0.43	1.91 ± 0.55
สิงหาคม	2.67 ± 0.66	2.61 ± 0.37	2.62 ± 0.07	2.63 ± 0.03
กันยายน	3.20 ± 0.38	1.99 ± 0.57	2.17 ± 0.45	2.45 ± 0.65
ตุลาคม	4.79 ± 0.32	2.83 ± 1.10	3.00 ± 0.42	3.54 ± 1.08
พฤศจิกายน	1.37 ± 0.70	1.03 ± 0.63	1.19 ± 0.87	1.20 ± 0.17
ธันวาคม	0.90 ± 0.21	4.54 ± 1.77	4.54 ± 0.55	3.33 ± 2.10
ค่าเฉลี่ย	2.44 ± 0.44	2.04 ± 0.64	1.99 ± 0.38	2.16 ± 0.72
ค่าต่ำสุด	0.88 ± 0.08	0.81 ± 0.36	0.64 ± 0.12	0.87 ± 0.20
ค่าสูงสุด	6.97 ± 0.57	4.54 ± 1.77	4.54 ± 0.55	4.46 ± 2.17

หมายเหตุ ค่าบีโอดีแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-20 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าบีโอดี ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	130.890	11	11.899	11.774	0.000
ภายในกลุ่ม	97.022	96	1.011		
รวม	227.912	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-21 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าบีโอดี ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	4.258	2	2.129	1.000	0.372
ภายในกลุ่ม	223.654	105	2.130		
รวม	227.912	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-22 ค่าเฉลี่ยรายเดือนของปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณของแบคทีเรียรวมทั้งหมดในน้ำทะเล (CFU/mL)								
	สถานีใกล้ฝั่ง			สถานีกระชังหอย			สถานีไกลฝั่ง		
	จุดที่ 1	จุดที่ 2	จุดที่ 3	จุดที่ 1	จุดที่ 2	จุดที่ 3	จุดที่ 1	จุดที่ 2	จุดที่ 3
มกราคม	9.03×10^2	7.07×10^2	5.80×10^2	2.13×10^2	2.47×10^2	6.83×10^2	1.60×10^2	ND	5.07×10^2
กุมภาพันธ์	5.50×10^2	5.55×10^2	5.53×10^2	3.70×10^2	5.07×10^2	4.96×10^2	3.30×10^2	5.10×10^2	4.84×10^2
มีนาคม	1.10×10^2	1.18×10^2	1.30×10^2	3.40×10^1	1.10×10^1	1.70×10^1	2.60×10^1	4.30×10^1	1.20×10^1
เมษายน	2.17×10^3	1.73×10^3	1.98×10^3	1.70×10^1	2.10×10^1	3.10×10^1	1.70×10^1	1.90×10^1	2.00×10^1
พฤษภาคม	6.70×10^2	2.83×10^2	4.53×10^2	1.74×10^2	4.50×10^1	1.09×10^2	6.10×10^1	1.20×10^1	3.90×10^1
มิถุนายน	4.51×10^2	1.23×10^3	1.74×10^2	4.20×10^1	1.06×10^2	6.90×10^1	6.80×10^1	6.30×10^1	2.80×10^1
กรกฎาคม	7.90×10^1	9.20×10^1	9.00×10^1	6.20×10^1	7.10×10^1	5.20×10^1	3.30×10^1	4.00×10^1	4.50×10^1
สิงหาคม	2.43×10^3	1.60×10^3	1.53×10^3	6.30×10^1	3.30×10^1	4.00×10^1	4.90×10^1	5.80×10^1	5.50×10^1
กันยายน	6.37×10^2	2.53×10^2	5.60×10^3	4.83×10^2	2.63×10^2	1.13×10^2	1.90×10^2	4.03×10^2	1.13×10^2
ตุลาคม	2.11×10^3	2.28×10^3	2.46×10^3	1.02×10^3	3.00×10^2	1.17×10^2	8.60×10^1	4.90×10^1	4.60×10^1
พฤศจิกายน	1.21×10^3	9.57×10^2	1.52×10^3	9.20×10^1	9.20×10^1	1.02×10^2	3.33×10^2	5.33×10^2	2.18×10^2
ธันวาคม	2.97×10^2	5.00×10^2	6.60×10^2	5.40×10^1	1.47×10^2	1.26×10^3	1.20×10^2	7.30×10^1	4.60×10^1

หมายเหตุ ND (Non Detection limit) คือตรวจไม่พบ

ตาราง ก-23 ค่าเฉลี่ยรายเดือนของปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณของโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำทะเล (MPN/100 mL)								
	สถานีใกล้ฝั่ง			สถานีกระชังหอย			สถานีไกลฝั่ง		
	จุดที่ 1	จุดที่ 2	จุดที่ 3	จุดที่ 1	จุดที่ 2	จุดที่ 3	จุดที่ 1	จุดที่ 2	จุดที่ 3
มกราคม	70	> 1600	500	2	< 2	< 2	< 2	< 2	2
กุมภาพันธ์	> 1600	> 1600	900	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2
มีนาคม	> 1600	> 1600	> 1600	4	4	80	6	2	2
เมษายน	23	23	13	23	23	23	23	23	23
พฤษภาคม	90	60	60	2	11	11	4	7	6
มิถุนายน	30	500	110	4	30	23	130	11	23
กรกฎาคม	240	240	240	27	50	23	23	30	40
สิงหาคม	> 1600	> 1600	17	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กันยายน	> 1600	> 1600	> 1600	4	34	4	< 2	12	4
ตุลาคม	> 1600	500	1600	2	4	< 2	4	< 2	< 2
พฤศจิกายน	> 1600	> 1600	> 1600	2	< 2	4	2	4	< 2
ธันวาคม	900	1600	1600	< 2	< 2	2	< 2	4	< 2

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 5 หลอด

ตาราง ก-24 ปริมาณ *Vibrio* spp. รวมทั้งหมด จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณ *Vibrio* spp. (MPN/100 mL)								
	สถานีใกล้ฝั่ง			สถานีกระชังหอย			สถานีไกลฝั่ง		
	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3
มกราคม	9	6	6	< 2	2	2	< 2	< 2	< 2
กุมภาพันธ์	6	11	9	< 2	< 2	2	2	2	2
มีนาคม	4	9	9	2	< 2	7	4	13	11
เมษายน	< 2	2	9	9	14	4	9	4	6
พฤษภาคม	4	4	4	< 2	6	14	4	4	< 2
มิถุนายน	2	< 2	4	< 2	4	2	< 2	< 2	< 2
กรกฎาคม	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2
สิงหาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กันยายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2	< 2	2
ตุลาคม	4	12	< 2	2	2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤศจิกายน	2	2	2	< 2	4	4	6	2	4
ธันวาคม	9	6	6	4	4	6	2	4	< 2

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 5 หลอด

ตาราง ก-25 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *Vibrio* spp. ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	1935.657	11	175.969	1.536	0.131
ภายในกลุ่ม	11001.333	96	114.597		
รวม	12936.991	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-26 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *Vibrio* spp. ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	206.741	2	103.370	0.853	0.429
ภายในกลุ่ม	12,730.250	105	121.240		
รวม	12,936.991	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-27 ปริมาณ *V. cholerae* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณ *V. cholerae* (MPN/100 mL)								
	สถานีใกล้ฝั่ง			สถานีกระชังหอย			สถานีไกลฝั่ง		
	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3
มกราคม	2	2	2	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2
กุมภาพันธ์	2	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
มีนาคม	< 2	< 2	2	2	< 2	4	< 2	< 2	< 2
เมษายน	< 2	2	7	< 2	2	< 2	2	2	< 2
พฤษภาคม	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	2	4	< 2
มิถุนายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กรกฎาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
สิงหาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กันยายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
ตุลาคม	4	2	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤศจิกายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
ธันวาคม	4	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 5 หลอด

ตาราง ก-28 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. cholerae* ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	28.991	11	2.636	2.108	0.027
ภายในกลุ่ม	120.000	96	1.250		
รวม	148.991	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-29 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. cholerae* ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	9.019	2	4.509	3.383	0.038
ภายในกลุ่ม	139.972	105	1.333		
รวม	148.991	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-30 ปริมาณ *V. parahaemolyticus* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 อย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณ *V. parahaemolyticus* (MPN/100 mL)								
	สถานีใกล้ฝั่ง			สถานีกระชังหอย			สถานีไกลฝั่ง		
	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3
มกราคม	2	2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กุมภาพันธ์	2	4	6	< 2	< 2	2	< 2	< 2	2
มีนาคม	2	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
เมษายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤษภาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	4	2	< 2	< 2
มิถุนายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กรกฎาคม	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2
สิงหาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กันยายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
ตุลาคม	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤศจิกายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2	2	< 2	< 2
ธันวาคม	2	< 2	2	< 2	< 2	2	< 2	< 2	< 2

