

ประสิทธิภาพของน้ำยา 0.12% คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต ด้านการฆ่าเชื้อแบบครั้งคราว ในระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน

Efficacy of 0.12% chlorhexidine gluconate on periodic disinfections of dental unit waterlines

นิวัฒน์ พันธุ์ไพศาล^{1*} พบชัย งามสกุลรุ่งโรจน์² ณัฐกฤตา เสรีกิจ¹ และ สุนีย์ ลิ้มศรีวานิชยกร²
Niwat Phanpaisan^{1*}, Popchai Ngamskulrungronj², Nattakrita Sedkit¹ and Sunee Limsriwanichakorn²

บทคัดย่อ

น้ำที่ไหลเข้าระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน (dental unit waterline: DUWL) มีปริมาณจุลินทรีย์จำนวนเล็กน้อย ขณะที่เมื่อฉีดพ่นเข้าสู่ช่องปากกลับมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ซึ่งอาจทำให้ทั้งผู้ป่วยและบุคลากรทางทันตกรรมมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อบางอย่างได้ **วัตถุประสงค์:** เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและหาความถี่ที่เหมาะสมของการใช้น้ำยา 0.12% คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต (chlorhexidine gluconate: CHX) แบบครั้งคราว สำหรับฆ่าเชื้อภายในระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน **วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ:** สามยูนิตทำฟันถูกกำหนดเป็นยูนิต A, B และ C ตามลำดับ ซึ่งมีภาชนะเก็บน้ำของตัวเองถูกใช้ในการศึกษาเป็นเวลาสองสัปดาห์ ในแต่ละสัปดาห์ได้ทำการฆ่าเชื้อ DUWL ของยูนิต A เป็นเวลา 5 วัน (วิธีที่ 1) และยูนิต B เป็นเวลา 1 วัน (วิธีที่ 2) ตลอดทั้งคืนด้วย 0.12% CHX ส่วนยูนิต C ไม่ได้ทำการฆ่าเชื้อเพื่อใช้เป็นยูนิตควบคุม ตัวอย่างน้ำถูกเก็บภายใน 2 สัปดาห์ น้ำกรองของโรงพยาบาลศิริราชซึ่งเป็นแหล่งน้ำของยูนิตทำฟันถูกเก็บ 1 ตัวอย่างต่อสัปดาห์ และก่อนการฆ่าเชื้อ DUWL ตัวอย่างน้ำ 3 ตัวอย่างจากแต่ละยูนิตทำฟัน (A, B, C) ถูกเก็บเพื่อใช้เป็นตัวอย่างพื้นฐาน หลังการฆ่าเชื้อ DUWL น้ำจากแต่ละยูนิต A และ B ถูกเก็บ 1 ตัวอย่างต่อวัน 5 วันต่อสัปดาห์เพื่อใช้เป็นตัวอย่างทดสอบ สำหรับยูนิต C น้ำถูกเก็บ 1 ตัวอย่างต่อวัน 5 วันต่อสัปดาห์เพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างน้ำทั้งหมดจำนวน 35 ตัวอย่าง ถูกส่งตรวจเพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์แอโรบิกทั้งหมด (total aerobic microbial count) และชนิดของจุลินทรีย์ตามมาตรฐานน้ำดื่ม

ผล: เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานที่กำหนดโดยสมาคมทันตแพทย์แห่งสหรัฐอเมริกา (200 cfu/ml) พบว่าตัวอย่างน้ำจากยูนิตทำฟันทั้งหมดในแต่ละสัปดาห์มีปริมาณจุลินทรีย์มากกว่ามาตรฐาน และเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญพบได้จากยูนิต A ในสัปดาห์ที่ 1 หลังการฆ่าเชื้อ ($P = 0.034$) เท่านั้น และมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญของปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างอื่นๆ ในช่วงเวลาที่ทำการทดลอง

บทสรุป: ภายใต้ข้อจำกัดของการศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาในหลอดทดลอง (*in vitro* study) นี้ พบว่าการใช้น้ำยา 0.12% CHX ในการฆ่าเชื้อ DUWL แบบครั้งคราวไม่สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ให้ได้ตามมาตรฐานสากล ดังนั้นจึงแนะนำว่าถ้าเป็นไปได้ควรใช้น้ำยา 0.12% CHX ฆ่าเชื้อด้วยความถี่ที่มากกว่าห้าวันต่อสัปดาห์เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดในการฆ่าเชื้อ DUWL

คำสำคัญ: ระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน จุลินทรีย์ คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต

^{1*} งานทันตกรรม โรงพยาบาลศิริราช คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

² ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

^{1*} Dental Division of Siriraj Hospital, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

² Department of Microbiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

* corresponding author, E-mail : niwat_ph@hotmail.com

Abstract

The water flowing into a dental unit waterline (DUWL) system has a small amount of microorganisms while that forced intraorally a large one. The latter may put both patients and dental personnel at risk of some infections. **Objective:** To study an efficacy and an optimal usage frequency of 0.12% chlorhexidine gluconate (CHX) solution in periodic disinfections for reducing DUWL microbial contamination. **Materials and Methods:** Three dental units designated as Units A, B, and C, respectively, with their own water-container were used for two weeks. On a weekly basis, DUWLs of Units A and B underwent a 5- (method 1) and a 1- (method 2) day disinfection, respectively, overnight with 0.12% CHX. Unit C was left undisinfected control. Water samples were collected within 2 weeks. The filtered water of Siriraj Hospital, which is the water source of dental units was collected one sample per week. Before disinfection of DUWL, 3 samples of water from each dental unit (A, B, C) were collected for use as the baseline samples. After disinfection of DUWL, water from each unit A and B were collected 1 sample per day, 5 days a week for use as the test samples. For unit C, water were collected 1 sample per day, 5 days a week for use as the control samples. Total of 35 water samples were examined for total aerobic microbial count and type of microorganisms according to drinking water standards.

