

บทความวิจัย

ประสิทธิภาพชุดทดสอบภาคสนามในการตรวจหาเชื้อพิกัลโคริฟอร์ม (อ13)
ที่ผลิตในห้องปฏิบัติการศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี
Efficacy of field test kits in detecting Piccalcoriform (A13)
produced in the laboratory of The Regional Health Promotion
Center 10 UbonRatchatani

ภูมิพัฒน์ สันโดด* Poompat sandod*

บทคัดย่อ

ศึกษานี้ เป็นวิจัยเชิงทดลอง(Experimental Research) เพื่อผลิตชุดทดสอบภาคสนามหาเชื้อพิกัลโคริฟอร์ม (อ13) ที่ใช้ในพื้นที่ และวิเคราะห์การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ Quality Control: QC ของชุดทดสอบในด้านความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก และค่าพยากรณ์ สำหรับความเชื่อถือได้โดยหาความคาดเคลื่อน $P < 0.05$ มีวิธีการพิจารณาจากผลลบความจำเพาะของวิธีการที่สามารถได้เฉพาะสิ่งที่ต้องการ(Specificity) ความไวที่ปริมาณสารต่ำสุดที่วิธีการทดสอบจะจับวัดได้(Sensitivity) ความแม่นยำหรือความแน่นอนของวิธีการเพื่อลดความคาดเคลื่อนของผลการทดสอบ(Precision) และความถูกต้อง (Accuracy) โดยนำชุดทดสอบ อ13 ที่ผลิตในห้องปฏิบัติการศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี มาประเมินประสิทธิภาพโดยทำการทดสอบกับน้ำที่มีการปนเปื้อนอุจจาระที่มีเชื้อพิกัลโคริฟอร์ม จำนวน 120 ชุด และกับน้ำกลั่นบริสุทธิ์ จำนวน 120 ชุด ทั้งหมดจำนวน 240 ชุด

ผลวิจัย พบว่า ผลทดสอบเพื่อทำนายผลบวกกับน้ำที่มีการปนเปื้อนอุจจาระที่มีเชื้อพิกัลโคริฟอร์ม 120 ชุด ผลบวก ร้อยละ 98.3 ผลลบ ร้อยละ 1.7 และผลทดสอบเพื่อทำนายผลลบกับน้ำกลั่นบริสุทธิ์ จำนวน 120 ชุด ให้ผลลบ ร้อยละ 100.0 เมื่อคำนวณค่าความไว Sensitivity ที่ปริมาณสารต่ำสุดที่วิธีการทดสอบจะจับวัดได้ ร้อยละ 100.00 ค่าความจำเพาะ Specificity ร้อยละ 98.36 ความแม่นยำแน่นอน Precision ของวิธีการเพื่อลดความคาดเคลื่อนของผลการทดสอบได้ค่าทำนายผลบวกร้อยละ 98.33 ค่าทำนายผลลบ ร้อยละ 100.00 และความถูกต้อง Accuracy ร้อยละ 99.16 และประสิทธิภาพของชุดทดสอบ อ13 มีความเชื่อมั่นมากกว่า ร้อยละ 95.0 ผิดพลาดน้อยกว่า ร้อยละ 5.0 สามารถ นำไปใช้เป็นชุดทดสอบภาคสนามหาเชื้อพิกัลโคริฟอร์มในพื้นที่ได้

คำสำคัญ : ชุดทดสอบภาคสนาม, ชุดทดสอบ อ13

* นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ ศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี

* ผู้รับผิดชอบหลักบทความ Email: Poompat07@gmail.com

Abstract

This study is an experimental research to produce a field trial kit for Piculcoriform (A13) used in the area and analyze the product quality assessment. Quality Control: QC of the test kit in terms of sensitivity, specificity positive predictive values. and the forecast for reliability based on the uncertainty $P < 0.05$. There are methods based on the negative memory effect on methods that can obtain only what is desired is Specificity, Sensitivity, Precision and Accuracy. The test kit A13 produced in the laboratory .Was evaluated by testing 120 sets of fecal contaminated fecalchloroform, with distilled water 120 sets total 240 sets.

The results is the positive predictive test with 120 sets of contaminated with fecal chloroform was positive 98.3% , negative 1.7% and predictive test was negative with purified distilled water with 120 sets yielded a negative result 100.0% .When calculating the Sensitivity 100.00%, Specificity a positive 98.36%, Specificity Negative, 100.00% , Prediction 99.16% , Accuracy 98.33% . The efficiency the A13 test kit were more than 95% confident, less than 5% error. Can be used as a field test for local Piculcoriform in the area.

Keywords : Field test kits, Detecting Piccalcoriform (A13)

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากแผนยุทธศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 3 (2560–2564)¹ ซึ่งเป็นยุทธศาสตร์ที่สนับสนุนให้เกิดการอภิบาลระบบส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม ตามวิสัยทัศน์ของกรมอนามัย เพื่อบรรลุเป้าหมายสำคัญของกระทรวงสาธารณสุข คือ ประชาชนมีอายุเฉลี่ยที่คาดว่าจะมีชีวิตรอยู่ (Life Expectancy) เท่ากับ 85 ปี และอายุเฉลี่ยของการมีสุขภาพดี (Health Adjust Life Expectancy) เท่ากับ 75 ปี โดยการพัฒนางานด้านการสุขาภิบาลอาหารและน้ำ ถือเป็นหนึ่งในการกิจสำคัญที่อยู่ในแผนยุทธศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ¹ และสอดคล้องกับพันธกิจหลักของกรมอนามัย ในการเป็นหน่วยงานที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ใช้ความรู้ ภูมิปัญญา ตอบสนองต่อยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศที่รัฐบาลผลักดันในหลายมิติครอบคลุมการพัฒนาอย่างเป็นระบบเพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตของประชาชนในประเทศ อีกทั้งเป็นไปตามทิศทางของแผนพัฒนาเศรษฐกิจแห่งชาติ ฉบับที่ 12 (พ.ศ.2560 – 2564)² มุ่งเน้นการเติบโตที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน ดังนั้น เพื่อความเข้าใจเกี่ยวกับประเด็นงานสำคัญด้านสุขาภิบาลอาหารและน้ำซึ่งครอบคลุมประเด็นงานหลัก 4 ประเด็นด้านสุขาภิบาลอาหารและน้ำ

