

การตรวจหาปริมาณโคไลเฟจซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดการปนเปื้อนเชื้อไวรัสก่อโรกระบบทางเดินอาหาร ในระบบบำบัดน้ำเสียของมหาวิทยาลัย

ณิชรรัตน์ เสียงไพเราะ, เมธาวิ ศาสตร์สาร และภิรมย์ น้อยสำแดง*

คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (ศูนย์รังสิต) ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12121

ผลการวิจัย

บทนำ

การตรวจหาดัชนีชี้วัดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำที่ผ่านระบบบำบัดน้ำเสียนับเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในการประเมินคุณภาพน้ำก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ หนึ่งในดัชนีชี้วัดทางชีวภาพนั้น ได้แก่ การตรวจหาปริมาณโคไลเฟจ (coliphage) ซึ่งจัดเป็นดัชนีชี้วัดการปนเปื้อนเชื้อไวรัสก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการตรวจหาการปนเปื้อนโคไลเฟจจากระบบบำบัดน้ำเสียที่รับน้ำมาจากอาคารที่พักและอาคารเรียนในมหาวิทยาลัย เพื่อประเมินระดับการปนเปื้อนเชื้อไวรัสรวมถึงประเมินประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียทางอ้อมได้ โดยการเก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อศึกษาปริมาณโคไลเฟจกับแบคทีเรีย *E.coli* ที่จำเพาะด้วยเทคนิค double layer agar

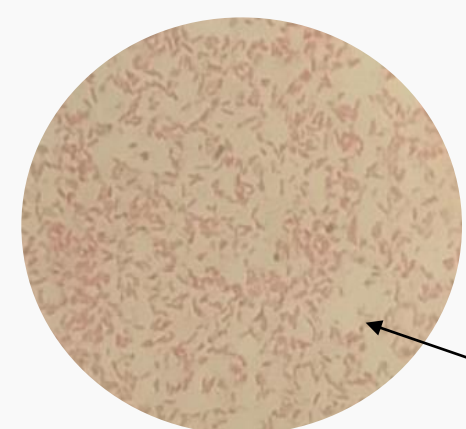
วิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างน้ำเสีย

เก็บตัวอย่างน้ำเสีย โดยวิธีการเก็บตัวอย่างน้ำแบบจ้วง ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ณ ระบบบำบัดน้ำเสียของมหาวิทยาลัย

2. การคัดแยกเชื้อ *E. coli*

โดยวิธี Microbiological Standard Technique



ย้อมสีแบคทีเรียโดยวิธี Gram's staining

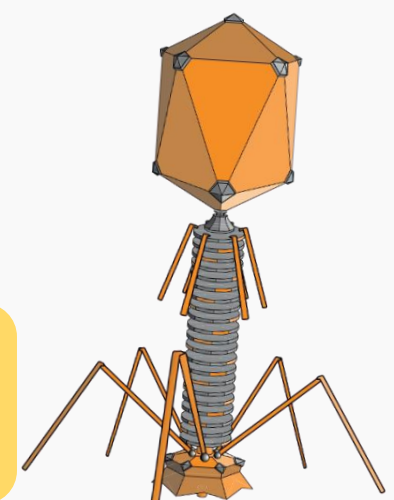
เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน

