

ความชุกของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่แยกได้จากน้ำบริโภคในเขตสุขภาพที่ 9

Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in Drinking Water from Health Region 9

พงศ์พันธุ์ วัชรวิชานันท์*, พชรี อินธิยศ, กนกวรรณ แก้วเสนา, วัชรพล กาศย์พิมาย

Pongpan Watcharawichanan*, Patcharee Inthiyot, Kanokwan Kaewsena,

Watcharapol Kapphimai

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 9 นครราชสีมา

Regional Medical Sciences Center 9 Nakhon Ratchasima

*Corresponding author: pongpan.w@dmsc.mail.go.th

(Received: Oct 30, 2023 / Revised: Dec 7, 2023 / Accepted: Dec 15, 2023)

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจความชุกและประเมินคุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำบริโภคด้วยการตรวจวิเคราะห์ Coliforms bacteria, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ในตัวอย่างน้ำบริโภคที่ส่งตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 9 นครราชสีมา ในช่วงเดือนมกราคมถึงพฤษภาคม 2565 จากผู้ผลิตน้ำบริโภคบรรจุขวดและบรรจุถัง จำนวน 241 แห่ง ทำการศึกษาเพาะแยกเชื้อและทดสอบทางชีวเคมีตามวิธีมาตรฐาน APHA และ ISO ผลการศึกษาพบว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานด้านจุลชีววิทยา โดยตรวจพบเชื้อ Coliforms bacteria ร้อยละ 13.28 และเชื้อ *E. coli* ร้อยละ 1.66 ซึ่งเชื่อดังกล่าวเป็นจุลินทรีย์บ่งชี้สัญลักษณ์ของการผลิตที่ไม่เหมาะสม รวมถึงตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ร้อยละ 19.50 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ Coliforms bacteria อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ 12 ชนิด ใน *P. aeruginosa* จำนวน 28 isolates ด้วยวิธี Disc Agar Diffusion พบว่า มี 22 isolates ไวต่อยา ได้แก่ amikacin, gentamicin, tobramycin, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, levofloxacin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, imipenem, meropenem, colistin มี 3 isolates ให้ผลก้ำกึ่งต่อยา ceftazidime และ cefepime เฉพาะยา cefepime จำนวน 2 isolates และ Ceftazidime จำนวน 1 isolate และได้ทดสอบหาค่า MIC ในตัวอย่างที่มีผลยับยั้งหรือผลก้ำกึ่งต่อยา พบว่าเชื้อทั้ง 5 isolates ไวต่อยา ได้แก่ amikacin, gentamicin, cefepime, ciprofloxacin, piperacillin/tazobactam, meropenem, colistin และดื้อต่อยา imipenem ทั้งนี้ได้ทดสอบกับสารสกัดสมุนไพรน้ำมะขามระเหยกลิ่นพลู (*Syzygium aromaticum*) โดยมีค่า MIC และ MBC

เท่ากับ 2.56 mg/mL และสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้าง (*Stephania suberosa*) เท่ากับ 5.12 และ 10.24 mg/mL ตามลำดับ จากผลการตรวจสอบครั้งนี้สามารถนำไปรายงานให้ทราบถึงแนวโน้มการดื้อยาในน้ำบริโภค ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการดำเนินการเพื่อเฝ้าระวัง ติดตาม และควบคุมความเสี่ยงจากการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว รวมถึงการใช้สารสกัดจากสมุนไพรจากพริกไทย ซึ่งมียุทธียับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* จากน้ำบริโภคได้ดี โดยสามารถนำสารสกัดดังกล่าว มาใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะเพื่อลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะได้ต่อไป

คำสำคัญ: เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, น้ำบริโภค, การดื้อยาปฏิชีวนะ

Abstract

The study aimed to investigate the prevalence and evaluate the microbiological quality of drinking water through the analysis of Coliform bacteria, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* in samples sourced from producers of bottled and containerized drinking water. A total of 241 samples were collected in Health Region 9 between January and May 2022. Microbiological analyses were performed using standard procedures specified by the American Public Health Association (APHA) and the International Organization for Standardization (ISO) at the Regional Medical Sciences Center 9, Nakhon Ratchasima. The results of the microbiological quality revealed that the water did not pass the standard criteria level, as Coliform bacteria were detected at 13.28%, and *E. coli* was present at 1.66%. These findings indicated microbial contamination and inadequate production standards. *P. aeruginosa* was detected at 19.50%, showing a significant statistical association with Coliforms bacteria contamination ($p < 0.0001$). Sensitivity testing of 28 *P. aeruginosa* isolates using Disc Agar Diffusion for 12 antibiotics showed that 22 isolates were sensitive to amikacin, gentamicin, tobramycin, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, levofloxacin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, imipenem, meropenem, and colistin. Three isolates exhibited intermediate resistance to ceftazidime and cefepime, with two isolates being resistant to cefepime only, and one isolate resistant to ceftazidime only. MIC testing was conducted on isolates that exhibited either susceptibility or intermediate resistance to antibiotics. The results revealed that all five isolates were susceptible to amikacin, gentamicin, cefepime, ciprofloxacin, piperacillin/tazobactam, meropenem, and colistin. Additionally, the isolates showed resistance to imipenem. Moreover, MIC and MBC testing against extracts of *Syzygium aromaticum* showed values of 2.56 mg/mL, while *Stephania suberosa* demonstrated respective values of 5.12 mg/mL and

10.24 mg/mL. This study provides insights into antibiotic resistance in drinking water, contributing to the monitoring and control of contamination risks. Furthermore, the utilization of plant extracts, particularly from cloves (*S. aromaticum*), demonstrated significant inhibitory effects on *P. aeruginosa*, suggesting their potential use in combination with antibiotics to reduce antibiotic consumption in the future.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Drinking Water, Antibiotic resistance