Results: When compared to that determined by American Dental Association (200 cfu/ml), water samples from all dental units in each week contained more microorganisms. When compared to those of controls, a significantly lower amount of microorganisms was disclosed in only that obtained from Unit A at Week 1 post-disinfection ($P = 0.034$), with non-significant differences in microbial amount among other samples during the experimental period.

Conclusions: Within the limitations of this *in vitro* study, the use of 0.12% CHX solution in DUWL periodic disinfections was unable to reduce microbial contamination to the international standard. Hence, it was suggested that 0.12% CHX solution should be used as frequently over five days a week as possible for maximal efficacy of DUWL disinfections.

Keywords: dental unit waterline, microorganism, chlorhexidine gluconate

หลักการและเหตุผล

ทันตแพทย์ใช้น้ำจากยูนิตทำฟัน (dental unit) เพื่อลดความร้อนจากด้ามกรอ (handpiece) และเพื่อทำความสะอาดช่องปากของผู้ป่วยระหว่างการทำการรักษาทางทันตกรรม ซึ่งน้ำดังกล่าวในยูนิตทำฟันทั่วไปมักบรรจุในภาชนะที่มาพร้อมกับยูนิตทำฟัน โดยอาจเป็นน้ำประปา น้ำกรอง น้ำกลั่น หรือน้ำที่ผ่านกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อ ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์ไม่มากนัก หลัง

เข้ายูนิตทำฟันแล้ว น้ำจะผ่านไปตามท่อพลาสติกขนาดเล็กของระบบท่อส่งน้ำ (waterline) แล้วถูกฉีดออกสู่ช่องปากของผู้ป่วยระหว่างหัตถการต่าง ๆ ผ่านด้ามกรอชนิดใช้น้ำ (water-turbine handpiece) และกระบอกฉีดน้ำ-ลม (water-air syringe)

จุลินทรีย์ปนเปื้อนปริมาณค่อนข้างสูงในน้ำจากยูนิตทำฟัน ถูกรายงานครั้งแรกตั้งแต่เมื่อกว่า 60 ปีที่แล้ว (Blake, 1963) และจุลินทรีย์ซึ่งอาจมาจากแหล่ง

น้ำก่อนเข้าสู่ยูนิตทำฟัน และจากภายในช่องปากของผู้ป่วย โดยผ่านด้ามกรอและกระบอกฉีดน้ำ-ลมกลับสู่ระบบท่อน้ำนั้น จะเติบโตเพิ่มขึ้น สะสมเป็นกลุ่มแล้วเกาะที่ผนังภายในของท่อน้ำในลักษณะไบโอฟิล์ม (biofilm) (Donlan & Costerton, 2002) และสามารถถูกนับเป็นกลุ่มต่อมิลลิเมตร (colony forming unit/ml: cfu/ml) จุลินทรีย์บนผิวของไบโอฟิล์มเติบโตได้เร็วและหลุดมาปนกับแพลงก์ตอน (plankton) ภายในท่อน้ำได้ จุลินทรีย์ซึ่งหลุดมานี้อาจไปเกาะอีกครั้งหนึ่งบนพื้นผิวที่ไกลไปทางปลายน้ำ หรืออาจถูกฉีดเข้าสู่ช่องปากของผู้ป่วยได้ จุลินทรีย์ซึ่งปนเปื้อนในน้ำที่ออกจากยูนิตทำฟัน อาจมีจำนวนสูงถึง 10^5 cfu/ml (Singh et al., 2013) และอาจเป็นเชื้อก่อโรคฉวยโอกาส (opportunistic pathogen) เช่น *Streptococci* spp., *Enterococci* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella* spp. แบคทีเรียแกรมลบทรงแท่งอื่น ๆ (Ajami et al., 2012; Mills, 2000; Pankhurst, 2003) ขณะที่ทันตแพทย์ใช้งานด้ามกรอ น้ำและลมจากระบบท่อน้ำ จะดันให้จุลินทรีย์เหล่านี้หลุดปนกับละอองน้ำเข้าสู่บาดแผลในช่องปาก หรือเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจผ่านทางจมูกของผู้ป่วย แล้วก่อให้เกิดการติดเชื้อภายในระบบต่าง ๆ ของร่างกายผู้ป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ (Ajami et al., 2012; Pankhurst, 2003) รวมทั้งแพร่กระจายไปยังทันตบุคลากรขณะให้บริการได้ (Walker et al., 2004) ดังนั้น สมาคมทันตแพทย์แห่งสหรัฐอเมริกา (American Dental Association: ADA) จึงเน้นให้ทันตบุคลากรป้องกันและควบคุมการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ระหว่างให้บริการทางทันตกรรม (ADA Council on Scientific Affairs [CSA], 1999)

