วารสารอาหารและยา THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
ปีที่ 28 ฉบับที่ 2 (2564): พฤษภาคม - สิงหาคม Vol. 28 No. 2 (2021): May - August
https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index

การปนเปื้อนเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในน้ำแร่บรรจุขวด น้ำบริโภคบรรจุขวด น้ำจากตู้หยอดเหรียญ และน้ำจากตู้กดน้ำเย็น

กรุณา ตีรสมิทธ์[1] **ปิยมาศ แจ่มศรี**[1] **บัณฑูร พานิชกุล**[1] **อภิชาติ แก้วชื่นชัย**[1] **หนึ่งฤทัย กาญจนพันธ์**[1]

[1]สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ที่อยู่ติดต่อ: กรุณา ตีรสมิทธ์ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000 karuna.t@dmsc.mail.go.th

Contamination of *Pseudomonas aeruginosa* in Bottled Mineral Water, Bottled Drinking Water, Vending Machine Water, and Dispenser Cold Water

Karuna Teerasamit[1], **Piyamas Jamsri**[1], **Bantoon Panichakul**[1], **Apichart Kaewchuenchai**[1], **Nuengrutai Kanjanaphun**[1]

[1]Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Nonthaburi, Thailand
Contact address: Karuna Teerasamit, Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanon Road, Mueang District, Nonthaburi, 11000, Thailand, karuna.t@dmsc.mail.go.th

Received: 5 May 2020, **Revised:** 28 September 2020, **Accepted:** 2 November 2020

Abstract

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen that can cause an infection or diseases in the low immunity people. It can contaminate in drinking water. Currently, the standard of drinking water in Thailand does not specify the detection of *P. aeruginosa*.

Objectives: To studied a situation of Coliforms, E. coli, *P. aeruginosa* and an incident relationship between Coliforms and *aeruginosa* in drinking water.

Methods: This research studied the *P. aeruginosa* contamination in 4 types of drinking water that included: bottled mineral water, bottled drinking water, vending machine water, and dispenser cold water in Bangkok, metropolitan, and other areas. Also, it included an examination of coliforms and *E. coli*, which are an indicator of production hygiene and specific in drinking water standards. Furthermore, the research discovered a relation between coliforms and *P. aeruginosa* in drinking water. Total 91 drinking water samples were analysed in laboratory.

Results: The results showed that the bottled mineral water did not contain any pathogen, whereas the bottled drinking water, drinking water form vending machine for drinking water, and dispenser cold water contaminated coliforms and *E. coli* at 4.8, 14.3 and 15.8%, respectively, and contaminated *P. aeruginosa* by 19.1, 77.1 and 42.1%, respectively. Statistic test study showed that contamination of detection of coliforms and *P. aeruginosa* in drinking water was significantly related ($p<0.05$).

Conclusions: Drinking water that was not mineral water was contaminated with *P. aeruginosa* and the contamination related to Coliforms appearances. The low immunity people, infants, small children, elderly, or patients are able to infect *P. aeruginosa* easily from drinking water. As a result, the government agencies such as the Thai Food and Drug Administration should collect each drinking water types to monitor the surveillance on *P. aeruginosa* contamination in drinking water, as well as, the local authorities should launch requirements to control the services of vending machine water and mandate to dispenser cold water or vending machine water entrepreneurs take correctly maintenance the machines.

Key word: *Pseudomonas aeruginosa*, bottled mineral water, bottled drinking water, vending machine water, dispenser cold water

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: *Pseudomonas aeruginosa* เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อหรือเกิดโรคในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำสามารถปนเปื้อนได้ในน้ำบริโภค ปัจจุบันมาตรฐานน้ำบริโภคในประเทศไทยไม่ได้กำหนดให้ตรวจเชื้อ *P. aeruginosa*

วัตถุประสงค์: เพื่อทราบสถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อ Coliforms, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค และศึกษาความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค

วิธีการวิจัย: งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค 4 ประเภท ได้แก่ น้ำแร่บรรจุขวด น้ำบริโภคบรรจุขวด น้ำตู้หยอดเหรียญ และน้ำจากตู้กดน้ำเย็น ในกรุงเทพมหานคร ปริมณฑล และอื่น ๆ รวมทั้งตรวจหาเชื้อ Coliforms และ *E. coli* ที่เป็นแบคทีเรียบ่งชี้สุขลักษณะในการผลิตและถูกกำหนดในมาตรฐานน้ำบริโภค นอกจากนี้ ได้หาความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค โดยตรวจวิเคราะห์น้ำบริโภค 91 ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษา: พบว่าน้ำแร่บรรจุขวดไม่พบการปนเปื้อนเชื้อทั้ง 3 ชนิด ส่วนน้ำบริโภคบรรจุขวด น้ำตู้หยอดเหรียญ และน้ำจากตู้กดน้ำเย็น ไม่ผ่านเกณฑ์เชื้อ Coliforms และ *E. coli* ร้อยละ 4.8, 14.3 และ 15.8 ตามลำดับ และพบการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ร้อยละ 19.1, 77.1 และ 42.1 ตามลำดับ ผลทดสอบทางสถิติพบว่าการปนเปื้อนเชื้อ Coliforms ในน้ำบริโภคมีความสัมพันธ์กับการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สรุป: น้ำดื่มที่มิใช่น้ำแร่มีการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* และการปนเปื้อนมีความสัมพันธ์กับการพบเชื้อ Coliforms ดังนั้น ผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ ทารก เด็กเล็ก ผู้สูงอายุ หรือผู้ป่วย สามารถติดเชื้อ *P. aeruginosa* จากการบริโภคน้ำดื่มได้ง่าย จึงควรมีการเฝ้าระวัง เชื้อ *P. aeruginosa* เพื่อป้องกันการเกิดโรค โดยหน่วยงานของรัฐ เช่น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เก็บตัวอย่างน้ำบริโภคแต่ละชนิดตรวจเฝ้าระวังการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* และราชการส่วนท้องถิ่นดำเนินการออกข้อกำหนดควบคุมการให้บริการตู้น้ำหยอดเหรียญ และบังคับใช้ ให้ผู้ประกอบกิจการน้ำบริโภคหรือเจ้าของสถานที่บริการตู้กดน้ำเย็นต้องมีการบำรุงรักษาเครื่องอย่างถูกวิธี

