

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ การปนเปื้อนและการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Escherichia coli* จากแหล่งน้ำเสียที่แตกต่างกัน ภายในคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันอุดมศึกษาในเขตลดากระบ้ง

จันทรเทว ราชเจริญ*, ปรียานุช ศรีไพบุลย์, วรณญา บินอานัด และ ยุวดี คำแหง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบ้ง เขตลดากระบ้ง กรุงเทพมหานคร 10520

*อีเมลผู้ประพันธ์บรรณกิจ: Chantewa.ra@kmitl.ac.th

บทคัดย่อ

การแพร่กระจายของแบคทีเรียดื้อยาในระบบน้ำเสียเป็นปัญหาสาธารณสุขและสิ่งแวดล้อมที่สำคัญ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณภาพน้ำทางกายภาพ ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม และการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) จากแหล่งน้ำเสียที่มีกิจกรรมแตกต่างกัน 5 บริเวณ ภายในคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันอุดมศึกษาในเขตลดากระบ้ง โดยเก็บตัวอย่างน้ำเสียแบบจ้วง ตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และค่าความขุ่น (OD_{600}) และวิเคราะห์ปริมาณ Total Coliforms และ Fecal Coliforms ด้วยวิธี Most Probable Number (MPN) พร้อมทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด ได้แก่ Ampicillin, Tetracycline และ Nalidixic acid ของเชื้อ *E. coli* ที่คัดแยกได้รวม 76 ไอโซเลท ด้วยวิธี Kirby-Bauer Disk Diffusion และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา ดัชนี MAR Index และ Chi-square test ผลการศึกษาพบว่า บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์มีการปนเปื้อนของ Fecal Coliforms สูงที่สุด เท่ากับ 121,326 MPN/100 มล. ส่วนความไวต่อยาปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อ *E. coli* มีอัตราการดื้อต่อยา Nalidixic acid สูงที่สุดร้อยละ 88.16 (67 ไอโซเลท) ซึ่งสูงกว่าชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 73.41, p < 0.001$) การประเมินเชื้อดื้อยาหลายขนาน (MDR) พบว่าบ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์มีสัดส่วนเชื้อ MDR สูงที่สุด (ร้อยละ 78.95) และมีค่า MAR Index เท่ากับ 0.75 ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานวิกฤตที่ 0.2 สะท้อนถึงความเสี่ยงทางสาธารณสุข สรุปผลการศึกษา ปริมาณความหนาแน่นของแบคทีเรียในแต่ละพื้นที่ไม่ได้สะท้อนถึงระดับความรุนแรงของการดื้อยาปฏิชีวนะเสมอไปชี้ให้เห็นถึงความจำเป็นในการเฝ้าระวังและยกระดับระบบบำบัดน้ำเสียก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: *Escherichia coli*, การดื้อยาปฏิชีวนะ, น้ำเสีย, ดัชนีการดื้อยาหลายขนาน, แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม

Analysis of Water Quality, Contamination, and Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* from Different Wastewater Sources within the Faculty of Science in Lat Krabang, Thailand

Chantewa Rachjaroen*, Priyanuch Sripaiboon, Waranya Binarnat and Yuwadee Khamheang

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Lat Krabang, Bangkok 10520, Thailand

*Corresponding author's e-mail: Chantewa.ra@kmitl.ac.th

Abstract

The dissemination of antibiotic-resistant bacteria in wastewater systems is a significant public health and environmental concern. This study aimed to evaluate the physical water quality, coliform bacteria levels, and the antibiotic resistance profiles of *Escherichia coli* (*E. coli*) from five wastewater sources with different activities within the Faculty of Science at a higher education institution in the Lat Krabang district. Grab sampling was utilized to collect wastewater samples. The physical parameters, including pH and turbidity (OD₆₀₀), were measured, and the quantities of total coliforms and fecal coliforms were analyzed using the Most Probable Number (MPN) method. Additionally, the antimicrobial susceptibility of 76 isolated *E. coli* strains was tested against three antibiotics (Ampicillin, Tetracycline, and Nalidixic acid) using the Kirby-Bauer disk diffusion method. The data were analyzed using descriptive statistics, the Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index, and the Chi-square test. The results revealed that the wastewater pond from the scientific laboratory building exhibited the highest fecal coliform contamination at 121,326 MPN/100 mL. Regarding antimicrobial susceptibility, the *E. coli* isolates demonstrated the highest resistance rate to Nalidixic acid at 88.16% (67 isolates), which was significantly higher than the other tested antibiotics ($\chi^2 = 73.41$, $p < 0.001$). Furthermore, the assessment of multidrug resistance (MDR) indicated that the wastewater pond in front of the Faculty of Science had the highest proportion of MDR strains (78.95%) and a MAR index of 0.75, which exceeded the critical threshold of 0.2, reflecting a potential public health risk. In conclusion, the bacterial density in each area did not consistently reflect the severity of antibiotic resistance. These findings highlight the necessity for continuous monitoring and the improvement of wastewater treatment systems prior to environmental discharge.

Keywords: *Escherichia coli*, Antibiotic Resistance, Wastewater, MAR Index, Coliform Bacteria

บทนำ

น้ำสะอาดเป็นปัจจัยพื้นฐานที่มีความสำคัญยิ่งต่อการดำรงชีวิตและการพัฒนาสุขอนามัยของมนุษย์ (ราตรี ลีละวงศ์เทวัญ และคณะ, 2548) อย่างไรก็ตาม การขยายตัวของกิจกรรมในสถาบันอุดมศึกษา ทั้งจากอาคารเรียน ห้องปฏิบัติการ และโรงอาหาร ส่งผลให้มีการระบายน้ำเสียลงสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะเพิ่มขึ้น ซึ่งมักปนเปื้อนไปด้วยสิ่งปนเปื้อนและแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform bacteria) ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดความปลอดภัยทางชีวภาพของแหล่งน้ำ (เทพวิฑูรย์ ทองศรี และคณะ, 2555)