บทนำ

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน มีการดำรงชีวิตแบบใช้ออกซิเจน (Obligate aerobe) พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม พืช สัตว์ คน เจริญได้แม้ในที่ที่มีสารอาหารจำกัด สามารถสร้างสารพิษ และเอนไซม์หลายชนิดที่ช่วยเพิ่มพูนแรงของเชื้อ เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่พบได้บ่อยและเป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสในโรงพยาบาล โดยที่เชื้อจะมีการเจริญและเพิ่มจำนวนอยู่ในบริเวณที่มีความชื้น หรืออุปกรณ์ทางการแพทย์ เช่น เครื่องช่วยหายใจ เชื้อ *P. aeruginosa* มักจะทำให้เกิดการติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีแผลบริเวณผิวหนัง แผลไฟไหม้ ผู้สูงอายุ ผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ หรือได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกายก็จะทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดและปอดอักเสบได้ง่าย⁽¹⁾ ทั้งนี้ *P. aeruginosa* ยังเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดร่างแหของจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะอยู่บนบริเวณพื้นผิว ซึ่งเรียกว่าไบโอฟิล์ม (Biofilm) ทำหน้าที่ผลิตและดักจับสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และจุลินทรีย์อื่นที่อยู่ในแหล่งน้ำนั้น เมื่อมีการเพิ่มความแรงของการไหลทำให้เกิดการชะจุลินทรีย์ในไบโอฟิล์มออกสู่ระบบผลิตน้ำบริโภคและไปสู่ผู้บริโภคได้⁽²⁾ และการกำจัดไบโอฟิล์มต้องใช้คลอรีนตกค้างในน้ำ 0.5 mg/l นาน 5 นาที ทั้งนี้เชื้ออาจเกาะติดพื้นผิวภายในท่อส่งน้ำจนเกิดการสร้างไบโอฟิล์มและเพิ่มจำนวนจนทำให้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อลดลง จากการศึกษาการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำแร่บรรจุขวด น้ำจากตู้หยอดเหรียญ และน้ำจากตู้กดน้ำเย็น พบการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ร้อยละ 19.1, 77.1 และ 42.1 ตามลำดับ และผลทดสอบทางสถิติพบว่า การปนเปื้อนเชื้อโคลิฟอร์ม (Coliforms bacteria เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบสามารถเจริญเติบโตได้ดีในที่ที่มีอากาศและไม่มีอากาศ) ในน้ำบริโภคมีความสัมพันธ์กับการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)⁽³⁾ ทั้งนี้เชื้อ *P. aeruginosa* มีการดื้อยาโดยธรรมชาติโดยเฉพาะยา beta-lactam (เป็นยาปฏิชีวนะที่มี beta-lactam ring อยู่ในโครงสร้างหลัก ซึ่งจำเป็นต่อการออกฤทธิ์ของยา ได้แก่ ยากลุ่ม penicillin กลุ่ม cephalosporin กลุ่ม monobactam กลุ่ม carbapenem) และยังสามารถในการรับคุณสมบัติการดื้อยาจากภายนอกเซลล์ได้ดี ทำให้เชื้อมีคุณสมบัติดื้อยาหลายขนาน จึงทำให้ผู้ป่วยมีอัตราการทุพพลภาพและอัตราการตายสูง เชื้อแบคทีเรียดื้อยา *P. aeruginosa* สามารถแพร่จากสิ่งแวดล้อมไปยังคนและสัตว์ได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาแนวโน้มการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียชนิดนี้อันจะนำไปสู่อันตรายอย่างยิ่งหากพบการปนเปื้อนของเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคและเป็นกลุ่มที่พบการดื้อยาปฏิชีวนะ⁽⁴⁾ การทราบถึงแนวโน้มการดื้อยาที่เกิดขึ้นในน้ำบริโภค เป็นข้อมูลให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องใช้กำหนดนโยบายและมาตรการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำบริโภคให้ปลอดภัยดื้อยาปนเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ และจะเป็นประโยชน์ในการดำเนินการวางแผนเพื่อเฝ้าระวัง ควบคุม ลดความเสี่ยงจากการดื้อยาที่อาจเกิดขึ้นได้ในเขตสุขภาพที่ 9

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความชุกและสถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อ Coliforms, *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค
3. เพื่อศึกษาแนวโน้มการดื้อยาปฏิชีวนะของ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากน้ำบริโภคในเขตสุขภาพที่ 9

วิธีดำเนินการวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงพรรณนาภาคตัดขวาง (Cross-sectional Descriptive Study) โดยวิธีปฏิบัติ การประชากรกลุ่มตัวอย่าง เป็นตัวอย่างน้ำบริโภค ในพื้นที่เขตสุขภาพที่ 9 นครชัยบุรินทร์ จำนวน 241 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำบริโภคบรรจุขวด 58 ตัวอย่าง และ น้ำบริโภคบรรจุถัง 183 ตัวอย่าง ใน 4 จังหวัด ได้แก่ บุรีรัมย์ นครราชสีมา ชัยภูมิ สุรินทร์และอื่นๆ จำนวน 179, 43, 6, 9 และ 5 ตัวอย่าง ตามลำดับ นำส่งโดย สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดและผู้ประกอบการเอกชน ที่ส่งตัวอย่างเพื่อตรวจสอบคุณภาพที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ การแพทย์ที่ 9 นครราชสีมา

เกณฑ์มาตรฐาน

1. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ.2524) เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท⁽⁵⁾ กำหนด MPN Coliforms/100 ml ต้อง น้อยกว่า 2.2 และไม่พบเชื้อ *E. coli*/100 ml

2. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 416 (พ.ศ.2563) เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลัก เกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ ของ อาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค⁽⁶⁾ กำหนดไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. /100 ml และ *S. aureus* CFU /100 ml ต้องไม่เกิน 100; CFU (Colony forming unit; เป็นหน่วยที่ได้จากวิธีตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์) /100 ml

3. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 199 (พ.ศ.2543) เรื่อง น้ำแร่ธรรมชาติ⁽⁷⁾ กำหนด *P. aeruginosa* ไม่พบ หรือน้อยกว่า 1 CFU/250 ml สมุนไพร ได้แก่ กานพลู (essential oil) กระชาย (essential oil) และ บอระเพ็ดพุงช้าง (crude extract)