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 5 หลอด

ตาราง ก-31 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. parahaemolyticus* ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	25.296	11	2.300	2.534	0.007
ภายในกลุ่ม	87.111	96	0.907		
รวม	112.407	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-32 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. parahaemolyticus* ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	9.185	2	4.593	4.672	0.011
ภายในกลุ่ม	103.222	105	0.983		
รวม	112.407	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-33 ปริมาณ *V. vulnificus* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณ *V. vulnificus* (MPN/100 mL)								
	สถานีใกล้ฝั่ง			สถานีกระชังหอย			สถานีไกลฝั่ง		
	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3
มกราคม	< 2	2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กุมภาพันธ์	2	2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
มีนาคม	2	2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2
เมษายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤษภาคม	2	< 2	2	< 2	4	4	< 2	< 2	< 2
มิถุนายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2	< 2	< 2	< 2
กรกฎาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
สิงหาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กันยายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
ตุลาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤศจิกายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
ธันวาคม	< 2	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 5 หลอด

ตาราง ก-34 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. vulnificus* ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	19.074	11	1.734	3.070	0.001
ภายในกลุ่ม	54.222	96	0.565		
รวม	73.296	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-35 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. vulnificus* ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	5.630	2	2.815	4.368	0.015
ภายในกลุ่ม	67.667	105	0.644		
รวม	73.296	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-36 ปริมาณ *V. alginolyticus* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณ *V. alginolyticus* (MPN/100 mL)								
	สถานีใกล้ฝั่ง			สถานีกระชังหอย			สถานีไกลฝั่ง		
	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3
มกราคม	7	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กุมภาพันธ์	2	2	4	< 2	< 2	2	2	2	2
มีนาคม	2	7	4	< 2	< 2	2	4	13	4
เมษายน	< 2	< 2	2	9	9	4	6	2	6
พฤษภาคม	2	2	2	< 2	6	2	< 2	< 2	< 2
มิถุนายน	2	< 2	4	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2
กรกฎาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
สิงหาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กันยายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2	< 2	2
ตุลาคม	< 2	2	< 2	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤศจิกายน	< 2	2	2	< 2	4	2	4	2	4
ธันวาคม	4	6	6	4	2	4	2	4	< 2

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 5 หลอด

ตาราง ก-37 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. alginolyticus* ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	5.630	2	2.815	4.368	0.015
ภายในกลุ่ม	67.667	105	0.644		
รวม	73.296	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-38 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. alginolyticus* ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	2.019	2	1.009	0.171	0.843
ภายในกลุ่ม	619.639	105	5.901		
รวม	621.657	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-39 ปริมาณ *V. mimicus* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณ *V. mimicus* (MPN/100 mL)								
	สถานีใกล้ฝั่ง			สถานีกระชังหอย			สถานีไกลฝั่ง		
	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3
มกราคม	< 2	< 2	4	< 2	< 2	2	< 2	< 2	< 2
กุมภาพันธ์	2	4	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
มีนาคม	2	< 2	2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	2
เมษายน	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤษภาคม	< 2	2	2	< 2	< 2	< 2	2	< 2	< 2
มิถุนายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กรกฎาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
สิงหาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กันยายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	2	< 2	< 2
ตุลาคม	< 2	4	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤศจิกายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
ธันวาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 5 หลอด

ตาราง ก-40 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. mimicus* ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n =12)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	11.074	11	1.007	1.376	0.197
ภายในกลุ่ม	70.222	96	0.731		
รวม	81.296	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-41 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. mimicus* ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	6.741	2	3.370	4.747	0.011
ภายในกลุ่ม	74.556	105	0.710		
รวม	81.296	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-42 ปริมาณ *V. fluvialis* จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้ง 3 สถานี (สถานีละ 3 ตัวอย่าง) บริเวณอ่างศิลา ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณของเชื้อ *V. fluvialis* (MPN/100 mL)								
	สถานีใกล้ฝั่ง			สถานีกระชังหอย			สถานีไกลฝั่ง		
	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3	ตัวอย่าง 1	ตัวอย่าง 2	ตัวอย่าง 3
มกราคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กุมภาพันธ์	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
มีนาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
เมษายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤษภาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
มิถุนายน	< 2	< 2	< 2	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2
กรกฎาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
สิงหาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
กันยายน	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
ตุลาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
พฤศจิกายน	2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
ธันวาคม	< 2	< 2	< 2	< 2	2	< 2	< 2	< 2	< 2

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 5 หลอด

ตาราง ก-43 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. fluvialis* ระหว่างเดือนทั้ง 12 เดือน (n = 12)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	1.185	11	0.108	0.727	0.710
ภายในกลุ่ม	14.222	96	0.148		
รวม	15.407	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-44 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ *V. fluvialis* ระหว่างสถานีทั้ง 3 สถานี (n = 3)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	0.296	2	0.148	1.029	0.361
ภายในกลุ่ม	15.111	105	0.144		
รวม	15.407	107			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-45 ปริมาณ *Vibrio* spp. (MPN/g) จากตัวอย่างหอยนางรม บริเวณอ่างศิลา

เดือน	ตัวอย่าง	ปริมาณของเชื้อ *Vibrio* spp. (MPN/g)						
		***Vibrio* spp.**	***V. cholerae***	***V. parahaemolyticus***	***V. vulnificus***	***V. alginolyticus***	***V. mimicus***	***V. fluvialis***
มกราคม	1	6.2	3	3	<3	<3	3	<3
	2	6.1	<3	6.1	<3	<3	3	<3
	3	11	<3	<3	3.6	<3	<3	<3
กุมภาพันธ์	1	15	<3	<3	3	11	<3	<3
	2	35	<3	<3	7.4	3	7.4	<3
	3	15	<3	6.2	7.2	<3	<3	<3
มีนาคม	1	6.2	<3	3	3	<3	<3	3
	2	3.6	<3	<3	<3	<3	3.6	<3
	3	3.6	3.6	<3	<3	<3	<3	<3
เมษายน	1	11	3	<3	3.6	3	<3	<3
	2	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	3	3	<3	<3	<3	3	<3	<3
พฤษภาคม	1	3.6	<3	<3	<3	<3	3.6	<3
	2	6.2	<3	<3	6.2	<3	<3	<3
	3	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
มิถุนายน	1	3.6	<3	<3	3.6	<3	<3	<3
	2	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	3	3	<3	<3	<3	3	<3	<3

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 3 หลอด

ตาราง ก-45 (ต่อ) ปริมาณ *Vibrio* spp. (MPN/g) จากตัวอย่างหอยนางรม บริเวณอ่างศิลา

เดือน	ตัวอย่าง	ปริมาณของเชื้อ *Vibrio* spp. (MPN/g)						
		***Vibrio* spp.**	***V. cholerae***	***V. parahaemolyticus***	***V. vulnificus***	***V. alginolyticus***	***V. mimicus***	***V. fluvialis***
กรกฎาคม	1	9.2	<3	9.2	<3	<3	<3	<3
	2	3.6	<3	3.6	<3	<3	<3	<3
	3	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
สิงหาคม	1	3	<3	<3	<3	<3	3	<3
	2	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	3	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
กันยายน	1	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	2	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	3	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
ตุลาคม	1	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	2	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	3	7.4	<3	<3	3.6	<3	3	<3
พฤศจิกายน	1	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	2	0	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	3	3.6	<3	<3	<3	3.6	<3	<3
ธันวาคม	1	3	<3	<3	<3	<3	3	<3
	2	3	<3	<3	<3	<3	3	<3
	3	6.1	<3	<3	6.1	<3	<3	<3

หมายเหตุ ปริมาณเชื้อที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี Most probable number (MPN) ระบบ 3 หลอด

ตาราง ก-46 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะภูมิอากาศกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ ของน้ำทะเล บริเวณสถานีใกล้ฝั่ง ระหว่างเดือนมกราคม - ธันวาคม พ.ศ. 2555