คำสำคัญ: *Pseudomonas aeruginosa* น้ำแร่บรรจุขวด น้ำบริโภคบรรจุขวด น้ำตู้หยอดเหรียญ น้ำจากตู้กดน้ำเย็น

บทนำ

เชื้อ *P. aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ และเคลื่อนที่ได้ พบทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ อุจจาระ และบนพื้นผิววัสดุอินทรีย์ที่สัมผัสน้ำ[1] สามารถก่อโรคได้ทั้งในพืช สัตว์ และคน เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น ทารก เด็กเล็ก ผู้สูงอายุ หรือผู้ป่วยที่พักในโรงพยาบาล ทำให้เกิดการติดเชื้อที่บาดแผล ระบบทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจ ทางเดินปัสสาวะ หรือในกระแสเลือด ส่วนในผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรงอาจเกิดการติดเชื้อที่ตา หู และการอักเสบที่รูขุมขน[2] เชื้อนี้สามารถดื้อยาปฏิชีวนะสูงมากเป็นปัญหาสำคัญที่ยากต่อการรักษา กลไกการติดเชื้อ *P. aeruginosa* ในคน มี 3 ขั้น คือ (1) การเกาะติดกับเยื่อบุผิว (2) เพิ่มจำนวน (3) เกิดการติดเชื้อเฉพาะที่หรือแบบแพร่กระจาย ปัจจัยที่ทำให้เชื้อมีความรุนแรง คือ การมี pili การสร้าง protease 2 ชนิด คือ elastase และ alkaline phosphatase การสร้าง cytotoxin และ hemolysin 2 ชนิด คือ phospholipase และ lecithinase การสร้างเม็ดสี pyocyanin และสารพิษ คือ exoenzyme S และ exotoxin A รวมถึงการสร้างแคปซูลและ lipopoly saccharide[3] ซึ่งความรุนแรงของโรคขึ้นกับสภาพร่างกายของผู้ได้รับเชื้อ การก่อให้เกิดโรคโดยเชื้อ *P. aeruginosa* นั้นมีน้ำเป็นสื่อ ร่างกายสามารถรับเชื้อทางตรงผ่านทางการสัมผัสน้ำ การบริโภค การสูดละอองน้ำ หรือทางอ้อมผ่านทางมือของผู้ที่สัมผัสพื้นผิวสิ่งแวดล้อมที่ชื้น[4]

แม้ว่าการก่อให้เกิดโรคโดยเชื้อ *P. aeruginosa* ส่วนใหญ่จะเกิดการติดเชื้อจากโรงพยาบาล แต่ปัจจัยหนึ่งที่ประชาชนมีโอกาสติดเชื้อ ได้แก่ น้ำบริโภค โดยมีข้อมูลพบว่าการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคบรรจุขวดมีความเสี่ยงที่จะก่ออันตรายกับผู้ป่วยในโรงพยาบาลที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่นในประเทศเยอรมันตรวจพบการระบาดของเชื้อในน้ำบรรจุขวดภายในห้องพักผู้ป่วยหนักในโรงพยาบาล[5] เมื่อพิจารณาถึงการควบคุมคุณภาพน้ำของประเทศไทย มีการควบคุมน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท น้ำแร่ธรรมชาติและน้ำบริโภคจากตู้น้ำดื่มอัตโนมัติ โดยได้กำหนดเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาเฉพาะเชื้อ Coliforms, *E. coli* และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค 2 ชนิด คือ *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* ส่วน *P. aeruginosa* ไม่ได้กำหนด และสำหรับน้ำจากตู้กดน้ำเย็นที่ไม่มีวัตถุประสงค์เพื่อจำหน่ายนั้นไม่มีเกณฑ์กำหนดคุณภาพน้ำ และไม่เข้าข่ายตาม พ.ร.บ.อาหาร พ.ศ. 2522 ที่กำหนดให้การผลิตหรือนำเข้าอาหารเพื่อจำหน่ายต้องได้รับอนุญาต ในขณะที่สหภาพยุโรป กำหนดให้ไม่พบ *P. aeruginosa* ในน้ำแร่ และไม่อนุญาตให้มีกระบวนการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำแร่ธรรมชาติ[6] เพราะอาจตรวจพบ *Pseudomonas* spp. ได้ในน้ำใต้ดิน

เนื่องจากประเทศไทยยังไม่มีเกณฑ์กำหนดเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค ทำให้การสำรวจคุณภาพน้ำบริโภคในประเทศไม่มีการตรวจหา *P. aeruginosa* แต่เชื้อนี้เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่สามารถทำให้เกิดการแพร่ระบาดและเกิดโรคได้ คณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำแร่บรรจุขวด น้ำบริโภคบรรจุขวด น้ำตู้หยอดเหรียญ และน้ำจากตู้กดน้ำเย็น เพื่อทราบสถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อ Coliforms, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคที่มีกฎหมายควบคุม คือ น้ำแร่บรรจุขวด น้ำบริโภคบรรจุขวด น้ำตู้หยอดเหรียญ กับน้ำจากตู้กดน้ำเย็นที่ยังไม่มีกฎหมายควบคุม และได้ทดสอบทางสถิติหาความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ Coliforms กับเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำ เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค เพื่อให้ผู้บริโภคในกลุ่มเสี่ยงปลอดภัยจากการติดเชื้อ เนื่องจากยังไม่มีกฎหมายกำหนดสำหรับเชื้อนี้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบสถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อ Coliforms, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค

ระเบียบวิธีการวิจัย

วิธีการวิจัย

เป็นการวิจัยแบบเชิงสำรวจโดยวิธีปฏิบัติการ

ประชากรกลุ่มตัวอย่าง

เป็นตัวอย่างน้ำบริโภคในพื้นที่กรุงเทพมหานครปริมณฑล และอื่น ๆ จำนวน 91 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำแร่บรรจุขวด และน้ำบริโภคบรรจุขวด นำส่งโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และผู้ประกอบการเอกชนที่ส่งตัวอย่างเพื่อตรวจสอบคุณภาพ ส่วนน้ำตู้หยอดเหรียญ และน้ำจากตู้กดน้ำเย็น โดยทีมคณะผู้วิจัย ตัวอย่างทั้งหมดถูกส่งตรวจวิเคราะห์ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข และจากความต้องการทราบการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ผู้วิจัยจึงได้ทำการตรวจเชื้อ *P. aeruginosa* เพิ่มเติมจากข้อกำหนด ดังนั้นทุกตัวอย่างจึงตรวจหาเชื้อ Coliforms, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ในเวลาเดียวกัน

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ อ่างน้ำเพาะเชื้อโคลิฟอร์ม ตู้อบเพาะเชื้อ ชุดกรองเมมเบรนพร้อมเครื่องดูดสุญญากาศ เครื่องนับโคโลนี เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ปิเปต แผ่นกรองเมมเบรนปราศจากเชื้อ จานเพาะเชื้อ หลอดทดลอง ปากคีบ ห่วงและเข็มเขี่ยเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบ Coliforms และ *E. coli* ได้แก่ lauryl tryptose (LST) broth, brilliant green lactose bile (BGLB) broth, EC broth, MacConkey agar, Simmons, citrate agar, tryptone water และ MR-VP broth

อาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบ *P. aeruginosa* คือ Rapid *P. aeruginosa* agar ยี่ห้อ BIO-RAD ผู้ผลิต Bio-Rad Laboratories, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

น้ำยาและสารเคมีทดสอบ *E. coli* ได้แก่ Kovac's reagent, methyl red, α-napthol, 40% potassium hydroxide (40% KOH)

การตรวจวิเคราะห์

1. Coliforms ตามเอกสารอ้างอิง APHA 2017, 9221A-C[7] ปิเปตตัวอย่างที่เตรียมไว้ลงในหลอด LST broth ที่มีความเข้มข้น 2 เท่า หลอดละ 10 ml จำนวน 10 หลอด บ่มที่ 35±0.5 °C, 48±3 ชั่วโมง นำหลอดที่ขุ่น หรือเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ มาถ่ายเชื้อจากแต่ละหลอด 1 ลูป (loop) ลงในหลอด BGLB broth หลอดต่อหลอด บ่มเพาะเชื้อที่ 35±0.5 °C, 48±3 ชั่วโมง สังเกตหลอด BGLB broth ที่ขุ่น และเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ อ่านผลเป็นหลอดที่ให้ผลบวก นำไปอ่านค่าจากตาราง MPN รายงานผลเป็นค่า Coliforms MPN/100 ml

2. *E. coli* ตามเอกสารอ้างอิง APHA 2017, 9221A-B, E, G และ 9225 C-D[7] ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากหลอด LST broth ที่ให้ผลบวกแต่ละหลอด 1 ลูป ลงใน EC broth หลอดต่อหลอด บ่มเพาะเชื้อในอ่างน้ำเพาะเชื้อโคลิฟอร์มที่ 44.5±0.2 °C, 24±2 ชั่วโมง นำหลอดที่มีก๊าซในหลอดดักก๊าซ มาขีดแยกเชื้อบน MacConkey Agar บ่มที่ 35±0.5 °C, 24±3 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะเป็นโคโลนีสีแดง และอาจมีโซนขุ่นล้อมรอบ 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-napthol และ 40% KOH ถ้าเป็น *E. coli* จะไม่เกิดชั้นสีชมพูหรือสีแดงที่ส่วนบนของอาหารเลี้ยงเชื้อ

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

3. *P. aeruginosa* ตามเอกสาร BIO-RAD[8], Certified NF Validation โดยกรองตัวอย่างน้ำ

250 ml นำแผ่นกรองมาวางบนจานเพาะเชื้อ Rapid *P. aeruginosa* agar บ่มที่ 36±2 ºC, 22±30 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีสีฟ้า-ฟ้าอมเขียว

เกณฑ์มาตรฐาน

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524) เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท[9]

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 199 (พ.ศ. 2543) เรื่อง น้ำแร่ธรรมชาติ[10]

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 362 (พ.ศ. 2556) เรื่อง น้ำบริโภคจากตู้น้ำดื่มอัตโนมัติ[11]

น้ำจากตู้กดน้ำเย็นใช้เกณฑ์น้ำบริโภคจากตู้น้ำดื่มอัตโนมัติ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 362 (พ.ศ. 2556)[11]