ได้แก่ 1) การพัฒนาคุณภาพระบบบริการอนามัยสิ่งแวดล้อม (EHA) 2) การพัฒนาและรับรองมาตรฐานการจัดการคุณภาพน้ำบริโภคตามยุทธศาสตร์ชาติภายใต้แผนบูรณาการน้ำ 3) การดำเนินงานสุขาภิบาลอาหารและน้ำในพื้นที่เศรษฐกิจที่สำคัญของรัฐบาล (พื้นที่เขตพัฒนาเศรษฐกิจพิเศษ และระเบียบเศรษฐกิจภาคตะวันออก) และ 4) การพัฒนางานสุขาภิบาลอาหารและน้ำภายใต้แผนพัฒนาเด็กและเยาวชนในถิ่นทุรกันดารตามพระราชดำริ ที่ห่างไกลขาดโอกาสในการได้รับการแก้ไขปัญหาด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อม¹ กรมอนามัย มีหน้าที่รับผิดชอบด้านนิรณงนตามนโยบายความปลอดภัยด้านอาหาร และตามพระราชบัญญัติการสาธารณสุข พ.ศ.2535 ส่วนของสถานประกอบกิจการสถานที่จำหน่ายอาหาร เพื่อให้บริการอาหารที่สะอาดปลอดภัยแก่ประชาชน โดยเฉพาะสถานการณ์เจ็บป่วยของประชาชนที่เกิดจากโรคที่มีอาหารและน้ำเป็นสื่อในปัจจุบัน โรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน สาเหตุมากจากการปนเปื้อนของอาหารจากเชื้อโรคจนทำให้เกิดการเจ็บป่วยซึ่งการปนเปื้อนของอาหารที่สำคัญ คือ เชื้อพิคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตเล็กๆ มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ปะปนอยู่ในอุจจาระของคน และสัตว์เลื้อดอุน แบคทีเรียชนิดนี้มีอันตรายต่อคนเราน้อยเพียงแต่บ่งชี้ว่าน้ำมีการปนเปื้อนของอุจจาระ หรือสิ่งสกปรกต่างๆ ซึ่งถือว่าเป็นน้ำที่ไม่สะอาดซึ่งการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทำได้ง่าย

2 วิธี 1) การตรวจสอบคุณภาพทางด้านกายภาพ รับรู้ได้ด้วยประสาทสัมผัสของพวกเรา เช่น สี กลิ่น รส โดยการดูด้วยสายตา ตมกลิ่นชิมรส ลักษณะสำคัญ คือ ต้องใส ไม่มีสีไม่มีกลิ่น ไม่มีรสที่นำรังเกียจ และ 2) การตรวจสอบคุณภาพทางแบคทีเรีย สามารถตรวจสอบด้วยการตรวจสอบเบื้องต้นทางภาคสนามด้วยอาหารตรวจเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย(๑13) เป็นวิธีที่ง่าย และสะดวกในการปฏิบัติ โดยสังเกตจากการเปลี่ยนสีของอาหารตรวจเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย จากมีม่วงเป็นสีเหลืองมีความขุ่นและฟองแก๊สเกิดขึ้นเมื่อเขย่าเบาๆ² ซึ่งชุดทดลองภาคสนามในการตรวจหาเชื้อพิคัลโคริฟอร์ม (๑13) ถือเป็นการทดสอบน้ำทางด้านจุลชีววิทยาจำเป็นต้องรับทดสอบหลังจากเก็บตัวอย่างโดยไม่ควรเกิน 12 ชั่วโมง ทำให้บางครั้งไม่สามารถส่งตัวอย่างทดสอบให้ห้องปฏิบัติการได้ทัน อาจมีผลทำให้ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำตัวอย่างผิดพลาดไป การส่งตัวอย่างเพื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำที่ห้องปฏิบัติการต้องใช้เวลาในการเก็บตัวอย่างส่งห้องปฏิบัติการทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพน้ำได้อย่างสม่ำเสมอ และแบคทีเรียพิคัลโคลิฟอร์มเป็นจุลินทรีย์ดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพน้ำ การตรวจแบบพบหรือไม่พบ จะอาศัยสมบัติของโคลิฟอร์มที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสเป็นกรดและแก๊สภายใน 24-48 ชั่วโมง³

ศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี มีพื้นที่รับผิดชอบ 5 จังหวัด มีหน่วยงานที่ต้องเฝ้าระวังน้ำและอาหาร ได้แก่ โรงเรียน จำนวน 3,162 แห่ง โรงพยาบาลรัฐและเอกชน จำนวน 81 แห่ง และหน่วยงานสังกัดองค์กรปกครองท้องถิ่น ในการเฝ้าระวังสถานการณ์ความปลอดภัยของอาหารและน้ำให้ภาคีเครือข่ายการทดสอบ คุณภาพน้ำทางด้านจุลชีววิทยาจำเป็นต้องรับทดสอบหลังจากเก็บตัวอย่างทำให้บางครั้งไม่สามารถส่งตัวอย่างทดสอบให้ห้องปฏิบัติการได้ทันเวลา