สมุนไพร ได้แก่ กานพลู (essential oil) กระชาย (essential oil) และบอระเพ็ดพุงช้าง (crude extract)

วัสดุและอุปกรณ์ทดสอบยาปฏิชีวนะ

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar และ Mueller-Hinton broth

- แผ่นยาปฏิชีวนะสำเร็จรูปยี่ห้อ Himedia ขนาด 6 mm. จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ Amikacin 30 µg, Gentamicin 10 µg, Tobramycin 10 µg, Cefepime 30 µg, Ceftazidime 10 µg, Ciprofloxacin 5 µg, Levofloxacin 5 µg, Piperacillin 100 µg, Piperacillin/Tazobactam (100/10 µg), Imipenem 10 µg, Meropenem 10 µg, และ Colistin 10 µg

- HiMIC™ plate kit สำเร็จรูปยี่ห้อ Himedia จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ Amikacin, Gentamicin, Cefepime, Ceftazidime, Ciprofloxacin, Piperacillin/Tazobactam, Imipenem, Meropenem และ Colistin

การตรวจวิเคราะห์

1. การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ Coliforms

ใช้วิธีการ Most Probable Number (MPN technique) ตามวิธีการทดสอบ APHA 2017, 9221A-C⁽⁸⁾ ปิเปิดตัวอย่างที่เตรียมไว้ลงในหลอด LST broth ที่มีความเข้มข้น 2 เท่า หลอดละ 10 ml จำนวน 10 หลอด บ่มที่ 35±0.5 °C, 48±3 ชั่วโมง นำหลอดที่ ชุ่น หรือเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ มาถ่ายเชื้อจากแต่ละ หลอด 1 ลูป (loop; ห่วงเปียเชื้อ) ลงในหลอด BGLB broth หลอดต่อหลอด บ่มเพาะเชื้อที่ 35±0.5 °C, 48±3 ชั่วโมง สังเกตหลอด BGLB broth ที่ชุ่น และ เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ อ่านผลเป็นหลอดที่ให้ผลบวก นำไปอ่านค่าจากตาราง MPN รายงานผลเป็นค่า Coliforms MPN/100 ml

2. การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *E. coli*

ตรวจวิเคราะห์ตามวิธีการทดสอบ APHA 2017 (American Public Health Association), 9221A-B, E, G และ 9225 C-D⁽⁸⁾ ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากหลอด LST broth ที่ให้ผลบวกแต่ละหลอด 1 ลูป ลงใน EC broth

หลอดต่อหลอด บ่มเพาะเชื้อในอ่างน้ำ เเพาะเชื้อโคลิฟอร์มที่ 44.5 ± 0.2 °C, 24 ± 2 ชั่วโมง นำหลอดที่มีก๊าซในหลอดดักก๊าซ มาขีดแยกเชื้อบน MacConkey Agar บ่มที่ 35 ± 0.5 °C, 24 ± 3 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะเป็นโคโลนีสีแดง และอาจมีโซนขุนล้อมรอบ นำโคโลนีที่สงสัยใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี IMViC test ดังนี้

2.1 Tryptone water บ่มในอ่างน้ำร้อนที่ 44.5 ± 0.2 °C, 24 ± 2 ชั่วโมง ทดสอบการเกิด indole โดยหยด Kovac's reagent ถ้าเป็น *E. coli* จะเกิดชั้นสีแดงที่ส่วนบนของอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2 MR-VP broth จำนวน 2 หลอด บ่มเพาะเชื้อที่ 35 ± 0.5 °C, 48 ชั่วโมง หลอดที่ 1 ทดสอบ methyl red test โดยหยดน้ำยา methyl red ถ้าเป็น *E. coli* จะเกิดชั้นสีแดงที่ส่วนบนของอาหารเลี้ยงเชื้อ (ผลบวก) หลอดที่ 2 ทดสอบ Voges-Proskauer test โดยหยด 5% α -naphthol และ 40% KOH ถ้าเป็น *E. coli* จะไม่เกิดชั้นสีชมพูหรือสีแดงที่ส่วนบนของอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.3 ขีดแยกเชื้อบนผิวหน้าของ Simmons' citrate agar slant บ่มที่ 35 ± 0.5 °C, 48 ชั่วโมง ถ้าเป็น *E. coli* อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนสี และไม่มีการเจริญของเชื้อ

3. การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *S. aureus*

ตรวจวิเคราะห์ตามวิธีการทดสอบ APHA 2017, 9213B⁽⁸⁾ ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี membrane filtration โดยกรองตัวอย่างน้ำ 100 ml ด้วยแผ่นกรองขนาด pore size 0.22 μ m นำมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker agar บ่มที่ 35 ± 2 °C, 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีสีเทาถึงดำเรียบ มีโซนขุนรอบโคโลนี หลังจากนั้นจึงทดสอบ Coagulase และ Catalase test เพื่อยืนยันเชื้อ

4. การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Salmonella* spp.

ตรวจวิเคราะห์ตามวิธีการทดสอบ ISO:19250 (2010)⁽⁹⁾ ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี membrane filtration โดยกรองตัวอย่างน้ำ 100 ml ด้วยแผ่นกรองขนาด pore size 0.45 μ m นำมาวางในอาหารเลี้ยงเชื้อ Buffered peptone water บ่มที่ 36 ± 2 °C, 18 ชั่วโมง นำไปทำขั้นตอน enrichment in selective liquid medium, selection on agar media และการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีจากโคโลนีที่มีสีใส มี/ไม่มีจุดสีดำตรงกลางโคโลนี

5. การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *P. aeruginosa*

ตรวจวิเคราะห์ตามวิธีการทดสอบ ISO 16266: 2006⁽¹⁰⁾ ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี membrane filtration โดยกรองตัวอย่างน้ำ 250 ml ด้วยแผ่นกรองขนาด pore size 0.45 μ m นำมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Cetrimide agar with nalidixic acid บ่มที่ 36 ± 2 °C, 44 ± 4 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีสีฟ้า-ฟ้าอมเขียว และทำการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี

6. การทดสอบความไวของเชื้อ *P. aeruginosa* ต่อยาปฏิชีวนะ

ด้วยวิธี Disc Agar Diffusion โดยใช้แผ่นยาปฏิชีวนะสำเร็จรูปยี่ห้อ Himedia ขนาด 6 mm. จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ Amikacin 30 μ g, Gentamicin 10 μ g, Tobramycin 10 μ g, Cefepime 30 μ g, Ceftazidime 10 μ g, Ciprofloxacin 5 μ g, Levofloxacin 5 μ g, Piperacillin 100 μ g, Piperacillin/Tazobactam (100/10 μ g), Imipenem 10 μ g, Meropenem 10 μ g, และ Colistin 10 μ g โดยเลือกเชื้อมาทดสอบจำนวน 28 isolates (จุลินทรีย์ที่แยกมาเพาะเชื้อให้บริสุทธิ์มีเพียงจุลินทรีย์ชนิดเดียวสำหรับสังเกต/ทดสอบ) โดยการใช้การสุ่มแบบอนุกรมอนุรักษ (stratified random sampling) เพื่อให้แต่ละกลุ่ม isolates มีโอกาสเท่าๆ กันที่จะถูกเลือก

และเพาะเลี้ยงเชื้อและปรับค่าดูดกลืนแสงให้ได้ 0.08-0.13 absorbance นำมาทดสอบตามแบบ Kirby-Bauer method จำนวน 12 ชนิดยา อ่านผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone หน่วยเป็นมิลลิเมตร ทดสอบ 3 ซ้ำโดยแปลผลเทียบกับตารางมาตรฐานของ Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) ปี 2020⁽¹¹⁾

7. ทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้ง (Minimal inhibitory concentration, MIC) และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของยาและสารสกัดสมุนไพร

เลือกเชื้อ *P. aeruginosa* ที่มีผลการยับยั้งยั้งไวหรือผลกำกวมต่อยา Cefotaxime และ Cefepime จำนวน 5 isolates ทดสอบกับยา 9 ชนิด ทำการทดลองใน microtiter plate 96-well โดยหาได้จากการเจือจางยาและสารสกัดสมุนไพร ให้มีความเข้มข้นต่างกันใส่ลงไปในบ่มกับเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว แล้วบ่มในสภาวะที่เหมาะสมจากนั้นอ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) โดยสังเกตหลุมสุดท้ายที่ใสและไม่มีตะกอนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก้นหลุม สำหรับการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) จะทำต่อจากการหาค่า MIC โดยดูอาหารในหลุมที่ใสมาหยดลงบน agar plate แล้วบ่มในสภาวะที่เหมาะสมจากนั้นจึงอ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) ซึ่งคือความเข้มข้นต่ำสุดของตัวอย่างที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหน้าอาหาร)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้สถิติเชิงพรรณนาวิเคราะห์ข้อมูลในรูปจำนวนร้อยละ และสถิติเชิงอนุมานหาความสัมพันธ์

ของการปนเปื้อนเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคด้วยการทดสอบ Pearson's Chi-square ที่ระดับนัยสำคัญ 0.0001

ผลการศึกษา

1. สถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อ Coliforms, *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค

จากข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่างน้ำบริโภคทั้ง 241 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) พบว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานด้านจุลชีววิทยาจำนวน 32 ตัวอย่าง ร้อยละ 13.28 เนื่องจากตรวจพบเชื้อแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (ร้อยละ 13.28) รองลงมาคือ พบเชื้อ *E. coli* (ร้อยละ 1.66) ซึ่งจัดเป็นจุลินทรีย์บ่งชี้สุขลักษณะของการผลิตที่ไม่เหมาะสม และไม่พบเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษ *Salmonella* spp. และ *S. aureus* โดยมาตรฐานน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (2524) กำหนดให้โคลิฟอร์ม แบคทีเรีย มีปริมาณน้อยกว่า 2.2 MPN/100 mL และไม่พบ *E. coli* /100 mL และตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 416 (พ.ศ.2563) เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ ของอาหารด้านจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรค กำหนดให้ไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. /100 mL และ *S. aureus* CFU /100 mL ต้องไม่เกิน 100 จากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 241 ตัวอย่าง แบ่งเป็นน้ำบริโภคบรรจุขวด 58 ตัวอย่าง น้ำบริโภคบรรจุถัง 183 ตัวอย่าง และตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* จำนวน 47 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 19.50 จากจำนวนตัวอย่างน้ำบริโภคทั้งหมดจำนวน 241 ตัวอย่าง โดยแต่ละตัวอย่างเป็นตัวอย่างน้ำบริโภคจากผู้ผลิตคนละแห่ง จำนวน 241 แห่ง แบ่งเป็น น้ำบริโภคบรรจุขวด 58 ตัวอย่าง น้ำบริโภค

บรรจุถึง 183 ตัวอย่าง พบว่าใน 2 ตัวอย่าง มีปริมาณเชื้อมากกว่า 1,000 CFU/250 mL โดยมีค่า 2,300 และ 3,900 CFU/250 mL และจำนวนตัวอย่างที่พบปริมาณเชื้อ Coliforms (MPN/100

ml) มากกว่า 23 จำนวน 14 ตัวอย่าง ร้อยละ 5.81 และค่าระหว่าง 2.2-23 พบจำนวน 18 ตัวอย่าง ร้อยละ 7.47 ซึ่งทั้งสองช่วงเป็นค่าที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของน้ำบริโภคฯ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบเชื้อ Coliforms, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. และ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนที่ไม่ผ่านเกณฑ์ (%)	จำนวนสาเหตุที่ไม่ผ่านเกณฑ์ (%)				จำนวนพบเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> (%)
			Coliform	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>S. aureus</i>	
น้ำบริโภคบรรจุขวด	58	8 (13.79)	8 (13.79)	1 (1.72)	-	-	6 (10.34)
น้ำบริโภคบรรจุถัง	183	24 (13.11)	24 (13.11)	3 (1.64)	-	-	41 (13.79)
รวม	241	32 (13.28)	32 (13.28)	4 (1.66)	-	-	47 (19.50)