กำหนด MPN Coliforms/100 ml ต้องน้อยกว่า 2.2 และไม่พบเชื้อ *E. coli*/100 ml

P. aeruginosa ไม่พบ หรือน้อยกว่า 1 CFU/250 ml

การรวบรวมข้อมูล

ดำเนินการในช่วงเดือนมกราคม-พฤษภาคม 2561 ยกเว้นตู้กดน้ำเย็น ดำเนินการในเดือนกันยายน 2562 โดยจำแนกตัวอย่างเป็น

1. น้ำแร่ธรรมชาติ 16 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างนำเข้าจากต่างประเทศ 6 ประเทศ คือ ออสเตรีย ไอซ์แลนด์ รัสเซีย เกาหลีใต้ ไต้หวัน อย่างละ 1 ตัวอย่าง และอิตาลี 3 ตัวอย่าง และน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ จำนวน 8 ยี่ห้อ/ตัวอย่าง จาก 5 ผู้ผลิต 5 จังหวัด (มี 2 ผู้ผลิต ที่ผลิตหลายยี่ห้อ)

2. น้ำบริโภคบรรจุขวด 21 ตัวอย่าง จาก 20 ยี่ห้อที่ผลิตใน 9 จังหวัด ได้แก่ นนทบุรี กรุงเทพฯ สระบุรี จำนวน 6, 5 และ 4 ตัวอย่าง ตามลำดับ และปทุมธานี อยุธยา สุพรรณบุรี นครนายก ชลบุรี และสมุทรสาคร จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ซึ่งในจำนวนที่เก็บตัวอย่างมี 2 ตัวอย่างที่เก็บตามโครงการน้ำดื่มประชารัฐโดยกระทรวงสาธารณสุขปีงบประมาณ 2561

3. น้ำตู้หยอดเหรียญหรือน้ำบริโภคจากตู้น้ำดื่มอัตโนมัติ 35 ตัวอย่าง จาก 5 อำเภอในจังหวัดนนทบุรีภายใต้โครงการน้ำดื่มประชารัฐโดยกระทรวงสาธารณสุขปีงบประมาณ 2561 จำแนกเป็น 2 ประเภท คือ (1) ตู้น้ำหยอดเหรียญทั่วไปที่มีระบบปรับคุณภาพน้ำอยู่ภายในตู้ จำนวน 27 ตู้ ๆ ละ 1 ตัวอย่าง และ (2) ตู้น้ำที่มีช่องหยอดเหรียญและระบบปรับคุณภาพน้ำไม่ได้อยู่ภายในตู้ แต่แยกอยู่ภายในอาคาร จำนวน 8 ตู้ ตู้ละ 1 ตัวอย่าง การเก็บตัวอย่างใช้วิธีทำความสะอาดหัวจ่ายน้ำแล้วปล่อยน้ำทิ้งสักครู่ ก่อนเก็บใส่ขวดปราศจากเชื้อ ในปริมาตร 500 ml

4. น้ำจากตู้กดน้ำเย็นภายในโรงอาหารของกระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี 8 หน่วยงาน จำนวน 19 ตัวอย่าง วิธีเก็บตัวอย่างเช่นเดียวกับน้ำตู้หยอดเหรียญ จำแนกเป็น 2 รูปแบบ คือ (1) ตู้กดน้ำเย็นที่มีป้ายแสดงกำหนดระยะเวลาบำรุงรักษา เช่น เปลี่ยนไส้กรอง หรือมีผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำ จำนวน 11 ตู้ และ (2) ตู้กดน้ำเย็นที่ไม่มีป้ายแสดงกำหนดระยะเวลาบำรุงรักษา จำนวน 8 ตู้

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้สถิติเชิงพรรณนาวิเคราะห์ข้อมูลในรูปจำนวน ร้อยละ และสถิติเชิงอนุมานหาความสัมพันธ์ของการปนเปื้อนเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคด้วยการทดสอบ Fisher's exact test ที่ระดับนัยสำคัญ .05

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาพบว่า ผลทดสอบน้ำบริโภคในภาพรวมพบเชื้อ Coliforms และ *E. coli* ไม่ผ่านมาตรฐานร้อยละ 15.38 และพบ *P. aeruginosa* ร้อยละ 63.73 เมื่อจำแนกตามชนิดของน้ำบริโภคพบว่า น้ำแร่บรรจุขวดไม่มีการปนเปื้อนเชื้อ Coliforms, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ซึ่งทุกตัวอย่างมีเลขสารบบอาหารระบุในฉลาก มีน้ำบริโภคบรรจุขวดที่พบเชื้อ Coliforms เกินมาตรฐาน 1 ตัวอย่างที่ผลิตในจังหวัดสระบุรี และพบเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคบรรจุขวด 4 ตัวอย่าง แบ่งเป็นผลิตในจังหวัดสระบุรี 2 ตัวอย่าง จังหวัดสุพรรณบุรีและนครนายกจังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ผู้ประกอบการเอกชนเป็นผู้นำส่งตัวอย่างน้ำบริโภคบรรจุขวด ส่วนตู้น้ำหยอดเหรียญ และตู้กดน้ำเย็นพบไม่ผ่านเกณฑ์เชื้อ Coliforms, *E. coli* ใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 14.3