ในปัจจุบัน ปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial Resistance: AMR) ได้กลายเป็นวิกฤตการณ์ร้ายแรงที่องค์การอนามัยโลก (World Health Organization (WHO), 2021) ระบุว่า เป็นภัยคุกคามต่อสาธารณสุขระดับโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบนิเวศแหล่งน้ำเสีย ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งบ่มเพาะและแพร่กระจายเชื้อดื้อยาหลายขนาน (Multidrug-resistant bacteria) สู่ชุมชนและสิ่งแวดล้อม (กรมควบคุมมลพิษ, 2564) ซึ่งความชุกของเชื้อกลุ่มดื้อยาหลายขนาน (MDR) นี้ ถือเป็นภัยคุกคามที่ต้องมีการควบคุมและจำแนกตามเกณฑ์มาตรฐานสากลอย่างเคร่งครัด (Magiorakos et al., 2012) โดยกลไกสำคัญที่ขับเคลื่อนการแพร่กระจายนี้ คือ การถ่ายทอดยีนดื้อยาแนวราบ (Horizontal Gene Transfer: HGT) ซึ่งประกอบด้วย 3 กลไกหลัก ได้แก่ การคอนจูเกชัน (Conjugation) หรือการส่งผ่านยีนดื้อยาบนพลาสมิด (Plasmid) ผ่านการสัมผัสกันโดยตรงระหว่างเซลล์แบคทีเรีย, การทรานส์ดักชัน (Transduction) ซึ่งอาศัยไวรัสแบคทีริโอเฟจ (Bacteriophage) เป็นตัวกลางในการนำพาชิ้นส่วนยีน และการทรานส์ฟอร์เมชัน (Transformation) ที่เซลล์แบคทีเรียรับยีนดื้อยาเปลือย (Free DNA) จากสิ่งแวดล้อมภายนอกเข้าสู่เซลล์โดยตรง ทั้งนี้ เชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) ในฐานะแบคทีเรียดัชนีบ่งชี้การปนเปื้อนจากสิ่งปนเปื้อน มีศักยภาพสูงในการรับและถ่ายทอดยีนดื้อยาผ่านกระบวนการ HGT โดยเฉพาะในสภาพแวดล้อมของน้ำเสียที่มีความหนาแน่นของประชากรจุลินทรีย์สูง และมีสารเคมีหรือยาปฏิชีวนะตกค้าง ซึ่งทำหน้าที่เป็นสภาวะกดดันทางสิ่งแวดล้อม (Environmental stress) กระตุ้นให้เกิดกระบวนการส่งผ่านทางพันธุกรรมนี้ได้ อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย (Tzimotoudis et al., 2025)

งานวิจัยในประเทศไทยหลายฉบับแสดงให้เห็นถึงความรุนแรงของปัญหานี้ โดยพบว่า *E. coli* ที่คัดแยกได้จากน้ำทิ้งมีอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะในระดับที่น่ากังวล เช่น Ampicillin และ Tetracycline (ชนิดา แซ่โค้ว และ วรัญญา เพชรเมธ, 2568) นอกจากนี้ การศึกษาการปนเปื้อนในน้ำบริโภคยังชี้ให้เห็นว่ามาตรการการจัดการน้ำเสียหรือน้ำดื่มที่ไม่ได้มาตรฐานอาจนำไปสู่การสะสมของเชื้อดื้อยาได้ (สุรัชย์ รัตนสุข และคณะ, 2563)

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันอุดมศึกษาในเขตลาดกระบัง เป็นพื้นที่ที่มีกิจกรรมทางวิทยาศาสตร์หลากหลาย โดยเฉพาะจากห้องปฏิบัติการวิจัย ซึ่งอาจส่งผลให้คุณภาพน้ำเสียมีความซับซ้อนและเสี่ยงต่อการพบเชื้อดื้อยาได้มากกว่าพื้นที่ทั่วไป แม้จะมีการสำรวจปริมาณแบคทีเรียในน้ำเบื้องต้น แต่ปฏิบัติการของเชื้อดื้อยาหลายขนาน (MDR) ในพื้นที่นี้ยังไม่มี การรวบรวมข้อมูลอย่างเป็นระบบ ผู้วิจัยจึงมุ่งประเมินคุณภาพน้ำทางกายภาพ ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* เพื่อวิเคราะห์ค่าดัชนีการดื้อยาหลายขนาน (MAR Index) ซึ่งคำนวณจากอัตราส่วนระหว่างจำนวนชนิดของยาปฏิชีวนะที่เชื้อดื้อต่อจำนวนยาปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบทั้งหมด โดยในทางระบาดวิทยาสิ่งแวดล้อม ค่า MAR Index ที่สูงกว่า 0.2 ถือเป็นเกณฑ์วิกฤตที่บ่งชี้ว่าเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนมาจากแหล่งที่มีความเสี่ยงสูงหรือมีการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างเข้มข้น (Krumperman, 1983) การเลือกใช้ตัวแปรนี้เป็นเกณฑ์หลักจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการช่วยจำแนกและระบุระดับความเสี่ยงทางชีวภาพของแหล่งน้ำเสียแต่ละจุดได้อย่างเป็นรูปธรรม ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำคัญในการเฝ้าระวังและเสนอแนวทางการจัดการน้ำเสียที่มีประสิทธิภาพเพื่อความปลอดภัยของชุมชนโดยรอบสถาบันต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

- 1) เพื่อตรวจประเมินคุณภาพน้ำทางกายภาพและหาปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Total Coliforms และ Fecal Coliforms จากแหล่งน้ำเสีย 5 บริเวณภายในคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันอุดมศึกษาในเขตลาดกระบัง
- 2) เพื่อคัดแยกและยืนยันสายพันธุ์เชื้อ *Escherichia coli* พร้อมทั้งศึกษาและเปรียบเทียบรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อที่คัดแยกได้จากแต่ละจุดเก็บตัวอย่างที่มีลักษณะการใช้งานแตกต่างกัน
- 3) เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของแหล่งกำเนิดน้ำเสีย ปริมาณเชื้อที่พบ และระดับความรุนแรงของการดื้อยาปฏิชีวนะ เพื่อประเมินความเสี่ยงทางสาธารณสุข

ระเบียบวิธีวิจัย

กลุ่มประชากร

- **เชิงพื้นที่:** น้ำเสียทั้งหมดจากกิจกรรมต่างๆ ภายในคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันอุดมศึกษาในเขตลาดกระบัง ในช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2569

- **เชิงชีวภาพ:** แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มและเชื้อ *E. coli* ทั้งหมดที่ปนเปื้อนอยู่ในระบบน้ำเสียของคณะ

กลุ่มตัวอย่าง

- **ตัวอย่างน้ำเสีย:** ตัวอย่างน้ำเสีย ปริมาตร 500 มิลลิลิตรต่อจุด เก็บเพียง 1 ครั้ง จากบ่อน้ำเสียภายในคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันอุดมศึกษาในเขตลาดกระบัง รวม 5 บริเวณ โดยคัดเลือกพื้นที่เพื่อเป็นตัวแทนของแหล่งกำเนิดน้ำเสียจากกิจกรรมที่แตกต่างกัน ดังนี้

- (1) บ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหาร: ตัวแทนน้ำเสียจากกิจกรรมการประกอบอาหารและการบริโภค
- (2) บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์: ตัวแทนน้ำเสียจากกิจกรรมการเรียนการสอนและการวิจัย
- (3) บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์: ตัวแทนน้ำเสียจากพื้นที่ส่วนกลางที่มีความพลุกพล่าน
- (4) บ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร: ตัวแทนน้ำเสียจากการชำระล้างและการจัดการของเสียอินทรีย์
- (5) บ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ: ตัวแทนจุดรวมน้ำทิ้งขั้นสุดท้ายก่อนระบายออกสู่สิ่งแวดล้อม

- **ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย (Isolates):** เชื้อ *Escherichia coli* จำนวน 76 ไอโซเลท ที่คัดแยกและยืนยันสายพันธุ์ได้สำเร็จ จากตัวอย่างน้ำเสียทั้ง 5 บริเวณ เพื่อนำไปทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะต่อไป