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเล		สภาวะภูมิอากาศ ปี 2555	
		ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิน้ำทะเล
อุณหภูมิน้ำทะเล	Pearson Correlation	0.497**	1
	Sig. (2-tailed)	0.002	
ความเค็ม	Pearson Correlation	-0.695**	-0.417**
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.011
ความเป็นกรด-ด่าง	Pearson Correlation	-0.268	-0.554**
	Sig. (2-tailed)	0.114	0.000
การนำไฟฟ้า	Pearson Correlation	-0.717**	-0.374*
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.025
ออกซิเจนละลายน้ำ	Pearson Correlation	0.198	0.084
	Sig. (2-tailed)	0.248	0.628
บีโอดี	Pearson Correlation	0.082	-0.477**
	Sig. (2-tailed)	0.633	0.003
แอมโมเนีย	Pearson Correlation	-0.197	-0.353*
	Sig. (2-tailed)	0.250	0.034
ไนไตรท์	Pearson Correlation	0.291	0.263
	Sig. (2-tailed)	0.086	0.121
ไนเตรท-ไนโตรเจน	Pearson Correlation	0.333*	0.505**
	Sig. (2-tailed)	0.047	0.002
ฟอสฟอรัส	Pearson Correlation	0.484**	-0.046
	Sig. (2-tailed)	0.003	0.789
ซิลิเกต	Pearson Correlation	0.505**	0.274
	Sig. (2-tailed)	0.002	0.106
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	Pearson Correlation	-0.043	0.017
	Sig. (2-tailed)	0.806	0.922
แบคทีเรียรวม	Pearson Correlation	0.210	0.017
	Sig. (2-tailed)	0.220	0.920

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-47 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะภูมิอากาศกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ ของน้ำทะเล บริเวณสถานีกระชังหอย ระหว่างเดือนมกราคม - ธันวาคม พ.ศ. 2555

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเล		สภาวะภูมิอากาศ ปี 2555	
		ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิน้ำทะเล
อุณหภูมิน้ำทะเล	Pearson Correlation	0.413*	1
	Sig. (2-tailed)	0.012	
ความเค็ม	Pearson Correlation	-0.646**	-0.233
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.171
ความเป็นกรด-ด่าง	Pearson Correlation	-0.210	0.293
	Sig. (2-tailed)	0.218	0.083
การนำไฟฟ้า	Pearson Correlation	-0.508**	-0.117
	Sig. (2-tailed)	0.002	0.496
ออกซิเจนละลายน้ำ	Pearson Correlation	-0.051	0.231
	Sig. (2-tailed)	0.769	0.176
บีโอดี	Pearson Correlation	-0.202	-0.186
	Sig. (2-tailed)	0.238	0.276
แอมโมเนีย	Pearson Correlation	-0.108	-0.196
	Sig. (2-tailed)	0.532	0.253
ไนไตรท์	Pearson Correlation	0.073	-0.091
	Sig. (2-tailed)	0.671	0.599
ไนเตรท-ไนโตรเจน	Pearson Correlation	0.773**	0.644**
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.000
ฟอสฟอรัส	Pearson Correlation	0.713**	0.128
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.457
ซิลิเกต	Pearson Correlation	0.186	0.006
	Sig. (2-tailed)	0.277	0.973
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	Pearson Correlation	0.163	0.112
	Sig. (2-tailed)	0.343	0.517
แบคทีเรียรวม	Pearson Correlation	-0.137	-0.218
	Sig. (2-tailed)	0.426	0.201

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-48 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะภูมิอากาศกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมชนิดต่าง ๆ ของน้ำทะเล บริเวณสถานีไกลฝั่ง ระหว่างเดือนมกราคม - ธันวาคม พ.ศ. 2555

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำทะเล		สภาวะภูมิอากาศ ปี 2555	
		ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิน้ำทะเล
อุณหภูมิน้ำทะเล	Pearson Correlation	0.416*	1
	Sig. (2-tailed)	0.012	
ความเค็ม	Pearson Correlation	-0.683**	-0.247
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.147
ความเป็นกรด-ด่าง	Pearson Correlation	-0.362*	0.170
	Sig. (2-tailed)	0.030	0.322
การนำไฟฟ้า	Pearson Correlation	-0.723**	-0.216
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.206
ออกซิเจนละลายน้ำ	Pearson Correlation	0.086	0.349*
	Sig. (2-tailed)	0.617	0.037
บีโอดี	Pearson Correlation	-0.163	-0.092
	Sig. (2-tailed)	0.341	0.594
แอมโมเนีย	Pearson Correlation	0.101	-0.274
	Sig. (2-tailed)	0.560	0.106
ไนไตรท์	Pearson Correlation	0.148	0.000
	Sig. (2-tailed)	0.388	1.000
ไนเตรท-ไนโตรเจน	Pearson Correlation	0.822**	0.543**
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.001
ฟอสฟอรัส	Pearson Correlation	0.593**	0.067
	Sig. (2-tailed)	0.000	0.697
ซิลิเกต	Pearson Correlation	0.080	0.104
	Sig. (2-tailed)	0.643	0.548
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	Pearson Correlation	0.161	0.033
	Sig. (2-tailed)	0.347	0.848
แบคทีเรียรวม	Pearson Correlation	-0.034	-0.361*
	Sig. (2-tailed)	0.845	0.030

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-49 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิต่อการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	0.144	1	0.144	4.409	0.045
ภายในกลุ่ม	0.916	28	0.033		
รวม	1.060	29			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-50 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มต่อการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	0.143	4	0.036	0.972	0.440
ภายในกลุ่ม	0.917	25	0.037		
รวม	1.060	29			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-51 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างต่อการสร้างเอ็นไซม์ β-lactamase

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	0.058	2	0.029	0.777	0.470
ภายในกลุ่ม	1.002	27	0.037		
รวม	1.060	29			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-52 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของ *V. parahaemolyticus* แต่ละไอโซเลทต่อการสลายเม็ดเลือดแดง

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	4803.403	1	4803.403	11.516	0.001
ภายในกลุ่ม	149325.372	358	417.110		
รวม	154128.775	359			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-53 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิต่อการสลายเม็ดเลือดแดง

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	4803.403	1	4803.403	11.516	0.001
ภายในกลุ่ม	149325.372	358	417.110		
รวม	154128.775	359			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-54 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มต่อการสลายเม็ดเลือดแดง

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	6017.817	2	3008.908	7.253	0.001
ภายในกลุ่ม	148110.958	357	414.877		
รวม	154128.775	359			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-55 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของการสลายเม็ดเลือดแดงในสภาวะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส, 3.5 % โซเดียมคลอไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง 7 และ 8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ระหว่างกลุ่ม	1968.300	1	1968.300	5.769	0.018
ภายในกลุ่ม	40260.200	118	341.188		
รวม	42228.500	119			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-56 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยวิธี Paired Samples T-Test ของกิจกรรมการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. parahaemolyticus* ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 7 และ 8 ในสภาวะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ 3.5 % โซเดียมคลอไรด์

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
				95% Confidence Interval of the Difference				
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
pH 7 - pH 8	-1.59333E1	29.32685	5.35433	-26.88416	-4.98251	-2.976	29	0.006

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-57 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอุณหภูมิต่อการสร้างไบโอฟิล์ม

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	2535.000	1	2535.000	8.054	0.005
ภายในกลุ่ม	74911.250	238	314.753		
รวม	77446.250	239			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-58 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเค็มต่อการสร้างไบโอฟิล์ม

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	1739.958	4	434.990	1.350	0.252
ภายในกลุ่ม	75706.292	235	322.154		
รวม	77446.250	239			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-59 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างต่อการสร้างไบโอฟิล์ม

ANOVA					
	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**
ระหว่างกลุ่ม	1190.800	2	595.400	1.850	0.159
ภายในกลุ่ม	76255.450	237	321.753		
รวม	77446.250	239			

หมายเหตุ มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-60 ปริมาณแอมโมเนียเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 (ชนะชัย บัณฑิต, 2555)