และ 15.8 ตามลำดับ แต่ตู้น้ำหยอดเหรียญพบเชื้อ *P. aeruginosa* สูงกว่า และสูงที่สุดเมื่อเทียบกับน้ำบริโภคทั้งหมด คือ พบร้อยละ 77.1 ส่วนผลการตรวจสอบน้ำจากตู้กดน้ำเย็นภายในโรงอาหาร พบว่าตู้ที่มีป้ายแสดงกำหนดเวลาการบำรุงรักษา จำนวน 11 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบเชื้อ Coliforms และ *E. coli* ในทุกตัวอย่าง แต่พบเชื้อ *P. aeruginosa* จำนวน 6 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจเชื้อ Coliforms, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนไม่ผ่านเกณฑ์ (%)	จำนวนสาเหตุที่ไม่ผ่าน(%)		จำนวนพบเชื้อ(%)
			Coliforms	*E. coli*	*P. aeruginosa*(%)
น้ำแร่บรรจุขวด	16	0	-	-	0
- นำเข้าจากต่างประเทศ	8	0	-	-	0
- ในประเทศ	8	0	-	-	0
น้ำบริโภคบรรจุขวด	21	1 (4.8)	1	-	4 (19.1)
ตู้น้ำหยอดเหรียญ	35	5 (14.3)	5	1	27 (77.1)
- ตู้ทั่วไป*	27	4 (14.8)	4	1	19 (70.4)
- ตู้อาคาร**	8	1 (12.5)	1	-	8 (100)
ตู้กดน้ำเย็น	19	3 (15.8)	3	1	8 (42.1)
รวม	91	9 (9.9)	9 (9.9)	2 (2.2)	39 (42.9)

* ตู้น้ำหยอดเหรียญทั่วไป ที่มีระบบปรับคุณภาพน้ำอยู่ภายในตู้

** ตู้น้ำหยอดเหรียญที่มีช่องหยอดเหรียญ และระบบปรับคุณภาพน้ำไม่ได้อยู่ภายในตู้ แต่แยกอยู่ภายในอาคาร

เมื่อศึกษาถึงปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* พบว่า น้ำบริโภคส่วนใหญ่ร้อยละ 57.1 พบเชื้อในปริมาณน้อยกว่า 1 CFU/250 ml และเมื่อพิจารณาเชื้อที่พบในปริมาณตั้งแต่ 101-มากกว่า 1,000 CFU/250 ml พบว่า ผลทดสอบตัวอย่างของน้ำตู้หยอดเหรียญทั้งแบบตู้ทั่วไปและตู้อาคารมีการปนเปื้อนมากที่สุดร้อยละ 34.3 ในขณะที่น้ำบริโภคบรรจุขวดที่มีเลขสารบบอาหาร 1 ตัวอย่าง พบเชื้อมากกว่า 1,000 CFU/250 ml และตู้กดน้ำเย็นพบเชื้อ 1–20 CFU/250 ml ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ระดับการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบปริมาณเชื้อ *P. aeruginosa* (CFU/250 ml) (%)				
		<1	1-10	11-100	101–1,000	>1,000
น้ำแร่บรรจุขวด	16	16	-	-	-	-
น้ำบริโภคบรรจุขวด	21	17	2	1	-	1
- ฉลากมีเลขสารบบอาหาร	19	15	2	1	-	1
- ฉลากไม่มีเลขสารบบอาหาร	2	2	-	-	-	-
น้ำตู้หยอดเหรียญ	35	8	10	5	6	6
- ตู้ทั่วไป	27	8	6	5	3	5
- ตู้อาคาร	8	-	4	-	3	1
ตู้กดน้ำเย็น	19	11	6	2	-	-
- มีป้ายแสดงการบำรุงรักษา	11	5	4	2	-	-
- ไม่มีป้ายแสดงการบำรุงรักษา	8	6	2	-	-	-
รวมจำนวน (ร้อยละ)	91	52 (57.1)	18 (19.8)	8 (8.8)	6 (6.6)	7 (7.7)

หมายเหตุ: *P. aeruginosa* <1 ถือว่าไม่พบเชื้อ

เมื่อทดสอบสถิติหาความสัมพันธ์ระหว่างการพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคด้วย Fisher's exact test พบว่ามีค่า *p*-value = .0497 สรุปได้ว่า การตรวจพบเชื้อทั้งสองมีความสัมพันธ์กันที่ระดับนัยสำคัญ .05 ($p<0.05$) หมายถึง มีโอกาสที่จะตรวจพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคตัวอย่างเดียวกัน หรืออีกนัยหนึ่งในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลทดสอบความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค

ผลตรวจ Coliforms	ผลตรวจ *P. aeruginosa*		รวม	ผลทดสอบ Fisher's exact test
	พบ	ไม่พบ		
พบ	8	3	11	*p*-value=0.0497
ไม่พบ	31	49	80	
รวม	39	52	91	

อภิปรายผล

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นตรวจสอบคุณภาพน้ำบริโภคเพื่อหาเชื้อ *P. aeruginosa*, Coliforms และ *E. coli* และหาความสัมพันธ์ของเชื้อ Coliforms กับ *P. aeruginosa* เนื่องจากปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีเกณฑ์หรือกฎหมายควบคุมคุณภาพของ *P. aeruginosa* ในขณะที่มาตรฐานการควบคุมคุณภาพน้ำแร่และน้ำบริโภคที่บรรจุในภาชนะสำหรับจำหน่ายในต่างประเทศมักกำหนดให้ตรวจหาเชื้อด้วยเหตุผลว่าเป็นเชื้อฉวยโอกาสในกระบวนการผลิตจึงถูกใช้บ่งชี้ผลการควบคุมสภาวะแวดล้อมในขั้นตอนการผลิตและการบรรจุ[12]

จากศึกษาพบว่า การปนเปื้อนเชื้อ Coliforms มีความสัมพันธ์กับการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภค เนื่องจากเชื้อทั้งสองชนิดพบได้ในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน ซึ่งเชื้อ *P. aeruginosa* นี้สามารถเจริญได้ดีในน้ำจืด จึงมีโอกาสพบการปนเปื้อนร่วมกันในน้ำบริโภค หากดื่มน้ำที่ปนเปื้อน Coliforms อาจได้รับเชื้อ *P. aeruginosa* เข้าสู่ร่างกายได้