จากปัญหาดังกล่าวข้างต้น การพัฒนาชุดทดสอบที่ราคาไม่แพง มีวิธีการทดสอบที่ไม่ยุ่งยาก และให้ผลการทดสอบเบื้องต้นมีความน่าเชื่อถือน่าจะเป็นแนวทางแก้ไขปัญหาการส่งตัวอย่างน้ำไปทดสอบที่ห้องปฏิบัติการ กรมอนามัย ซึ่งมีกำลังการผลิตที่ไม่เพียงพอ เพราะต้องสนับสนุนเครือข่ายทั่วประเทศ มีจำนวนจำกัดต่อการนำมาใช้ในพื้น ในฐานะบุคลากรด้านเทคนิคการแพทย์ที่อยู่ส่วนภูมิภาคและต้องสนับสนุนเครือข่ายในพื้นที่เขตสุขภาพที่ 10 ผู้วิจัยจึงได้ผลิตชุดทดสอบเชื้อโคลิฟอร์มตามสูตรของกรมอนามัย เพื่อให้เพียงพอสามารถผลิตในปริมาณมาก และเพื่อให้ได้ชุดทดสอบภาคสนามที่ได้มาตรฐานใช้ได้จริง จึงทำการศึกษาการประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบภาคสนามหาเชื้อพิคัลโคริฟอร์ม (o13) ที่ผลิตในห้องปฏิบัติการ ศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี จะได้ทราบปัญหาของชุดทดสอบ สามารถนำข้อมูลไปใช้ในการตัดสินใจ และควบคุมความเสี่ยงจากการผลิตชุดทดสอบนี้ให้ได้มาตรฐาน เกิดความมั่นใจในการนำไปขยายผลและเฝ้าระวังในพื้นที่ต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

- 1) เพื่อผลิตชุดทดสอบภาคสนามหาเชื้อพิคัลโคริฟอร์ม (o13) ใช้เองในพื้นที่
- 2) เพื่อประเมินประสิทธิภาพ ผลวิเคราะห์ชุดทดสอบภาคสนามหาเชื้อพิคัลโคริฟอร์ม

วิธีการดำเนินการวิจัย

เป็นการศึกษาเชิงทดลอง (Experimental Research) โดยการทดลองประสิทธิภาพของชุดทดสอบภาคสนามหาเชื้อพิคัลโคริฟอร์มที่ผลิตขึ้นเอง ตามสูตรของกรมอนามัยในห้องทดลอง ที่ควบคุมการควบคุมตัวแปรที่อาจจะส่งผลให้ชุดทดสอบครั้งนี้ มีความน่าเชื่อถือน้อยลง คือ ผู้ทดสอบคุณภาพเป็นผู้วิจัยคนเดียว สถานที่ทดสอบเป็นห้องที่สะอาดและมืดชิด โต๊ะไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อภายนอกโดยการทำความสะอาดโต๊ะด้วยการเช็ดแอลกอฮอล์ 70% อายุของตัวอย่างน้ำที่ใช้ทดสอบ น้ำกลั่นต้องเป็นน้ำกลั่นที่มีฝาปิดไม่ผ่านการเปิดใช้งานเพื่อป้องกันการปนเปื้อน และน้ำผสมอุจจาระผสมในสัดส่วนอุจจาระ 1 กรัม ต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ใช้งานภายใน 24 ชั่วโมง ภาชนะที่ใส่ต้องผ่านการต้มหรือเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70% และประเมินประสิทธิภาพผลของชุดทดสอบหาการหาความคาดเคลื่อนโดยพิจารณาจาก Specificity Sensitivity Precision และ Accuracy

กลุ่มตัวอย่าง ใช้ชุดทดสอบกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด คือ

- 1) ตัวอย่างน้ำสำหรับการควบคุมผลให้ได้ผลเป็นลบ ได้แก่ น้ำกลั่นบริสุทธิ์
จำนวน 120 ชุด
- 2) ตัวอย่างน้ำสำหรับการควบคุมผลให้เป็นผลบวก ได้แก่ น้ำผสมอุจจาระ
จำนวน 120 ชุด

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยคือ

1. แบบสังเกตและบันทึกผลการทดสอบประสิทธิภาพของชุดทดสอบเป็นแบบบันทึกการสังเกตรายละเอียดโดยใส่เครื่องหมายถูกในช่องที่พบจากการสังเกตที่ได้ในการทดสอบแต่ละรอบเกี่ยวกับผลชุดทดสอบกับตัวอย่างควบคุมผลลบ (น้ำกลั่น) และตัวอย่างควบคุมผลบวก (น้ำผสมอุจจาระ) เพื่อบันทึกผลการเปลี่ยนแปลง คือ 1) มีการเปลี่ยนแปลงของสีหรือไม่ คือ สีม่วงเป็นสีเหลืองหรือสีไม่เปลี่ยน 2) มีความขุ่นหรือไม่คือ ขุ่นหรือไม่ขุ่น และ 3) การเกิดฟองแก๊สหรือไม่คือ เกิดฟองแก๊สและไม่เกิดฟองแก๊ส เมื่อบันทึกข้อมูลแล้ว นำมานับสรุปจำนวนที่ได้

2. แบบฟอร์มสรุปผลการทดสอบชุดตรวจภาคสนามหาเชื้อพิคัลโคริฟอร์ม (o13) เป็นแบบประเมินผลคุณภาพชุดตรวจภาคสนามหาเชื้อพิคัลโคริฟอร์ม (o13) ที่ผลิตในห้องปฏิบัติการศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานีโดยนำข้อมูลที่ได้จากแบบสังเกตและบันทึกผลการทดสอบของชุดทดสอบ QC มาลงในแบบบันทึกสรุปผล ประกอบด้วย ผลการทดสอบที่ได้ผลบวก Positive และผลลบ Negative ที่ได้ทดสอบกับตัวอย่างควบคุมน้ำที่มีการปนเปื้อนอุจจาระ (+) กับทดสอบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (-) และจำนวนผลที่ได้ เมื่อ