ตารางที่ 2 ระดับการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* กับ Coliforms bacteria ในน้ำบริโภค

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบปริมาณเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> (CFU/250 ml)					จำนวนตัวอย่างที่พบปริมาณเชื้อ Coliforms (MPN/100 ml)		
		<1	1-10	11-100	101-1,000	>1,000	<1.1	2.2-23	>23
น้ำบริโภคบรรจุขวด	58	52	4	1	1	0	50	3	5
น้ำบริโภคบรรจุถัง	183	142	21	14	4	2	159	15	9
รวมจำนวน (ร้อยละ)	241	194 (80.50)	25 (10.37)	15 (6.22)	5 (2.07)	2 (0.82)	209 (86.72)	18 (7.47)	14 (5.81)

หมายเหตุ: *P. aeruginosa* <1 ถือว่าไม่พบเชื้อ

2. ความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคน้ำ

เมื่อทดสอบสถิติหาความสัมพันธ์ระหว่างการพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคน้ำด้วย Pearson's Chi-square พบว่ามีค่า

p-value < 0.0001 แสดงว่าการตรวจพบเชื้อ Coliforms และ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคน้ำมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลทดสอบความสัมพันธ์ของการพบ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคน้ำ

ผลทดสอบ Coliforms	ผลทดสอบ <i>P. aeruginosa</i>		รวม	ผลทดสอบ Pearson's Chi-square
	พบ	ไม่พบ		
พบ	11 (35.5)	20 (64.5)	31 (100.0)	p < 0.0001
ไม่พบ	36 (17.3)	172 (82.7)	208 (100.0)	
รวม	47 (19.7)	192 (90.3)	239 (100.0)	

ผลการทดสอบความไวของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากน้ำบริโภคน้ำ โดยวิธี disc agar diffusion โดย Kirby-Bauer's method นำเชื้อจำนวน 28 isolates มาทดสอบเพื่อดูแนวโน้มในการดื้อยาปฏิชีวนะ ดังเช่น กลุ่มยา penicillin กลุ่มยา Cephalosporins กลุ่มยา Fluoroquinolones กลุ่มยา Carbapenems กลุ่มยา Aminoglycosides และกลุ่มยา Polymyxin มาทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะในรูปแบบ disc สำเร็จรูป ขนาด 6 mm. โดยตรวจวัด inhibition zone รอบแผ่นยา แล้ววัดความกว้างด้วยเวอร์เนีย และเปรียบ

เทียบกับตารางมาตรฐานของ Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) ปี 2020 พบว่าเชื้อ *P. aeruginosa* 22 isolates ไวต่อยา (sensitivity) amikacin, gentamicin, tobramycin, ceftazidime, ciprofloxacin, levofloxacin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, imipenem, meropenem, colistin ในขณะที่ยังไวหรือผลกำกึ่งต่อยา (susceptible, increased exposure) ได้แก่ ceftazidime และ cefepime จำนวน 3 isolates, cefepime จำนวน 2 isolates และ ceftazidime จำนวน 1 isolate (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การดื้อยาปฏิชีวนะ 12 ชนิดของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากน้ำบริโภคน้ำ จำนวน 28 isolates จำแนกตาม antibiotic class

Antibiotic class	Antibiotic (concentration)	จำนวนของเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> (%)		
		(n = 28)		
		S	I	R
Penicillin	Piperacillin (100 µg)	28 (100)	0 (0)	0 (0)
	Piperacillin-tazobactam (100/10 µg)	28 (100)	0 (0)	

Antibiotic class	Antibiotic (concentration)	จำนวนของเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> (%) (n = 28)		
		S	I	R
Cephalosporins	Ceftazidime (30 µg)	24 (85.71)	4 (14.29)	0 (0)
	Cefepime (30 µg)	23 (82.14)	5 (17.86)	
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin (5 µg)	28 (100)	0 (0)	0 (0)
	Levofloxacin (5 µg)		0 (0)	
Carbapenems	Imipenem (10 µg)	28 (100)	0 (0)	0 (0)
	Meropenem (10 µg)			
Aminoglycosides	Gentamicin (10 µg)	28 (100)	0 (0)	0 (0)
	Amikacin (30 µg)	28 (100)	0 (0)	0 (0)
	Tobramycin (10 µg)	28 (100)	0 (0)	0 (0)
Polymyxin	Colistin (5 µg)	28 (100)	0 (0)	0 (0)

S=susceptible (ผลไว), I=susceptible, increased exposure (ผลก้ำกึ่ง), R=resistant (ดื้อยา)

3. แนวโน้มการดื้อยาปฏิชีวนะของ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากน้ำบริโภคน้ำในเขตสุขภาพที่ 9

ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) พบว่าเชื้อทั้ง 5 isolates ไวต่อยา amikacin, gentamicin, cefepime, ciprofloxacin, piperacillin/tazobactam, meropenem, colistin และทั้ง 5 isolates ดื้อต่อยา imipenem ซึ่งมีค่า MIC มากกว่า 8 µg/ml (เป็นค่าสูงสุดที่ HiMIC™ plate kit สามารถอ่านผลได้) และมีเพียง isolates No. N262 มีผลที่ยังไวหรือผลก้ำกึ่งต่อยา cefepime ; MIC = 16 µg/ml (ตารางที่ 5) และจากผลการทดสอบเมื่อพิจารณาจากค่า MIC และ MBC จะเห็น

ได้ว่า เชื้อ *P. aeruginosa* ทั้ง 5 isolates มีความไวต่อสารสกัดสมุนไพรน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู (*Syzygium aromaticum* L.) โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 2.56 mg/ml และเมื่อพิจารณาสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้าง มีค่า MIC และ MBC คือ 5.12 และ 10.24 mg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากกระชาย (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf) มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ >10.24 mg/ml ซึ่งมีค่ามากกว่าระดับสูงสุดที่ผู้วิจัยได้ทดสอบ จึงอาจสรุปได้ว่าสารสกัดจากกานพลูมีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด รองลงมาคือ สารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้างที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากน้ำบริโภคน้ำ