การที่น้ำแร่บรรจุขวดและน้ำบริโภคบรรจุขวดพบเชื้อ *P. aeruginosa* น้อยกว่า 1 CFU/250 ml และไม่พบ *E. coli* สามารถอธิบายได้ว่า เป็นเพราะเป็นน้ำบริโภคที่มีหน่วยงานของรัฐกำกับดูแลตรวจสอบบังคับใช้กฎหมายอย่างเคร่งครัด และรับรองคุณภาพมาตรฐาน GMP โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำแร่มีแหล่งกำเนิดจากน้ำใต้ดินที่ผ่านการกรองตามธรรมชาติทำให้มีโอกาสน้อยมากที่จะพบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ สารเคมีหรือสารอนินทรีย์ ในกระบวนการผลิตเพื่อจำหน่าย[13] ทำให้มีคุณภาพดีกว่าน้ำชนิดอื่น

สำหรับน้ำดื่มจากตู้หยอดเหรียญ และตู้กดน้ำเย็น ที่พบเชื้อ *P. aeruginosa* เป็นส่วนใหญ่ และพบการปนเปื้อน Coliforms และ *E. coli* อาจเป็นเพราะน้ำตู้หยอดเหรียญมีกฎหมายในเรื่องการขออนุญาตประกอบกิจการตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญการควบคุมฉลาก[14] บังคับใช้เฉพาะในบางพื้นที่และอาจขาดการกำกับดูแลให้มีการดำเนินการตามกฎหมาย ในขณะที่น้ำจากตู้กดน้ำเย็นยังไม่มีกฎหมายควบคุมเฉพาะ และพบว่าตู้ที่ติดป้ายแสดงการบำรุงรักษาจะตรวจพบเชื้อ *P. aeruginosa* สูงกว่าตู้ที่ไม่มีป้าย เป็นไปได้ว่า ถึงแม้จะมีการบำรุงรักษา เช่น มีการเปลี่ยนไส้กรองตามระยะเวลา แต่ไม่ล้างหรือทำความสะอาดภายในตัวตู้ที่เก็บน้ำหรือหัวก๊อก ก็จะทำให้เกิดการสะสมของเชื้อ ในงานวิจัยนี้เก็บตัวอย่างน้ำจากตู้หยอดเหรียญภายใต้โครงการน้ำดื่มประชารัฐ ซึ่งเป็นโครงการยกระดับศักยภาพหมู่บ้านเพื่อขับเคลื่อนเศรษฐกิจฐานราก มีคณะกรรมการกองทุนหมู่บ้านรับผิดชอบดำเนินการในพื้นที่หมู่บ้านเพื่อจัดหาน้ำสะอาดในชุมชน ที่พบ Coliforms เกินมาตรฐาน ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดนนทบุรีปี 2559-2560 ที่สุ่มตรวจน้ำตู้หยอดเหรียญโดยใช้ชุดทดสอบ พบการปนเปื้อนเชื้อ Coliforms ร้อยละ 30[15]

คุณสมบัติเชื้อ *P. aeruginosa* สามารถทนต่อแสงยูวีและอยู่รอดได้มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นที่ไม่มีสปอร์ รวมทั้งกลุ่ม Coliforms เช่น Fecal coliforms และ Fecal streptococcus[16] อาจเป็น

เพราะเหตุนี้จึงตรวจพบเชื้อ *P. aeruginosa* ในตัวอย่างมากกว่าเชื้อ Coliforms หรืออาจเกิดจากเชื้อสร้างไบโอฟิล์ม ซึ่งเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่อาศัยรวมกันโดยสร้างสารโพลิเมอร์มายึดเกาะพื้นผิววัสดุที่มีน้ำตามอุปกรณ์ที่ติดตั้ง เช่น หัวก๊อก ท่อส่งน้ำเข้าตู้ รวมทั้งขาดกระบวนการบำรุงรักษาดูแลความสะอาดตู้ หรือระบบการฆ่าเชื้อไม่สามารถทำลายเชื้อได้ และถึงแม้ *P. aeruginosa* จะถูกกำจัดได้ด้วยสารฆ่าเชื้อที่ใช้ในกระบวนการผลิตน้ำดื่ม เช่น คลอรีน หรือโอโซน แต่จะต้องใช้ปริมาณสารฆ่าเชื้อที่เหมาะสมและทิ้งระยะเวลานานพอ เช่น ให้มีคลอรีนตกค้างในน้ำ 0.5 mg/l นาน 5 นาที จะสามารถฆ่าเชื้อนี้ได้ถึงร้อยละ 99.5[17] อย่างไรก็ตาม ถึงแม้จะมีกระบวนการกำจัดเชื้อ แต่ถ้าเชื้อตกค้างอยู่ในท่อส่งน้ำเข้ากระบวนการผลิต หรืออัตราการไหลของน้ำที่ผ่านเข้าช้า และไม่มีการล้างทำความสะอาดถังเก็บน้ำที่ผ่านกระบวนการแล้ว อาจทำให้เชื้อเกาะติดพื้นผิวภายในท่อส่งน้ำจนเกิดการสร้างไบโอฟิล์มแล้วเพิ่มจำนวน[18] จนทำให้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของคลอรีนและแสงยูวีลดลง[16]