A = ผลการทดสอบชุดตรวจที่ผลิตและวิธีมาตรฐานที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกเหมือนกัน

B = ผลการทดสอบชุดตรวจที่ผลิตให้ผลลบที่เบี่ยงเบนไปจากวิธีมาตรฐานที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวก หรือเรียกว่า false negative

C = ผลการทดสอบชุดตรวจที่ผลิตให้ผลบวกที่เบี่ยงเบนไปจากวิธีมาตรฐานที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบหรือเรียกว่า false positive

D = ผลการทดสอบชุดตรวจที่ผลิตและวิธีมาตรฐานที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบเหมือนกัน

N = จำนวนตัวอย่างที่ศึกษาทั้งหมด ($A + B + C + D$) = 100

N+ = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐาน ($A + C$)

N- = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลลบทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐาน ($B + D$)

นำผลการทดสอบของทั้ง 2 วิธีมาเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบดูค่า Relative accuracy, Relative specificity และ Relative sensitivity โดยสรุปเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบ ดังนี้

Ture Positive สูตร = $A \times 100 / A+B$ Ture Negative สูตร = $D \times 100 / C+D$

Sensitivity สูตร = $A \times 100 / A+C$ Specificity สูตร = $D \times 100 / B+D$

Accuracy สูตร = $(A+D) \times 100 / A+B+C+D$

การเก็บรวบรวมข้อมูล

วิจัยได้ดำเนินการผลิตชุดทดสอบภาคสนามหาเชื้อพิคัลโคริฟอร์ม อ13 เริ่มตั้งแต่ ทบทวนความรู้ และวิธีการการผลิตของกรมอนามัยในการตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ในน้ำดื่มและอาหาร กำหนดวิธีการทดลองผลิตชุดทดสอบภาคสนามขึ้น เมื่อได้ชุดทดสอบ แล้วนำมาประเมินคุณภาพของชุดตรวจ ตามหลักทดสอบคุณภาพ (Quality Control : QC) ทั้งด้านความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก และค่าพยากรณ์ผลลบ รวมทั้งเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานที่มีความคาดเคลื่อนของวิธีการต่ำกว่า $P < 0.05$ พร้อมทั้งการคัดเลือกตัวอย่าง เพื่อมาเป็นตัวควบคุมคุณภาพที่ชัดเจนและแม่นยำมาใช้ในการประเมินผล มีการสังเกต และ บันทึกเก็บรวบรวมข้อมูล นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทั้งด้านคุณภาพและต้นทุนการผลิต หลังจากนั้นสรุปผลการศึกษา โดยมีขอบเขต ดังนี้

1. ผลิตชุดทดสอบภาคตรวจหาเชื้อพิคัลโคริฟอร์ม อ13 ในห้องปฏิบัติการของหน่วยงาน
2. ประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบ(QC) กำหนดความคาดเคลื่อนของวิธีการต่ำกว่า $P < 0.05$ สำหรับความเชื่อถือได้วิธีการพิจารณาจาก 1) Specificity คือ ความจำเพาะของวิธีการที่ได้เฉพาะสิ่งที่ต้องการ หมายถึง ความสามารถของชุดทดสอบที่ผลิตในการตรวจตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ได้ถูกต้องเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ในที่นี้ คือ ความสามารถตรวจการเปลี่ยนสีด้านกายภาพและด้านแบคทีเรีย ได้แก่ สี ความขุ่น ดูด้วยสายตาถ้าไม่มีเชื้อโคลิฟอร์ม แบคทีเรียสีที่ได้หลังจากหยดสารจากชุดทดลองแล้วต้องไม่เปลี่ยนสี มีสีม่วงไม่ขุ่น เขียวไม่มีฟองแก๊สฟู 2) Sensitivity คือ ความไวที่ปริมาณสารต่ำสุดที่วิธีการทดลองใช้วัดได้ หมายถึง ความสามารถของ ชุดทดสอบที่ผลิตในการตรวจตัวอย่างพบเชื้อที่ปนเปื้อนในตัวอย่างเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานในที่นี้ ความสามารถตรวจ การเปลี่ยนสีทางด้านกายภาพและทางด้านแบคทีเรียจาก มีม่วงเป็นสีเหลือง มีความขุ่น และฟองแก๊สฟูขึ้นเมื่อเขย่าเบา 3) Precision คือ ความแม่นยำหรือความแน่นอนของวิธีการเพื่อลดความคาดเคลื่อนของผลการทดสอบ มีวิธีดำเนินการ 2 ขั้นตอน (1) การตรวจขั้น Presumptive Test เขย่าตัวอย่างน้ำขึ้นลง 25 ครั้ง ระยะ ห่าง 50 เซนติเมตร เพื่อให้ น้ำในขวดมีปริมาณเชื้อกระจายอย่างทั่วถึงปิเปต ตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตรไป บ่มที่อุณหภูมิ $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ จำนวน $24-48 \pm 3$ ชั่วโมง ตรวจดูการเจริญโดยสังเกตการเปลี่ยนสี ความขุ่นและเกิดแก๊ส (2) การตรวจขั้น Confirmed Test ถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกจาก ขั้น Presumptive Test นำไปบ่มที่อุณหภูมิ $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ นาน $24-48 \pm 3$ ชั่วโมง ตรวจดู การเจริญโดยสังเกตสีที่เปลี่ยน ความขุ่นและการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง นับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก คือ หลอดที่ขุ่นและเกิดแก๊ส วิธีนี้เหมาะสำหรับตัวอย่างน้ำ ที่มีแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มมีคุณสมบัติ เป็นพวกที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพที่มีอากาศ (aerobic) และจำแนกกลุ่มโคลิฟอร์มแบคทีเรียโดยพวกฟิคัล โคลิฟอร์ม จะสามารถสลายสารอาหาร EC ได้ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 45°C