ตารางที่ 5 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสมุนไพร 3 ชนิด และยาปฏิชีวนะ 9 ชนิดต่อเชื้อ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จำนวน 5 isolates

<i>P. aeruginosa</i>	SAE	BRE	SSE	GEN	IPM	CIP	AK	PTZ	CAZ	CPM	CL	MRP
isolate No.	(mg/ml)			(µg/ml)								
N6	2.56 ND	>10.24	5.12 ND	4 ^S	>8 ^R	0.25 ^S	4 ^S	4/4 ^S	2 ^S	4 ^S	2 ^S	0.25 ^S
N22	2.56 ND	>10.24	5.12 ND	4 ^S	>8 ^R	0.25 ^S	4 ^S	8/4 ^S	2 ^S	8 ^S	1 ^S	0.25 ^S
N80	2.56 ND	>10.24	5.12 ND	4 ^S	>8 ^R	0.25 ^S	4 ^S	4/4 ^S	2 ^S	8 ^S	2 ^S	0.125 ^S
N221	2.56 ND	>10.24	5.12 ND	4 ^S	>8 ^R	0.25 ^S	4 ^S	2/4 ^S	1 ^S	4 ^S	2 ^S	0.5 ^S
N262	2.56 ND	>10.24	5.12 ND	4 ^S	>8 ^R	0.25 ^S	4 ^S	4/4 ^S	2 ^S	16 ^I	2 ^S	0.125 ^S

ND = No data in CLSI breakpoint; ^S = susceptible, standard dosing regimen; ^I = susceptible, increased exposure; ^R = resistant; SAE = *Syzygium aromaticum* (L.) (essential oil); BRE = *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf (essential oil); SSE = *S. suberosa* (crude extract); Gentamicin (GEN) 10 µg, Imipenem (IPM) 10 µg, Ciprofloxacin (CIP) 5 µg, Amikacin (AK) 30 µg, Tobramycin (TOB) 10 µg, Ceftazidime (CAZ) 10 µg, Cefepime (CPM) 30 µg, Piperacillin (PI) 100 µg, Piperacillin/Tazobactam (PIT) 100/10 µg, Colistin (CL) 10 µg, Levofloxacin (LE) 5 µg, และ Meropenem (MEM) 10 µg

ตารางที่ 6 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ของสารสกัดสมุนไพร (MBC) ของสมุนไพร 3 ชนิด และยาปฏิชีวนะ 9 ชนิดต่อเชื้อ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จำนวน 5 isolates

<i>P. aeruginosa</i>	SAE	BRE	SSE	GEN	IPM	CIP	AK	PTZ	CAZ	CPM	CL	MRP
isolate No.	(mg/ml)			(µg/ml)								
N6	2.56	>10.24	10.24	8	>8	1.0	8	16/4	8	16	4	1.0
N22	2.56	>10.24	10.24	8	>8	1.0	16	16/4	4	16	4	0.5
N80	2.56	>10.24	10.24	4	>8	0.5	16	16/4	8	16	4	0.5
N221	2.56	>10.24	>10.24	16	>8	0.5	4	4/4	4	8	2	1.0
N262	2.56	>10.24	>10.24	4	>8	1.0	4	16/4	8	>32	4	0.5

SAE = *Syzygium aromaticum* (L.) (essential oil); BRE = *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf (essential oil); SSE = *S. suberosa* (crude extract); Gentamicin (GEN) 10 µg, Imipenem (IPM) 10 µg, Ciprofloxacin (CIP) 5 µg, Amikacin (AK) 30 µg, Tobramycin (TOB) 10 µg, Ceftazidime (CAZ) 10 µg, Cefepime (CPM) 30 µg, Piperacillin (PI) 100 µg, Piperacillin/Tazobactam (PIT) 100/10 µg, Colistin (CL) 10 µg, Levofloxacin (LE) 5 µg, และ Meropenem (MEM) 10 µg

สรุปและอภิปรายผล

การปนเปื้อนเชื้อ Coliforms, *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคและการศึกษาความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค ผลการศึกษาพบว่าน้ำบริโภคจำนวน 32 ตัวอย่าง (ร้อยละ 13.28) ไม่ผ่านเกณฑ์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 61 (พ.ศ.2524) เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท สาเหตุที่ไม่ผ่านเกณฑ์สูงที่สุดคือ Coliform bacteria (ร้อยละ 13.28) อธิบายได้ว่าเป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบสามารถเจริญเติบโตได้ดีในที่ที่มีอากาศและไม่มีอากาศ สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในน้ำได้นานกว่าจุลินทรีย์อื่นๆ แต่ไม่ทนความร้อน แบ่งตามแหล่งที่มาเป็น 2 ชนิด คือ ฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform) อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลื้อยคลาน ถูกขับถ่ายออกมากับอุจจาระ เมื่อเกิดการระบาดของโรคระบบทางเดินอาหาร จะพบแบคทีเรียชนิดนี้ และนั่นฟีคัลโคลิฟอร์ม (Non-fecal coliform) อาศัยอยู่ในดินและพืช มีอันตรายน้อยกว่าฟีคัลโคลิฟอร์ม ซึ่งการเจือปนของ Coliform bacteria สามารถบ่งชี้ถึงความไม่สะอาดของแหล่งน้ำได้และ Coliform bacteria มีความสัมพันธ์กับการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* สามารถอธิบายได้ว่า เชื้อ *P. aeruginosa* เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่มาจากการขับถ่าย ที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อหรือเกิดโรคในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เชื้อจุลินทรีย์นี้จะเข้าทำลายแผลไฟไหม้ แผลผ่าตัด ระบบทางเดินหายใจของผู้มีโรคประจำตัว เชื้อจะแทรกตัวเข้าสู่ร่างกายเป็นสาเหตุของรอยโรคที่ถูกทำลาย หรือการติดเชื้อในกระแสเลือด และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ผู้ป่วยโรคปอดเรื้อรัง ภูมิคุ้มกันบกพร่องจะไวต่อเชื้อนี้ ทำให้เกิดการติดเชื้อในปอดอย่างรุนแรง มักพบเชื้อชนิดนี้ปนเปื้อนในน้ำที่ไม่สะอาดเช่นเดียวกันกับการปนเปื้อน Coliform bacteria ส่งผลกระทบต่อ