ดังนั้น การพบเชื้อ *P. aeruginosa*, Coliforms และ *E. coli* ที่ผ่านการบำบัดแล้วแสดงถึงประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตที่ไม่ดีพอ และระบบส่งน้ำเข้ากระบวนการอาจเกิดไบโอฟิล์ม[19] ซึ่งมีการพบไบโอฟิล์มของเชื้อ *P. aeruginosa* ในระบบประปา[20] ถึงแม้ปริมาณ *P. aeruginosa* ที่การศึกษานี้พบส่วนใหญ่มีไม่ถึง 100 โคโลนีต่อน้ำ 250 ml แต่เชื้อสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณในสิ่งแวดล้อมที่มีสารอาหารต่ำ เช่น น้ำบรรจุขวดได้ มีการทดลองเติมเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำแร่ 100 โคโลนีต่อน้ำ 250 ml พบว่าปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้น 3 $\log_{10}$ CFU (CFU = colony forming unit) หลังการเพาะเลี้ยงเชื้อนาน 4-5 วัน[21] และการศึกษาปริมาณการได้รับเชื้อ *P. aeruginosa* ในคนที่มีสุขภาพปกติโดย Buck และ Cooke พบว่าต้องได้รับเชื้อทางปากไม่ต่ำกว่า 106 เซลล์ ถึงจะตรวจพบเชื้อในอุจจาระ โดยที่ไม่เกิดการเกาะติดของเชื้อในระบบทางเดินอาหาร (colonization) และไม่เกิดการเจ็บป่วย[22] ดังนั้นในคนปกติ การบริโภคน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อต่ำ จึงไม่ได้เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อ *P. aeruginosa* แต่การมีเชื้อปริมาณมากจะมีผลต่อรสชาติ กลิ่น และความขุ่นของน้ำ[1] วิธีป้องกันโรคที่ง่ายที่สุด คือ การต้มน้ำก่อนบริโภค และเก็บน้ำในภาชนะที่สะอาดมีฝาปิด ส่วนวิธีการลดไบโอฟิล์ม ได้แก่ การกำจัดสารอินทรีย์คาร์บอน ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของเชื้อ การควบคุมเวลาของน้ำในระบบจ่ายน้ำที่เหมาะสม การเฝ้าระวังให้สารฆ่าเชื้อสัมผัสเชื้อนานพอที่จะกำจัดเชื้อได้[1] และการล้างทำความสะอาดถังเก็บน้ำอย่างมีประสิทธิภาพ

สรุปผล

จากการสำรวจคุณภาพน้ำบริโภคบรรจุขวดน้ำตู้หยอดเหรียญ และน้ำจากตู้กดน้ำเย็น พบการปนเปื้อนเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำ โดยพบว่าการปนเปื้อนเชื้อ Coliforms และ *P. aeruginosa* มีความสัมพันธ์กัน ซึ่งเชื้อ Coliforms ส่วนใหญ่ไม่ใช่เชื้อก่อโรค ยกเว้นเชื้อ *E. coli* บางชนิด แต่เชื้อ *P. aeruginosa* เป็นเชื้อฉวยโอกาสก่อโรค ผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เด็กเล็ก ผู้สูงอายุ หรือผู้ป่วยจึงติดเชื้อ *P. aeruginosa* และเชื้อก่อโรคอื่น ๆ ได้ง่าย

ข้อเสนอแนะ

1. น้ำตู้หยอดเหรียญ ราชการส่วนท้องถิ่นทั่วประเทศควรออกข้อกำหนดของท้องถิ่นเพื่อควบคุมและบังคับใช้การประกอบกิจการตู้น้ำหยอดเหรียญ ส่วนสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต้องควบคุมการผลิตตู้น้ำหยอดเหรียญให้เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญอัตโนมัติ สำหรับสำนักงานคณะกรรมการคุ้มครองผู้บริโภคต้องตรวจสอบการติดฉลากให้ถูกต้อง ด้านสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และราชการส่วนท้องถิ่นควรตรวจเฝ้าระวังคุณภาพน้ำ พร้อมทั้งดำเนินการตามกฎหมายเมื่อน้ำไม่ผ่านมาตรฐาน และผลักดันให้ผู้ประกอบกิจการตู้น้ำหยอดเหรียญมีการบำรุงรักษาตู้ และล้างถังเก็บน้ำเป็นประจำ รวมทั้งผู้บริโภคควรแจ้งปัญหาที่พบกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

2. น้ำจากตู้กดน้ำในหน่วยงานหรือสถานที่ต่าง ๆ ควรมีการมอบหมายบุคคลทำหน้าที่ควบคุมดูแลตู้กดน้ำ โดยจัดทำแผนการตรวจสอบ บำรุงรักษาตู้เป็นประจำ รวมถึงการล้างถังเก็บน้ำ และกระทรวงสาธารณสุขหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ควรประชาสัมพันธ์วิธีการบริโภคน้ำจากตู้หยอดเหรียญ และน้ำจากตู้กดน้ำ ว่าควรเลือกใช้ตู้ที่ดูสะอาด มีป้ายแสดงว่ามีการตรวจสอบ บำรุงรักษา หัวก๊อกปล่อยน้ำสะอาด ภาชนะที่ใส่น้ำต้องสะอาด และไม่เก็บน้ำไว้นานเกินไป เป็นต้น

