



การตรวจหาแบคทีเรียปนเปื้อนจากแหล่งน้ำในเขตเมือง และรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร จ. พิษณุโลก

กาญจนา อู๋สุวรรณทิพย์^{a*} ปองพันธ์ โอทกานนท์^b วีรยุทธ ทิมแย้ม^a หนึ่งฤทัย ไสลภูมิ^a
และ อนิวัตร์ อินตุ^a

The Examination of contaminated bacterial in Water Sources of Muang and Around Naresuan University, Phitsanulok Province

Kanchana Usuwanthim^{a*}, Pongpun Othaganont^b, Weerayut Timyam^a

Neungluthai Salaibhom^a and Aniwat Intu^a

^aภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

^bภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

^aDepartment of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand.

^bDepartment of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand.

*Corresponding Author. E-mail address: ukusuwanthim@yahoo.com (K. Usuwanthim)

Received 10 July 2010; accepted 15 August 2010

บทคัดย่อ

เขตชุมชนเมืองและบริเวณโดยรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก มีการเจริญเติบโตทางด้านเศรษฐกิจและมีการขยายชุมชนอย่างรวดเร็ว ทำให้มีความต้องการในการใช้ทรัพยากรน้ำที่เพิ่มสูงขึ้น เพื่อใช้ในการอุปโภค บริโภคและเพื่อการอุตสาหกรรม ซึ่งการขยายตัวอย่างรวดเร็วของชุมชนที่ขาดการพัฒนาาระบบสาธารณสุขปลอดภัยและการบำบัดน้ำเสียที่เป็นระบบ ทำให้เกิดปัญหาต่อแหล่งน้ำและนำมาซึ่งผลกระทบต่อผู้อยู่อาศัยบริเวณแหล่งน้ำเอง เช่น เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ เชื้อโรคต่าง ๆ งานวิจัยนี้เล็งเห็นความสำคัญดังกล่าวจึงมีวัตถุประสงค์งานวิจัยเพื่อตรวจหาแบคทีเรียในแหล่งน้ำในเขตชุมชนเมืองและบริเวณโดยรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก เพื่อศึกษาถึงชนิดของแบคทีเรียที่อยู่ในบริเวณแหล่งน้ำดังกล่าว และเพื่อศึกษาว่ามีเชื้อแบคทีเรียก่อโรคหรือไม่ ผู้วิจัยได้สำรวจคุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย โดยพิสูจน์แยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำที่สุ่มเก็บมาจากแหล่งน้ำในเขตชุมชนเมืองพิษณุโลกและชุมชนมหาวิทยาลัยนเรศวร ทั้งหมด 14 แหล่ง จากผลการทดสอบหาแบคทีเรียรวมด้วยวิธี Multiple-tube fermentation technique พบค่าดัชนีของ แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มปนเปื้อนอยู่ในน้ำสูงเกินเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 7 แหล่งน้ำ ได้แก่ แม่น้ำน่านบริเวณหลังไนท์ บาร์ชา แม่น้ำน่านบริเวณข้างเรือนแพ คลองโคกช้าง แหล่งน้ำด้านข้างโรงฆ่าสัตว์ คูน้ำข้างโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร คูน้ำข้างพิพิธภัณฑสถานสัตว์ คุระบายน้ำมอนอนิเวศน์ นอกจากนี้ผลการวิจัยยังพบว่าคลองโคกช้าง มีจำนวนโคไลของแบคทีเรียรวมมากที่สุดและแบคทีเรียที่พบเป็นชนิด *Escherichia coli* ทั้งหมด เมื่อเทียบกับแหล่งน้ำต่าง ๆ ที่สำรวจใน บริเวณ อ.เมือง และมหาวิทยาลัยนเรศวร ซึ่งพบหลากหลายชนิด ผลการวิจัยพบเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรคและแบคทีเรียก่อโรคมี่ทั้งชนิดแกรมบวกและลบ เช่น *Coagulase-negative staphylococcus*, *Enterococcus spp.*, *Shigella dysenteriae*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter spp.*, *Aeromonas spp.* จากผลการศึกษาทำให้ทราบว่าแหล่งน้ำในเขตชุมชนเมืองและบริเวณมหาวิทยาลัยนเรศวรมีแบคทีเรียชนิดที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคปนเปื้อนอยู่ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อไปยังประชาชนผู้ใช้น้ำได้ จึงควรมีมาตรการในการจัดระบบระบายน้ำและบำบัดน้ำให้ได้คุณภาพอีกทั้งควรจัดให้มีการรักษาแหล่งน้ำเพื่อให้แหล่งน้ำเหล่านี้ปราศจากความสกปรกและไม่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์เชื้อก่อโรคต่อไปเพื่อป้องกันการเกิดโรคติดต่อที่มาจากน้ำ รวมถึงควรสร้างแรงกระตุ้นให้ประชาชนหันมารักษาสีเขียวแวดล้อมในชุมชนมากขึ้น

คำสำคัญ: แบคทีเรีย โคลิฟอร์ม แบคทีเรียก่อโรค โรคติดต่อที่มาจากน้ำ *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*

Abstract

Muang and around Naresuan University are the area of high population which are rapidly expand of economy development and causing the high amount of water usage for daily life and industry. The main following problem is destroying water sources which this effect can feed back to the people in that area. Therefore this study aim to survey the water bacteria and search for the pathogenic bacteria in water sources which can cause of water borne disease at Muang and around Naresuan University. Water bacteria contamination was determined and collected from 14 water sources in Muang community and around Naresuan University, Phitsanulok Province. Multiple-tube fermentation technique, a standard technique was used for total coliforms study. Seven samples were lower standard which collected from Nan River (Night braza, Houseboat), slaughter-house canal, Koakchang canal, canal beside Naresuan hospital, life museum canal and drained water canal of Naresuan University. The results showed that several bacterial strains and the high amount of coliform bacteria were found in all water sources. The highest colony number was found in Koakchang canal which all are *Escherichia coli*. Moreover, the pathogenic and non-pathogenic bacteria, *Shigella dysenteriae*, *Citrobacter freundii*, *Proteus*

mirabilis Coagulase-negative staphylococcus, *Enterococcus* spp., *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp. were most commonly found in this study.