ขั้นตอนและวิธีการ

1) การเก็บตัวอย่างน้ำเสีย

ดำเนินการเก็บตัวอย่างน้ำเสียแบบจ้วง (Grab sampling) จากแหล่งเก็บน้ำเสียภายในคณะวิทยาศาสตร์ 5 บริเวณ ได้แก่ บ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหาร, บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์, บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์, บ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร และบ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ โดยเก็บตัวอย่างจุดละ 500 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) นำตัวอย่างแช่ในกระติกน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิ และวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง

2) การตรวจประเมินคุณภาพน้ำทางกายภาพ

ตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ณ จุดเก็บตัวอย่างด้วยเครื่อง pH meter สำหรับการประเมินความขุ่น นำตัวอย่างน้ำเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อลดความหนาแน่นของสารแขวนลอย จากนั้นทดสอบด้วยไมโครเพลทชนิด 96 หลุม (96-well microplate) ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อหลุม และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD₆₀₀) ด้วยเครื่อง Microplate Reader โดยทำ 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

3) การวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มด้วยวิธี MPN (Most Probable Number)

การวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Total Coliforms และ Fecal Coliforms ทดสอบตามวิธีมาตรฐานแบบ 5 หลอด (5-Tube MPN Method) โดยเนื่องจากตัวอย่างน้ำเสียมีความขุ่นสูง จึงทำการเจือจางลำดับส่วน (Serial dilution) ในสารละลาย 0.85% NaCl ให้ได้ความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} ก่อนทำการทดสอบ ซึ่งแบ่งขั้นตอนออกเป็น 2 ระยะ ดังนี้

3.1) การทดสอบขั้นต้น (Presumptive Test)

ทดสอบตัวอย่างน้ำเสียที่ผ่านการเจือจางแต่ละระดับความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Lactose Broth (LB) ที่มีหลอดดักก๊าซ (Durham tube) อยู่ภายใน ระดับความเข้มข้นละ 5 หลอด (รวม 15 หลอดต่อ 1 ตัวอย่าง) จากนั้นนำหลอดทดสอบทั้งหมดไปบ่ม (Incubate) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง ทำการอ่านผล โดยสังเกตความขุ่นและการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ หากพบก๊าซเกิดขึ้น (แม้เพียงฟองเล็กๆ) ให้บันทึกว่าให้ผลบวก (Positive) และนำหลอดที่ให้ผลบวกทั้งหมดไปทำการทดสอบขั้นยืนยันต่อไป หากไม่มีก๊าซเกิดขึ้นใน 48 ชั่วโมง ให้ถือว่าให้ผลลบ (Negative)

3.2) การทดสอบขั้นยืนยัน (Confirmed Test)

การยืนยันกลุ่ม Total Coliforms: ใช้ห้วงเขียวและเชื้อจากหลอด LB ที่ให้ผลบวก ถ่ายลงในหลอดอาหารเหลว Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) ซึ่งมีสารยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง หากพบก๊าซในหลอด Durham tube แสดงว่าให้ผลบวกต่อ Total Coliforms

การยืนยันกลุ่ม Fecal Coliforms: ใช้ห้วงเชื้อเชื้อและเชื้อจากหลอด LB ที่ให้ผลบวกหลอดเดิม ถ่ายลงในหลอดอาหารเหลว EC Broth นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หากพบก๊าซในหลอด Durham tube แสดงว่าให้ผลบวกต่อ Fecal Coliforms

การคำนวณและรายงานผล นับจำนวนหลอดอาหาร BGLB และ EC Broth ที่ให้ผลบวกในแต่ละระดับความเข้มข้น นำรหัสตัวเลข 3 หลักที่ได้ ไปเปิดเทียบกับตารางค่าดัชนี MPN มาตรฐาน (สำหรับวิธี 5 หลอด) จากนั้นนำค่าที่เปิดได้ มาคูณด้วยตัวคูณการเจือจาง (Dilution Factor = 100) เพื่อรายงานผลปริมาณแบคทีเรียในหน่วย MPN/100 mL

4) การคัดแยกและยืนยันสายพันธุ์ *E. coli*

นำตัวอย่างเชื้อจากหลอด EC Broth ที่ให้ผลบวก มาขีดลากเส้นลงบนอาหารแข็ง Eosin Methylene Blue (EMB) Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะสีเขียวสะท้อนแสงแบบปิกแมลงทับ (Metallic sheen) และ นำมาย้อมสีแกรม (Gram staining) เพื่อยืนยันลักษณะแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างท่อน (Gram-negative bacilli) จะถูกยืนยันสายพันธุ์เป็น *E. coli* เพื่อนำไปทดสอบการดื้อยาต่อไป

5) การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ

ทดสอบการดื้อยาดังวิธี Kirby-Bauer Disk Diffusion โดยเลี้ยงเชื้อ *E. coli* บนอาหาร PCA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเชื้อโคโลนีของเชื้อลงใน 0.85 % NaCl โดยปรับความขุ่นของเชื้อ *E. coli* ให้เทียบเท่ากับมาตรฐาน 0.5 McFarland จะได้เชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/mL ป้ายเชื้อลงบนผิวหน้าอาหาร Mueller-Hinton Agar (MHA) และวางแผ่นยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด ได้แก่ Ampicillin (10 µg), Tetracycline (30 µg) และ Nalidixic acid (30 µg) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 16 - 18 ชั่วโมง จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (Clear zone) และแปลผลเป็น ไวต่อยา (S), ปานกลาง (I) หรือ ดื้อยา (R) ตามเกณฑ์มาตรฐานของ CLSI

6) การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli* จะนำมาประเมินและวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อสรุปผลการวิจัยในประเด็นต่างๆ ดังนี้

อัตราการดื้อยาปฏิชีวนะ (Antibiotic Resistance Percentage) คำนวณร้อยละของการดื้อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิด เพื่อเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของการดื้อยาในแต่ละพื้นที่ศึกษา โดยใช้สูตร

$$\text{อัตราการดื้อยา (\%)} = \left(\frac{\text{จำนวนไอโซเลตที่แสดงการดื้อยา}}{\text{จำนวนไอโซเลตทั้งหมดที่ทดสอบ}} \right) \times 100$$

การดื้อยาหลายขนาน (Multidrug Resistance: MDR) ในการศึกษาที่กำหนดให้เชื้อดื้อยาหลายขนาน (MDR) คือเชื้อที่แสดงคุณสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป (≥ 2 classes) จากยาปฏิชีวนะทั้งหมด 3 กลุ่มที่ใช้ในการทดสอบ โดยคำนวณเป็นค่าร้อยละดังนี้

$$\text{MDR (\%)} = \left(\frac{n\text{MDR}}{N} \right) \times 100$$

โดยกำหนดให้ $n\text{MDR}$ คือจำนวนไอโซเลตที่เป็น MDR และ N คือจำนวนไอโซเลตทั้งหมดในพื้นที่นั้น