ปริมาณของกลุ่มจุลินทรีย์ในน้ำจากระบบท่อน้ำอาจอยู่ในช่วง 10^2 - 10^6 cfu/ml (Szymańska et al., 2008) แต่ปริมาณดังกล่าวต้องไม่เกิน 200 cfu/ml ตามที่ ADA กำหนด (Porteous & Cooley, 2004) หรือไม่เกิน 500 cfu/ml ซึ่งเท่ากับปริมาณที่กำหนดในน้ำดื่ม สำหรับเหตุการณ์ที่ไม่ใช่ศัลยกรรมช่องปาก ตามที่ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคของ

สหรัฐอเมริกา (Centers for Disease Control and Prevention: CDC) แนะนำ (Zhang et al., 2007)

ความเสี่ยงในการติดเชื้อของผู้ป่วยจะสูงขึ้นหากระบบท่อน้ำปนเปื้อนจุลินทรีย์สูงกว่าค่ามาตรฐาน ไบโอฟิล์มภายในระบบท่อน้ำสามารถแพร่กระจายแล้วก่อตัวเป็นไบโอฟิล์มบนลิ้นหัวใจของผู้ป่วย ทำให้เกิดเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (infective endocarditis) ได้จาก *Moraxella* spp. (Mills, 2000) นอกจากนี้ จุลินทรีย์บางชนิดในน้ำจากยูนิตทำฟัน ซึ่งไม่ก่อให้เกิดโรคในคนปกติ เช่น *Pseudomonas*, *Acinetobacter* อาจก่อให้เกิดโรคในผู้ป่วยที่พักรักษาในโรงพยาบาล (Morrison et al., 1986; Schiff et al., 1961) ดังนั้น การลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในระบบท่อน้ำของยูนิตทำฟัน เป็นการปฏิบัติที่จำเป็นอย่างยิ่งในสถานการณ์ปัจจุบันและสามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การใส่สารละลายคลอเฮกซิดีนกลูโคเนต (chlorhexidine gluconate: CHX) เข้มข้น 0.12% (ระดับเดียวกับในน้ำยาบ้วนปากที่จำหน่ายในท้องตลาด) ลงในภาชนะเก็บน้ำของยูนิตทำฟันตลอดเวลาเพื่อฆ่าเชื้อ การใช้ CHX แม้ว่าค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง แต่การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในน้ำที่ออกมาจากยูนิตทำฟันก็ถูกลดลง จนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสากล (Singh et al., 2013)

วัตถุประสงค์ในการวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและหาความถี่ที่เหมาะสมของการใช้น้ำยา 0.12% CHX แบบครั้งคราวสำหรับฆ่าเชื้อภายในระบบท่อน้ำของยูนิตทำฟัน

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการฆ่าเชื้อในยูนิตทำฟัน

สามยูนิตทำฟัน (A, B, C) ซึ่งมีภาชนะเก็บน้ำของตัวเอง และใช้น้ำกรองของโรงพยาบาลบรรจุลงในภาชนะดังกล่าว โดยน้ำจะถูกส่งผ่านระบบท่อน้ำของยูนิตทำฟัน แล้วปล่อยออกสู่ช่องปากของผู้ป่วยผ่าน

ตามกรอชนิดใช้น้ำ (water-turbine handpiece) และกระบอกฉีดน้ำ-ลม (water-air syringe) ขณะทำหัตถการต่างๆ และระหว่างทำการรักษาผู้ป่วยแต่ละราย จะทำการพ่นน้ำออกจากระบบเป็นเวลา 30 วินาที ตัวอย่างน้ำจะถูกเก็บจากด้ามกรอฟันของแต่ละยูนิตทำฟัน (A, B, C) เพื่อใช้เป็นค่าพื้นฐานก่อนเริ่มการศึกษา

หลังจากสิ้นสุดการรักษาผู้ป่วยในแต่ละวัน ภาชนะเก็บน้ำของยูนิต A และ B จะถูกเปลี่ยนจากน้ำกรองเป็นน้ำยา 0.12% คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต (chlorhexidine gluconate: CHX) ซึ่งมีสีม่วง โดยน้ำยาประมาณ 250 มิลลิลิตรจะถูกส่งไปตามระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน และถูกพ่นออกมาทางด้ามกรอและกระบอกฉีดน้ำ-ลม จนกระทั่งน้ำเปลี่ยนเป็นน้ำสีม่วง เพื่อให้แน่ใจว่าน้ำยาถูกส่งผ่านเข้าไปเต็มระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน และทิ้งน้ำยาไว้ในระบบตลอดทั้งคืนเพื่อทำการฆ่าเชื้อ โดยยูนิต A (วิธีที่ 1) ทำการฆ่าเชื้อ 5 วันต่อสัปดาห์ (จันทร์ ถึง ศุกร์) และยูนิต B (วิธีที่ 2) ทำการฆ่าเชื้อ 1 วันต่อสัปดาห์ (เฉพาะวันจันทร์) ส่วนยูนิต C ไม่ได้ทำการฆ่าเชื้อ ยังใช้น้ำกรองเหมือนเดิมเพื่อใช้เป็นยูนิตควบคุม (control) โดยทำการศึกษาเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (ภาพที่ 1)

วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อการศึกษา

สำหรับตัวอย่างควบคุม จะใช้น้ำ 2 ประเภท ได้แก่ 1) เก็บตัวอย่างน้ำกรองที่ใช้ใส่ภาชนะเก็บน้ำของยูนิตทำฟัน ก่อนการทดสอบในแต่ละสัปดาห์ เพื่อใช้เป็นมาตรฐานของน้ำที่เข้าทุกยูนิตทำฟัน และ 2) เก็บตัวอย่างน้ำจากด้ามกรอทั้ง 3 ยูนิตทำฟัน (A, B, C) โดยฉีดน้ำจากด้ามกรอ 800 มิลลิลิตรลงในภาชนะที่ปราศจากเชื้อ (sterile containers) ในตอนเช้าก่อนเริ่มทำหัตถการ เพื่อใช้เป็นตัวอย่างน้ำพื้นฐาน ก่อนเริ่มทำการฆ่าเชื้อระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน

สำหรับตัวอย่างทดลอง หลังสิ้นสุดการรักษาผู้ป่วยในแต่ละวัน และทำการฆ่าเชื้อระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันตามที่กล่าวมาแล้วข้างต้น เข้าวันรุ่งขึ้นก่อนเริ่มทำงาน จะทำการพ่นน้ำยา 0.12% CHX ออกจากยูนิต A และ B จนหมด หลังจากนั้น จึงเติมน้ำกรองลงในภาชนะเก็บน้ำของยูนิตทำฟันทั้ง 3 ยูนิต

(A, B, C) และพ่นน้ำกรองทิ้งออกจากระบบนาน 2 นาที แล้วจึงเก็บตัวอย่างน้ำ 800 มิลลิลิตรของแต่ละยูนิตลงในภาชนะที่ปราศจากเชื้อ การเก็บตัวอย่างน้ำจากทั้ง 3 ยูนิตทำฟันจะทำวันละ 1 ครั้ง โดยทำการเก็บ 5 วันต่อสัปดาห์ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (รูปที่ 1)

ตัวอย่างน้ำทั้งหมดที่เก็บจะถูกส่งตรวจเพื่อหาปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ตามมาตรฐานของการตรวจจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม ซึ่งมีรายการดังนี้

1. Total aerobic microbial count การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำ โดยการตรวจนับจำนวนทั้งแบคทีเรีย ราและยีสต์ที่ยังมีชีวิตในตัวอย่าง รายงานผลเป็น colony forming unit (cfu)/ml

2. Coliform count การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียในกลุ่ม coliforms ในตัวอย่างน้ำโดยวิธี multiple tube fermentation technique หรือ MPN (Most Probable Number) เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียในกลุ่ม coliforms โดยอาศัยความสามารถในการย่อยสลายอาหารให้เกิดกรดและก๊าซในหลอดทดลอง จากนั้นนำจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกไปอ่านค่าในตาราง MPN มาตรฐาน และรายงานเป็นค่า MPN โดยการทดสอบนี้มี limit of detection ที่ 1.8 ดังนั้น หากการทดสอบให้ผลลบจะรายงานผลว่า < 1.8

3. *Escherichia coli* (*E. coli*) count การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ *E. coli* ในตัวอย่างน้ำ โดยวิธี multiple tube fermentation technique หรือ MPN เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณ *E. coli* โดยอาศัยการใช้ fluorogenic substrate เป็นการตรวจหา *E. coli* ที่มีเอนไซม์ β -glucuronidase ซึ่งสามารถย่อย substrate 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG) ทำให้เกิดการเรืองแสงสีฟ้า เมื่อส่องภายใต้แสง UV ความยาวคลื่น 365-366 นาโนเมตร จากนั้นนำจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกไปอ่านค่าในตาราง MPN