(3) ขั้นตอนวิเคราะห์การตรวจสอบขั้นแรก (Presumptive test) นำหลอดแก้ว (test tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร ซึ่งมีหลอดดักอากาศเดอร์แรมวางคว่ำอยู่ให้ท่วมหลอดเดอร์แรม ประมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที เขย่าตัวอย่างน้ำแรงๆ ขึ้นลง 25 ครั้ง ใช้ปิเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูตัวอย่างน้ำใส่ลงในหลอดแก้ว ที่บรรจุ 5 หลอดๆ ละ 1 มิลลิลิตร ต่อ 1 ระดับของการเจือจาง ซึ่งชุดอนุกรมของการเจือจางในการวิเคราะห์จะใช้การเจือจาง 3 ระดับ ต่อ 1 ตัวอย่างเขย่าหลอดแก้วเบาๆ ให้ผสมกับตัวอย่างน้ำ ระมัดระวังอย่าให้มีฟองอากาศในหลอดเดอร์แรม นำหลอดแก้วทั้งหมดเข้าตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำหลอดแก้วมาตรวจดูก๊าซที่เกิดขึ้นในหลอดเดอร์แรม ถ้าหลอดใดเกิดก๊าซแสดงว่าให้ผลทางบวก (positive) นำหลอดที่เกิดก๊าซไปทดสอบขั้นยืนยันต่อไป 4) Accuracy คือ ความถูกต้อง หมายถึง ระดับของความสอดคล้องของผลทดสอบที่ได้จากวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาในตัวอย่างเหมือนกัน

ขั้นตอนการดำเนินการ ดังนี้

1. ขั้นตอนการผลิตชุดตรวจภาคสนามในการตรวจหาเชื้อฟิซิลโคริฟอร์ม อ13 โดยใช้สูตรจากกรมอนามัย ประกอบด้วย 1) สารเคมี น้ำกลั่น, Bromcresol purple, Bile salt, Lactose peptone และ Autoclave 2) วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ ได้แก่ เครื่องกรองน้ำ เครื่องวัดค่า pH เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งน้ำหนักได้ละเอียด 0.01 กรัม ขวดแก้วขนาด 15 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิดขวด พลาสติกและพลาสติก ซีลฝาขวด อุปกรณ์ตวงน้ำ
2. ขั้นตอนการประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบ เลือกตัวอย่างควบคุมวิธีธรรมชาติมาเป็นตัวทดสอบและความเข้มข้นของสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ทดสอบตรวจหาเชื้อฟิซิลโคริฟอร์มอาศัยความสามารถตรวจการเปลี่ยนสีทางด้านกายภาพและทางด้านแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับตัวอย่างควบคุมให้ผลบวก และผลลบชัดเจนของตัวอย่างน้ำ 2 ชนิด คือ ตัวอย่างการควบคุมผลให้ได้ผลเป็นลบ คือ น้ำกลั่นบริสุทธิ์ เมื่อหยดสารลงในหลอดควบคุมผลลบ คือ น้ำกลั่น ภายใน 24- 48 ชั่วโมง ไม่เปลี่ยนสี มีสีม่วง ไม่ขุ่น เขย่าไม่มีฟอง แก๊สบูด แสดงว่าพบไม่พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และตัวอย่างการควบคุมผลให้เป็นผลบวก คือ น้ำผสมอุจจาระ เมื่อหยดสารลงในหลอดควบคุมผลบวก ภายใน 24-48 ชั่วโมง การเปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลือง มีความขุ่นและฟองแก๊สบูดขึ้นเมื่อเขย่าเบา แสดงว่าพบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย



1. ทำความสะอาดพื้นที่ผิวสัมผัส ความสะอาดมือ และเครื่องมือ ด้วยแอลกอฮอล์ 70%
2. ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เช็ดรอบปาก ขวดน้ำยา

วิธีการเก็บตัวอย่าง

3. ใช้ช้อนชาที่ฆ่าเชื้อแล้วตักน้ำตัวอย่างการควบคุมผลใสในขวดน้ำยา

4. หลนไฟที่ปากขวดเพื่อฆ่าเชื้อแล้วปิดฝาทันที

หลังจากนั้น ทิ้งไว้ 24-48 ชั่วโมง แล้วสังเกตและบันทึกผลการทดสอบอาศัยความสามารถตรวจการเปลี่ยนสีทางด้านกายภาพและทางด้านแบคทีเรียที่ เรียกว่า ตัวอย่างที่ควบคุมผลให้ได้ผลเป็นลบเมื่อหยดสารลงในหลอดควบคุมน้ำกลั่น ไม่เปลี่ยนสี มีสีม่วง ไม่ขุ่น เขียวไม่มีฟอง แก๊ส บุด แสดงว่า พบไม่พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และตัวอย่างน้ำควบคุมผลให้เป็นผลบวกน้ำผสม อุจจาระ เมื่อหยดสารลงในหลอดควบคุมผลบวก คือ น้ำผสมอุจจาระ มีการเปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็น สีเหลือง มีความขุ่น และฟองแก๊ส บุด ขึ้นเมื่อเขย่าเบาแสดงว่าพบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย จด บันทึกผลที่ได้ในแบบสังเกต และบันทึกผล หลังจากนั้นสรุปผลว่ามีความถูกต้อง พร้อมคำนวณ ผลตามสูตรการคำนวณ