หมายเหตุ: การดื้อยาหลายขนาน (MDR) อ้างอิงนิยามมาตรฐานสากลของ Magiorakos et al. (2012) ซึ่งกำหนดให้แบคทีเรีย MDR คือเชื้อที่ดื้อยาปฏิชีวนะตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป (≥ 3 classes) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการศึกษานี้มีข้อจำกัดในการใช้ยาปฏิชีวนะทดสอบเพียง 3 ชนิด (3 กลุ่ม) ผู้วิจัยจึงประยุกต์ใช้เกณฑ์การประเมินเบื้องต้น โดยกำหนดให้เชื้อที่เข้าข่าย MDR ในงานวิจัยนี้ คือเชื้อที่ดื้อยาปฏิชีวนะตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป (≥ 2 classes)

ดัชนีการดื้อยาหลายขนาน (Multiple Antibiotic Resistance Index: MAR Index) การประเมินระดับความเสี่ยงของการแพร่กระจายเชื้อดื้อยาในแต่ละแหล่งที่มา คำนวณตามแนวทางของ Krumpberman (1983) ดังนี้

ระดับพื้นที่ (Aggregate/MAR Index)

$$MAR\ Index = \frac{a}{(b * c)}$$

โดยกำหนดให้

- a คือ จำนวนชนิดของยาปฏิชีวนะที่เชื้อ *E. coli* จากพื้นที่นั้นแสดงผลการดื้อยา (Resistance)
- b คือ จำนวนชนิดของยาปฏิชีวนะทั้งหมดที่ใช้ในการทดสอบ
- c คือ จำนวนไอโซเลตทั้งหมดในพื้นที่ที่ใช้ในการทดสอบ

โดยมีเกณฑ์การแปลผลคือ ค่า MAR Index ที่สูงกว่า 0.20 บ่งชี้ว่าเชื้อมีแหล่งกำเนิดมาจากแหล่งที่มีความเสี่ยงสูง (High-risk-source) และมีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะในระดับที่น่ากังวล

การทดสอบความแตกต่างทางสถิติ

วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะระหว่างยาปฏิชีวนะแต่ละชนิด (Ampicillin, Tetracycline และ Nalidixic acid) ของเชื้อ *E. coli* ด้วยสถิติ Chi-square test (χ^2) โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยประมวลผลข้อมูลด้วยโปรแกรม Microsoft Excel

ผลการวิจัย

1) ผลการตรวจประเมินคุณภาพน้ำทางกายภาพและปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

จากการเก็บตัวอย่างแหล่งน้ำเสีย 5 บริเวณภายในคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันอุดมศึกษาในเขตลาดกระบัง นำมาตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และค่าความขุ่น (OD_{600}) รวมถึงการวิเคราะห์หาปริมาณ Total Coliforms และ Fecal Coliforms ด้วยวิธี MPN ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพของแหล่งน้ำเสียบริเวณต่างๆ

จุดเก็บตัวอย่าง	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	ค่าความขุ่น (OD_{600})	หมายเหตุ (สี/กลิ่น/ตะกอน)
จุดที่ 1: บ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหาร	5.03 ± 0.058	0.8382 ± 0.012	สีส้ม ขุ่น มีไขมันเยอะ
จุดที่ 2: บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์	7.73 ± 0.115	0.1942 ± 0.043	สีเทาดำ มีตะกอนมาก
จุดที่ 3: บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์	7.36 ± 0.051	0.0137 ± 0.003	ไม่มีสี ขุ่นเล็กน้อย
จุดที่ 4: บ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร	6.03 ± 0.058	0.0137 ± 0.003	ไม่มีสีใส
จุดที่ 5: บ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ	7.30 ± 0.100	0.0657 ± 0.004	ไม่มีสี ขุ่น มีตะกอน

จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพของแหล่งน้ำเสีย 5 บริเวณ (ตารางที่ 1) พบว่าลักษณะทางกายภาพของน้ำเสียมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนตามบริบทการใช้งานของแต่ละพื้นที่ ดังนี้

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) : แหล่งน้ำเสียส่วนใหญ่มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงค่อนข้างเป็นกลางจนถึงเป็นด่างอ่อน ได้แก่ บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ (pH 7.73 ± 0.115) บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์ (pH 7.36 ± 0.051) และบ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ (pH 7.30 ± 0.100) ในขณะที่แหล่งน้ำเสียที่เกี่ยวข้องกับการประกอบอาหารมีสภาพเป็นกรดอย่างเห็นได้ชัด โดยบ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหารมีค่า pH ต่ำที่สุดที่ 5.03 ± 0.058 รองลงมาคือบ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหารซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 6.03 ± 0.058

ค่าความขุ่น (OD_{600}) และลักษณะปรากฏ: เมื่อพิจารณาค่าความขุ่นที่ตรวจวัดด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) พบว่า บ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหารมีค่าความขุ่นสูงที่สุด (0.8382 ± 0.012) ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางกายภาพที่สังเกตพบว่ามีสีส้ม ขุ่น และมีปริมาณไขมันสะสมอยู่เป็นจำนวนมาก รองลงมาคือบ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ (0.1942 ± 0.043) ซึ่งมีลักษณะน้ำสีเทาดำและพบตะกอนจำนวนมาก ในทางกลับกัน บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์และบ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร มีความขุ่นต่ำที่สุด (0.0137 ± 0.003) โดยมีลักษณะไม่มีสีใส จนถึงขุ่นเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้ สำหรับบ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ มีค่าความขุ่นอยู่ที่ 0.0657 ± 0.004 โดยลักษณะน้ำไม่มีสี แต่ยังคงมีความขุ่นและพบตะกอนสีดำปะปนอยู่

ตารางที่ 2 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Total Coliforms และ Fecal Coliforms ในแหล่งน้ำเสียบริเวณต่างๆ (วิธี MPN)

จุดเก็บตัวอย่าง	Total Coliforms (MPN/100 mL)	Fecal Coliforms (MPN/100 mL)
จุดที่ 1: บ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหาร	24,819	21,817
จุดที่ 2: บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์	160,000	121,326
จุดที่ 3: บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์	121,326	92,952
จุดที่ 4: บ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร	160,000	4,700
จุดที่ 5: บ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ	1,249	553

หมายเหตุ: ค่าปริมาณแบคทีเรีย (MPN/100 mL) แสดงในรูปค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (Geometric mean) จากการทดสอบ 3 ซ้ำ

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด (Total Coliforms) และฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal Coliforms) ในแหล่งน้ำเสียด้วยวิธี MPN พบว่าปริมาณของแบคทีเรียมีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง ดังนี้

ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Total Coliforms: บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ และบ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร ตรวจพบ Total Coliforms สูงที่สุดที่ระดับ 160,000 MPN/100 mL รองลงมาคือบ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์ (121,326 MPN/100 mL) และบ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหาร (24,819 MPN/100 mL) ตามลำดับ

ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Fecal Coliforms: เมื่อพิจารณาแบคทีเรียกลุ่ม Fecal Coliforms ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดการปนเปื้อนของสิ่งขับถ่าย พบว่าบ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ มีปริมาณสูงที่สุดถึง 121,326 MPN/100 mL รองลงมาคือบ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์ (92,952 MPN/100 mL) และบ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหาร (21,817 MPN/100 mL) ในขณะที่บ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร แม้จะพบกลุ่ม Total Coliforms ในระดับสูง แต่กลับมีปริมาณ Fecal Coliforms ต่ำกว่าอย่างเห็นได้ชัด (4,700 MPN/100 mL) ทั้งนี้ บริเวณบ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ ตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มต่ำที่สุด โดยมีค่า Total Coliforms และ Fecal Coliforms เท่ากับ 1,249 และ 553 MPN/100 mL ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของระบบบำบัดหรือกระบวนการกำจัดที่ช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ลงอย่างมีนัยสำคัญก่อนระบายออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก

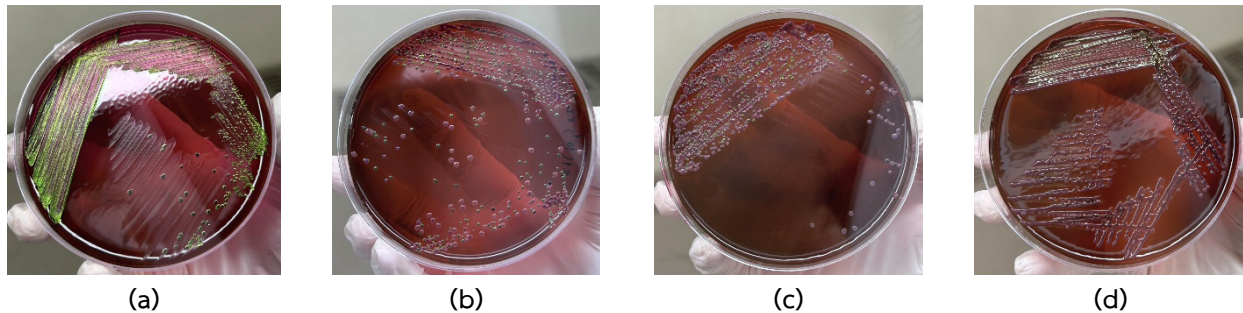
2) ผลการคัดแยกและเปรียบเทียบการติดยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli*

ผลการคัดแยกเชื้อ *E. coli*

ในการคัดแยกและยืนยันสายพันธุ์เบื้องต้น ได้ทำการคัดเลือกโคโลนีแบคทีเรียที่มีลักษณะจำเพาะ คือ โคโลนีสีเขียวสะท้อนแสงแบบปิกแมลงทับ (Metallic sheen) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue (EMB) Agar ดังแสดงในภาพที่ 1(a) ซึ่งจัดว่าเป็นเชื้อ *E. coli* จากนั้นย้อมสีแกรม (Gram staining) และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังแสดงในภาพที่ 2 ผลการตรวจพบว่าเชื้อมีลักษณะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน (Gram-negative bacilli) ติดสีชมพูแดง ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *E. coli*

จากผลการคัดแยกและยืนยันสายพันธุ์ด้วยวิธีดังกล่าวในตัวอย่างน้ำเสียจากทั้ง 5 บริเวณ สามารถคัดแยกเชื้อ *E. coli* บริสุทธิ์ได้จำนวนทั้งสิ้น 76 ไอโซเลท จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB Agar จำนวน 120 เพลต ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าแหล่งที่สามารถคัดแยกเชื้อได้จำนวนสูงสุดคือ บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ (25 ไอโซเลท) รองลงมาคือ บ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหาร (20 ไอโซเลท) บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์ (19 ไอโซเลท) และบ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร (10 ไอโซเลท) ตามลำดับ ในขณะที่บ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะพบจำนวนเชื้อคัดแยกได้น้อยที่สุดเพียง 2 ไอโซเลท

ซึ่งเชื้อทั้งหมดที่ผ่านการยืนยันสายพันธุ์แล้วนี้ จะถูกนำไปทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด ได้แก่ Ampicillin, Tetracycline และ Nalidixic acid เพื่อประเมินการดื้อยาในลำดับถัดไป



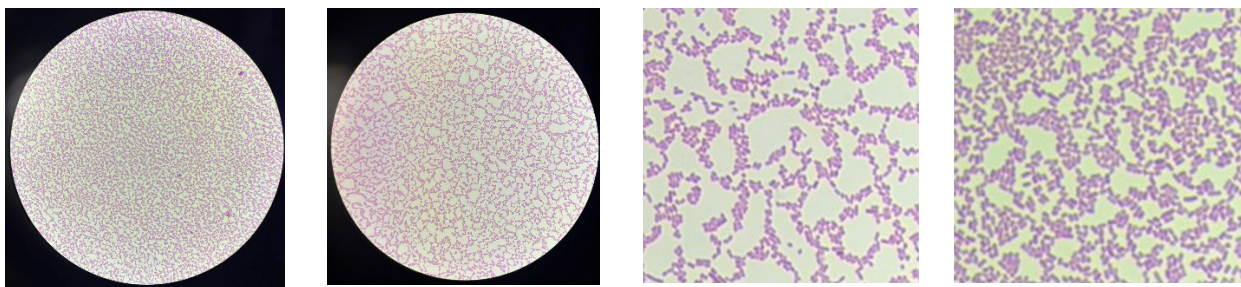
ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีบนอาหาร EMB Agar

(a): *E. coli* โคโลนีสีเขียวสะท้อนแสงแบบปิกแมลงทับ

(b): *E. coli* ที่สามารถแยกได้จากเชื้อผสม

(c): *E. coli* ที่ไม่สามารถแยกจากเชื้อผสม

(d): ไม่ใช่ *E. coli*



ภาพที่ 2 ลักษณะเชื้อ *E. coli* จากการย้อมสีแกรม (Gram staining) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ผลการเปรียบเทียบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli*

เมื่อศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อที่คัดแยกได้ ดังตารางที่ 3 พบว่า เชื้อ *E. coli* มีอัตราการดื้อต่อยา Nalidixic acid (NA) สูงที่สุดในทุกพื้นที่ ร้อยละ 88.16 (67 ไอโซเลท) ซึ่งสูงกว่าอัตราการดื้อต่อยา Ampicillin และ Tetracycline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 73.41, p < 0.001$) โดยเฉพาะบริเวณบ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์, บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์และบ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ พบอัตราการดื้อยาสูงถึงร้อยละ 100 รองลงมาคือการดื้อต่อยา Ampicillin (AMP) ร้อยละ 46.05 (35 ไอโซเลท) และ Tetracycline (TE) ร้อยละ 43.42 (33 ไอโซเลท) ตามลำดับ ซึ่งพบการดื้อยาสูงสุดบริเวณบ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์ (ร้อยละ 68.42 และ 57.89 ตามลำดับ) และบ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ (ร้อยละ 60.00 และ 56.00 ตามลำดับ) ทั้งนี้ เป็นที่น่าสังเกตว่าแม้บริเวณบ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ จะพบเชื้อจำนวนน้อยและไม่พบการดื้อต่อยา AMP และ TE แต่ไอโซเลททั้งหมดที่ตรวจพบยังแสดงการดื้อต่อยา NA ทั้งสิ้น ชี้ให้เห็นถึงความเสี่ยงของการปนเปื้อนเชื้อดื้อยาเข้าสู่สิ่งแวดล้อม