Our findings suggested that there is need to do surveillance for waterborne disease and prevent their spread to people in community such as educated the people to save river and community.

Keywords: bacteria, coliforms, pathogenic bacteria, waterborne disease, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*

บทนำ

เขตชุมชนเมืองและบริเวณโดยรอบมหาวิทยาลัยนครสวรรค์ จังหวัดพิษณุโลก มีการเจริญเติบโตทางด้านเศรษฐกิจและมีการขยายชุมชนอย่างรวดเร็ว ทำให้มีความต้องการในการใช้ทรัพยากรน้ำที่เพิ่มสูงขึ้น ทั้งในการอุปโภค บริโภคและเพื่อการอุตสาหกรรม ซึ่งในทางกลับกันการขยายตัวอย่างรวดเร็วของชุมชนที่ขาดการพัฒนา ระบบสาธารณสุขอุปโภค และการบำบัดน้ำเสียที่เป็นระบบ ทำให้เกิดปัญหาต่อแหล่งน้ำ อีกทั้งการขาดจิตสำนึกที่ดีต่อส่วนรวมของประชาชน เช่น พฤติกรรมการปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้คุณภาพของแหล่งน้ำเสื่อมโทรม สาเหตุดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนเอง หากไม่มีการควบคุมการระบายน้ำเสียจากที่ต่าง ๆ ลงสู่แหล่งน้ำ ดังนั้นน้ำเสียจากชุมชนจึงเป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้เกิดปัญหามลพิษทางน้ำและชุมชนเองอาจเป็นผู้ได้รับผลเสียนั้นจากการติดเชื้อโรคที่ปนเปื้อนมากับน้ำ ซึ่งส่วนมากโรคติดเชื้อจะเกิดจาก สิ่งขับถ่ายของมนุษย์ที่ปนมากับน้ำซึ่งสามารถติดต่อกันได้

เนื่องจากน้ำมีความสำคัญในด้านต่าง ๆ มากมายและมนุษย์เองก็มีความจำเป็นในการบริโภคน้ำเพื่อตอบสนองต่อความต้องการจึงทำให้เกิดโครงการทางด้านการพัฒนาแหล่งน้ำต่าง ๆ เกิดขึ้นตามมาเพื่อให้เพียงพอต่อการบริโภคและอุปโภคหากต้องอาศัยน้ำจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติมาใช้โดยตรงอาจมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการของประชาชน

สถานการณ์คุณภาพน้ำต่ำตามแหล่งต่าง ๆ หรือแม้กระทั่งน้ำดื่มที่ใช้ในเขตชุมชนเมืองพิษณุโลกและรอบบริเวณมหาวิทยาลัยนครสวรรค์โดยลักษณะทางกายภาพมีความเสื่อมโทรม ขาดการบำบัดและการจัดการที่ดี อันเนื่องมาจากพฤติกรรมการอุปโภคบริโภคของผู้ใช้น้ำ ที่มีได้ให้ความสำคัญกับการปรับปรุงคุณภาพน้ำก่อนทิ้ง หรือการจัดการกับสุขลักษณะอนามัยส่วนตัวที่ดี การถ่ายอุจจาระที่ไม่ถูกสุขลักษณะและการขาดจิตสำนึกต่อส่วนรวมแบคทีเรียถือเป็นสาเหตุสำคัญในการก่อให้เกิดโรคติดต่อที่มีน้ำเป็นสื่อกลางได้ในชุมชน

โดยทั่วไปน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อโรคส่วนใหญ่เกิดจากแหล่งกำเนิดน้ำเสียจากที่ต่าง ๆ ซึ่งแบ่งออกเป็นน้ำเสียจากชุมชน (Domestic wastewater) ไดแก่น้ำเสียที่เกิดจากกิจกรรมต่าง ๆ ของประชาชนที่อาศัยอยู่ในชุมชน เช่น จากอาคารบ้านเรือน ที่พักอาศัย โรงแรม โรงพยาบาล ซึ่งมักมีสิ่งสกปรกในรูปสารอินทรีย์หรือแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ และเป็นสาเหตุสำคัญของการทำให้คุณภาพน้ำในแหล่งน้ำเสื่อมโทรม น้ำเสียจากการทำอุตสาหกรรม

