บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

ผลการศึกษาเพื่อตรวจหาแบคทีเรีย *Legionella* จากตัวอย่างในระบบน้ำของเครื่องมือทันตกรรม โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา และหน่วยทันตกรรมชุมชน ในจังหวัดนครราชสีมา พบว่าตัวอย่างน้ำจากเครื่องมือทันตกรรม 50 เครื่องในการตรวจครั้งแรก และ 30 เครื่องหลังทำความสะอาดแล้วนั้น ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของ *Legionella* spp. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Staphylococcus* spp. ในทุกตัวอย่าง แต่พบแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ย 3.39×10^5 CFU/ml ในการตรวจครั้งแรก และไม่เกิน 141 CFU/ml ในการตรวจครั้งที่สองหลังทำความสะอาดแล้ว พบแบคทีเรียแกรมลบชนิด *Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium* และ *Alcaligenes* ในกลุ่มตัวอย่างแรกและพบเฉพาะ *Pseudomonas* ในกลุ่มตัวอย่างที่สอง เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ที่ศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรีย *Legionella* ในตัวอย่างน้ำจากเครื่องมือทันตกรรมในต่างประเทศ พบอุบัติการณ์ของเชื้อ *Legionella* ร้อยละ 10 – 68 และเป็นเชื้อ *Legionella pneumophila* ร้อยละ 8 (Szymanska,2004; Atlas,1995; William,1993) ส่วนในประเทศไทย นีรภา คงกันกง และคณะ (พ.ศ.2543) ได้ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย ในระบบน้ำของเครื่องมือทันตกรรม ในคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น พบเชื้อ *L.pneumophila* ร้อยละ 6 และพบจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่าเกณฑ์ที่ American Dental Association (ADA) กำหนด คือ มากกว่า 200 CFU/ml โดยพบแบคทีเรียทั้งหมด ชนิดมีโซฟิลิค เฮทเทอโรโทรฟิค ชนิดใช้ออกซิเจน (aerobic mesophilic heterotrophic bacteria) ปริมาณเฉลี่ย $1.70 \times 10^7 – 2.00 \times 10^7$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml)

ส่วนคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างน้ำที่ศึกษานี้ พบว่ามีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 28.94 องศาเซลเซียสในการตรวจครั้งแรก และ 28.8 องศาเซลเซียสในการตรวจครั้งที่สอง ค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ย 7.72 ในการตรวจครั้งแรก และ 6.92 ในการตรวจครั้งที่สอง และตรวจไม่พบปริมาณคลอรีนอิสระตกค้างในระบบทั้งสองครั้ง ลักษณะดังกล่าวเหมาะต่อการเจริญของเชื้อ *Legionella* ที่สามารถดำรงชีวิตได้ในช่วงความแตกต่างของอุณหภูมิ (7 – 70 องศาเซลเซียส) และความเป็นกรด-ด่าง (2 - 10) สูง (Bentham *et al.*, 1993) แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของเชื้อนี้ คือ 35 – 37 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิเฉลี่ยของตัวอย่างที่ศึกษานี้ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ จึงอาจทำให้โอกาสการตรวจพบเชื้อลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yee และ Wadowsky (1982) ที่ศึกษาการเจริญเพิ่มจำนวนของ *L. pneumophila* ในตัวอย่างน้ำประปา ในระยะเวลา 35 วัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อยังคงมีชีวิตแต่การ

เพิ่มจำนวนน้อยมาก และคงที่ตลอดช่วงเวลาการศึกษา ส่วนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีการเจริญเพิ่มจำนวนอย่างชัดเจน

Lye และคณะ(1997)ได้รายงานไว้ว่า การเพาะเชื้อ *Legionella* จากตัวอย่างสิ่งแวดล้อมมักพบว่า จุลชีพชนิดอื่นๆ ที่เจริญได้เร็วกว่า เจริญปกคลุมที่ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ไม่สามารถสังเกตโคโลนีของเชื้อ *Legionella* ได้ นอกจากนี้ การเจริญของจุลชีพเหล่านั้นอาจไปยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Legionella* ในการตรวจวิเคราะห์ได้ จากการศึกษาพบว่า *Pseudomonas* spp., *Aeromonas hydrophila* และบางชนิดของ Enterobacteriaceae (*Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Proteus* และ *Salmonella*) สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. pneumophila* บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ โดยการสร้างสาร bacteriocin และ bacteriocin-like substance มายับยั้งการเจริญของ *L. pneumophila* (Gomez-Lus *et al.*, 1993) แต่ในสิ่งแวดล้อมที่มีการเจริญร่วมกันของจุลชีพต่างๆ นั้น ยังไม่สามารถศึกษาได้แน่ชัดว่า แบคทีเรียดังกล่าวจะสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Legionella* ได้หรือไม่