เดือน	แอมโมเนีย (มก.แอมโมเนีย –ไนโตรเจน/ลิตร)			
	สถานีใกล้ฝั่ง	สถานีกระชังหอย	สถานีไกลฝั่ง	เฉลี่ย
มกราคม	0.14 ± 0.0011	0.13 ± 0.0006	0.14 ± 0.0019	0.14 ± 0.0012
กุมภาพันธ์	0.10 ± 0.0037	0.10 ± 0.0016	0.10 ± 0.0087	0.10 ± 0.0025
มีนาคม	0.13 ± 0.0245	0.15 ± 0.0336	0.14 ± 0.0087	0.14 ± 0.0234
เมษายน	0.24 ± 0.0041	0.13 ± 0.00463	0.11 ± 0.0087	0.16 ± 0.0379
พฤษภาคม	0.10 ± 0.0131	0.08 ± 0.0087	0.09 ± 0.0102	0.09 ± 0.0087
มิถุนายน	0.25 ± 0.0169	0.14 ± 0.0087	0.08 ± 0.0213	0.16 ± 0.0148
กรกฎาคม	0.07 ± 0.0010	0.10 ± 0.0078	0.09 ± 0.0054	0.08 ± 0.0047
สิงหาคม	0.14 ± 0.0033	0.14 ± 0.0058	0.16 ± 0.0047	0.15 ± 0.0046
กันยายน	0.13 ± 0.0133	0.13 ± 0.0088	0.10 ± 0.0045	0.12 ± 0.0089
ตุลาคม	0.09 ± 0.0056	0.13 ± 0.0056	0.08 ± 0.0029	0.10 ± 0.0068
พฤศจิกายน	0.05 ± 0.0008	0.05 ± 0.0008	0.05 ± 0.0005	0.05 ± 0.0005
ธันวาคม	0.16 ± 0.0014	0.06 ± 0.0014	0.06 ± 0.0016	0.09 ± 0.0007
ค่าเฉลี่ย	0.14 ± 0.0076	0.12 ± 0.0113	0.10 ± 0.0083	0.12 ± 0.0091
ค่าต่ำสุด	0.05 ± 0.0008	0.05 ± 0.0008	0.05 ± 0.0005	0.05 ± 0.0005
ค่าสูงสุด	0.25 ± 0.0169	0.15 ± 0.0336	0.16 ± 0.0047	0.16 ± 0.0148

หมายเหตุ ปริมาณแอมโมเนียแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-61 ปริมาณไนโตรท์เฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 (ชนะชัย บัณฑิต, 2555)

เดือน	ไนไตรท์ (มก.ไนเตรท-ไนโตรเจน/ลิตร)			
	สถานีใกล้ฝั่ง	สถานีกระชังหอย	สถานีไกลฝั่ง	เฉลี่ย
มกราคม	0.01 ± 0.0008	0.01 ± 0.0006	0.01 ± 0.0018	0.01 ± 0.0011
กุมภาพันธ์	0.02 ± 0.0014	0.01 ± 0.0018	0.02 ± 0.0014	0.02 ± 0.0015
มีนาคม	0.03 ± 0.0002	0.03 ± 0.0012	0.03 ± 0.0027	0.03 ± 0.0014
เมษายน	0.02 ± 0.0005	0.01 ± 0.0009	0.01 ± 0.0009	0.01 ± 0.0008
พฤษภาคม	0.03 ± 0.0031	0.02 ± 0.0016	0.02 ± 0.0011	0.02 ± 0.0020
มิถุนายน	0.03 ± 0.0015	0.02 ± 0.0056	0.02 ± 0.0021	0.02 ± 0.0031
กรกฎาคม	0.01 ± 0.0013	ND ± 0.0015	ND ± 0.0011	ND ± 0.0013
สิงหาคม	0.01 ± 0.0008	ND ± 0.0004	ND ± 0.0009	ND ± 0.0007
กันยายน	0.03 ± 0.0034	0.02 ± 0.0010	0.02 ± 0.0013	0.02 ± 0.0019
ตุลาคม	ND ± 0.0025	0.01 ± 0.0028	ND ± 0.0027	ND ± 0.0027
พฤศจิกายน	0.01 ± 0.0017	ND ± 0.0005	ND ± 0.0012	0.01 ± 0.0012
ธันวาคม	0.01 ± 0.0012	ND ± 0.0022	ND ± 0.00007	ND ± 0.0014
ค่าเฉลี่ย	0.02 ± 0.0015	0.01 ± 0.0017	0.01 ± 0.0018	0.02 ± 0.0017
ค่าต่ำสุด	ND ± 0.0025	ND ± 0.0004	ND ± 0.00007	ND ± 0.0007
ค่าสูงสุด	0.03 ± 0.0015	0.03 ± 0.0012	0.03 ± 0.0027	0.03 ± 0.0014

หมายเหตุ ปริมาณไนไตรท์แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ND (Non detection limit) คือตรวจไม่พบ

ตาราง ก-62 ปริมาณไนเตรทเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 (ชนะชัย บัณฑิต, 2555)

เดือน	ไนเตรท (มก.ไนเตรท-ไนโตรเจน/ลิตร)			
	สถานีใกล้ฝั่ง	สถานีกระชังหอย	สถานีไกลฝั่ง	เฉลี่ย
มกราคม	ND ± 0.0027	0.01 ± 0.0009	ND ± 0.0013	ND ± 0.0016
กุมภาพันธ์	0.08 ± 0.0018	ND ± 0.0022	0.02 ± 0.0012	0.03 ± 0.0017
มีนาคม	0.08 ± 0.0004	0.06 ± 0.0041	0.07 ± 0.0015	0.07 ± 0.0020
เมษายน	0.39 ± 0.0013	0.15 ± 0.0006	0.15 ± 0.0016	0.23 ± 0.0011
พฤษภาคม	0.46 ± 0.0003	0.23 ± 0.0009	0.24 ± 0.0028	0.31 ± 0.0013
มิถุนายน	0.44 ± 0.0009	0.20 ± 0.0005	0.20 ± 0.0036	0.28 ± 0.0017
กรกฎาคม	1.25 ± 0.0059	0.24 ± 0.0012	0.21 ± 0.0005	0.57 ± 0.0025
สิงหาคม	1.10 ± 0.0037	0.19 ± 0.0011	0.31 ± 0.0007	0.53 ± 0.0018
กันยายน	0.39 ± 0.0134	0.29 ± 0.0018	0.28 ± 0.0010	0.32 ± 0.0054
ตุลาคม	0.10 ± 0.0014	0.09 ± 0.0027	0.08 ± 0.0013	0.09 ± 0.0018
พฤศจิกายน	0.31 ± 0.0016	0.25 ± 0.0033	0.18 ± 0.0006	0.25 ± 0.0018
ธันวาคม	0.77 ± 0.0013	0.04 ± 0.0006	0.04 ± 0.0023	0.28 ± 0.0014
ค่าเฉลี่ย	0.42 ± 0.0027	0.14 ± 0.0016	0.14 ± 0.0014	0.24 ± 0.0019
ค่าต่ำสุด	ND ± 0.0027	ND ± 0.0022	ND ± 0.0013	ND ± 0.0016
ค่าสูงสุด	1.25 ± 0.0059	0.29 ± 0.0018	0.31 ± 0.0007	0.57 ± 0.0025

หมายเหตุ ปริมาณไนเตรทแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ND (Non detection limit) คือตรวจไม่พบ

ตาราง ก-63 ปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 (ชนะชัย บัณฑิต, 2555)