(Industrial wastewater) ไดแก่น้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการอุตสาหกรรมทุกขั้นตอนตั้งแต่ การล้างวัตถุดิบ กระบวนการผลิต การล้างวัสดุอุปกรณ์ น้ำเสียจะอยู่ในรูปอินทรีย์และอนินทรีย์ น้ำเสียจากการเกษตรกรรม ไดแก่น้ำเสียที่เกิดจากกิจกรรมทางการเกษตร เช่น การเพาะปลูก การเลี้ยงสัตว์ และน้ำเสียที่ไม่ทราบแหล่งกำเนิด (Non-point source waste water) ไดแก่น้ำฝน และน้ำหลากที่ไหลผ่านและชะล้างความสกปรก (ภัทรสินี, 2550) การวิเคราะห์และตรวจสอบคุณภาพน้ำทางแบคทีเรียถือว่ามีผลสำคัญและสัมพันธ์กับคุณภาพชีวิตของประชาชนอย่างมาก เพราะแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำบางชนิด สามารถก่อโรคร้ายแรงแก่มนุษย์แบบเฉียบพลัน (สิทธิชัย, 2549) เช่น แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน หรือโรคบิด (Shigellosis) ซึ่งเชื่อก่อโรคเหล่านี้มักจะเป็นเชื้อในน้ำอันเนื่องมาจากพฤติกรรมการใช้น้ำของประชาชน ทำให้เชื่อก่อโรคเกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน จนทำให้เกิดการระบาดของโรคในที่สุด โดยเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำอาจแบ่งเป็น 2 พวกคือ Enteric pathogens และ coliform bacteria ซึ่งแบ่งตามแหล่งที่มาได้เป็น 2 ชนิดคือ ฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform) พวกนี้อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น ถูกขับถ่ายออกมากับอุจจาระ เมื่อเกิดการระบาดของโรคระบบทางเดินอาหารและ นันฟีคัลโคลิฟอร์ม (Non-fecal coliform) พวกนี้อาศัยอยู่ในดินและพืชมีถิ่นอาศัยน้อยกว่าพวกแรก ใช้เป็นแบคทีเรียชี้แนะถึงความไม่สะอาดของน้ำ (วีระชัย, 2530) ซึ่งเชื่อแบคทีเรียดังกล่าวที่ปนเปื้อนในน้ำสามารถติดต่อกันได้โดยเชื้อโรคที่อยู่ในสิ่งขับถ่ายของบุคคลหนึ่งแพร่กระจายออกสู่สิ่งแวดล้อมเขาสูบุคคลอื่นต่อไปและแพร่เชื้อจากสิ่งขับถ่ายเข้าทางปาก โดยที่แมลงต่าง ๆ และหนูที่อาศัยสิ่งขับถ่ายในการสืบพันธุ์ แมลงและหนูเหล่านี้จะรับเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกาย โดยเชื่อว่าจะอยู่ในร่างกาย ลำไส้เลือดของ ยุง โดยที่คนจะได้รับเชื้อผ่านทางสัตว์เหล่านี้อีกทอดหนึ่ง ในปี 2001 องค์การอนามัยโลกรายงานว่าทุก 8 วินาที มีเด็กจากทั่วโลกเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดต่อที่มาจากน้ำ (Waterborne disease) และเป็นไปได้ว่ามีคนมากกว่า 5 ล้านคนเสียชีวิตจากน้ำปนเปื้อนที่ขาดการบำบัดหลังจากเกิดลิมาในเอเชีย เมื่อวันที่ 26 ธันวาคม 2548 ทำให้เกิดโรคระบาดที่เกิดจากการปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อที่เกิดจากน้ำเป็นสื่อภายหลังจากเกิดน้ำท่วม โรคติดต่อที่พบได้แก่ โรคบิดไม่มีตัวหรือหวาดโรค ไวรัสตับอักเสบบชนิด A โรคฉี่หนู ไข้ไทฟอยด์ มาลาเรียและไข้เลือดออก (Linda, 2004)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำวิจัยเพื่อหาลำดับความสำคัญของแบคทีเรียใน

บริเวณแหล่งน้ำในชุมชนเขต อ.เมืองพิษณุโลกและบริเวณมหาวิทยาลัยนเรศวรซึ่งผู้วิจัยได้สุ่มตรวจแบคทีเรียจากแหล่งน้ำ 2 วิธีคือ 1). การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อวิเคราะห์หาเชื้อก่อโรคโดยใช้เครื่องเก็บตัวอย่างน้ำ (Sampling-pump) ที่คณะผู้วิจัยประดิษฐ์คิดค้นขึ้นมา (อยู่ระหว่างขั้นตอนการขอจดทะเบียนทรัพย์สินทางปัญญา) ซึ่งอาศัยหลักการ Membrane filter technique หรือ วิธีเยื่อกรอง เพื่อทดสอบหาเชื้อโรคที่มีอยู่ในแหล่งน้ำนั้นๆ โดยใช้กระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน เป็นส่วนประกอบของเครื่องในการดักจับเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำซึ่งตัวอย่างแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในตัวอย่างน้ำจะนำไปทดสอบต่อในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดใด 2). การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อหาแบคทีเรียขึ้นด้วยวิธี Multiple-tube fermentation technique เพื่อตรวจหาค่าดัชนีบ่งชี้ถึงความสกปรกของแหล่งน้ำ ที่อาจมีแบคทีเรียก่อโรคปนเปื้อนอยู่ ซึ่งต้องวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียต่อไป เพื่อเป็นดัชนีชี้แนะว่าแหล่งน้ำนั้นจะมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคมามากน้อยเพียงใด