ตารางที่ 3 จำนวนเชื้อ *E. coli* ที่คัดแยกได้ และร้อยละของการดื้อยาปฏิชีวนะจำแนกตามพื้นที่

จุดเก็บตัวอย่าง	จำนวนไอโซ เลขที่ทดสอบ (n)	อัตราการดื้อยา (Resistance, %)		
		Ampicillin (AMP)	Tetracycline (TE)	Nalidixic acid (NA)
จุดที่ 1: บ่อน้ำเสียบริเวณโรงอาหาร	20	25.00%	15.00%	65.00%
จุดที่ 2: บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์	25	60.00%	56.00%	100.00%
จุดที่ 3: บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์	19	68.42%	57.89%	100.00%
จุดที่ 4: บ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร	10	20.00%	50.00%	80.00%
จุดที่ 5: บ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ	2	0.00%	0.00%	100.00%
รวมทั้งหมด	76	35(46.05%)	33(43.42%)	67(88.16%)

หมายเหตุ: ผลการวิเคราะห์ด้วย Chi-square test พบว่าอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชนิดของยาปฏิชีวนะ ($\chi^2 = 73.41, p < 0.001$)

3) การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อและระดับความรุนแรงของการดื้อยา

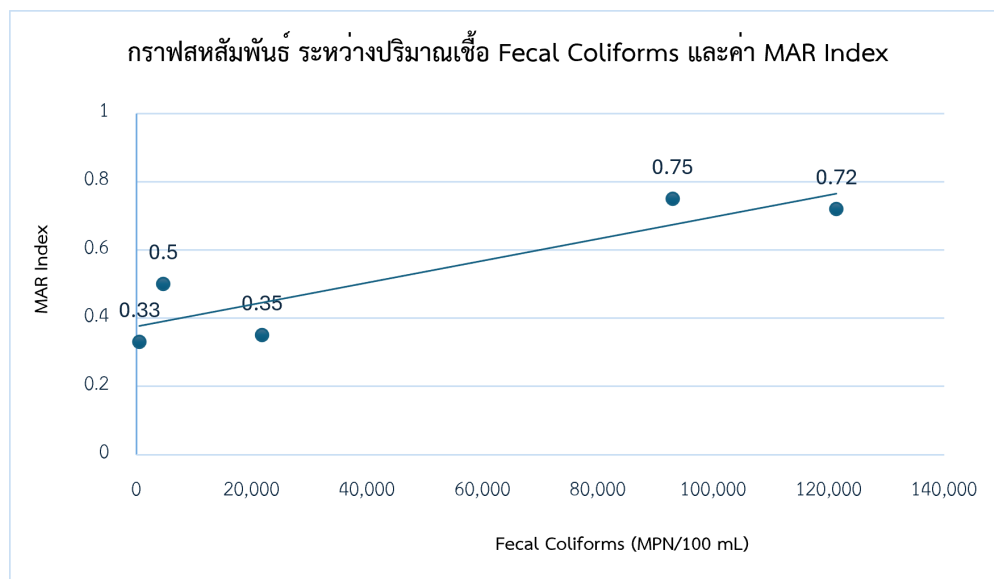
จากตารางที่ 4 เมื่อนำปริมาณความหนาแน่นของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มมาวิเคราะห์ร่วมกับระดับความรุนแรงของการดื้อยาปฏิชีวนะ (พิจารณาจากค่า MAR Index และสัดส่วนเชื้อดื้อยาหลายขนาน) พบว่า ความสัมพันธ์ดังกล่าวขึ้นอยู่กับลักษณะการปนเปื้อนของแหล่งกำเนิดน้ำเสีย มากกว่าที่จะแปรผันตรงตามปริมาณเชื้อเพียงอย่างเดียว โดยพบว่า บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ (25 ไอโซเลข) เป็นพื้นที่ที่พบความสอดคล้องกันของทั้งสองปัจจัยสูงสุด กล่าวคือ มีปริมาณการปนเปื้อนของ Fecal Coliforms หนาแน่นที่สุด (121,326 MPN/100 mL) และมีระดับความรุนแรงของการดื้อยาสูงเช่นกัน (MAR Index = 0.72) ข้อมูลนี้สะท้อนให้เห็นว่า น้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการฯ เป็นแหล่งสะสมที่สำคัญ ซึ่งมีสารเคมีและสิ่งปฏิกูลตกค้างอยู่มาก ปัจจัยเหล่านี้กระตุ้นให้แบคทีเรียต้องปรับตัวและเกิดการแลกเปลี่ยนลักษณะทางพันธุกรรมที่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะเพื่อความอยู่รอด

ในทางกลับกัน เมื่อพิจารณา บ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ (2 ไอโซเลข) พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อและการดื้อยาเป็นไปในทิศทางตรงกันข้าม แม้กระบวนการเจือจางและการบำบัดเบื้องต้นจะสามารถลดปริมาณแบคทีเรียลงจนอยู่ในระดับต่ำที่สุด (553 MPN/100 mL) แต่เชื้อ *E. coli* ที่รอดชีวิตและคัดแยกได้จากบริเวณนี้ กลับยังคงแสดงความสามารถของการดื้อยาในระดับสูง โดยเชื้อดื้อยา Nalidixic acid ร้อยละ 100 จากเชื้อทั้งหมด 2 ไอโซเลข ปรากฏการณ์นี้ชี้ให้เห็นว่า สภาพแวดล้อมในระบบบำบัดอาจจำกัดได้เพียงแบคทีเรียทั่วไปที่อ่อนแอ แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้เหลือเพียงกลุ่มเชื้อที่ดื้อยาหลายขนาน (MDR) ที่แข็งแกร่งกว่าหลุดรอดออกไปได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ระดับความรุนแรงของการดื้อยาในพื้นที่ศึกษาไม่ได้ถูกกำหนดโดยความหนาแน่นของประชากรแบคทีเรียโดยรวม แต่เป็นผลมาจากลักษณะความซับซ้อนของมลภาวะในแต่ละพื้นที่ ซึ่งกระตุ้นให้เชื้อเกิดการปรับตัวและสะสมคุณสมบัติการดื้อยา ดังกราฟสหสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณเชื้อ Fecal Coliforms และค่า MAR Index ดังภาพที่ 3

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด ของเชื้อ *E. coli* จำแนกตามบริเวณที่เก็บตัวอย่าง