จากปัญหาที่แบคทีเรียชนิดอื่น ๆ เจริญปกคลุมผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ ดังนั้นในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (pre-treatment) จึงใช้วิธี acid pre-treatment ซึ่งเป็นการปรับสภาพตัวอย่างให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 2.2 ด้วยสารละลาย KCl-HCl เพื่อกำจัดเชื้ออื่นที่ปนเปื้อนในตัวอย่างน้ำที่ทำการศึกษา ซึ่งที่ระดับความเป็นกรด-ด่างดังกล่าวเชื้อ *Legionella* สามารถทนได้ แต่หากในตัวอย่างน้ำที่นำมาเพาะเชื้อนั้น มีปริมาณเชื้อ *Legionella* น้อย วิธีการดังกล่าวอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เชื้อลดความสามารถในการเจริญลง ทำให้ตรวจไม่พบเชื้อด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ (Bartie *et al.*, 2003)

ตามธรรมชาติของจุลชีพเมื่อเจริญตามปกติในสิ่งแวดล้อม มักเจริญรวมกันเป็นกลุ่มจุลชีพ (consortium) ในลักษณะของ biofilms โดยแบคทีเรียจะสร้างสารโพลีเมอร์ที่มีความเหนียว (extracellular polymeric substances) มาช่วยเกาะติดกับผนังและจับกับแบคทีเรียอื่น ๆ เพื่อช่วยป้องกันเซลล์จากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (เช่น อุณหภูมิ สารเคมีต่างๆ) และเพื่อประโยชน์ในการแลกเปลี่ยนสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต เนื่องจากในน้ำมักมีปริมาณสารอาหารต่ำ แบคทีเรียต่างๆ รวมทั้งเชื้อ *Legionella* จะปรับตัวโดยการเข้าสู่ระยะอดอาหาร (starvation state) แบคทีเรียจะลดกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ลง รวมทั้งลดความสามารถในการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย (viable but noncultured cell) เมื่อนำตัวอย่างน้ำที่อาจจะมีเชื้อ *Legionella* ที่อยู่ในสภาวะดังกล่าวมาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อจึงอาจไม่พบ นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อมักจะสูงจนอาจเกิดความเป็นพิษกับเซลล์ได้ (Donlan, 2002) ทำให้ตรวจไม่พบเชื้อในตัวอย่างน้ำที่นำมาศึกษา

สำหรับระบบน้ำของเครื่องมือทันตกรรม Pederson และคณะ (2002) ทบทวนวรรณกรรม และพบว่ามีรายงานการพบ biofilm ครั้งแรกเมื่อปีค.ศ. 1963 โดยจุลินทรีย์อาจมาจากน้ำที่ใช้เติมลงในถังน้ำของระบบมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์อยู่ก่อน หรืออาจเป็นจุลินทรีย์จากช่องปากผู้ป่วยถูกดูดกลับเข้ามาในระบบน้ำของเครื่องมือทันตกรรม และอาจมีปัจจัยเสริมให้เกิด biofilm เช่น ขนาดของท่อ ลักษณะพื้นผิวของท่อ และความเร็วของน้ำในท่อร่วมด้วย ทั้งนี้หากมี biofilm เกิดขึ้นแล้วมักจะกำจัดได้ยาก และหากมีสะสมมากๆอาจทำให้ระบบน้ำอุดตัน หรือทำให้มีน้ำหยดจากหัวกรอได้ รวมทั้งเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของเชื้อโรคทำให้มีโอกาสแพร่เชื้อไปสู่ผู้ป่วยที่มาทำฟันได้ นอกจากนี้ละอองฝอยของน้ำอาจนำเชื้อโรคเข้าสู่ทางเดินหายใจของทั้งผู้ป่วย รวมถึงทันตแพทย์และผู้ช่วยทันตแพทย์ด้วยก็ได้ ดังนั้นการป้องกันการเกิดและการกำจัด biofilm ที่มีให้หมดไปจึงมีความสำคัญมากต่อการปฏิบัติงานในทางทันตกรรม รัชนี อัมพรอร่ามเวทย์และคณะ(พ.ศ.2552) ได้ทำการวิจัยและพบว่าการล้างท่อน้ำด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 0.005% ร่วมกับการเติมคลอร์เฮ็กซิดีนกลูโคเนทหรือไอซีเอกซ์ลงในระบบน้ำของเครื่องมือทันตกรรมอย่างต่อเนื่อง มีประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อไม่ให้เกินกว่าที่ American Dental Association (ADA) กำหนดไว้ คือให้มีจำนวนแบคทีเรียปนเปื้อนในระบบน้ำได้ไม่เกิน 200 CFU/ml ซึ่งทางหน่วยทันตกรรม โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา และหน่วยทันตกรรมชุมชน ได้นำมาใช้ทำความสะอาดระบบน้ำก่อนที่จะตรวจวิเคราะห์ครั้งที่สอง

การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาอื่นๆ ของตัวอย่างจากระบบน้ำของเครื่องมือทันตกรรมพบแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ย 3.39×10^5 CFU/ml ในการตรวจครั้งแรก และ ไม่เกิน 141 CFU/mlในการตรวจครั้งที่สองหลังการทำความสะอาดแล้ว โดยตรวจไม่พบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Staphylococcus* spp. ในตัวอย่างทั้งหมดด้วย นอกจากนั้นตรวจพบ *Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium และ Alcaligenes* ในกลุ่มตัวอย่างแรกและพบเฉพาะ*Pseudomonas* ในกลุ่มตัวอย่างที่สอง โดยแบคทีเรียดังกล่าวเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน ไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสได้ (glucose-nonfermenting Gram negative bacilli) เชื้อเหล่านี้โดยปกติพบอยู่ในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำ พืช สัตว์ อาหาร และสิ่งของต่างๆ ในปัจจุบันพบว่า มีบทบาทสำคัญทำให้เกิดโรคในคนมากขึ้น การก่อโรคของแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเป็นลักษณะการติดเชื้อฉวยโอกาส (opportunistic infection) เช่นเดียวกับกลุ่มแบคทีเรียโคลิฟอร์ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบุคคลที่มีภูมิต้านทานร่างกายต่ำ มักเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infection) โดยเชื้อจะเข้าทางเยื่อเมือกหากหายใจเอาละอองน้ำที่มีเชื้อเข้าไป ทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจและเป็นโรคปอดอักเสบได้ นอกจากนี้เชื้ออาจเข้าสู่ร่างกายทางบาดแผลที่ผิวหนัง แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ทำให้เกิดแผลเปื่อยอักเสบและเนื้อเยื่อตายได้ (Ryan, 1984) แบคทีเรียกลุ่มนี้ยังมักพบใน biofilms โดยเฉพาะ *Pseudomonas* เป็นแบคทีเรียชนิดแรก ๆ ที่พบได้ในการเกิด biofilms แบคทีเรียใน biofilms กลุ่มนี้มีส่วนช่วยส่งเสริม

การเจริญของเชื้อ *Legionella* ใน biofilms ได้ด้วยการเจริญในแบบพึ่งพา (symbiosis) โดยการแลกเปลี่ยนสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต (Donlan, 2002)

ในต่างประเทศให้ความสนใจโรค Legionnaires'disease นี้พอสมควร ดังตัวอย่างข่าวจากหนังสือพิมพ์เมื่อ 3 มกราคม 2555 รัฐมนตรีกระทรวงศึกษาธิการของรัฐบาลฮ่องกงล้มป่วยด้วยโรคลีเจียนแนร์ จึงได้มีการตรวจสอบระบบน้ำของที่ทำการใหญ่ของรัฐบาลฮ่องกง จากการสุ่มตรวจตัวอย่างจากห้องน้ำ รวมถึงห้องทำงานของนายโดนัลด์ เจิ้ง ผู้บริหารสูงสุดเกาะฮ่องกง พบเชื้อ *Legionella* สูงเกินมาตรฐานถึง 14 เท่า โดยอาคารที่ทำการรัฐบาลแห่งใหม่นี้มีมูลค่าการก่อสร้างประมาณ 22,000 ล้านบาท และเพิ่งเปิดใช้งานเมื่อเดือนสิงหาคม 2554(ข่าวสดออนไลน์,4 ม.ค.2555) แต่ในประเทศไทยโรคดังกล่าวจะถูกรายงานอยู่ในกลุ่มโรคปอดบวม โดยไม่ได้รับการวิเคราะห์ว่าเกิดจากเชื้อ *Legionella* หรือไม่ เพราะต้องส่งห้องปฏิบัติการที่รับตรวจเชื้อนี้โดยเฉพาะ เนื่องจากต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อพิเศษและเพาะเชื้อนาน 4-7 วัน อย่างไรก็ตามจากข้อมูลงานวิจัยต่าง ๆ ทั้งต่างประเทศและในประเทศจะเห็นได้ว่าเชื้อนี้อยู่ในสิ่งแวดล้อมใกล้ตัว ดังนั้นหากเกิดอาการเจ็บป่วยมีสุขภาพร่างกายอ่อนแอก็เสี่ยงต่อการติดเชื้อนี้ได้ นอกจากนั้นคนส่วนใหญ่มักจะต้องไปตรวจร่างกายประจำปีและรับการรักษาทางทันตกรรมอยู่เป็นระยะ ๆ โดยเฉพาะเมื่อมีอายุมากขึ้น ดังนั้นหากวงการทันตกรรมในประเทศไทยได้ตระหนักถึงผลกระทบจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในระบบน้ำในเครื่องมือทันตกรรมแล้ว ก็จะทำให้ประชากรที่เป็นบุคลากรทางทันตกรรมและคนไข้ที่ไปรับการรักษาทางทันตกรรมปลอดภัยจากการติดเชื้อจากโรงพยาบาลได้