คณะผู้วิจัยคาดว่า การวิเคราะห์และตรวจสอบคุณภาพน้ำบริเวณชุมชนเมืองและชุมชนโดยรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร เป็นสิ่งที่สามารถยืนยันได้ในระดับหนึ่งว่าบริเวณที่ทำการตรวจสอบวิเคราะห์นั้น ปลอดภัยจากเชื้อแบคทีเรียชนิดที่ก่อโรคหรือไม่ ซึ่งจะเป็นข้อบ่งชี้มาตรฐานทางด้านคุณภาพชีวิต พฤติกรรมการอุปโภคบริโภค น้ำที่ถูกสุขลักษณะของผู้ที่อยู่อาศัยโดยรอบบริเวณดังกล่าว ทั้งนี้ เนื่องจากจังหวัดพิษณุโลกและชุมชนโดยรอบมหาวิทยาลัยนเรศวรเป็นชุมชนใหม่ที่กำลังพัฒนา จำเป็นต้องมีความปลอดภัยต่อการอยู่อาศัยและมีคุณภาพชีวิตที่ดี เพื่อสร้างภาพลักษณ์และความเชื่อมั่นแก่ผู้ที่เข้ามาอาศัยบริเวณดังกล่าว รวมทั้งเป็นการกระตุ้นให้เกิดการแข่งขันและแก้ไขต่อความเสี่ยงในการเจ็บป่วยอันเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำแก่ประชาชน ผู้ได้รับผลกระทบโดยตรงเพื่อเป็นการร่วมสร้างจิตสำนึกที่ดีต่อส่วนรวมรวมทั้งการช่วยกันดูแลรักษาแหล่งน้ำของชุมชนให้คงความสะอาดอยู่เสมอ

วัตถุประสงค์และวิธีการ

แหล่งน้ำตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำทั้งหมด 14 ที่ ซึ่งเป็นตัวแทนของแหล่งน้ำในเขตชุมชนที่มีประชากรอาศัยอยู่ในเขตเมืองและรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก ได้แก่ คูเมืองหน้าโรงพยาบาลค่ายนเรศวร แม่น้ำน่านบริเวณหน้าวัดใหญ่ แม่น้ำน่านบริเวณด้านหลังไนท์บาร์ซ่า แม่น้ำน่านบริเวณบ้านเรือนแพ แหล่งน้ำในบริเวณชุมชนเขตวัดธรรมจักร คลองคูเมืองคลองหนองปรือ คลองโคกข้าง แหล่งน้ำด้านข้างโรงฆ่าสัตว์ คูน้ำข้างบริษัทเบญจพรรณ คูน้ำด้านข้างโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร คูน้ำด้านข้างพิพิธภัณฑสถานแห่งชาติคูน้ำใกล้ศูนย์การค้าประตู 4 คุระบายน้ำบริเวณหอพักมอนอนิเวศน์ และคลองหนองเหล็ก

การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา

1. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยาโดยวิธี Multiple-tube fermentation technique

ใช้หลอดทดลองปลอดเชื้อขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำให้ได้ปริมาตรรวม 150 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างน้ำที่ได้ใส่ภาชนะขนส่งตัวอย่างน้ำ โดยใช้กล่องโฟมที่รักษาอุณหภูมิประมาณ 2-6 องศาเซลเซียส เพื่อนำมายังห้องปฏิบัติการ เมื่อนำตัวอย่างน้ำมาที่ห้องปฏิบัติการแล้ว จึงนำมาทำการผสมรวมกันโดยนำน้ำตัวอย่างผสมให้เข้ากัน นำตัวอย่างน้ำใส่ลงในหลอดบรรจุอาหารเหลว (Lactose broth) ที่ภายในมี Durham's tube อยู่ โดยใส่น้ำตัวอย่างลงในหลอดอาหารเหลวชุดที่ 1 ซึ่งเข้มข้นสองเท่า หลอดละ 1 ลบ.ซม. จากนั้นดูดตัวอย่างน้ำใส่ลงไปในอาหารชุดที่ 2 และ 3 ในปริมาตร 0.1 และ 0.01 ตามลำดับ เขย่าหลอดเบาๆ เพื่อให้อาหารผสมกับตัวอย่างน้ำ นำหลอดทั้งหมดเข้าตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำหลอดทั้งหมดมาตรวจดูแก๊สใน Durham's tube ถ้าหลอดใดมีแก๊สแสดงว่าให้ผลบวกและหลอดที่ไม่เกิดแก๊สแสดงว่าให้ผลลบ

2. การพิสูจน์ชนิดของเชื้อแบคทีเรียในน้ำ

สุ่มเก็บตัวอย่างแบคทีเรียจากแหล่งน้ำทั้ง 14 แหล่ง ด้วยเครื่อง Sampling-pump ที่ผู้วิจัยประดิษฐ์ขึ้นมา จากนั้นจึงนำตัวอย่างแบคทีเรียจากแหล่งน้ำมาเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งชนิด nutrient agar และบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญของเชื้อ บันทึกลักษณะและจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำจากแต่ละแหล่งน้ำโคโลนีที่โตมาเพาะเลี้ยงต่อใน blood agar และ Mac Conkey agar บ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนีของแบคทีเรียที่ขึ้นมาย้อมสีแกรม เพื่อแยกประเภทเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้นและหากย้อมสีแกรมแล้วพบวาติดสีแกรมบวก จึงทำการย้อมสีสปอร์ต่อไปเพื่อดูว่าเป็นแบคทีเรียชนิดที่สร้างสปอร์หรือไม่ จากนั้นทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียแต่ละกลุ่มเพื่อพิสูจน์หาชนิดของเชื้อแบคทีเรียต่อไป

ผลการศึกษา

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำด้านแบคทีเรียจากแหล่งน้ำตัวอย่าง 14 แหล่ง โดยวิธี Multiple-tube fermentation technique พบจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มรวมมีความแตกต่างกันในแต่ละแหล่งน้ำ โดยพบว่าแหล่งน้ำที่มีค่าแบคทีเรียสูงเกินมาตรฐานจำนวน 7 แหล่งน้ำ คิดเป็นร้อยละ 50 ได้แก่ แม่น้ำน่านบริเวณหลังไนท์บาร์ซ่า แม่น้ำน่านบริเวณข้างเรือนแพ คลองโคกข้าง แหล่งน้ำด้านข้างโรงฆ่าสัตว์ คูน้ำข้างโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร คูน้ำข้างพิพิธภัณฑสถานแห่งชาติ คุระบายน้ำมอนอนิเวศน์ ผลการตรวจ