3. การตรวจหาโคไลเฟจ

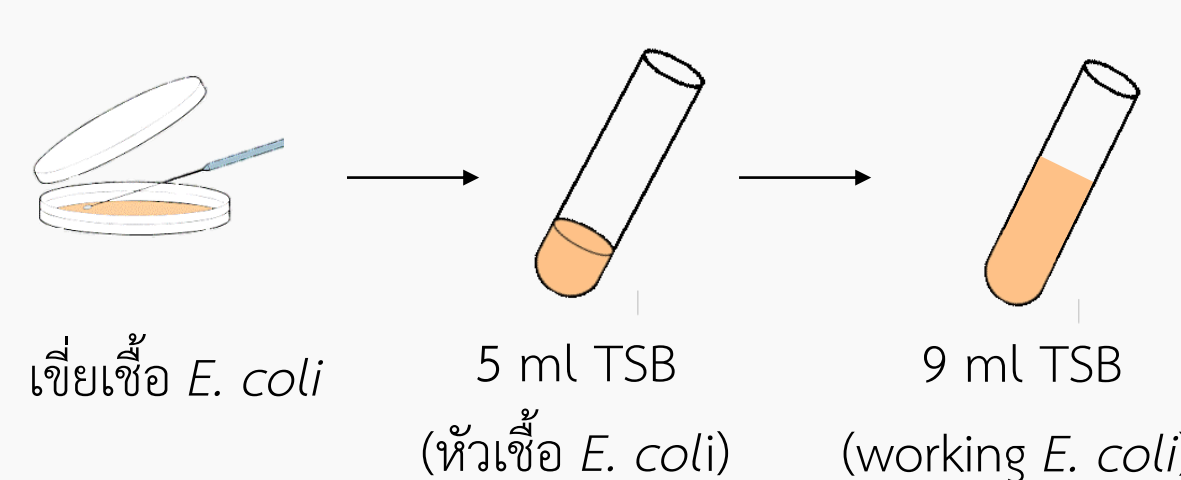
โดยวิธี Double Layer Agar

• การตรวจหาความจำเพาะของโคไลเฟจ

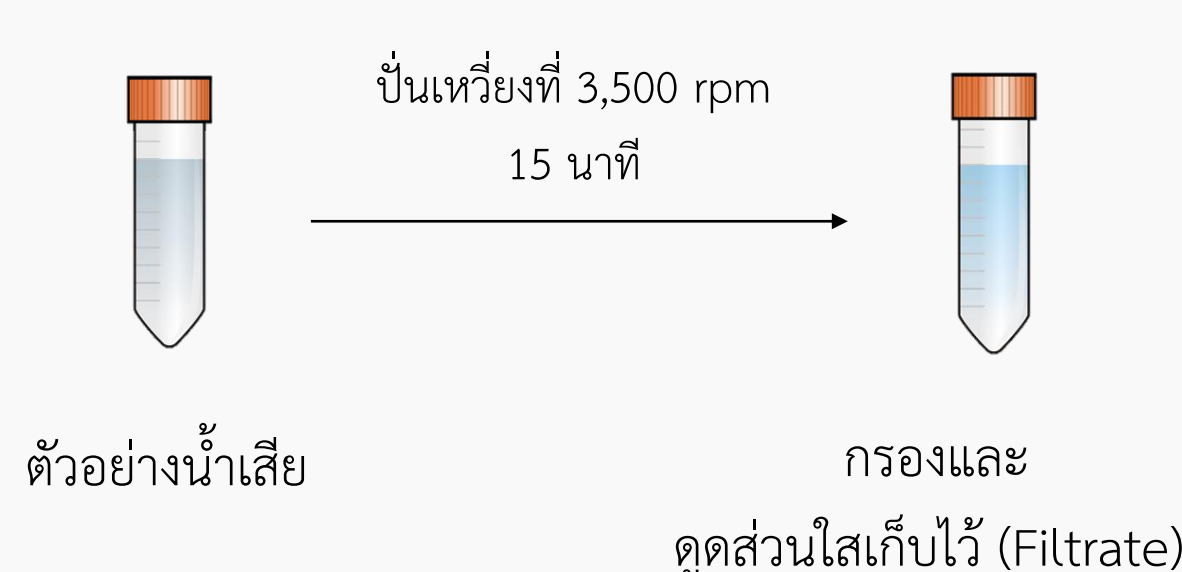
• การประเมินประสิทธิภาพระบบบำบัดน้ำเสียของมหาวิทยาลัย