สุขภาพผู้บริโภคและระบบสาธารณสุข

Yaser H. Tarazi และคณะ⁽¹²⁾ ได้ศึกษาการดื้อยาของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากน้ำบริโภคจำนวน 15 ตัวอย่าง พบว่าดื้อต่อยา amoxicillin, oxytetracycline และ doxycycline ร้อยละ 100, 93.3 และ 86.7% ตามลำดับ ทั้งนี้ยังมีรายงานของ Hamad AA และคณะ⁽¹³⁾ ได้ทำการศึกษาความชุกและการดื้อยาของ Coliforms bacteria และ *P. aeruginosa* ในตัวอย่างน้ำบรรจุขวดของประเทศอิรัก พบการปนเปื้อน Coliforms bacteria และ *P. aeruginosa* ร้อยละ 10.8 และ ร้อยละ 5 ลำดับ และตรวจสอบการดื้อยาของ *P. aeruginosa* พบว่ายังไวต่อยาที่ทดสอบ

รวมทั้งรายงานของ Ghorbani G และคณะ⁽¹⁴⁾ ที่ทำการตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมและทางฟีโนไทป์ของ Antibiotic resistance และ virulence factors ของ *P. aeruginosa* ที่ถูกแยกจากตัวอย่างน้ำในประเทศอิหร่าน ซึ่งไม่พบการดื้อต่อยา meropenem, imipenem, carbapenem, erythromycin, gentamicin, chloramphenicol, and enrofloxacin แต่พบ virulence gene ของ *P. aeruginosa* ได้แก่ *algD*, *lasB*, *toxA* และ *exoS* ซึ่งอาจทำให้เกิดการแพร่กระจายของ resistance genes เข้าสู่ food chain ทำให้ยากต่อการควบคุมเป็นอย่างยิ่ง

การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพพบว่าเชื้อ *P. aeruginosa* 22 isolates ไวต่อยา amikacin, gentamicin, tobramycin, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, levofloxacin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, Imipenem, meropenem, colistin ในขณะที่ยังไวหรือผลกำกวมต่อยา ceftazidime และ cefepime จำนวน 6 isolates และได้ทดสอบหาค่า MIC เพื่อยืนยันผลในตัวอย่างที่มีผลยังไว หรือผลกำกวมต่อยา พบว่าเชื้อทั้ง

5 isolates ไวต่อยา amikacin, gentamicin, cefepime, ciprofloxacin, piperacillin/tazobactam, meropenem, colistin และทั้ง 5 isolates คือต่อยา imipenem เพียงชนิดเดียวเท่านั้น สามารถอธิบายได้ว่า การติดเชื้อ *P. aeruginosa* รักษาได้ด้วยยาปฏิชีวนะบางชนิด ขณะที่การรักษาการติดเชื้อที่รุนแรงจะรักษาได้ยากกว่า เนื่องจากบางสายพันธุ์เป็นเชื้อที่ดื้อยา เนื่องจาก Imipenem เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Carbapenem ที่ออกฤทธิ์กว้างสามารถออกฤทธิ์ได้ครอบคลุมทั้งเชื้อแกรมบวกแกรมลบและเชื้อที่เจริญได้ในที่ไม่มีออกซิเจน ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสร้างผนังเซลล์โดยจับกับ penicillin-binding proteins ซึ่งเชื้อสามารถเกิดการดื้อยาได้โดยกลไกการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการจับของยา การที่พบเชื้อที่ดื้อต่อยา imipenem จะส่งผลกระทบต่อผู้ป่วยโรคและมีความสำคัญทางสาธารณสุข โดยก่อให้เกิดปัญหาในการรักษาการติดเชื้อชนิดนี้ด้วยยา imipenem ในขณะที่ยาชนิดอื่นๆยังสามารถใช้รักษาการติดเชื้อ *P. aeruginosa* ได้

การศึกษาแนวโน้มการดื้อยาปฏิชีวนะของ *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากน้ำบริโภคน้ำในเขตสุขภาพที่ 9 พบว่าการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า MIC และ MBC เท่ากันคือ 2.56 mg/ml ส่วนสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้างสามารถยับยั้งเชื้อได้รองลงมา มีค่า MIC และ MBC คือ 5.12 และ 10.24 mg/ml ตามลำดับ และน้ำมันหอมระเหยจากกระชายสามารถยับยั้งเชื้อได้น้อยที่สุด โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ มากกว่า 10.24 mg/ml ซึ่งเป็นค่าสูงสุดที่ได้ทำการทดสอบในครั้งนี้ อธิบายได้ว่า สอดคล้องกับการศึกษาของ Al-Mijalli⁽¹⁵⁾ การทดสอบการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ด้วยการใช้น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู โดยทำการสกัดจากใบและดอกตูม พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *P.*

aeruginosa ATCC 27853 ได้ที่ค่า MIC และ MBC เท่ากัน คือ 0.25 (%v/v) โดยมีผลต่อเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ทำให้เกิดการยับยั้ง quorum sensing factors การยับยั้งการเกิด biofilms ทำให้เกิดการรั่วของ cytoplasmic materials เช่น proteins และ DNA และการเพิ่มของ cell membrane permeability และการรบกวน proton-motive force

จากผลการตรวจสอบครั้งนี้สามารถนำไปรายงานให้ทราบถึงแนวโน้มการดื้อยาในน้ำบริโภค ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการดำเนินการเพื่อเฝ้าระวังควบคุม ลดความเสี่ยง และการใช้สารสกัดจากสมุนไพรกานพลูมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* จากน้ำบริโภคได้ดี สามารถนำมาใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะเพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะได้ต่อไป ช่วยลดอัตราการสร้างนวัตกรรมยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ที่มีประสิทธิภาพ ทั้งนี้ผู้บริโภคที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ ทารก เด็กเล็ก ผู้สูงอายุ หรือผู้ป่วย อาจจะสามารถติดเชื้อ *P. aeruginosa* ที่ดื้อยาจากการบริโภคน้ำดื่มได้ การรักษาโรคทำได้ยากยิ่งขึ้น อาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต ดังนั้นหน่วยงานของรัฐ เช่น สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดในพื้นที่จึงควรมีการเฝ้าระวังเชื้อ *P. aeruginosa* เพื่อป้องกันการเกิดโรค โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำบริโภคตรวจเฝ้าระวังการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* เพื่อจะได้ทราบถึงความชุกของแบคทีเรียชนิดนี้อันจะนำไปสู่อันตรายต่อผู้บริโภคได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพน้ำบริโภคและหาวิธีกำจัดเชื้อชนิดนี้ไม่ให้ปนเปื้อนไปสู่ผู้บริโภคอีกต่อไป