พิสูจน์ชนิดเชื้อแบคทีเรียจากแหล่งน้ำ โดยทำการเพาะเชื้อจากตัวอย่างน้ำที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส แยกและพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียโดยอาศัยคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย พบว่าโคลงโคกข้าง มีจำนวนโคโลนีที่นับได้มากที่สุดที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อและเป็นแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* ทั้งหมด ขณะที่ในโคลงชุมชนวัด

ธรรมจักรมีจำนวน โคโลนีที่นับได้น้อยที่สุดพบแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ *Hafnia alvei* *Micrococcus* spp. และ Other group D streptococci ส่วนแหล่งน้ำอื่นๆ พบทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคและไม่ก่อโรคดีังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตารางแสดงชนิดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบจากน้ำตัวอย่าง 14 แหล่ง

ที่	แหล่งน้ำที่เก็บ	จำนวนชนิดของแบคทีเรียที่พบ	แบคทีเรียที่พบ
1	ข้างพิพิธภัณฑสถาน	2	1. <i>Corynebacterium</i> spp. 2. <i>Micrococcus</i> spp.
2	ศูนย์การค้าประตู 4	3	1. <i>Alcaligenes faecalis</i> 2. <i>Citobacter freundii</i> 3. <i>Hafnia alvei</i>
3	มอนอเนิเวศ	4	1. <i>Alcaligenes faecalis</i> 2. <i>Acinetobacter</i> spp. 3. <i>Micrococcus</i> spp. 4. <i>Proteus mirabilis</i>
4	คลองหนองเหล็ก	3	1. <i>Aeromonas</i> spp. 2. <i>Corynebacterium</i> spp. 3. <i>Shigella dysenteriae</i>
5	คูเมืองหน้าโรงพยาบาลค่ายฯ	1	1. <i>Alcaligenes faecalis</i>
6	คลองคูเมือง	2	1. <i>Alcaligenes faecalis</i> 2. Coagulase-negative staphylococci
7	หน้าวัดใหญ่	3	1. <i>Enterococcus</i> spp. 2. <i>Hafnia alvei</i> 3. <i>Micrococcus</i> spp.
8	ชุมชนวัดธรรมจักร	3	1. <i>Hafnia alvei</i> 2. <i>Micrococcus</i> spp. 3. Other group D streptococci
9	หลังไนท์บาร์ซ่า	3	1. <i>Acinetobacter</i> spp. 2. <i>Lactobacilli</i> 3. <i>Proteus vulgaris</i>
10	บ้านเรือนแพ	3	1. <i>Flavobacterium</i> spp. 2. <i>Hafnia alvei</i> 3. <i>Lactobacilli</i>
11	คลองหนองปรือ	2	1. <i>Alcaligenes faecalis</i> 2. <i>Corynebacterium</i> spp.
12	คลองโคกข้าง	1	1. <i>Escherichia coli</i>
13	โรงฆ่าสัตว์	2	1. <i>Acinetobacter</i> spp. 2. <i>Flavobacterium</i> spp .
14	ข้างบริษัทบุญจพรณ	2	1. <i>Alcaligenes faecalis</i> 2. <i>Enterococcus</i> spp.

อภิปรายผลการศึกษา

หลายปีที่ผ่านมาเขตชุมชนเมือง จังหวัดพิษณุโลก มีการเจริญเติบโตทางด้านเศรษฐกิจและขยายชุมชนอย่างรวดเร็ว ทำให้มีความต้องการในการใช้ทรัพยากรน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นรวมทั้งการใช้อุปโภคบริโภคและเพื่อการอุตสาหกรรม ซึ่งในทางกลับกันการขยายตัวอย่างรวดเร็วของชุมชนที่ขาดการพัฒนา ระบบสาธารณสุขและการบำบัดน้ำเสียที่เป็นระบบ ทำ

ให้เกิดปัญหาต่อแหล่งน้ำ เช่น ปัญหาน้ำเสีย น้ำไม่ได้อุณหภูมิ แหล่งน้ำสกปรก นอกจากนี้ยังสามารถพบปัญหา น้ำได้ตามสถานที่ที่ประชากรเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะชุมชนเขตมหาวิทยาลัยนเรศวรซึ่งมีคณาจารย์ บุคลากรและนิสิต ตลอดจนผู้ประกอบการเพิ่มมากขึ้นจึงทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมตามมา เช่นปัญหาเกี่ยวกับแหล่งน้ำซึ่งคณะผู้วิจัยให้ความสนใจเป็นอย่างยิ่งและได้ประดิษฐ์เครื่องเก็บตัวอย่างน้ำอย่างง่ายขึ้นมาเพื่อนำมาใช้อำนวยความสะดวก

ความสะอาดในการเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำต่าง ๆ เพื่อนำมาตรวจสอบคุณภาพน้ำตามแบคทีเรียในท้องปฏิบัติการต่อไป ซึ่งงานวิจัยนี้ทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรียในแหล่งน้ำทั้งในและนอกมหาวิทยาลัยนเรศวรและเป็นแนวทางในการป้องกันการแพร่กระจายของโรคที่ปนเปื้อนจากแหล่งน้ำ จากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำจากแหล่งน้ำตัวอย่างทั้ง 14 แห่ง พบว่ามีค่าแบคทีเรียสูงเกินเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 7 แห่ง และทราบถึงปริมาณและชนิดแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ โดยแบคทีเรียที่สำรวจพบเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและลบ ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ เช่น *Shigella dysenteriae*, *Citobacter freundii*, *Proteus mirabilis* เป็นต้น และส่วนหนึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อมที่พบอยู่ทั่วไปในดิน น้ำ มูล ชยะและลำไส้คน จึงสามารถบอกได้ถึงสาเหตุของการปนเปื้อนได้อย่างชัดเจน คือ สิ่งปฏิกูลต่าง ๆ จากคนที่อาศัยอยู่บริเวณเหล่านั้น ทั้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งเป็นสาเหตุย้อนกลับมาเป็นผลกระทบต่อมนุษย์ อาจทำให้มีโรคระบาดติดต่อที่เกิดจากการเชื้อแบคทีเรียโดยมีน้ำเป็นสื่อกลางการแพร่กระจายเชื้อโรค

จากรายงานวิจัยพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มในน้ำดื่ม ซึ่งน้ำที่ใช้ดื่มไม่ควรมีสิ่งปนเปื้อนใด ๆ ทั้งสิ้นโดยเฉพาะแบคทีเรีย เนื่องจากก่อให้เกิดโรคที่อันตรายตามมาเช่น ท้องเสีย อหิวาตกโรค โรคไทฟอยด์ และ โรคติดต่ออื่น ๆ เชื้อแบคทีเรียก่อโรคเหล่านี้ ได้แก่ *Vibrio Shigellae Salmonella Escherichia coli* O157:H7 จากรายงานในเมืองจากต่างประเทศอินโดนีเซีย พบว่ามีจำนวนผู้ติดเชื้อก่อโรคพาราไทฟอยด์และไทฟอยด์เพิ่มมากขึ้นซึ่งพบปัจจัยที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อมีความหลากหลายทั้งนี้ขึ้นกับพฤติกรรมของแต่ละบุคคล เช่น การรักษาความสะอาดไม่ดีพอ การรับประทานอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะการรับประทานอาหารและน้ำดื่มที่ไม่สะอาดและมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย (Leclerc et al., 2002; Vollaard et al., 2004) การตรวจพบแบคทีเรียบางชนิดโดยเฉพาะกลุ่มโคลิฟอร์มแบคทีเรีย เช่น *Escherichia coli* ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงคุณภาพของแหล่งน้ำที่ไม่ถูกสุขลักษณะและอาจเป็นแหล่งรวมสิ่งปฏิกูลและเป็นที่ยึดเกาะของเชื้อโรคซึ่งทำให้เกิดโรคติดต่อและแพร่กระจายเชื้อโดยติดต่อผ่านทางน้ำดื่ม (Payment et al., 1991; Hall 1995; Gofiti et al., 1999; Broouni et al., 2000) จากการศึกษาในประเทศอินเดียพบว่าการเกิดการแพร่กระจายของโรคไทฟอยด์ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนในแหล่งน้ำ และทำให้เกิดการปนเปื้อนในน้ำประปาซึ่งทำให้เกิดการกระจายของโรคสู่ผู้ใช้น้ำและรับประทานอาหารที่มีเชื้อแบคทีเรียเข้าไป (Bhunja et al., 2009; Sharma et al., 2009) นอกจากนี้มีการศึกษาในอินเดียตะวันออกเฉียงใต้พบว่าการติดเชื้อ *Shigella flexneri* ในประชากรที่ใช้น้ำร่วมกัน (Saha et al., 2009)

ในศึกษาครั้งนี้พบว่าคลองโคกช้างมีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียรวมมากที่สุดและเป็น *Escherichia coli* ทั้งหมด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแหล่งน้ำนี้น่าจะมีสิ่งปฏิกูลปนเปื้อนสูงไม่เหมาะสมในการนำมาใช้อุปโภคและบริโภคเชื้อ