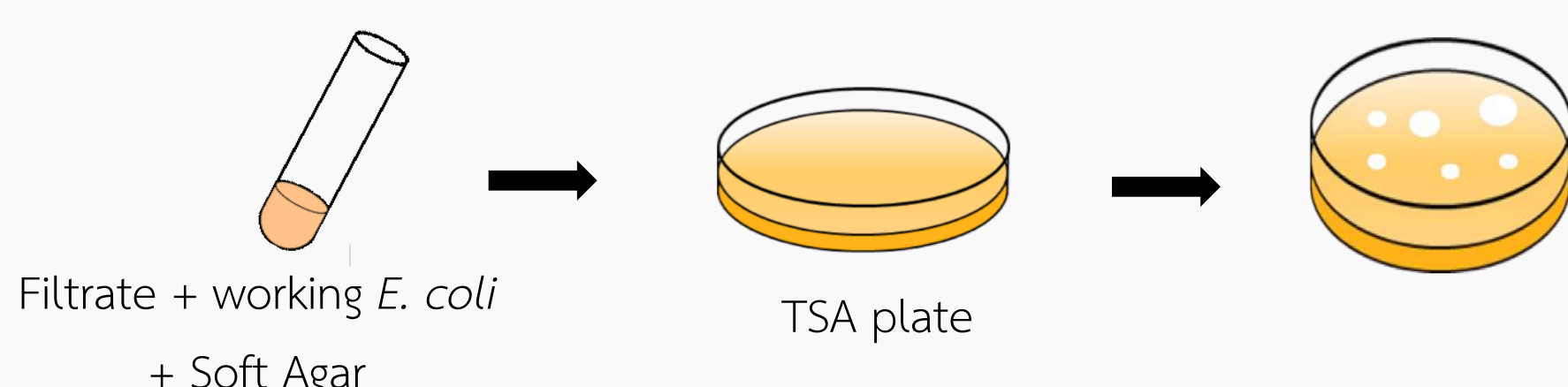
3.1 ขั้นตอนเตรียมหัวเชื้อ *E. coli* และ working *E. coli*



3.2 เตรียม Phage solution (Filtrate)



3.3 วิเคราะห์ coliphage



การคำนวณปริมาณโคไลเฟจ

$$\text{จาก PFU/ml} = \frac{\text{จำนวนวงใส(plaque) ที่เกิดขึ้น}}{\text{ปริมาตร Phage solution} \times \text{อัตราการเจือจาง}}$$