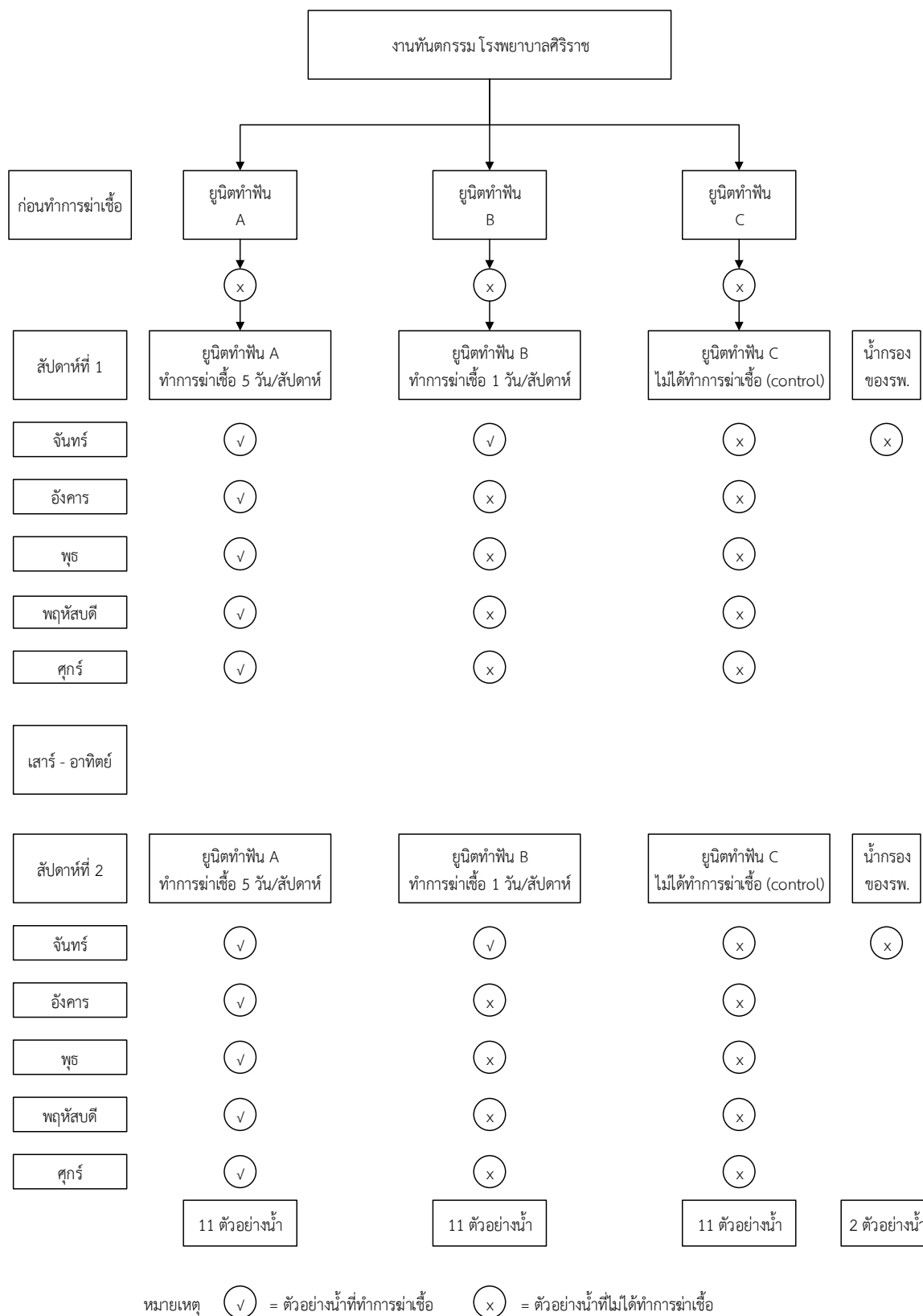
มาตรฐาน และรายงานเป็นค่า MPN โดยการทดสอบนี้มี limit of detection ที่ 1.8 ดังนั้น หากการทดสอบให้ผลลบจะรายงานผลว่า < 1.8

4. *Staphylococcus aureus* detection
การตรวจวิเคราะห์หา *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างน้ำ โดยวิธีกรองตัวอย่างน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตรผ่านแผ่นกรองเมมเบรน (membrane filter) ที่มีรู (pore size) ขนาด 0.22 ไมครอน แล้วนำแผ่นกรองนี้ไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะกับการเจริญเติบโตของ *S. aureus* ได้แก่ Baird-Parker agar เพื่อตรวจหาว่า พบ/ไม่พบ *S. aureus* ในตัวอย่างน้ำ โดยวิธี membrane filtration

5. *Pseudomonas aeruginosa* detection
การตรวจวิเคราะห์หา *Pseudomonas aeruginosa*

ในตัวอย่างน้ำ โดยวิธีกรองตัวอย่างน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตรผ่านแผ่นกรองเมมเบรน (membrane filter) ที่มีรู (pore size) ขนาด 0.22 ไมครอน แล้วนำแผ่นกรองไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะกับการเจริญเติบโตของ *P. aeruginosa* ได้แก่ Cetrimide agar เพื่อตรวจหาว่า พบ/ไม่พบ *P. aeruginosa* ในตัวอย่างน้ำโดยวิธี membrane filtration

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ข้อมูลจากการตรวจตัวอย่างน้ำที่เก็บจากยูนิตทำฟันทั้ง 3 ยูนิตนำมาวิเคราะห์โดยใช้ Dunnett's test (IBM SPSS Statistics version 23) โดยศึกษาความแตกต่างของปริมาณจุลินทรีย์ที่ลดลงของยูนิตทำฟันทั้ง A และ B เทียบกับยูนิตทำฟันทั้ง C ($p < 0.05$)



ภาพที่ 1 แผนภูมิแสดงวิธีการดำเนินการวิจัย



ภาพที่ 2 กราฟและตารางแสดงปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำจากแต่ละยูนิตในสัปดาห์ที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณของเชื้อในน้ำกรองมาตรฐานโรงพยาบาล (รพ.) ซึ่งใช้ในกลุ่มทดลอง กับในน้ำตามมาตรฐานของหน่วยงานต่างๆ

แหล่งน้ำ		ชนิดและปริมาณของเชื้อ				
ประเภท	มาตรฐาน	ปริมาณเชื้อทั้งหมด (cfu/ml)	Coliform MPN*	Escherichia coli MPN*	Staphylococcus aureus per 100 ml	Pseudomonas aeruginosa per 500 ml
น้ำกรอง	รพ.	สัปดาห์ที่ 1	740	13	< 1.8	Undetectable
		สัปดาห์ที่ 2	1,700	< 1.8	< 1.8	Undetectable
น้ำดื่ม	สมอ.	≤ 500	2.2	UD	Undetectable	Undetectable
น้ำประปา	กปน.	500	UD	UD	Undetectable	Undetectable
น้ำจากยูนิตทำฟัน	ADA	200	UD	UD	Undetectable	Undetectable
น้ำจากยูนิตทำฟัน	CDC	≤ 500	UD	UD	Undetectable	Undetectable