แบคทีเรียโคลิฟอร์มเป็นแบคทีเรียที่ช่วยในการประเมินคุณภาพของแหล่งน้ำต่าง ๆ โดยเฉพาะน้ำสำหรับอุปโภคบริโภคซึ่งไม่ควรมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มนี้ ปัจจัยที่ทำให้แบคทีเรียมากในแม่น้ำลำคลองคือการมีตะกอนซึ่งมาจากสิ่งปฏิกูลสะสมตลอดจนสาหร่ายและพืชน้ำที่อยู่นอยงหนาแน่นนอกจากนี้การขับถ่ายและทิ้งขยะลงแม่น้ำลำคลองจึงทำให้เกิดแหล่งเสื่อมโทรมในเวลาต่อมา (An et al., 2002; Jamieson et al., 2005; Marshall et al., 2000) ผลการศึกษานี้ยังพบว่าในคลองหนองเหล็กมีการปนเปื้อนเชื้อ *Shigella dysenteriae* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรค ทำให้เกิดโรคท้องเสียและติดเชื้อในระบบต่าง ๆ ได้ ซึ่งอาจก่อให้เกิดการแพร่กระจายโรคสู่ผู้อยู่อาศัยแถบบริเวณใกล้เคียงได้ การตรวจพบเชื้อแบคทีเรียยังสามารถพบได้ในน้ำที่ขาดการดูแลเอาใจใส่แม้กระทั่งในบริเวณที่ไม่ควรพบเชื้อแบคทีเรีย เช่น ถังน้ำดื่ม น้ำในห้องทำฟัน ซึ่งมีรายงานว่าตรวจพบเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดที่ปนเปื้อนอยู่ในระบบน้ำของห้องทำฟันในหลายประเทศแถบยุโรป (Rompre, 2002; Walker et al., 2004; Travis et al., 2010) เชื้อแบคทีเรียแบคทีเรียที่ตรวจพบในแหล่งน้ำและในสิ่งแวดล้อม เช่น โคลิฟอร์มแบคทีเรีย *Escherichia coli enterococci Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus* มีแนวโน้มที่จะก่อโรคสูงและยากต่อการรักษาเนื่องจากแบคทีเรียมีการปรับตัวเพื่อใหทนต่อยาปฏิชีวนะโดยมีการสร้างยีนดื้อยาขึ้นมาจึงเป็นปัญหาในการรักษาหากเชื้อดื้อยาเหล่านี้แพร่กระจายออกไป (Hall 1995; Broouni et al., 2000, Kovacic et al., 2010; Dancer, 2008) นอกจากการตรวจพบแบคทีเรียในแหล่งน้ำซึ่งป็นสาเหตุของโรคติดต่อแล้ว ยังมีการศึกษาพบเชื้อไวรัสและโปรโตซัวตามแหล่งน้ำได้ เช่น *Rota virus Cryptosporidium Giardia* (Leclerc et al., 2002; Jonathan et al., 2008, Schets et al., 2008; World Health Organization, 2003, Craun et al, 2005, Karanış et al., 2007) ซึ่งก่อโรคในคนได้และสามารถติดต่อแพร่กระจายเชื้อสู่ชุมชน ดังนั้นการตรวจคุณภาพน้ำทางด้านชีววิทยาจึงมีความสำคัญมาก เพราะเป็นสิ่งที่แสดงให้เห็นถึงคุณภาพของแหล่งน้ำนั้น ๆ ว่าสะอาดและมีระบบการบำบัดที่ดีหรือไม่ อีกทั้งยังเป็นการปลูกจิตสำนึกให้คนในชุมชนหันมาให้ความสำคัญกับการดูแลแหล่งน้ำธรรมชาติมากขึ้นอีกด้วย ทั้งนี้ทางคณะผู้วิจัยจึงหวังเป็นอย่างยิ่งว่าการผลิตเครื่องเก็บตัวอย่างน้ำ Sampling-pump เพื่อการตรวจคุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย ที่จะใช้เป็นส่วนหนึ่งในการชี้วัดความสกปรกของแหล่งน้ำเพื่อความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นของประชาชน วิธีการตรวจหาแบคทีเรียในน้ำที่ใช้อยู่ทั่วไปคือ Multiple tube fermentation และวิธี membrane filtration ซึ่งมีข้อจำกัดเรื่องระยะเวลาในการทำนานกว่าจะทราบว่ามีแบคทีเรียชนิดใดบ้างอยู่ในน้ำ นอกจากนี้วิธีดังกล่าวยังขาดความจำเพาะในกรณีที่เชื้อแบคทีเรียบางชนิดเจริญช้าและมีปริมาณน้อย ซึ่งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจแบคทีเรียในน้ำด้วยการใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น ปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase chain reaction, PCR) ไฮบริดเซชัน เพื่อศึกษาเชื้อในระดับโมเลกุลและทราบ

ผลเร็วกว่า อีกทั้งมีความไวสูง (Tani et al., 1998; Dalabre et al., 2001; Rompre, 2002)

การตรวจสอบคุณภาพน้ำด้านแบคทีเรียในแหล่งน้ำยังไม่สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพน้ำทั้งหมดได้ ดังนั้นต้องมีการตรวจประกอบกันหลายด้าน เช่น การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ การวิเคราะห์ปริมาณ BOD การวิเคราะห์ปริมาณ COD และการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี เป็นต้น

สรุปผลการศึกษา

จากการการตรวจหาแบคทีเรียปนเปื้อนจากแหล่งน้ำในบริเวณมหาวิทยาลัยและเขตชุมชนเมือง จังหวัดพิษณุโลก พบว่ามีแบคทีเรียไมโครโคคอยู่เป็นจำนวนมาก อีกทั้งยังมีแบคทีเรียก่อโรคปนเปื้อนอยู่ในบางแหล่งน้ำ นอกจากนี้ยังพบว่ามีแบคทีเรียโคลิฟอร์มเกินเกณฑ์มาตรฐานในแม่น้ำน่านหลังในท่าบารซา แม่น้ำน่านข้างเรือนแพ แม่น้ำน่านบริเวณหน้าวัดใหญ่ คูเมืองหน้าโรงพยาบาลค่ายนเรศวร คลองคูเมือง คลองโคกช้าง แหล่งน้ำด้านข้างโรงฆ่าสัตว์ คูน้ำข้างโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร คูน้ำข้างพิพิธภัณฑสถานชาติ คุระบายน้ำมอญอนนิเวศน์ พบแบคทีเรียทั้งหมดจำนวน 16 ชนิด ซึ่งข้อมูลที่ได้บ่งบอกถึงคุณภาพน้ำและความเสี่ยงต่อการเกิดโรคติดต่อที่มีน้ำเป็นสื่อกลางการแพร่กระจายเชื้อโรคในชุมชนจังหวัดพิษณุโลก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก ที่สนับสนุนเครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ภัทรลณี ภัทรโกศล .(2550). วิทยาศาสตร์ธรรมชาติ. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลิทธิชัย ต้นธนะสฤกษ์.2549. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับคุณภาพน้ำ.กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วีระชัย ไชศรีวิญญู .(2530). เทคนิคการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำด้านแบคทีเรีย. กรุงเทพฯ : โอ. เอส. พรินติ้งเฮาส์.