เดือน	ฟอสฟอรัส (มก./ลิตร)			
	สถานีใกล้ฝั่ง	สถานีกระชังหอย	สถานีไกลฝั่ง	เฉลี่ย
มกราคม	0.04 ± 0.0011	0.03 ± 0.0046	0.03 ± 0.0007	0.03 ± 0.0022
กุมภาพันธ์	0.45 ± 0.0008	0.29 ± 0.0005	0.18 ± 0.0019	0.31 ± 0.0011
มีนาคม	0.05 ± 0.0004	0.04 ± 0.0018	0.03 ± 0.0007	0.04 ± 0.0010
เมษายน	0.17 ± 0.0015	0.08 ± 0.0002	0.09 ± 0.0063	0.11 ± 0.0027
พฤษภาคม	0.10 ± 0.0025	0.07 ± 0.0004	0.08 ± 0.0017	0.08 ± 0.0015
มิถุนายน	0.11 ± 0.0003	0.06 ± 0.0001	0.07 ± 0.0017	0.08 ± 0.0007
กรกฎาคม	0.14 ± 0.0014	0.11 ± 0.0028	0.11 ± 0.0008	0.12 ± 0.0017
สิงหาคม	0.14 ± 0.0008	0.10 ± 0.0009	0.10 ± 0.0011	0.11 ± 0.0009
กันยายน	0.61 ± 0.0025	0.60 ± 0.0026	0.59 ± 0.0002	0.60 ± 0.0018
ตุลาคม	0.46 ± 0.0052	0.45 ± 0.0047	0.31 ± 0.0036	0.41 ± 0.0045
พฤศจิกายน	0.09 ± 0.0008	0.07 ± 0.0005	0.07 ± 0.0012	0.08 ± 0.0008
ธันวาคม	0.07 ± 0.0017	0.03 ± 0.0011	0.03 ± 0.0022	0.04 ± 0.0017
ค่าเฉลี่ย	0.19 ± 0.0016	0.15 ± 0.0016	0.13 ± 0.0017	0.16 ± 0.0016
ค่าต่ำสุด	0.04 ± 0.0011	0.03 ± 0.0046	0.03 ± 0.0007	0.03 ± 0.0022
ค่าสูงสุด	0.61 ± 0.0025	0.60 ± 0.0026	0.59 ± 0.0002	0.60 ± 0.0018

หมายเหตุ ปริมาณฟอสฟอรัสแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-64 ปริมาณซิลิเกตเฉลี่ยรายเดือนของน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งทะเลอ่างศิลา ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 (ชนะชัย บัณฑิต, 2555)

เดือน	ซิลิเกต (มก.ซิลิเกต/ลิตร)			
	สถานีใกล้ฝั่ง	สถานีกระชังหอย	สถานีไกลฝั่ง	เฉลี่ย
มกราคม	0.54 ± 0.0016	0.46 ± 0.0026	0.54 ± 0.0024	0.52 ± 0.0022
กุมภาพันธ์	2.42 ± 0.0009	2.39 ± 0.0017	2.42 ± 0.0021	2.41 ± 0.0016
มีนาคม	1.36 ± 0.0016	1.62 ± 0.0025	1.39 ± 0.0003	1.46 ± 0.0014
เมษายน	0.96 ± 0.0196	0.74 ± 0.0150	0.78 ± 0.0037	0.83 ± 0.0128
พฤษภาคม	0.85 ± 0.0336	0.95 ± 0.0140	0.83 ± 0.0092	0.88 ± 0.0189
มิถุนายน	1.57 ± 0.0047	1.23 ± 0.0265	1.24 ± 0.0293	1.35 ± 0.0202
กรกฎาคม	1.95 ± 0.0062	1.20 ± 0.0173	1.30 ± 0.0087	1.48 ± 0.0107
สิงหาคม	1.70 ± 0.0109	0.97 ± 0.0136	1.08 ± 0.0065	1.25 ± 0.0104
กันยายน	2.63 ± 0.0060	1.50 ± 0.0068	1.59 ± 0.0205	1.91 ± 0.0111
ตุลาคม	0.36 ± 0.0049	0.39 ± 0.0007	0.39 ± 0.0037	0.38 ± 0.0031
พฤศจิกายน	0.93 ± 0.0045	0.098 ± 0.0104	0.57 ± 0.0068	0.83 ± 0.0072
ธันวาคม	0.99 ± 0.0085	0.97 ± 0.0140	0.56 ± 0.0040	0.84 ± 0.0088
ค่าเฉลี่ย	1.36 ± 0.0081	0.98 ± 0.0098	1.05 ± 0.0076	1.13 ± 0.0085
ค่าต่ำสุด	0.36 ± 0.0049	0.39 ± 0.0007	0.39 ± 0.0037	0.38 ± 0.0031
ค่าสูงสุด	2.63 ± 0.0060	2.39 ± 0.0017	2.42 ± 0.0021	2.41 ± 0.0016

หมายเหตุ ปริมาณซิลิเกตแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ก-65 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ บริเวณสถานีใกล้ฝั่ง

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิน้ำทะเล	ความเค็ม	ความเป็นกรด-ด่าง	ออกซิเจนละลายน้ำ	บีโอดี	แอมโมเนีย	ไนไตรท์	ไนเตรท	ฟอสฟอรัส	ซิลิเกต	โคลิฟร์มแบคทีเรีย	แบคทีเรียรวม
ปริมาณน้ำฝน	1	0.497**	0.695**	-0.268	0.198	0.082	-0.197	0.291	0.333*	0.484**	0.505**	-0.043	0.210
		0.002	0.000	0.114	0.248	0.633	0.250	0.086	0.047	0.003	0.002	0.806	0.220
อุณหภูมิน้ำ	0.497**	1	-0.417*	-0.554**	0.084	-0.477**	-0.353*	0.263	0.505**	-0.046	0.274	0.017	0.017
	0.002		0.011	0.000	0.628	0.003	0.034	0.121	0.002	0.789	0.106	0.922	0.920
ความเค็ม	-0.695**	0.417*	1	0.264	-0.270	0.058	-0.007	-0.294	-0.573**	-0.332*	-0.836**	-0.076	-0.028
	0.000	0.011		0.119	0.112	0.739	0.968	0.082	0.000	0.048	0.000	0.661	0.873
ความเป็นกรด-ด่าง	-0.268	-0.554**	0.264	1	0.569**	0.759**	0.034	-0.224	-0.349*	-0.268	-0.358*	-0.087	-0.089
	0.114	0.000	0.119		0.000	0.000	0.842	0.189	0.037	0.114	0.032	0.616	0.606
ออกซิเจนละลายน้ำ	0.198	0.084	-0.270	0.569**	1	0.338*	0.143	0.297	0.117	-0.323	0.129	-0.438**	-0.175
	0.248	0.628	0.112	0.000		0.044	0.407	0.079	0.496	0.055	0.452	0.007	0.306
บีโอดี	0.082	-0.477**	0.058	0.759**	0.338*	1	-0.043	-0.424**	-0.249	0.158	-0.273	-0.051	0.247
	0.633	0.003	0.739	0.000	0.044		0.803	0.010	0.142	0.358	0.107	0.768	0.146

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-65 (ต่อ) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ บริเวณสถานีใกล้ฝั่ง

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิน้ำทะเล	ความเค็ม	ความเป็นกรด-ด่าง	ออกซิเจนละลายน้ำ	บีโอดี	แอมโมเนีย	ไนไตรท์	ไนเตรท	ฟอสฟอรัส	ซิลิเกต	โคลิฟร์มแบคทีเรีย	แบคทีเรียรวม
แอมโมเนีย	-0.197	-0.353*	-0.007	0.034	0.143	-0.043	1	0.382*	-0.030	-0.178	-0.025	-0.376*	0.084
	0.250	0.034	0.968	0.842	0.407	0.803		0.022	0.862	0.299	0.885	0.024	0.626
ไนไตรท์	0.291	0.263	-0.294	-0.224	0.297	-0.424**	0.382*	1	-0.196	0.035	0.438**	-0.142	-0.188
	0.086	0.121	0.082	0.189	0.079	0.010	0.022		0.252	0.840	0.008	0.410	0.271
ไนเตรท	0.333*	0.505**	-0.573**	-0.349*	0.117	-0.249	-0.030	-0.196	1	-0.226	0.283	-0.252	-0.068
	0.047	0.002	0.000	0.037	0.496	0.142	0.862	0.252		0.184	0.094	0.137	0.695
ฟอสฟอรัส	0.484**	-0.046	-0.332*	-0.268	-0.323	0.158	-0.178	0.035	-0.226	1	0.492**	0.308	0.416*
	0.003	0.789	0.048	0.114	0.055	0.358	0.299	0.840	0.184		0.002	0.068	0.012
ซิลิเกต	0.505**	0.274	-0.836**	-0.358*	0.129	-0.273	-0.025	0.438**	0.283	0.492**	1	0.177	-0.046
	0.002	0.106	0.000	0.032	0.452	0.107	0.885	0.008	0.094	0.002		0.303	0.791
โคลิฟร์มแบคทีเรีย	-0.043	0.017	-0.076	-0.087	-0.438**	-0.051	-0.376*	-0.142	-0.252	0.308	0.177	1	0.138
	0.806	0.922	0.661	0.616	0.007	0.768	0.024	0.410	0.137	0.068	0.303		0.422
แบคทีเรียรวม	0.210	0.017	-0.028	-0.089	-0.175	0.247	0.084	-0.188	-0.068	0.416*	-0.046	0.138	1
	0.220	0.920	0.873	0.606	0.306	0.146	0.626	0.271	0.695	0.012	0.791	0.422	