* MPN, most probable number of colony forming unit (cfu) per 100 ml

ADA, American Dental Association; CDC, Centers for Disease Control and Prevention

กปน., การประปานครหลวง; สมอ., มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

UD, Undetectable

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (log10) ระหว่างปริมาณเชื้อในตัวอย่างจากกลุ่มทดลอง (ยูนิตทำฟืน A และ B) ในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 หลังฆ่าเชื้อแบบครั้งคราว ด้วย 0.12% คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต กับปริมาณเชื้อในตัวอย่างจากกลุ่มควบคุม (ยูนิตทำฟืน C)

สัปดาห์ที่	ยูนิตทำฟืน	ค่าเฉลี่ย (log10) ของปริมาณเชื้อในตัวอย่างน้ำ	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	P-value
1	A*	3.1	0.7	0.034**
	B*	4.0	1.1	0.443
	C	4.3	0.7	-
2	A*	4.9	0.4	0.606
	B*	5.3	0.2	0.983
	C	5.0	0.3	-

* เปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยจากยูนิตทำฟืน C ในสัปดาห์นั้นๆ

** ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย Dunnett's test ที่ $P < 0.05$

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณของเชื้อในน้ำ/จำนวนตัวอย่างน้ำที่ตรวจพบเชื้อจากกลุ่มทดลอง (ยูนิตทำฟืน A และ B) ก่อนและในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 หลังฆ่าเชื้อแบบครั้งคราว ด้วย 0.12% คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต กับที่ตรวจพบจากกลุ่มควบคุม (ยูนิตทำฟืน C)

ตัวอย่างน้ำ ยูนิตทำฟืน		จำนวน	ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ (cfu/ml)	ปริมาณของเชื้อ/จำนวนตัวอย่างน้ำซึ่งตรวจพบเชื้อ			
				Coliform	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
				MPN*	MPN*	per 100 ml	per 500 ml
ก่อนฆ่าเชื้อ							
A	1	3,200	< 1.8	< 1.8	Undetectable	1 ตัวอย่าง	
B	1	3,800	< 1.8	< 1.8	Undetectable	Undetectable	
C	1	4,200	< 1.8	< 1.8	Undetectable	Undetectable	
หลังฆ่าเชื้อ (ยกเว้น C)							
สัปดาห์ที่ 1							
A	5	2,964	< 1.8	< 1.8	Undetectable	3 ตัวอย่าง	
B	5	51,326	< 1.8	< 1.8	Undetectable	3 ตัวอย่าง	
C	5	45,100	< 1.8	< 1.8	Undetectable	4 ตัวอย่าง	
สัปดาห์ที่ 2							
A	5	120,400	< 1.8	< 1.8	Undetectable	5 ตัวอย่าง	
B	5	221,600	< 1.8	< 1.8	Undetectable	4 ตัวอย่าง	
C	5	106,000	< 1.8	< 1.8	Undetectable	5 ตัวอย่าง	

* MPN, most probable number of colony forming unit (cfu) per 100 ml

ผลของการวิจัย

น้ำกรอง (ตามมาตรฐานโรงพยาบาล) ในภาชนะเก็บน้ำของยูนิตทำฟัน มีปริมาณเชื้อ 740 (สัปดาห์ที่ 1) และ 1,700 (สัปดาห์ที่ 2) cfu/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ก่อนและหลังการฆ่าเชื้อในตัวอย่างน้ำด้วย 0.12% CHX แบบครั้งคราว ปริมาณของเชื้อจากยูนิตทำฟันทั้งหมดในการวิจัยนี้ มีค่าสูงกว่า 200 cfu/ml (ภาพที่ 2) อย่างไรก็ตาม หลังการฆ่าเชื้อระบบท่อน้ำของยูนิตทำฟัน A และ B แล้ว (ตารางที่ 2) พบว่าปริมาณเชื้อในน้ำจากยูนิตทำฟัน A น้อยกว่าของกลุ่มควบคุม (ยูนิตทำฟัน C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.034$) โดยที่ปริมาณเชื้อในน้ำจากยูนิตทำฟัน B แตกต่างจากของกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.443$) ในสัปดาห์ที่ 1 และปริมาณเชื้อในน้ำจากทั้งยูนิตทำฟัน A และ B แตกต่างจากของกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.606$ และ 0.983 ตามลำดับ) ในสัปดาห์ที่ 2

อนึ่ง ตารางที่ 3 แสดงว่า *Pseudomonas aeruginosa* ถูกตรวจพบในตัวอย่างน้ำ 1 ชุด จากยูนิตทำฟัน A ก่อนการฆ่าเชื้อแบบครั้งคราวด้วย 0.12% CHX และในตัวอย่างน้ำ 6 ชุด จากยูนิตทำฟัน A และ B (3 ชุด และ 3 ชุด ตามลำดับ) ในสัปดาห์ที่ 1 หลังการฆ่าเชื้อร่วมกับในตัวอย่างน้ำ 9 ชุด จากยูนิตทำฟัน A และ B (5 ชุด และ 4 ชุด ตามลำดับ) ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการฆ่าเชื้อ ในขณะที่ ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของ coliform bacteria, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างน้ำทั้งหมดจากยูนิตทำฟันในงานวิจัยนี้