อุปกรณ์ที่ใช้

1. ชุดตรวจภาคสนามหาเชื้อฟิคัลโคริฟอร์ม อ13 ที่ผลิต จำนวน 240 ชุด
2. ตัวอย่างควบคุมที่ให้ผลบวก คือ น้ำผสมอุจจาระ จำนวน 120 ขวด
3. ตัวอย่างควบคุมที่ให้ผลลบ คือ น้ำกลั่น จำนวน 120 ขวด
4. แบบสังเกตและบันทึกผลการทดสอบประสิทธิภาพของชุดทดสอบ
5. แบบฟอร์มสรุปผลการทดสอบชุดตรวจภาคสนามหาเชื้อฟิคัลโคริฟอร์ม(อ13)

การแปลผลการทดลอง การตรวจหาเชื้อฟิคัลโคริฟอร์มโดยอาศัยความสามารถตรวจการเปลี่ยนสีทางด้านกายภาพและทางด้านแบคทีเรีย ดังนี้

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ทดสอบ

ตัวอย่าง	การทดสอบ	เกณฑ์ยอมรับ	สรุปทดสอบ	ร้อยละ
1) น้ำกลั่นบริสุทธิ์ เพื่อควบคุมให้ได้ ผลลบ ใช้ 5 ขวด ภายใน 28 ชม. ต่อ 1 ตัวอย่าง	หยดสารที่ได้ลงใน หลอดน้ำกลั่น ทิ้งไว้	ไม่เปลี่ยนสี มีสีม่วง ไม่ขุ่น	แสดงว่า ผ่าน	95.0
		เขย่าไม่มีฟอง แก๊ส บุด แสดงว่าพบไม่พบ เชื้อโคลิฟอร์ม แบคทีเรีย		
		หากมีการเปลี่ยนสีจาก สีม่วงเป็นสีเหลือง มีความขุ่น ไม่ผ่าน และฟองแก๊ส บุด ขึ้นเมื่อเขย่า เบาแสดงว่าพบเชื้อ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	แสดงว่า	5.0

ตัวอย่าง	การทดสอบ	เกณฑ์ยอมรับ	สรุปทดสอบ	ร้อยละ
2) น้ำผสมอูจาระ เพื่อควบคุม ให้ได้ผลบวก ใช้ 5 ขวด ต่อ 1 ตัวอย่าง	หยดสารลงใน หลอดน้ำผสมอูจาระ ทิ้งไว้ภายใน 48 ชั่วโมง	มีการเปลี่ยนสีจากสีม่วง เป็นสีเหลือง มีความขุ่น และฟองแก๊สเกิดขึ้น เมื่อเขย่าเบา แสดงว่า พบเชื้อโคลิฟอร์ม แบคทีเรียไม่เปลี่ยนสี มีสีม่วง ไม่ขุ่น เขย่าไม่มีฟอง แก๊สเกิด แสดงว่าไม่พบ เชื้อโคลิฟอร์ม แบคทีเรีย	แสดงว่า ผ่าน แสดงว่า ไม่ผ่าน	95.0 5.0

การควบคุมตัวแปร การประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบภาคสนามในการตรวจหาเชื้อพิคัล โคริฟอร์ม อ13 ที่ผลิตในห้องปฏิบัติการ ศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี เพื่อทดสอบคุณภาพ การใช้งานได้จริงและน่าเชื่อถือ การควบคุมตัวแปรที่อาจจะส่งผลให้ชุดทดสอบครั้งนี้มีความน่า เชื่อถือน้อยลง ผู้วิจัยจึงได้มีการควบคุมตัวแปรจะส่งผลต่อการทดสอบ คือ ผู้ทดสอบคุณภาพเป็น ผู้วิจัยคนเดียว สถานที่ทดสอบเป็นห้องที่สะอาดและมืดชิด โต๊ะไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อภายนอก โดยการทำความสะอาดโต๊ะด้วยการเช็ดแอลกอฮอล์ 70% อายุของตัวอย่างน้ำที่ใช้ทดสอบ น้ำกลั่นต้องเป็นน้ำกลั่นที่มีฝาปิดไม่ผ่านการเปิดใช้งาน น้ำผสมอูจาระจะผสมใช้งานภายใน 24 ชั่วโมง ภาชนะที่ใส่ต้องผ่านการต้มหรือเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70% จากนั้นปล่อยให้แห้งก่อนเท ตัวอย่างน้ำที่เป็นตัวควบคุมผลบวก-ผลลบการเก็บรักษาและอายุการใช้งาน การเก็บตัวอย่างน้ำ ภาชนะ ขวดเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อตรวจสอบทางแบคทีเรีย ต้องล้างให้สะอาดจริงๆ และผ่านการ นึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) โดยทำการปิดจุกขวด เอากระดาษ foil หุ้ม แล้วนำไป นึ่งที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที (sterile) และทำลายคลอรีน (dechlorination) คลอรีน ที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำจะไปทำลายแบคทีเรีย ในระหว่างการนำตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการ ดังนั้น จึงใช้น้ำกลั่นสำหรับเก็บตัวอย่างประมาณ 100 มิลลิลิตร และวิเคราะห์ทางแบคทีเรีย จะทำทันที ภายหลังการเก็บตัวอย่าง เพื่อหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงที่อาจจะเกิดขึ้น ถ้าไม่ สามารถทำการวิเคราะห์ได้ภายในเวลา 1 ชั่วโมง หลังการเก็บควรแช่ตัวอย่างน้ำในน้ำแข็งที่ อุณหภูมิ 4°C แต่ไม่เกินเวลา 2 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูล การวิเคราะห์เชิงพรรณนาหาค่าความถี่ และร้อยละ โดยมีสูตรการ คำนวณหาคุณภาพของชุดทดสอบที่ผลิต ดังนี้