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-66 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ บริเวณสถานีกระชังหอย

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิน้ำทะเล	ความเค็ม	ความเป็นกรด-ด่าง	ออกซิเจนละลายน้ำ	บีโอดี	แอมโมเนีย	ไนไตรท์	ไนเตรท	ฟอสฟอรัส	ซิลิเกต	โคลิฟร์มแบคทีเรีย	แบคทีเรียรวม
ปริมาณน้ำฝน	1	0.413*	-0.646**	-0.210	-0.051	-0.202	-0.108	0.073	0.773**	0.713**	0.186	0.163	-0.137
		0.012	0.000	0.218	0.769	0.238	0.532	0.671	0.000	0.000	0.277	0.343	0.426
อุณหภูมิน้ำ	0.413*	1	-0.233	0.293	0.231	-0.186	-0.196	-0.091	0.644**	0.128	0.006	0.112	-0.218
	0.012		0.171	0.083	0.176	0.276	0.253	0.599	0.000	0.457	0.973	0.517	0.201
ความเค็ม	-0.646**	-0.233	1	-0.123	-0.287	-0.037	-0.235	-0.171	-0.530**	-0.409*	-0.630**	-0.226	0.161
	0.000	0.171		0.476	0.090	0.829	0.167	0.318	0.001	0.013	0.000	0.186	0.348
ความเป็นกรด-ด่าง	-0.210	0.293	-0.123	1	0.709**	0.144	0.091	-0.107	0.057	-0.448**	0.234	0.003	-0.034
	0.218	0.083	0.476		0.000	0.401	0.596	0.535	0.742	0.006	0.170	0.984	0.844
ออกซิเจนละลายน้ำ	-0.202	-0.186	-0.037	0.144	1	0.265	0.289	-0.094	0.150	-0.455**	0.050	-0.061	-0.119
	0.238	0.276	0.829	0.401		0.118	0.087	0.586	0.384	0.005	0.774	0.722	0.489
บีโอดี	-0.051	0.231	-0.287	0.709**	0.265	1	-0.042	-0.416*	-0.349*	0.018	-0.103	-0.373*	0.487**
	0.769	0.176	0.090	0.000	0.118		0.807	0.012	0.037	0.915	0.549	0.025	0.003

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-66 (ต่อ) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ บริเวณสถานีกระชังหอย

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิน้ำทะเล	ความเค็ม	ความเป็นกรด-ด่าง	ออกซิเจนละลายน้ำ	บีโอดี	แอมโมเนีย	ไนไตรท์	ไนเตรท	ฟอสฟอรัส	ซิลิเกต	โคลิฟร์มแบคทีเรีย	แบคทีเรียรวม
แอมโมเนีย	-0.108	-0.196	-0.235	0.091	0.289	-0.042	1	0.279	0.058	-0.083	0.315	0.073	-0.169
	0.532	. 0253	0.167	0.596	0.087	0.807		0.099	0.737	0.629	0.061	0.672	0.324
ไนไตรท์	0.073	-0.091	-0.171	-0.107	-0.094	-0.416*	0.279	1	-0.071	0.114	0.591**	0.240	-0.118
	0.671	0.599	0.318	0.535	0.586	0.012	0.099		0.681	0.509	0.000	0.159	0.493
ไนเตรท	0.773**	0.644**	-0.530**	0.057	0.150	-0.349*	0.058	-0.071	1	.320	0.025	0.153	-0.407*
	0.000	0.000	0.001	0.742	0.384	0.037	0.737	0.681		0.057	0.883	0.374	0.014
ฟอสฟอรัส	0.713**	0.128	-0.409*	-0.448**	-0.455**	0.018	-0.083	0.114	0.320	1	0.295	-0.030	0.204
	0.000	0.457	0.013	0.006	0.005	0.915	0.629	0.509	0.057		0.080	0.862	0.233
ซิลิเกต	0.186	0.006	-0.630**	0.234	0.050	-0.103	0.315	0.591**	0.025	0.295	1	0.182	0.020
	0.277	0.973	0.000	0.170	0.774	0.549	0061	0.000	0.883	0.080		0.289	0.908
โคลิฟร์มแบคทีเรีย	0.163	0.112	-0.226	0.003	-0.061	-0.373*	0.073	0.240	0.153	-0.030	0.182	1	-0.285
	0.343	0.517	0.186	0.984	0.722	0.025	0.672	0.159	0.374	0.862	0.289		0.093
แบคทีเรียรวม	-0.137	-0.218	0.161	-0.034	-0.119	0.487**	-0.169	-0.118	-0.407*	0.204	0.020	-0.285	1
	0.426	0.201	0.348	0.844	0.489	0.003	0.324	0.493	0.014	0.233	0.908	0.093	

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-67 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ บริเวณสถานีไกลฝั่ง

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิน้ำทะเล	ความเค็ม	ความเป็นกรด-ด่าง	ออกซิเจนละลายน้ำ	บีโอดี	แอมโมเนีย	ไนไตรท์	ไนเตรท	ฟอสฟอรัส	ซิลิเกต	โคลิฟร์มแบคทีเรีย	แบคทีเรียรวม
ปริมาณน้ำฝน	1	0.416*	-0.683**	-0.362*	0.086	-0.163	0.101	0.148	0.822**	.593**	0.080	0.161	-0.034
		0.012	0.000	0.030	0.617	0.341	0.560	0.388	0.000	.000	0.643	0.347	0.845
อุณหภูมิน้ำ	0.416*	1	-0.247	0.170	0.349*	-0.092	-0.274	0.000	0.543**	.067	0.104	0.033	-0.361*
	0.012		0.147	0.322	0.037	0.594	0.106	1.000	0.001	.697	0.548	0.848	0.030
ความเค็ม	-0.683**	-0.247	1	0.128	-0.347*	0.072	-0.268	-.0230	-0.406*	-.462**	-0.605**	-0.130	-0.035
	0.000	0.147		0.455	0.038	0.675	0.114	0.177	0.014	.005	0.000	0.449	0.841
ความเป็นกรด-ด่าง	-0.362*	0.170	0.128	1	0.691**	0.128	-0.095	-0.208	-0.247	-.551**	0.109	0.238	-0.153
	0.030	0.322	0.455		0.000	0.455	0.581	0.224	0.146	.000	0.528	0.161	0.373
ออกซิเจนละลายน้ำ	0.086	0.349*	-0.347*	0.691**	1	0.213	-0.102	-0.027	0.098	-.390*	0.193	0.051	-0.082
	0.617	0.037	0.038	0.000		0.213	0.554	0.876	0.568	.019	0.260	0.769	0.633
บีโอดี	-0.163	-0.092	0.072	0.122	0.213	1	-0.206	-0.477**	-0.401*	.097	-0.187	-0.301	0.064
	0.341	0.594	0.675	0.478	0.213		0.227	0.003	0.015	.575	0.275	0.075	0.711

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ตาราง ก-67 (ต่อ) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ บริเวณสถานีไกลฝั่ง

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิน้ำทะเล	ความเค็ม	ความเป็นกรด-ด่าง	ออกซิเจนละลายน้ำ	บีโอดี	แอมโมเนีย	ไนไตรท์	ไนเตรท	ฟอสฟอรัส	ซิลิเกต	โคลิฟร์มแบคทีเรีย	แบคทีเรียรวม
แอมโมเนีย	0.101	-0.274	-0.268	-0.095	-0.102	-0.206	1	0.445**	-0.116	0.206	0.235	0.173	-0.312
	0.560	0.106	0.114	0.581	0.554	0.227		0.007	0.501	0.227	0.168	0.313	0.064
ไนไตรท์	0.148	0.000	-0.230	-0.208	-0.027	-0.477**	0.445**	1	0.026	0.039	0.464**	0.135	-0.111
	0.388	1.000	0.177	0.224	0.876	0.003	0.007		0.882	0.821	0.004	0.432	0.520
ไนเตรท	0.822**	0.543**	-0.406*	-0.247	0.098	-0.401*	-0.116	0.026	1	0.214	-0.206	0.255	-0.132
	0.000	0.001	0.014	0.146	0.568	0.015	0.501	0.882		0.210	0.227	0.133	0.443
ฟอสฟอรัส	0.593**	0.067	-0.462**	-0.551**	-0.390*	0.097	0.206	0.039	0.214	1	0.278	-0.134	0.270
	0.000	0.697	0.005	0.000	0.019	0.575	0.227	0.821	0.210		0.101	0.435	0.111
ซิลิเกต	0.080	0.104	-0.605**	0.109	0.193	-0.187	0.235	0.464**	-0.206	0.278	1	0.060	0.178
	0.643	0.548	0.000	0.528	0.260	0.275	0.168	0.004	0.227	0.101		0.729	0.299
โคลิฟร์มแบคทีเรีย	0.161	0.033	-0.130	0.238	0.051	-0.301	0.173	0.135	0.255	-0.134	0.060	1	-0.196
	0.347	0.848	0.449	0.161	0.769	0.075	0.313	0.432	0.133	0.435	0.729		0.251
แบคทีเรียรวม	-0.034	-0.361*	-0.035	-0.153	-0.082	0.064	-0.312	-0.111	-0.132	0.270	0.178	-0.196	1
	0.845	0.030	0.841	0.373	0.633	0.711	0.064	0.520	0.443	0.111	0.299	0.251	