4. การตรวจหา Total Coliform Bacteria และ Fecal Coliform Bacteria

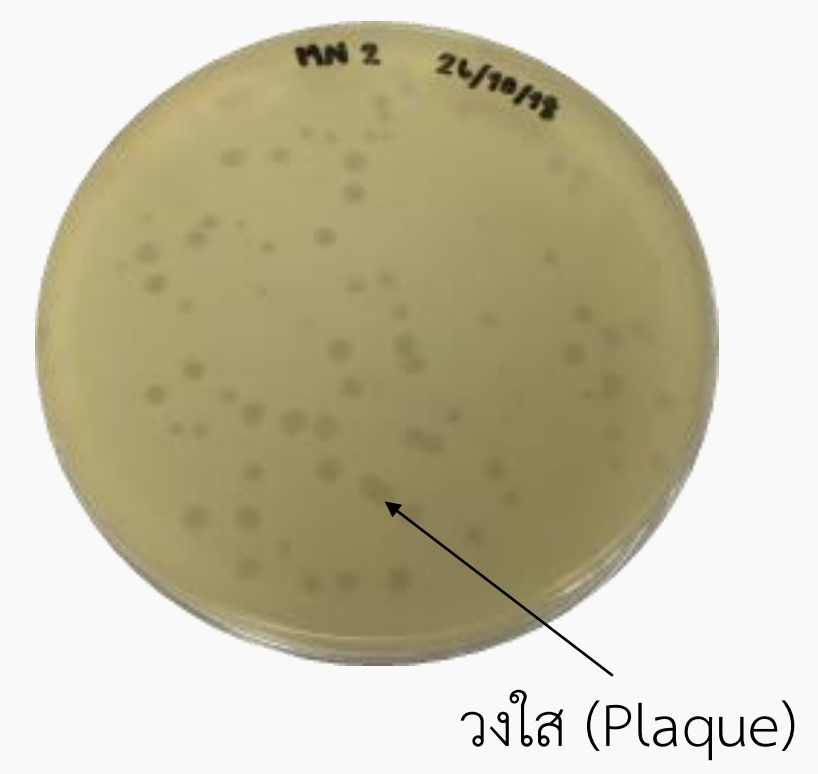
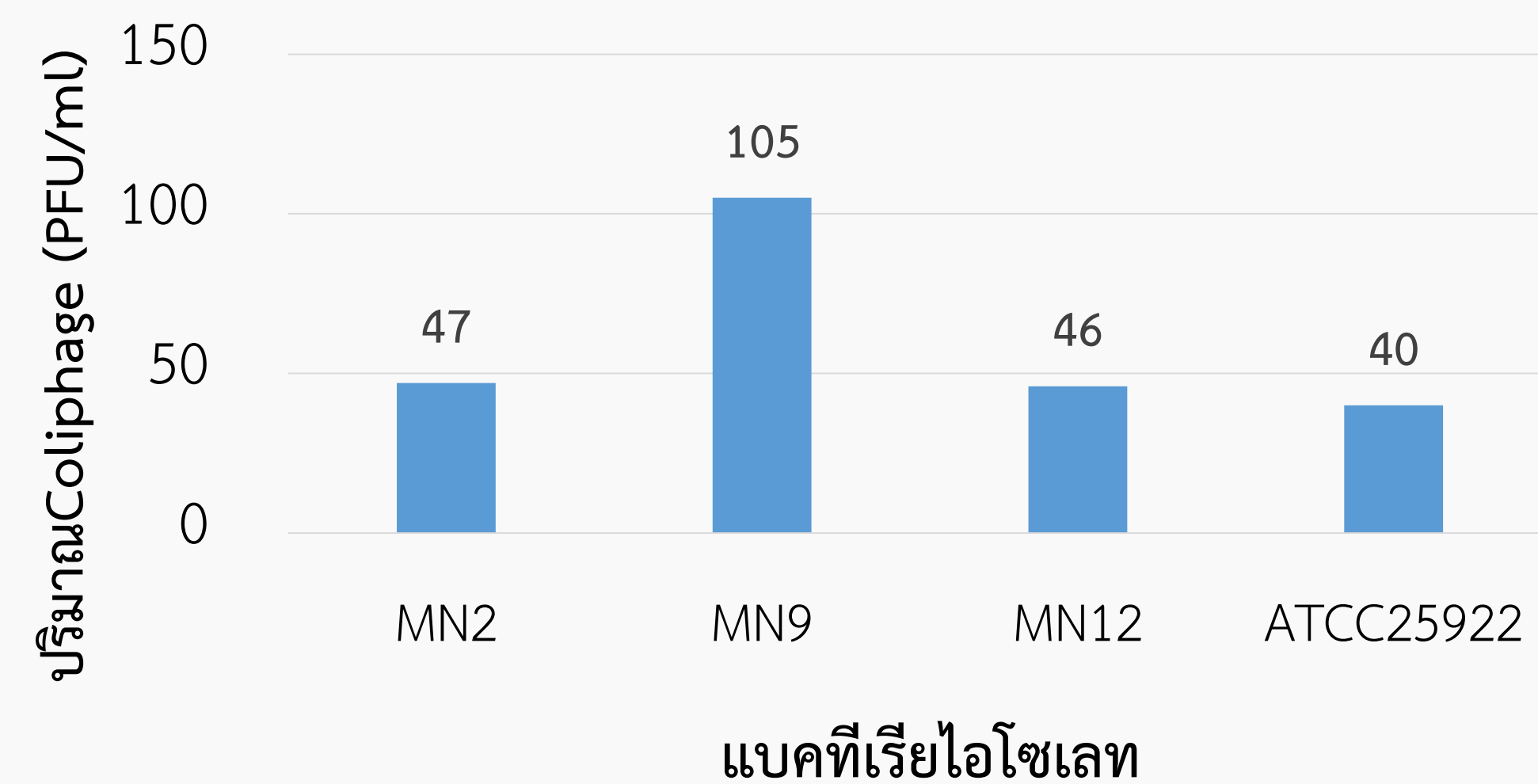
โดยวิธี Multiple Fermentation Technique

ผลการคัดแยกเชื้อ *E.coli* จากระบบบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัย พบว่าในตัวอย่างน้ำเสียสามารถแยกได้ทั้งหมด 20 สายพันธุ์ เมื่อทำการตรวจหาปริมาณโคไลเฟจกับเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* ที่จำเพาะ พบว่ามี *E.coli* ที่คัดแยกได้ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ MN2 MN9 และ MN12 รวมถึง *E.coli* ATCC25922 มีปริมาณโคไลเฟจเกิดขึ้นระหว่าง 40-110 PFU/ml