ตารางที่ 2 สูตรการคำนวณหาคุณภาพของชุดทดสอบที่ผลิต

ผลการทดสอบ	การทดสอบ		ผลที่ได้
	ควบคุม (+) น้ำอุจจาระ	ควบคุม (-) น้ำกลั่น	
ผลบวก Positive	A	B	A+B
ผลลบ Negative	C	D	C+D
ผลที่ได้	A+C	B+D	A+B+C+D

Sensitivity = $A \times 100 / A+C$ ความสามารถของชุดทดสอบที่ผลิตในการตรวจตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อ ปนเปื้อนอยู่ได้ถูกต้องเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ในที่นี้ คือความสามารถตรวจการเปลี่ยนสีทางด้านกายภาพและทางด้านแบคทีเรีย เช่น สี ความขุ่น โดยการดูด้วยสายตา ถ้าไม่มีเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียสีที่ได้หลังจาก หยดสารจากชุดทดลองแล้วต้องไม่เปลี่ยนสี มีสีม่วง ไม่ขุ่น เขียวไม่มีฟองแก๊สบูด ต้องได้มากกว่าร้อยละ 95.0 ถ้ามีสีม่วงเป็นสีเหลือง มีความขุ่น และฟองแก๊สบูดขึ้นเมื่อเขย่าเบา ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 5.0

Specificity = $D \times 100 / B+D$ ความไวที่ปริมาณสารต่ำสุดที่วิธีการทดลองจะใช้วัดได้) คือ ความสามารถของชุดทดสอบที่ผลิตในการตรวจตัวอย่างพบเชื้อที่ปนเปื้อนในตัวอย่างเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานในที่นี้ คือ ความสามารถตรวจการเปลี่ยนสีทางด้านกายภาพ และทางด้านแบคทีเรียจากมีม่วงเป็นสีเหลือง มีความขุ่น และฟองแก๊สบูดขึ้นเมื่อเขย่าเบา ต้องได้มากกว่าร้อยละ 95.0 ถ้าไม่เปลี่ยนสี มีสีม่วง ไม่ขุ่น เขียวไม่มี ฟองแก๊สบูด ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 5.0

Positive = $A \times 100 / A+B$ น้ำอุจจาระความสามารถตรวจการเปลี่ยนสีทางด้านกายภาพและทางด้านแบคทีเรียจากมีม่วงเป็นสีเหลือง ความขุ่น และฟองแก๊สบูดขึ้นเมื่อเขย่าเบาต้องได้มากกว่าร้อยละ 95.0

Negative = $D \times 100 / C+D$ น้ำกลั่นต้องไม่เปลี่ยนสี มีสีม่วง ไม่ขุ่น เขียวไม่มีฟองแก๊สบูด ต้องได้ มากกว่าร้อยละ 95.0

Accuracy= $(A+D) \times 100 / A+B+C+D$ โดยร้อยละของความแม่นยำ (% Recovery) ต้องมากกว่า ร้อยละ 95.0

การพิจารณาด้านจริยธรรม เสนอพิจารณาจริยธรรมของศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี รหัส IC-08-63-02-E พิจารณารับรอง วันที่ 4 มีนาคม 2563

ผลการวิจัย

ผลการทดสอบ พบว่า ให้ผลบวก 118 ชุดทดสอบ ร้อยละ 98.3 ให้ผลลบ ร้อยละ 1.7 และใช้ชุดทดสอบกับน้ำที่ไม่มีการปนเปื้อนอุจจาระให้ผลลบ ร้อยละ 100.0 ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 จำนวนและร้อยละผลทดสอบ จำแนกตามภาวะปนเปื้อนและไม่มีการปนเปื้อนอุจจาระ

ชุดทดสอบภาคสนาม	การทดสอบการปนเปื้อนอุจจาระ (240 ชุดทดสอบ)		จำนวนทั้งหมด
	ปนเปื้อน(+) 120 ตัวอย่าง	ไม่มี(-) 120 ตัวอย่าง	
Positive	118 (98.3%)	2 (1.7%)	120 100.0%)
Negative	0 (0.0%)	120 (100.0%)	120 (100.0%)
ผลที่ได้	118 (49.2%)	122 (50.8%)	240 (100.0%)

จากผลการทดสอบคำนวณค่าความไว (Sensitivity) ที่ปริมาณสารต่ำสุดที่ได้ ร้อยละ 100 ค่าความจำเพาะ (Specificity) ได้ ร้อยละ 98.36 ความแม่นยำหรือความแน่นอน (Precision) ได้ค่าทำนายผลบวก ร้อยละ 98.33 ค่าทำนายผลลบ ร้อยละ 100.00 และความถูกต้อง (Accuracy) เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถเปรียบเทียบกับการศึกษา ร้อยละ 99.16 ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 คำนวณค่า Sensitivity ค่า Specificity Precision และ Accuracy

ค่า	สูตรคำนวณ	ร้อยละ
Positive predictive value	$118 \times 100 / 120$	= 98.33
Negative predictive value	$120 \times 100 / 120$	= 100.00
Sensitivity	$118 \times 100 / 118$	= 100.00
Specificity	$120 \times 100 / 122$	= 98.36
Accuracy	$138 \times 100 / 240$	= 99.16

การอภิปรายผล

1. การทดสอบชุดทดสอบภาคสนามในการตรวจหาเชื้อฟิเคิลโคริฟอร์มโดยใช้ชุดทดสอบ อ.13 จากการทดลองครั้งนี้ จะเห็นได้ว่า ชุดทดสอบภาคสนามในการตรวจหาเชื้อฟิเคิลโคริฟอร์ม โดยใช้ชุดทดสอบ (อ.13) ที่ผลิตให้ผลทดสอบผ่านคุณภาพเป็นลบได้ดีกว่าเป็นบวก ซึ่งน่าจะเกิดจากตัวอย่างที่ใช้ควบคุมที่ใช้ น้ำกลั่นบริสุทธิ์ จึงทำให้ได้ผลลบร้อยละ 100