แหล่งกำเนิดน้ำเสีย	Fecal Coliforms (MPN/100 mL)	จำนวนไอโซเลทที่ทดสอบ (n)	สัดส่วนของเชื้อจำแนกตามความรุนแรงของการดื้อยา (%)				ดื้อยาหลายขนาน (MDR*) (%)	ค่าดัชนี MAR เฉลี่ย (MAR Index)
			ไม่ดื้อยาเลย (0 ชนิด)(%)	ดื้อยา 1 ชนิด (%)	ดื้อยา 2 ชนิด (MDR) (%)	ดื้อยา 3 ชนิด (MDR) (%)		
จุดที่ 1: บ่อพักน้ำเสียบริเวณโรงอาหาร	21,817	20	30%	45%	15%	10%	25%	0.35
จุดที่ 2: บ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์	121,326	25	0%	28%	28%	44%	72%	0.72
จุดที่ 3: บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์	92,952	19	0%	21.05%	31.58%	47.37%	78.95%	0.75
จุดที่ 4: บ่อน้ำเสียด้านหลังพื้นที่ประกอบอาหาร	4,700	10	10%	40%	40%	10%	50%	0.50
จุดที่ 5: บ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ	553	2	0%	100%	0%	0%	0%	0.33

หมายเหตุ: เชื้อดื้อยาหลายขนาน (MDR) คือเชื้อที่ดื้อยาตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป, ค่า MAR Index ที่มากกว่า 0.2 บ่งชี้ว่าแหล่งน้ำนั้นมีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนเชื้อดื้อยา



ภาพที่ 3 กราฟสหสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณเชื้อ Fecal Coliforms และค่า MAR Index

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาและประเมินคุณภาพน้ำเสียบริเวณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันอุดมศึกษาในเขตลาดกระบัง ทั้ง 5 บริเวณ พบว่าลักษณะการใช้งานของพื้นที่มีผลต่อคุณภาพน้ำทางกายภาพและปริมาณแบคทีเรียอย่างชัดเจน โดยบ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์มีปริมาณการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่ม Total Coliforms และ Fecal Coliforms สูงที่สุด อยู่ที่ระดับ 160,000 และ 121,326 MPN/100 mL ตามลำดับ

การดื้อยาปฏิชีวนะจากการทดสอบเชื้อ *E. coli* จำนวน 76 ไอโซเลท พบว่า เชื้อมีอัตราการดื้อยา NA สูงที่สุดในทุกพื้นที่ ร้อยละ 88.16 (67 ไอโซเลท) ซึ่งสูงกว่ายา AMP และ TE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 73.41, p < 0.001$) ชี้ให้เห็นว่าเชื้อมีการพัฒนาความทนทานต่อยาในกลุ่ม Quinolones สูงเป็นพิเศษในสภาพแวดล้อมดังกล่าว โดยเฉพาะบ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการฯ บ่อน้ำเสียบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์ และบ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ ที่มีอัตราการดื้อยาสูงถึงร้อยละ 100

นอกจากนี้ ยังตรวจพบสัดส่วนของเชื้อดื้อยาหลายขนาน (MDR) ในระดับที่น่ากังวล โดยพบบริเวณหน้าคณะวิทยาศาสตร์สูงถึงร้อยละ 78.95 (19 ไอโซเลท) และอาคารปฏิบัติการฯ ร้อยละ 72.00 (25 ไอโซเลท) ซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีการดื้อยาหลายขนานเฉลี่ย (MAR Index) ที่ระดับ 0.75 และ 0.72 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่ระดับ 0.2 ทั้งนี้ แม้บริเวณบ่อน้ำเสียก่อนปล่อยสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ (2 ไอโซเลท) จะตรวจพบปริมาณเชื้อต่ำที่สุด (553 MPN/100 mL) แต่เชื้อที่ตรวจพบได้นั้น ล้วนแสดงการดื้อยา Nalidixic acid ทั้งสิ้น

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ปริมาณความหนาแน่นของเชื้อไม่ได้แปรผันตรงกับระดับความรุนแรงของการดื้อยาเสมอไป แต่ขึ้นอยู่กับความซับซ้อนของมลภาวะในแหล่งกำเนิดนั้นๆ ด้วย โดยบ่อน้ำเสียจากอาคารปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ ไม่เพียงแต่มีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มสูง แต่ยังพบเชื้อดื้อยาหลายขนาน (Multidrug Resistance: MDR) ในสัดส่วนที่สูง โดยเฉพาะอัตราการดื้อยา Nalidixic acid (ร้อยละ 88.16) ซึ่งสูงกว่ายา Ampicillin และ Tetracycline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 73.41, p < 0.001$) ปรากฏการณ์นี้สามารถอธิบายได้ว่า น้ำเสียจากพื้นที่ปฏิบัติการอาจมีสารเคมี สารชีวภาพ หรือยาปฏิชีวนะตกค้างรวมอยู่ด้วย ทำให้เกิดสภาวะกดดันทางสิ่งแวดล้อม (Environmental stress) ส่งผลให้บ่อน้ำเสียบริเวณนี้กลายเป็น "แหล่งแลกเปลี่ยนยีนดื้อยา" (Melting Pot) ที่กระตุ้นให้แบคทีเรียปรับตัวและเกิดการถ่ายทอดยีนดื้อยาข้ามสายพันธุ์ (Horizontal gene transfer) เพื่อความอยู่รอด ทั้งนี้ แม้เกณฑ์มาตรฐานสากลของ Magiorakos et al., (2012) จะกำหนดให้เชื้อ MDR หมายถึงแบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป แต่เนื่องจากงานวิจัยนี้มีข้อจำกัดในการใช้ยาปฏิชีวนะทดสอบเพียง 3 ชนิด ผู้วิจัยจึงประยุกต์ใช้เกณฑ์การประเมินเบื้องต้น โดยกำหนดให้เชื้อที่เข้าข่าย MDR ในงานวิจัยนี้คือเชื้อที่ดื้อยาปฏิชีวนะตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป ส่งผลให้ค่า MDR ที่ปรากฏในผลการทดลองอยู่ในสัดส่วนที่สูง

การพบค่า MAR Index ที่สูงเกิน 0.2 ในเกือบทุกพื้นที่ บ่งชี้อย่างชัดเจนว่าแหล่งน้ำเสียเหล่านี้มีความเสี่ยงสูงทางสาธารณสุข และสะท้อนถึงสภาวะการใช้อยาปฏิชีวนะอย่างมากในพื้นที่ โดยประเด็นที่ต้องเฝ้าระวังอย่างยิ่งคือบริเวณบ่อน้ำเสียก่อนปล่อยออกสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ ซึ่งเมื่อนำผลการศึกษาไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับทฤษฎีและแนวคิดการจัดการน้ำเสียในปัจจุบัน พบว่าในด้านหนึ่ง ผลการวิจัยได้ช่วยยืนยันแนวคิดพื้นฐานการลดปริมาณจุลินทรีย์ (Biomass Reduction) ว่ากระบวนการบำบัดและการเจือจางสามารถลดปริมาณแบคทีเรียโดยรวมลงได้อย่างมีนัยสำคัญ จากระดับ 10^5 ลงสู่ระดับ 10^2 MPN/100 mL แต่ในอีกด้านหนึ่ง ผลการศึกษานี้กลับโต้แย้งบรรทัดฐานความปลอดภัยแบบเดิม (Conventional safety paradigm) ที่มีกีดกันว่าการลดจำนวนแบคทีเรียโดยรวมได้เพียงพอต่อการชี้วัดความปลอดภัย เนื่องจากระบบบำบัดในปัจจุบันอาจทำหน้าที่คล้ายสภาวะคัดเลือกสายพันธุ์ (Selection pressure) ที่ปล่อยให้เชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ดื้อยาหลุดรอดออกไปได้ ซึ่งหากเกิดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก ย่อมก่อให้เกิดภาวะการติดเชื้อที่รักษาได้ยากและเป็นอันตรายต่อสาธารณสุขในอนาคต