จากการใช้ *E.coli* ATCC25922 เป็นโฮสต์ตัวแทนในการหาปริมาณโคไลเฟจในตัวอย่างน้ำบริเวณบ่อ aerobic aerated lagoon และบริเวณจุดปล่อยน้ำทิ้งซึ่งผ่านการเติมคลอรีนแล้ว (effluent) พบว่ามีปริมาณโคไลเฟจลดลง 27.71 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจหาดัชนีชี้วัดแบคทีเรียโดยพบว่ามีปริมาณ total coliform bacteria ลดลง 202.5 เท่า และปริมาณ fecal coliform bacteria ลดลง 116.5 เท่า อย่างไรก็ตามผลการศึกษาบ่งชี้ว่าน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนที่มีความเข้มข้นอยู่ในน้ำขณะนั้นสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และไวรัสได้เพียงบางส่วนเท่านั้นและควรมีการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานดัชนีชี้วัดด้านจุลินทรีย์ในน้ำที่ผ่านกระบวนการบำบัดก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติต่อไป

1. ผลการตรวจหาความจำเพาะของโคไลเฟจ

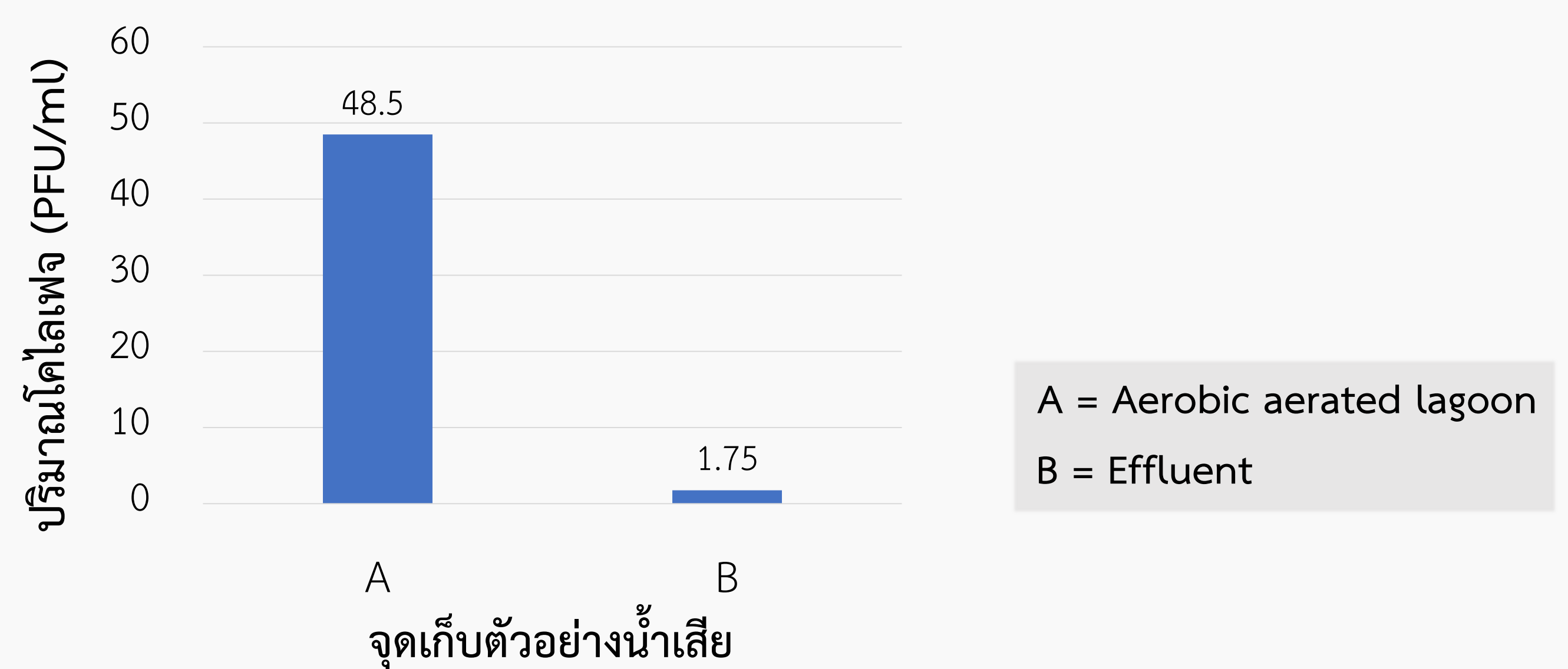
จากการตรวจหาโคไลเฟจกับแบคทีเรีย *E.coli* ที่จำเพาะด้วยเทคนิค double layer agar พบว่ามี *E.coli* ที่คัดแยกได้ 3 สายพันธุ์ (3/20 สายพันธุ์) ได้แก่ MN2 MN9 และ MN12 รวมถึง *E.coli* ATCC25922 มีจำนวนวงใส (Plaque) เท่ากับ 93, 210, 91 และ 79 ตามลำดับ ซึ่งคำนวณปริมาณโคไลเฟจที่เกิดขึ้นได้ระหว่าง 40-110 PFU/ml ดังภาพ ในขณะที่สายพันธุ์ที่เหลือให้ปริมาณโคไลเฟจเพียง 0-38 PFU/ml