3. ประสิทธิภาพของชุดทดสอบภาคสนามในการตรวจหาเชื้อฟิเคิลโคริฟอร์มชุดทดสอบ (อ.13) ที่ถือว่ามีความเชื่อมั่นมากกว่าร้อยละ 95.0 ผิดพลาดน้อยกว่าร้อยละ 5.0 โดยนี้ระนาถ แจ้งทอง และปัทมา นพรัตน์⁴ การวิเคราะห์ Certified Reference Materials (CRMs) สารอ้างอิงมาตรฐานที่เตรียมขึ้นเอง (In-house Reference Materials) หรือตัวอย่างควบคุมมีความถูกต้องจึงควรวิเคราะห์ CRMs โดยใช้ความเข้มข้นใกล้เคียงกับตัวอย่าง เกณฑ์ยอมรับ $\pm$ ร้อยละ 10 ของค่าจริงและการวิเคราะห์ QC check standard (Instrument check standard) ตัวอย่างควบคุม Calibration Verification of Standard (CVS) ตัวอย่างชุดใหม่หรือตรวจสอบระหว่างการ

ทดสอบตัวอย่างแต่ละชุดเกณฑ์ยอมรับ $\pm$ ร้อยละ 10 ของค่าจริง และ Continuing Calibration Standard (CCS) ใช้สารมาตรฐานที่ใช้สร้างกราฟมาตรฐาน โดยใช้ความถี่และความเข้มข้นเช่นเดียวกับ CVS แต่เกณฑ์ยอมรับ จะแคบกว่า คือ $\pm$ ร้อยละ 5 ของค่าจริง ดังนั้น การศึกษาทดลองผลิตชุดทดสอบภาคสนามในการตรวจหาเชื้อพีคัลโคลิฟอร์มชุดทดสอบ อ13 ศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี ถือว่ามีความเชื่อมั่นและประสิทธิภาพนำไปใช้ได้จริง

ข้อเสนอแนะ

1. การพัฒนาคุณภาพและประสิทธิภาพของชุดทดสอบภาคสนามในการตรวจหาเชื้อพีคัลโคลิฟอร์ม โดยใช้ชุดทดสอบ อ13 อาจต้องมีการศึกษาทดลองที่มีความละเอียดมากขึ้น โดยการทดลองความไวกับชุดกลุ่มตัวอย่างที่มีการละลายตัวอย่างที่ให้ผลบวก ที่มีความเจือจางในระดับต่างกัน เช่น ใช้ชุดการเจือจาง 10 มิลลิลิตร, 1 มิลลิลิตร, 0.1 มิลลิลิตร อ่านค่าได้โดยตรงจากตารางดัชนี MPN การคำนวณหาค่าดัชนี MPN นำจำนวนของหลอดที่ให้ผล positive ของแต่ละระดับการเจือจางจำนวน 3 ระดับ ในการตรวจสอบยืนยัน มาหาค่าปริมาณของเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียหรือฟิคอลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ในตัวอย่างน้ำเทียบกับตารางดัชนี MPN เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือและความแม่นยำของชุดทดสอบ

2. การควบคุมตัวแปรที่มีผลต่อการทดลองในห้องปฏิบัติการศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี เพื่อทดสอบคุณภาพการใช้งานได้จริงและน่าเชื่อถือ การควบคุมตัวแปรที่อาจจะส่งผลให้ชุดทดสอบครั้งนี้ มีความน่าเชื่อถือน้อยลง ที่จะส่งผลการทดสอบ คือ ผู้ทดสอบคุณภาพควรเป็นคนเดียว สถานที่ทดสอบเป็นห้องที่สะอาดมิดชิด โต๊ะไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อภายนอก โดยการทำทำความสะอาดโต๊ะด้วยการเช็ดแอลกอฮอล์ 70% น้ำกลั่นที่มีฝาปิดไม่ผ่านการเปิดใช้งาน ถ้าน้ำผสมออกจะผลสมใช้งานภายใน 24 ชั่วโมง ภาชนะที่ใส่ต้องผ่านการต้มหรือเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70% และการลดความเป็นพิษของโลหะหนัก เช่น ทองแดง และสังกะสี เป็นสิ่งสำคัญที่ต้องมาใช้ควบคุมเมื่อทดลอง

3. เพิ่มความคุ้มค่าควรมีการคำนวณต้นทุนการผลิตได้นำมาลดค่าใช้จ่ายให้องค์กร

เอกสารอ้างอิง

1. กรมอนามัย.แผนยุทธศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 3 (2560–2564).กระทรวงสาธารณสุข; 2561.
2. กรมอนามัย.คู่มือการปฏิบัติงานด้านสุขภาพภิบาลอาหารและน้ำ.กระทรวงสาธารณสุข.2560.
3. ธีระ ปานทิพย์อำพร.การพัฒนาชุดทดสอบโคลิฟอร์มเพื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 3 พ.ย. 2563] เข้าถึงได้จาก : <http://lib3.dss.go.th>
4. นิระนารถ แฉ่งทองและปัทมา นพรัตน์.การควบคุมคุณภาพภายในสำหรับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทดสอบ [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 3 พ.ย. 2563] เข้าถึงได้จาก : <http://lib3.dss.go.th>
5. กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม.แนวทางการตรวจสอบคุณภาพอย่างง่าย [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 3 พ.ย. 2563] เข้าถึงได้จาก : <http://www.highents.Com>
6. ชุดทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย SI Medium [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 3 พ.ย. 2563] เข้าถึงได้จาก : <http://www.highents.Com>
7. ชุดตรวจสอบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียโคลิฟอร์ม [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 3 พ.ย. 2563] เข้าถึงได้จาก : <https://th.wikipedia.org>