ข้อเสนอแนะ

- 1.เจ้าหน้าที่ผู้เกี่ยวข้องกับผู้บริโภคจะต้องมีการดำเนินงานให้ความรู้ และคำแนะนำต่อผู้ผลิตและผู้บริโภคน้ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ

ในเรื่องการจัดการ ใส่ใจเรื่องความสะอาด ให้ถูกสุขลักษณะ ตลอดจนสุขอนามัยของสถานประกอบการผู้ผลิตน้ำเพื่อการบริโภค ควรตระหนักถึงกระบวนการผลิต

2.หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีการตรวจตราอย่างต่อเนื่องสม่ำเสมอ เช่น ตรวจมาตรฐานแหล่งผลิต และดำเนินการเรื่องใบอนุญาตอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการควบคุมการบำบัดน้ำทิ้งของสถานประกอบการ การเก็บตัวอย่าง การสอบสวนหาแหล่งที่มา เช่น การปรับปรุงคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสม แหล่งประกอบการผลิตน้ำไม่ได้มาตรฐาน หรือการเกิดการรั่วของระบบการจ่ายน้ำ เป็นต้น

3.ผู้ประกอบการนำไปปรับปรุงมาตรฐานการผลิตน้ำดื่มให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค หาแนวทางการแก้ไขปรับปรุงคุณภาพน้ำที่พบว่าไม่ผ่านมาตรฐาน เนื่องจากหากติดเชื้อดื้อยาชนิดนี้จะทำให้การรักษายากยิ่งขึ้นตลอดจนควรมีการป้องกันไม่ให้เชื้อดื้อยาชนิดนี้ปนเปื้อนเข้าสู่สิ่งแวดล้อม รวมถึงควรมีการตรวจสอบการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงพยาบาลและตรวจสอบคุณภาพน้ำที่ผ่านการบำบัดก่อนปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณนางศศิธร สุกรีธา นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 9 นครราชสีมา ที่ช่วยให้คำปรึกษาและแนะนำตลอดจนเพื่อนร่วมงานทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการวิจัยจนทำให้สำเร็จลุล่วงไปได้

เอกสารอ้างอิง

1. พรธณิกา ฤทธิวิทย์. แบคทีเรียดื้อยา. พิมพ์ครั้งที่ 1. พิษณุโลก: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร; 2563.

2. Calero Preciado C, Boxall J, Soria-Carrasco V, Martínez S, Douterelo I. Implications of Climate Change: How Does Increased Water Temperature Influence Biofilm and Water Quality of Chlorinated Drinking Water Distribution Systems? *Front Microbiol.* 2021;12:658927.
3. กรุณา ตีรสมิทธิ์, ปิยมาศ แจ่มศรี, บัณฑูร พานิชกุล, อภิชาติ แก้วชื่นชัย, หนึ่งฤทัย กาญจนพันธ์. การปนเปื้อนเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในน้ำแร่บรรจุขวด น้ำบริโภคบรรจุขวด น้ำจากตู้หยอดเหรียญ และน้ำจากตู้กดน้ำเย็น. *วารสารอาหารและยา.* 2564;28 (2):66-75.
4. ชูตินันท์ คงสรินทร์. ฤทธิ์การยับยั้งของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่คัดแยกจากน้ำดื่มบรรจุขวด [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2557.
5. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 61) พ.ศ.2524 เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับที่ 98, ตอนที่ 157 (ลงวันที่ 24 กันยายน 2524).
6. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ.2563 เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 137, ตอนพิเศษ 237 ง (ลงวันที่ 2 กันยายน 2563).
7. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 199) พ.ศ. 2543 เรื่อง

น้ำแร่ธรรมชาติ. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับ
ประกาศทั่วไป เล่มที่ 118, ตอนพิเศษ 6 ง
(ลงวันที่ 24 มกราคม 2544).

8. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100. 30th ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.
9. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Standard methods for the Examination of water and wastewater. 23rd ed. Washington DC: American Public Health Association; 2017.
10. International Organization for Standardization. Water quality Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* Method by membrane filtration [Internet]. 2006 [cited 2022 April 26]. Available from: <https://www.iso.org/standard/39272.html>.
11. International Organization for Standardization. Water quality - detection of *Salmonella* spp. [Internet]. 2010 [cited 2022 April 26]. Available from: <https://www.iso.org/standard/43448.html>.
12. Tarazi YH, Abu-Basha E, Ismail ZB, Al-Jawasreh SI. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from drinking water and hospitalized patients in Jordan. *Acta Trop*. 2021;217:105859.
13. Hamad AA, Sharaf M, Hamza MA, Selim S, Hetta HF, El-Kazzaz W. Investigation of the Bacterial Contamination and Antibiotic Susceptibility Profile of Bacteria Isolated from Bottled Drinking Water. *Microbiol Spectr*. 2022;10(1):e0151621.
14. Ghorbani G, Rahimi E, Shakerian A. Antibiotic resistance's Genotypic and Phenotypic Characteristics and the Frequency of Virulence Factors in *P. aeruginosa* Isolates Isolated from Water Samples in Iran. *Biomed Res Int*. 2022;2022:7076433.
15. Al-Mijalli SH, El Hachlafi N, Abdallah EM, Jeddi M, Assaggaf H, Qasem A, et al. Exploring the antibacterial mechanisms of chemically characterized essential oils from leaves and buds of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Industrial Crops and Products*. 2023;205:117561.