นอกจากนี้ ผลการวิจัยยังขัดแย้งกับรายงานการศึกษาของ Munir et al., (2011) ซึ่งประเมินระบบบำบัดน้ำเสียขั้นสูงประเภทถังปฏิกรณ์ชีวภาพรวมกับการฆ่าเชื้อด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต (MBR + UV) ที่พบว่าสามารถลดทั้งปริมาณแบคทีเรีย สัดส่วนเชื้อ MDR และทำลายยีนดื้อยาปฏิชีวนะ (Antibiotic Resistance Genes: ARGs) ในน้ำทิ้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ ชี้ให้เห็นว่าระบบบำบัดน้ำเสียขั้นพื้นฐานในสถาบันศึกษายังมีช่องว่าง (Gap) ในการรับมือกับวิกฤตการดื้อยาปฏิชีวนะเมื่อเทียบกับเทคโนโลยีขั้นสูง

การศึกษานี้สรุปได้ว่า สภาพแวดล้อมน้ำเสียในสถาบันอุดมศึกษา (โดยเฉพาะอาคารปฏิบัติการ) เป็นแหล่งสะสมและแพร่กระจายของเชื้อ *E. coli* ที่มีระดับการดื้อยาสูง แม้ระบบบำบัดน้ำเสียที่มีอยู่จะสามารถลดปริมาณความหนาแน่นของแบคทีเรียโดยรวมลงได้ตามมาตรฐานทางกายภาพ แต่กลับไม่สามารถกำจัดเชื้อดื้อยาหลายขนาน (MDR) และเชื้อที่มีค่า MAR Index สูงออกไปได้ ส่งผลให้น้ำทิ้งก่อนปล่อยสู่สาธารณะยังคงเป็นแหล่งแพร่กระจายเชื้อดื้อยาสู่สิ่งแวดล้อมและชุมชน

ผลการศึกษาครั้งนี้สะท้อนว่า สถาบันอุดมศึกษาและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องจำเป็นต้องปรับเปลี่ยนแนวทางการจัดการน้ำเสียจากการมุ่งเน้นเพียงการดักจับมลพิษทางกายภาพและเคมีทั่วไป เช่น ค่า BOD, COD หรือปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Coliform ไปสู่ นโยบายการควบคุมเชื้อดื้อยาในสิ่งแวดล้อม โดยควรเริ่มจากการกำหนดมาตรการบังคับให้ห้องปฏิบัติการวิจัยและการเรียนการสอนมีการคัดแยกและกำจัดฤทธิ์สารเคมีตลอดจนของเสียทางชีวภาพอย่างเข้มงวดก่อนปล่อยลงท่อระบายน้ำ เพื่อลดสภาวะคัดเลือกทางสิ่งแวดล้อม (Selection pressure) ที่เอื้อต่อการกลายพันธุ์และการถ่ายทอดยีนดื้อยาในจุลินทรีย์ ควบคู่ไปกับการปรับปรุงระบบบำบัดน้ำเสียส่วนกลางด้วยการเพิ่มขั้นตอนการฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงในบ่อพักสุดท้าย เช่น การฉายรังสีอัลตราไวโอเลต การเติมคลอรีน หรือการใช้โอโซน เพื่อทำลายทั้งเซลล์เชื้อดื้อยาและยีนดื้อยาก่อนปล่อยออกสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ

นอกจากนี้ สำหรับการศึกษาในอนาคต ควรเพิ่มจำนวนชนิดและกลุ่มของยาปฏิชีวนะในการทดสอบให้หลากหลายและครอบคลุมยิ่งขึ้น เพื่อให้การประเมินผลและการจัดจำแนกเชื้อ MDR มีความแม่นยำสอดคล้องตามเกณฑ์มาตรฐานสากลของ

Magiorakos et al. (2012) มากยิ่งขึ้น ควบคู่ไปกับการตรวจวิเคราะห์ยีนดื้อยา (Antibiotic Resistance Genes: ARGs) ด้วยเทคนิคทางอนุชีววิทยาเพิ่มเติมจากการทดสอบความไวต่อยา เพื่อให้เข้าใจถึงกลไกการแพร่กระจายและการสะสมของยีนดื้อยาในระบบบำบัดน้ำเสียได้อย่างสมบูรณ์และรอบด้านยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณหน่วยงานภายในสถาบันอุดมศึกษาสำหรับการอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง และขอขอบคุณเพื่อนร่วมงานทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมมลพิษ. (2564). รายงานสถานการณ์มลพิษของประเทศไทย ปี 2564. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.
- ชนิดา แซ่ไคว้ และ วรัญญา เพชรเกษม. (2568). การศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Escherichia coli* ที่คัดแยกจากตัวอย่างน้ำในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย. *Multidisciplinary Digital Procedia*, 1(2), CUASTP208.
- เทพวิฑูรย์ ทองศรี, สุรัตน์ เพชรเกษม และ กัญญา ม่วงแก้ว. (2555). การประเมินปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟิคัลโคลิฟอร์มในแหล่งน้ำผิวดิน เขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล (หน้า 105-112). ใน รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.
- ราตรี ลีละวงศ์เทวัญ, อารี เทเลอร์ และ กัลยา อารีย์. (2548). การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (*Coliform bacteria*) ในน้ำดื่มสาธารณะจากโรงอาหารในมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต (รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์). มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต.
- สุรัชย์ รัตนสุข, นรินทร์ อุบลบาน และ รติรส เสี่ยงสาย. (2563). การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ *Escherichia coli* ในน้ำดื่มบรรจุขวดที่จำหน่ายในจังหวัดร้อยเอ็ด. *วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 1(2), 54-58.
- Krumperman, P. H. (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(1), 165-170.
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268-281.
- Munir, M., Wong, K., & Xagoraki, I. (2011). Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan. *Water Research*, 45(2), 681-693.
- Tzimotoudis, N., Mataragka, A., Andritsos, N. D., & Ikononopoulos, J. (2025). Antibiotic susceptibility testing of *Escherichia coli* and coliform isolates detected in samples of drinking water from Central Greece. *Applied Sciences*, 15(5), 2664.
- World Health Organization. (2021). *Antimicrobial resistance*. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>