ข้อเสนอแนะ

ระบบน้ำที่เข้าสู่เครื่องมือทันตกรรมจะต้องมีคุณภาพที่ดี Food and Drug Administration (FDA) แนะนำให้ใช้การกรองผ่าน membrane filter ที่มีขนาด pore size 0.22 μm เพื่อลดอัตราเสี่ยงที่จะทำให้ติดเชื้อจุลินทรีย์ ในคนไข้และบุคลากรทางทันตกรรม ซึ่งในประเทศไทยคงจะทำได้ยากเพราะมีค่าใช้จ่ายสูงมาก

ข้อแนะนำโดยทั่วไปเพื่อลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในระบบเครื่องมือทันตกรรมมี 4 วิธี ดังนี้

1. ปล่อยน้ำในท่อทิ้งอย่างน้อย 2 นาทีก่อนการเริ่มต้นใช้เครื่องมือในแต่ละวัน และ 20 – 30 วินาทีก่อนการเริ่มต้นคนไข้รายใหม่ และปล่อยน้ำทิ้งนาน ๆ หลังจากการหยุดรักษาในช่วงสุดสัปดาห์ เพื่อป้องกันการเกิด biofilm
2. ใช้แหล่งน้ำคนละระบบกับน้ำประปาทั่วไป โดยควรเป็นน้ำที่ปราศจากเชื้อ (sterile)
3. แหล่งน้ำควรมีการทำความสะอาดฆ่าเชื้อโรคด้วยสารเคมีเป็นระยะ ๆ
4. ใช้ระบบการกรองจุลินทรีย์ก่อนที่น้ำจะเข้าเครื่องมือทันตกรรม

นอกจากนี้ควรมีการตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อ *Legionella* และเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (gram negative bacteria) ในระบบน้ำของ triple syringe และน้ำที่ใช้บ้วนปากคนไข้อย่างน้อยปีละ 2 ครั้ง ทั้งนี้ American Dental Association (ADA) แนะนำว่าน้ำในระบบเครื่องมือทันตกรรมไม่ควรมีจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacterial count) เกิน 200 CFU/ml

จากข้อแนะนำดังกล่าวข้างต้น อาจต้องใช้งบประมาณสูงในการกรองน้ำผ่าน membrane filter หรือการทำน้ำให้ปราศจากเชื้อ(sterile) หน่วยทันตกรรม โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา และหน่วยทันตกรรมชุมชนจึงได้ทำความสะอาดตามงานวิจัยของรัชนี อัมพรอร่ามเวทย์และคณะ (พ.ศ.2552) โดยล้างท่อน้ำด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 0.005% ร่วมกับการเติมคลอร์เฮ็กซิดีนกลูโคเนทหรือไอซีเอกซ์ ลงในระบบน้ำของเครื่องมือทันตกรรมอย่างต่อเนื่อง ซึ่งผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่เก็บครั้งแรก จากระบบน้ำของเครื่องมือทันตกรรม พบแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ย 3.39×10^5 CFU/ml ในขณะที่การตรวจครั้งที่สองแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ยลดลงเหลือไม่เกิน 141 CFU/ml ซึ่งไม่เกิน 200 CFU/ml ตามที่ ADA กำหนดไว้ ดังนั้นระบบการทำความสะอาดตามงานวิจัยของรัชนี อัมพรอร่ามเวทย์และคณะ(พ.ศ.2552)ดังกล่าวจึงเหมาะที่จะใช้ทำความสะอาดระบบน้ำของเครื่องมือทันตกรรมหากไม่มีงบประมาณมากพอที่จะทำการกรองหรือทำให้ปราศจากเชื้อ(sterile) ซึ่งเป็นวิธีที่ดีที่สุด