หมายเหตุ ** มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 % ($p < 0.01$)

หมายเหตุ * มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 % ($p < 0.05$)

ภาคผนวก ข
เกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำ

ตาราง ข-1 มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (กรมควบคุมมลพิษ, 2553)

พารามิเตอร์	หน่วย	ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทะเล
1.วัตถุที่ลอยน้ำ (Floatable solids)	-	ไม่เป็นที่น่ารังเกียจ
2. สี (Color)	-	ไม่เป็นที่น่ารังเกียจ
3. กลิ่น (Odor)	-	ไม่เป็นที่น่ารังเกียจ
4. อุณหภูมิ (Temperature)	-	เปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นไม่เกิน 1
5. ความเป็นกรดและด่าง (pH)	-	7.0 – 8.5
6. ความโปร่งแสง (Transparency)	-	ลดลงจากสภาพธรรมชาติ ไม่เกิน 10 % จากค่าต่ำสุด
5. ความเค็ม (Salinity)	-	เปลี่ยนแปลงได้ไม่เกินกว่า 10 % ของค่าต่ำสุด
6. ออกซิเจนละลายน้ำ (DO)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่น้อยกว่า 4
7. บีโอดี (BOD)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่มากกว่า 2
8. แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (Total Coliform Bacteria)	MPN/100 mL	ไม่เกิน 1,000
9. แบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์ม (Fecal Coliform Bacteria)	CFU/100 mL	ไม่เกิน 70
10. ไนโตรเจน-ไนโตรเจน (NO_3-N)	มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร	ไม่เกิน 0.06
11. ฟอสเฟตขฟอสฟอรัส (PO_4-P)	มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตร	ไม่เกิน 0.4
12. แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N)	มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร	ไม่เกิน 1.1
13. ซิลิเกต	มิลลิกรัม-ซิลิเกตต่อลิตร	เปลี่ยนแปลงจากธรรมชาติ ไม่เกิน 10 %

ภาคผนวก ค
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Alkaline Peptone Water (APW)

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตรปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.5 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Blood Agar (5 % Human blood cells)

ชั่งอาหารสำเร็จรูป Tryptic Soy Agar 40 กรัม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ 20 กรัม ละลายส่วนผสม ทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.3 ± 0.2 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นจนมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เติม 5 มิลลิลิตร ของเลือดมนุษย์ลงใน 100 มิลลิลิตร ของอาหารเหลว

3. Brilliant Green Lactose Bile broth

ชั่งอาหารสำเร็จรูป ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.4 เติม 1 % brilliant green ลงไปแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น บรรจุลงในหลอดทดลองที่มีหลอดดักแก๊ส ปิดฝา นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. CHROMagar ^{TM} Vibrio

ชั่งอาหารสำเร็จรูป CHROMagar 74.7 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร หลอมให้ละลาย ปรับความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.6 ± 0.2 ต้มจนเดือดประมาณ 10 นาที (ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ)

5. (Lysine, Ornithine, Arginine) Decarboxylase medium

Peptone	5	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Dextrose	1	กรัม
(Lysine, Ornithine, Arginine)	5	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.8 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สำหรับกรดอะมิโน Ornithine นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้เนื้ออาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปใส่หลอดทดลองขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. Motility test medium with Sodium chloride 1 %

Beef extract	3	กรัม
Peptone	10	กรัม
Sodium chloride (NaCl)	5	กรัม
Agar	2	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนส่วนผสมละลายเข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วนำมาแบ่งใส่หลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 3 มิลลิลิตร

7. Peptone water diluents หรือ 0.1 % peptone water

Peptone	1	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายหลังจากผสมสารต่าง ๆ ให้ได้ 7.1 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

8. Thiosulfate Citrate Bile Salt sucrose (TCBS) agar

ชั่งอาหารสำเร็จรูป TCBS 89 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร หลอมให้ละลาย ปรับความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.6 ± 0.2 ต้มจนเดือดประมาณ 10 นาที (ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ)

9. Triple Sugar Iron (TSI) agar

ชั่งอาหารสำเร็จรูป TSI 65 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร หลอมให้ละลายปรับ pH เป็น 7.4 ± 0.2 บรรจุหลอดแก้วขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อฆ่าเชื้อเสร็จนำหลอดอาหารวางเอียง

10. Tryptic Soy Agar (TSA) with Sodium chloride 1 % or 2 %

ชั่งอาหารสำเร็จรูป Tryptic Soy Agar 40 กรัม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ 10, 20 กรัม ละลายส่วนผสม ทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตรปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.3 ± 0.2 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

11. Tryptic Soy Broth (TSB) with Sodium chloride 2 %

ชั่งอาหารสำเร็จรูป Tryptic Soy Broth 30 กรัม และเกลือ โซเดียมคลอไรด์ 20 กรัม ละลายส่วนผสม ทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตรปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.3 ± 0.2 ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) โดยใช้ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

12. Saline peptone water

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride (NaCl)	0, 10, 30, 60, 80, 100	กรัม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.5 ± 0.2 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น บรรจุหลอดแก้วขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

13. Plate Count Agar (PCA) with 3 % NaCl

ชั่งอาหารสำเร็จรูป Plate Count Agar 23.5 กรัม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ 30 กรัม ละลายส่วนผสม ทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.3 ± 0.2 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

14. Lauryl Sulphate Tryptose broth (LST)

ชั่งอาหารสำเร็จรูป 35.5 กรัม และเกลือโซเดียมคลอไรด์ 30 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.3 ± 0.2 บรรจุลงในหลอดทดลองที่มีหลอดดักแก๊ส ปิดฝา นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ง
การเตรียมสารเคมีและบัฟเฟอร์

1. Ethylene diamine tetraacetic (EDTA)

EDTA (disodium salt, MW = 372.24)	18.6	กรัม
น้ำกลั่น	80.0	มิลลิลิตร

ละลาย EDTA ในน้ำกลั่นพร้อมกับการกวนสารละลายด้วย magnetic stirrer คอยเติมเกล็ด NaOH ลงจนกระทั่งได้ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8.0 ซึ่งเป็นความเป็นกรด-ด่างที่ EDTA ละลายหมดพอดี ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. N, N, N, N-tetramethy-*p*-phenylenediamine

($C_{10}H_{18}Cl_2N_2$)	1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลายสารนี้ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันเก็บในขวดสีชา (เก็บให้พ้นแสงแดด)

3. Phosphate- Buffered Saline (PBS)

Na_2HPO_4 (anhydrous)	12.0	กรัม
$NaH_2PO_4.H_2O$	2.2	กรัม
NaCl	85.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. Manganess sulfate solution

ละลาย $MnSO_4.4H_2O$ 480 กรัม หรือ $MnSO_4.2H_2O$ 400 กรัม หรือ $MnSO_4.H_2O$ 364 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วเจือจางเป็น 1 ลิตร สารละลายนี้จะต้องไม่เกิดสีกับน้ำแป้งเมื่อเติมสารละลาย Potassium iodide ในสภาพที่เป็นกรด