วงใส (Plaque)

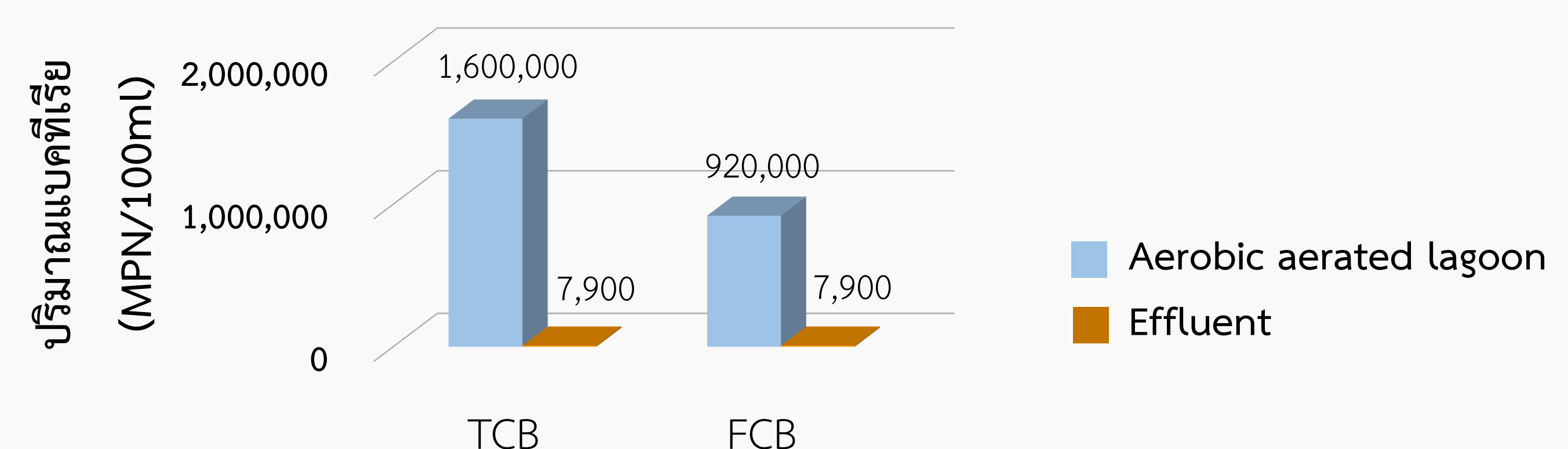
2. ผลการประเมินประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสีย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียโดยใช้ *E.coli* ATCC25922 เป็นโฮสต์ตัวแทนในการหาปริมาณโคไลเฟจในตัวอย่างน้ำบริเวณบ่อ aerobic aerated lagoon และบริเวณจุดปล่อยน้ำทิ้งซึ่งผ่านการเติมคลอรีนแล้ว (effluent) พบว่ามีปริมาณโคไลเฟจลดลงจากเฉลี่ย 48.5 PFU/ml เหลือ 1.75 PFU/ml ซึ่งมีปริมาณ coliphage ลดลงถึง 27.71 เท่า ดังภาพ



3. ผลการตรวจหา Total Coliform Bacteria และ Fecal Coliform Bacteria

จากการตรวจหา Total Coliform Bacteria และ Fecal Coliform Bacteria ในตัวอย่างน้ำบริเวณบ่อ aerobic aerated lagoon และบริเวณจุดปล่อยน้ำทิ้งซึ่งผ่านการเติมคลอรีนแล้ว (effluent) พบว่ามีปริมาณลดลงถึง 202.5 เท่า และ 116.5 เท่า ตามลำดับ



สรุปผลการวิจัย