3. ประเทศไทยควรออกข้อกำหนดให้มีการตรวจเชื้อ *P. aeruginosa* ในน้ำบริโภคอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง โดยเฉพาะน้ำบริโภคในสถานพยาบาล สถานรับเลี้ยงเด็กและผู้สูงอายุที่สามารถติดเชื้อได้ง่าย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณลดาพรรณ แสงคล้าย ข้าราชการบำนาญ (นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ) ที่ช่วยปรึกษาและให้คำแนะนำ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในฝ่ายน้ำและเครื่องดื่ม สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่ช่วยสนับสนุนให้งานวิจัยนี้สำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality: 4th ed. Geneva: WHO; 2017.
2. Water Services Association of Australia. Fact sheet: Pseudomonas aeruginosa [Internet]. Melbourne: WSAA; 2016 [cited 2017 Aug 12]. Available from: http:// www.wsaa.asn.au/sites/default/files/publication/download/Fact%20Sheet_Pseudomonas_Aug16.pdf
3. Todar K. Pseudomonas [Internet]. Todar's Online Textbook of Bacteriology; 2008-2012 [cited 2017 Aug 12]. Available from: http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas_2.html
4. Centers for Disease Control and Prevention USA. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities [Internet]. GA: DCD; 2003 [cited 2019 July 28]. Available from: https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/environmental-guidelines-P.pdf
5. Eckmanns T, Oppert M, Martin M, Amorosa R, Zuschneid I, Frei U, Rüden H, Weist K. An outbreak of hospital-acquired Pseudomonas aeruginosa infection caused by contaminated bottled water in intensive care units. Clin Microbiol Infect 2008;14(5):454-8. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.01949.x. Epub 2008 Feb 22. PMID: 18294245.
6. Directive 2009/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 June 2009 on the exploitation and marketing of natural mineral waters. Off J Eur Comm L164 2009:45-58. [cited 2019 July 28]. Available from: http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/eur88493.pdf
7. Rice EW, Baird RB, Eaton AD, editors. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 23rd ed. Washington DC: American Public Health Association; 2017. p. 9-68-75, 9-77-8,9-80,9-112-6.
8. Bio-Rad. Food science: RAPID'P.aeruginosa agar for water testing [Internet]. Bangkok: Bio-Rad; [cited 2019 July 28]. Available from: https://www.bio-rad.com/en-th/product/rapidp-aeruginosa-agar-for-water-testing?ID=LTN16D4VY
9. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ.2524) เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับที่ 98, ตอนที่ 157 (ลงวันที่ 24 กันยายน 2524).

10. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 199 (พ.ศ. 2543) เรื่อง น้ำแร่ธรรมชาติ. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 118, ตอนพิเศษ 6 ง (ลงวันที่ 24 มกราคม 2544).
11. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 362 (พ.ศ. 2556) เรื่อง น้ำบริโภคจากตู้น้ำดื่มอัตโนมัติ. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 130, ตอนพิเศษ 136 ง (ลงวันที่ 16 ตุลาคม 2556).
12. Council Directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption. Offi J Eur Comm. L330, 1998, p. 32-53.
13. Mohammadi KM, Alimohammadi M, Nabizadeh NR, Aslani H, Rezaie S, Asadian S. Pseudomonas aeruginosa and heterotrophic bacteria count in bottled waters in Iran. Iran J Public Health. 2015;44(11):1514-9. PMID: 26744709; PMCID: PMC4703231.
14. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือการตรวจสอบและบำรุงรักษาตู้น้ำดื่มอัตโนมัติ. นนทบุรี: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข; 2556.
15. มติชนออนไลน์. พบตู้น้ำหยอดเหรียญในเมืองนนท์ 30% ไม่ผ่านเกณฑ์คุณภาพจี้ท้องถิ่นเร่งออกข้อบัญญัติควบคุม. [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: มติชน; 2561. [เข้าถึงเมื่อ 9 ก.ย. 2562]. เข้าถึงได้จาก: https://www.matichon.co.th/region/news_1237312
16. Hassen A, Mahrouk M, Ouzari H, Cherif M, Boudabous A, Damelincourt JJ. UV disinfection of treated wastewater in a large-scale pilot plant and inactivation of selected bacteria in a laboratory UV device. Bioresour. Technol. 2000;74(2),141–50. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00179-0.
17. Aspinall ST, Graham R. Two sources of contamination of a hydrotherapy pool by environmental organisms. J. Hosp. Infect. 1989;14(4),285–92. https://doi.org/10.1016/0195-6701(89)90068-6.
18. Assurity Consulting. What is important to know about drinking water quality: Pseudomonas aeruginosa? [Internet]. West Sussex: Assurity Consulting; 2019 [cited 2019 July 28]. Available from: https://www.assurityconsulting.co.uk/knowledge/guides/what-is-important-to-know-about-drinking-water-quality-pseudomonas-aeruginosa#:~:text=What%20is%20important%20to%20know,if%20found%20in%20high%20numbers
19. Leclerc H, Moreau A. Microbiological safety of natural mineral water. FEMS Microbiology Reviews 2002;26(2):207–22. doi: 10.111/j.1574-6976.2002.tb00611.x. PIMD: 12069884.
20. Moritz MM, Flemming HC, Wingender J. Integration of Pseudomonas aeruginosa and Legionella pneumophila in drinking water biofilms grown on domestic plumbing materials. Int. J. Hyg. Environ. Health 2010; 213:190-7. 10.1016/j.ijheh.2010.05.003. PMID: 20556878.
21. Legnani P, Leoni E, Rapuano S, Turin D, Valenti C. Survival and growth of Pseudo monas aeruginosa in natural mineral water: a 5-year study. Int J Food Microbiol. 1999; 53(2-3):153-8. doi: 10.1016/s0168-1605(99)00151-8. PMID: 10634706.
22. Buck AC, Mary EC. The fate of ingested Pseudomonas aeruginosa in normal persons. J Med Microbiol 1969;2(4):521-5. https://doi.org/10.1099/00222615-2-4-521.