Linda M. Whiteford. (2004). Cholera and other Waterborne disease (Health and Illness in the World's Cultures Volume I: Topics Volume II: Cultures). Springer US

Rompré A, Servais P, Baudart J, de-Roubin MR,

Laurent P. (2002). Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. J Microbiol Methods. 49, 31-54.

Leclerc H, Schwartzbrod L, Dei-Cas E. (2002). Microbial agents associated with waterborne diseases. Crit Rev Microbiol. 28, 371-409.

Vollaard AM, Ali S, van Asten HA, Widjaja S, Visser LG, Surjadi C, et al. (2004). Risk factors for typhoid and paratyphoid fever in Jakarta, Indonesia. JAMA. 291, 2607-15.

Payment, P., Richardson, L., Siemiatycki, J., Dewar, R., Edwardes, M., Franco, E., 1991. A randomized trial to evaluate the risk of gastrointestinal disease due to consumption of drinking water meeting current microbiological standards. Am. J. Public Health.81, 703-708.

Hall, G. S. (1995). In C. R. Mahon & G. Manuselis (Eds.), Nonfermenting gram-negative bacilli and miscellaneous gram-negative: Textbook of diagnostic microbiology. Pennsylvania: WB Saunders Company.

Gofti, L., Zmirou, D., Murandi, F.S., Hartemann, P., Poletton, J.L., 1999. Waterborne microbiological risk assessment: a state of the art and perspectives. Rev. Epidemiol. Santé Publi. 47, 61-75.

Broouni, A., Liu, S., & Lewis, K. (2000). A dose-response study of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Antimicrobial Agents and chemotherapy,44(3), 640-646.

Bhunia R, Hutin Y, Ramakrishnan R, Pal N, Sen T, Murhekar M. (2009). A typhoid fever outbreak in a slum of South Dum Dum municipality, West Bengal, India, 2007: evidence for foodborne and waterborne transmission. BMC Public Health. 2, 9:115.

Sharma PK, Ramakrishnan R, Hutin Y, Manickam P, Gupte MD. (2009). Risk factors for typhoid in Darjeeling, West Bengal, India: evidence for practical action. Trop Med Int Health. 14, 696-702.

Saha T, Murhekar M, Hutin YJ, Ramamurthy T. (2009). An urban, water-borne outbreak of diarrhoea

- and shigellosis in a district town in eastern India. *Nat Med J India.* 22, 237-9.
- An, Y.-J., Kampbell, D. H., & Breidenbach, G. P. (2002). *Escherichia coli* and total coliforms in water and sediments at lake marinas. *Environmental Pollution*, 120(3), 771-778.
- Jamieson, J. C., Joy, D. M., Lee, H., Kostaschuk, R., & Gordon, R. J. (2005). Resuspension of sediment-associated *Escherichia coli* in a natural stream. *Journal of Environmental Quality*, 34, 581-589.
- Marshall, K. C. (2000). In C. J. Hurst, G. R. Knudsen, M. J. McInnerney, L. D. M. Stetzenbach, & V. Walter (Eds.), *Colonization, adhesion, and biofilms: Manual of environmental microbiology*. Washington: American Society for Microbiology.
- Walker JT, Bradshaw DJ, Finney M, Fulford MR, Frandsen E, Østergaard E, et al., (2004). Microbiological evaluation of dental unit water systems in general dental practice in Europe. *Eur J Oral Sci.* 2004. 112, 412-8.
- Travis PB, Goodman KJ, O'Rourke KM, Groves FD, Sinha D, Nicholas JS, et al. (2010). The association of drinking water quality and sewage disposal with *Helicobacter pylori* incidence in infants: the potential role of water-borne transmission. *J Water Health.* 8, 192-203.
- Kovačić A, Tripković I, Galov A, Zitko T. (2010). Distribution of microbiological indicators of fecal pollution in the riverine substrates. *Environ Monit Assess.* [Epub ahead of print]
- Dancer SJ, White L, Robertson C. (2008). Monitoring environmental cleanliness on two surgical wards. *Int J Environ Health Res.* 18, 357-64.
- Jonathan A, Patz JA, Vavrus SJ, Uejio CK, McLellan SL. (2008). Climate change and waterborne disease risk in the Great Lakes region of the U.S. *Am J Prev Med.* 35, 451-8.
- Schets et al., (2008). Monitoring of waterborne pathogens in surface waters in Amsterdam, The Netherlands, and the potential health risk associated with exposure to *Cryptosporidium* and *Giardia* in these waters. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.* 74, 2069-2078.
- World Health Organization, (2003). *Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1: coastal and fresh water.* World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Craun GF, Calderon RL, Craun MF. (2005). Outbreaks associated with recreational water in the United States. *Int J Environ Health Res.* 15, 243-62.
- Karanis P, Plutzer J, Halim NA, Igori K, Nagasawa H, Ongerth J, et al. (2007). Molecular characterization of *Cryptosporidium* from animal sources in Qinghai province of China. *Parasitol Res.* 101, 1575-80.
- Tani, K., Kurokawa, K., Nasu, M. (1998). Development of a direct in situ PCR method for detection of specific bacteria in natural environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 1536-1540.
- Delabre, K., Dile, V., De Roubin, M.R., Gatel, D., Poty, F., Cavard, J. (2001). New analytical tools for distribution system surveillance. *Proceedings of AWWA-Annual Conference, Washington, DC.* American Water Works Association.