5. Alkali-iodide-azide reagent

ละลาย Sodium hydroxide (NaOH) 500 กรัม และ Sodium iodide (NaI) 135 กรัม (หรือ Potassium hydroxide (KOH) 700 กรัม และ Potassium iodide (KI) 150 กรัม) ในน้ำกลั่น และทำให้เจือจางเป็น 1 ลิตร และเติม Sodium azide (NaN_3) 10 กรัม (ซึ่งละลายในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร) ลงในสารละลายดังกล่าว

6. Starch indicator

ละลายแป้ง (soluble starch) 16 กรัม และกรด Salicylic 2 กรัม เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำร้อน 1 ลิตร ควรเตรียมสารละลายน้ำแป้งก่อนการวิเคราะห์ทุกเดือน

7. Standard 0.025 N sodium thiosulfate solution

ละลาย Sodium thiosulfate pentahydrate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) 6.205 กรัม และ Sodium hydroxide (NaOH) 0.4 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วเจือจางเป็น 1 ลิตร ควรเตรียมใหม่ทุก ๆ เดือน

8. Standard 0.025 N potassium dichromate solution

ละลาย $K_2Cr_2O_7$ 0.6129 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 500 มิลลิลิตร ก่อนนำ $K_2Cr_2O_7$ มาใช้ควรนำเข้าตู้อบที่ 130 องศาเซลเซียส ประมาณ 90 นาที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น และน้ำกลั่นที่ใช้ต้องต้มเดือดใหม่ ๆ และตั้งทิ้งไว้ให้เย็น (ปิดฝาไว้เพื่อป้องกันการปนเปื้อน) เมื่อได้สารละลายแล้วบรรจุลงในขวดสีชา

ภาคผนวก จ
การอ่านผลปฏิกิริยาชีวเคมี

1. การทดสอบความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ

อาหารเลี้ยงเชื้อ Saline Triple Sugar Iron (TSI) agar

การทดสอบ Streak บนผิวหน้าอาหารแล้ว stab ลงในเนื้ออาหารของอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การอ่านผล 1. ผลการหมักย่อยน้ำตาลต่าง ๆ

1.1 ถ้าแบคทีเรียสามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสอย่างเดียวบนผิววุ้นจะเปลี่ยนจากสีแดง-ส้มเป็นสีแดงเข้ม (Alkaline หรือ K) ส่วนก้นหลอดจะมีสีเหลือง อ่านผลว่า K/A

1.2 ถ้าแบคทีเรียหมักย่อยน้ำตาลได้มากกว่า 1 ชนิด จะเกิดสีเหลืองทั้งหลอด อ่านผลว่า A/A

1.3 หากแบคทีเรียไม่สามารถใช้น้ำตาลใด ๆ เลยมีอยู่ 3 รูปแบบ คือ N/N, K/N และ K/K (N: ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีอาหาร และ K: เปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม)

2. การเกิดก๊าซจะเห็นรอยแตก หรือสังเกตเห็นฟองก๊าซ

3. การเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ จะเห็นสีดำอยู่ก้นหลอด

2. การทดสอบการการผลิตเอ็นไซม์ไลซีนดีคาร์บอกซีเลส

อาหารเลี้ยงเชื้อ Lysine Decarboxylase medium

การทดสอบ เติมเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นปิดทับด้วย Mineral oil ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การอ่านผล ผลบวก สีอาหารยังคงเป็นสีเดิม (สีม่วง)

ผลลบ สีอาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

3. การทดสอบการการผลิตเอ็นไซม์ออร์นิทีนดีคาร์บอกซีเลส

อาหารเลี้ยงเชื้อ Ornithine Decarboxylase medium

การทดสอบ เติมเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นปิดทับด้วย Mineral oil ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การอ่านผล ผลบวก สีอาหารยังคงเป็นสีเดิม (สีม่วง)

ผลลบ สีอาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

4. การทดสอบการการผลิตเอ็นไซม์อาร์จินีนดีคาร์บอกซีเลส

อาหารเลี้ยงเชื้อ Arginine Decarboxylase medium

การทดสอบ เติมเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นปิดทับด้วย Mineral oil ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การอ่านผล ผลบวก สีอาหารยังคงเป็นสีเดิม (สีม่วง)

ผลลบ สีอาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

5. การทดสอบการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือความเข้มข้นต่าง ๆ

อาหารเลี้ยงเชื้อ Saline peptone water

การทดสอบ เติมเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การอ่านผล ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่น

ผลลบ อาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขุ่น

6. การทดสอบการเคลื่อนที่

อาหารเลี้ยงเชื้อ Motility test medium with Sodium chloride 1 %

การทดสอบ เป็นการทดสอบการเคลื่อนที่ โดย Stab เติมเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การอ่านผล ผลบวก เห็นการเจริญของเชื้อนอกรอย Stab ท้าให้อาหารเลี้ยง เชื้อขุ่น

ผลลบ เห็นการเจริญของเชื้ออยู่เฉพาะตรงรอย Stab เท่านั้น

ภาคผนวก ฉ
แปรผลแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะ

ตาราง ฉ-1 ค่ามาตรฐานสำหรับแปลผลความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ของ *Vibrio* spp. ตามมาตรฐาน CLSI ปี 2006

ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้น (µg)	เส้นผ่านศูนย์กลาง (Zone diameter) (มิลลิเมตร)		
		Sensitivity	Intermediate	Resistant
Ampicillin (AMP)	10	≥ 17	14-16	≤ 13
Cefotaxime (CTX)	30	≥ 23	15-22	≤ 14
Cefoxitin (FOX)	30	≥ 18	15-17	≤ 14
Chloramphenicol (C)	30	≥ 18	13-17	≤ 12
Norfloxacin (NOR)	10	≥ 17	13-16	≤ 12
Sulfamethoxazole-Trimethoprim (SXT or COT)	23.75/1.25	≥ 16	11-15	≤ 10
Ciprofloxacin (CIP)	5	≥ 21	16-20	≤ 15
Tetracycline (TE)	30	≥ 19	15-17	≤ 14

ภาคผนวก ช

แปลผลค่า MPN

ตาราง ช-1 MPN ระบบ 3 หลอด (0.1, 0.01 และ 0.001 กรัม) หน่วย MPN/g
ตามมาตรฐาน BAM, 2004

Pos. tubes			MPN/g	Conf. lim.		Pos. tubes			MPN/g	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001		Low	High	0.10	0.01	0.001		Low	High
0	0	0	<3.0	–	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	–

ตาราง ช-2 MPN ระบบ 5 หลอด (0.1, 0.01 และ 0.001 มิลลิลิตร) หน่วย MPN/100 mL ตามมาตรฐาน BAM, 2004

Pos. tubes			MPN/mL	Conf. lim.		Pos. tubes			MPN/mL	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001		Low	High	0.10	0.01	0.001		Low	High
0	0	0	< 2			4	2	1	26	9	78
0	0	1	2	< 0.5	7	4	3	0	27	9	80
0	1	0	2	< 0.5	7	4	3	1	33	77	93
0	2	0	4	< 0.5	11	4	4	0	34	12	93
1	0	0	2	< 0.5	7	5	0	0	23	7	70
1	0	1	4	< 0.5	11	5	0	1	31	11	89
1	1	0	4	< 0.5	11	5	0	2	43	15	110
1	1	1	6	< 0.5	15	5	1	0	33	11	93
1	2	0	6	< 0.5	15	5	1	2	46	16	120
2	0	0	5	< 0.5	13	5	1	2	63	21	150
2	0	1	7	1	17	5	2	0	49	17	130
2	1	0	7	1	17	5	2	1	70	23	170
2	1	1	9	2	21	5	2	2	94	28	220
2	2	0	9	2	21	5	3	0	79	25	190
2	3	0	12	3	28	5	3	1	110	31	250
3	0	0	8	1	19	5	3	2	140	37	340
3	0	1	11	2	25	5	3	3	180	44	500
3	1	0	11	2	25	5	4	0	130	35	300
3	1	1	14	4	34	5	4	1	170	43	490
3	2	0	14	4	34	5	4	2	220	57	700
3	2	1	17	5	46	5	4	3	280	90	850
3	3	0	17	5	46	5	4	4	350	120	1,000
4	0	0	13	3	31	5	5	0	240	68	750
4	0	1	17	5	46	5	5	1	350	120	1,000
4	1	0	17	5	46	5	5	2	540	180	1,400
4	1	1	21	7	63	5	5	3	920	300	3,200
4	1	2	26	9	78	5	5	4	1600	640	5,800
4	2	0	22	7	67	5	5	5	>1600		