การอภิปรายผลการวิจัย

ตัวอย่างน้ำที่เก็บจากยูนิตทำฟันพบว่าการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในระบบท่อน้ำของยูนิตทำฟันเป็นจำนวนมาก การฆ่าเชื้อระบบท่อน้ำของยูนิตทำฟันด้วยน้ำยา 0.12% CHX แบบครั้งคราว ได้ผลดีเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ของยูนิต A เท่านั้น (วิธีที่ 1) แต่ก็ยัง

ไม่ถึงระดับที่ยอมรับได้ คือ 200 cfu/ml ตามมาตรฐานของสมาคมทันตแพทย์แห่งสหรัฐอเมริกา จากการทดลองนี้ซึ่งใช้น้ำยา 0.12% CHX ที่มีความเข้มข้นต่ำและทำการฆ่าเชื้อแบบครั้งคราว ทั้งวิธีที่ 1 และ 2 เพื่อต้องการลดค่าใช้จ่ายของการใช้น้ำยา 0.12% CHX ฆ่าเชื้อแบบตลอดเวลาในระบบท่อน้ำของยูนิตทำฟันพบว่าไม่สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำจากยูนิตทำฟันได้ แต่กลับทำให้ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นในเวลาต่อมา ทั้งยูนิตทำฟันที่ทำการฆ่าเชื้อ (ยูนิต A และ B) และยูนิตทำฟันที่ไม่ได้ทำการฆ่าเชื้อ (ยูนิต C) ทั้งนี้เพราะน้ำยา 0.12% CHX มีความเข้มข้นต่ำ จุลินทรีย์ที่อยู่ในไบโอฟิล์มนั้นสามารถทนทานต่อการถูกกำจัดด้วยสารเคมีที่มีความเข้มข้นต่ำ จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ไม่สามารถกำจัดไบโอฟิล์มให้หมดไป และการเพิ่มขึ้นกลับมาใหม่ของจุลินทรีย์ในน้ำที่ออกมาจากยูนิตทำฟันภายในระยะเวลาไม่ถึงหนึ่งสัปดาห์ (Karpay et al., 1999) เมื่อทำการฆ่าเชื้อแบบครั้งคราว พร้อมทั้งยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีส่วนช่วยเสริมต่อการเกิดไบโอฟิล์ม เช่น ขนาดของท่อน้ำ ลักษณะพื้นผิวของท่อน้ำและความเร็วของน้ำภายในท่อ เป็นต้น (Donlan, 2002) ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำที่ออกจากยูนิตทำฟันเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ

สาเหตุอีกส่วนหนึ่งของการปนเปื้อนในน้ำของยูนิตทำฟันเกิดจากน้ำกรองของโรงพยาบาลที่ใช้เติมในภาชนะเก็บน้ำของยูนิตทำฟันซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์มากอยู่แล้ว คือ > 200 cfu/ml (ตารางที่ 1) รวมทั้งจุลินทรีย์จากภายในช่องปากสามารถย้อนกลับเข้าสู่ระบบท่อน้ำของยูนิตทำฟัน โดยผ่านทางด้ามกรอและกระบอกฉีดน้ำ-ลม (Martin, 1987) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะเกาะติดที่ผนังของท่อน้ำพลาสติกภายในระบบของยูนิตทำฟันและมีการแพร่พันธุ์เพิ่มปริมาณมากขึ้น แล้วเกิดการสะสมเป็นไบโอฟิล์มอยู่ตลอดเวลา ทำให้น้ำที่ออกจากยูนิตทำฟันมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป (ภาพที่ 2)

นอกจากนี้ ในการศึกษาไม่มีวิธีใดที่กำจัดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ และปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำที่เพิ่มมากขึ้นก็จะพบเชื้อ

Pseudomonas aeruginosa ได้มากขึ้นตามไปด้วย (ตารางที่ 3) ซึ่งเป็นอันตรายมากเพราะเป็นเชื้อฉวยโอกาสในโรงพยาบาลที่ก่อให้เกิดโรคที่ดื้อยาสูงมาก เพราะฉะนั้นผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำควรได้รับการรักษาทางทันตกรรมด้วยยูนิตทำฟันที่มีการฆ่าเชื้อของน้ำภายในยูนิตทำฟัน โดยมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน คือ น้อยกว่า 200 cfu/ml

สรุปผลการวิจัย

ภายใต้ข้อจำกัดของการศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาในหลอดทดลอง (*in vitro* study) นี้ พบว่าการใช้น้ำยา 0.12% คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต ในการฆ่าเชื้อระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันแบบครั้งคราว (periodic treatment) ไม่สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ให้ได้ตามมาตรฐานสากล ดังนั้นจึงแนะนำว่าถ้าเป็นไปได้ควรใช้น้ำยา 0.12% CHX ฆ่าเชื้อด้วยความถี่ที่มากกว่าห้าวันต่อสัปดาห์หรือใช้ตลอดเวลา (continuous treatment) เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดในการฆ่าเชื้อระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน

ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

การฆ่าเชื้อระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันเป็นสิ่งสำคัญในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ออกจากยูนิตทำฟัน ซึ่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เกินมาตรฐาน เมื่อถูกฉีดพ่นเข้าสู่ช่องปากของผู้ป่วยและฟุ้งกระจายไปในอากาศขณะปฏิบัติงาน สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้ เช่น *Pseudomonas aeruginosa* เป็นเชื้อฉวยโอกาสซึ่งสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อของแผลในช่องปาก การติดเชื้อไปตามกระแสโลหิต (septicemia) หรือก่อให้เกิดโรคของระบบทางเดินปัสสาวะและโรคของระบบทางเดินหายใจทำให้ปอดอักเสบ (pneumonia) ได้ โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ ทั้งนี้เพราะเชื้อชนิดนี้มีคุณสมบัติในการต้านน้ำยาฆ่าเชื้อและยาปฏิชีวนะต่าง ๆ (Martin, 1987) *legionella pneumophila* เป็นสาเหตุของโรคปอดอักเสบที่

เรียกว่า Legionellosis ซึ่งโรคนี้สามารถติดต่อได้จากการสูดดมเอาละอองฝอยของน้ำที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อนี้เข้าไป (Atlas et al., 1995)

ในทางปฏิบัติ การทำความสะอาดระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การใช้ น้ำที่ปลอดเชื้อเป็นแหล่งน้ำของยูนิตทำฟัน การติดตั้งวาล์วป้องกันการดูดกลับของน้ำจากด้ามกรอ การพ่นน้ำออกจากท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันทั้งก่อนและหลังการปฏิบัติงาน การทำให้ท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันแห้งในตอนกลางคืนและช่วงวันหยุดสุดสัปดาห์ การใช้ภาชนะเก็บน้ำในตัวเองที่สะอาดแทนการต่อน้ำประปาเข้ากับยูนิตทำฟันโดยตรง การใช้น้ำยาฆ่าเชื้อในระบบน้ำของยูนิตทำฟัน ซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การใช้น้ำยาที่มีความเข้มข้นสูงในการล้างระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันแบบครั้งคราว (periodic, shock treatment) และการใช้น้ำยาที่มีความเข้มข้นต่ำอยู่ในระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันตลอดเวลา (continuous treatment) เช่น 0.005% โซเดียมไฮโปคลอไรต์ หรือ 0.12% คลอเฮกซิดีนกลูโคเนต ทั้งนี้ น้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้ต้องไม่มีฤทธิ์กัดกร่อนอุปกรณ์ภายในระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน และไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ในผู้ป่วย เช่น มีรายงานว่า 9% ของผู้ป่วยที่เกิดอาการแพ้อย่างรุนแรงระหว่างทำหัตถการ (perioperative anaphylaxis) มีสาเหตุมาจากคลอเฮกซิดีน (Harper et al., 2018)

จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้น การทำความสะอาดระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันอาจต้องใช้หลายวิธีร่วมกัน ซึ่งแต่ละวิธีล้วนต้องใช้แรงงานจากบุคลากรที่มีความชำนาญ ต้องทำการฆ่าเชื้อซ้ำ ๆ อยู่บ่อย ๆ ยังมียูนิตทำฟันมากขึ้นเท่าไร ก็ยังต้องใช้แรงงานคนและเวลาในการกำจัดเชื้อเพิ่มมากขึ้นเท่านั้น ย่อมส่งผลทำให้มีโอกาสเกิดความผิดพลาด หรือละเลยในการทำ ความสะอาดระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันขึ้นได้ ดังนั้น การใช้เครื่องที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบบอัตโนมัติ เช่น เครื่องฆ่าเชื้อด้วยระบบพลาสมา (plasma sterilization system) ซึ่งสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในน้ำที่ออกจากยูนิตทำฟัน ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงได้ตามมาตรฐานสากล

(Noopan et al., 2019) วิธีนี้เป็นการลดขั้นตอนและเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟันลงได้ ซึ่งเป็นแนวทางต่อไปในการทดลองเกี่ยวกับการฆ่าเชื้อระบบท่อส่งน้ำของยูนิตทำฟัน เพื่อให้ น้ำที่ออกจากยูนิตทำฟันมีปริมาณจุลินทรีย์ได้ตามมาตรฐานสากลที่กำหนดไว้ และมีความปลอดภัยต่อผู้ป่วยที่รับการรักษาทางทันตกรรม

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนพัฒนาการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล บริหารจัดการโดยหน่วยพัฒนางานประจำสู่งานวิจัย ขอขอบคุณ อาจารย์สุทธิพล อุดมพันธุ์รัก หน่วยระบาดวิทยาคลินิก สถานส่งเสริมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ที่ให้คำปรึกษาทางด้านสถิติ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม ภาควิชาจุลชีววิทยา และเจ้าหน้าที่หน่วยพัฒนางานประจำสู่งานวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ที่ช่วยอำนวยความสะดวกและสนับสนุนให้งานวิจัยนี้ดำเนินการมาได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ADA Council on Scientific Affairs [CSA]. (1999). Dental unit waterlines: approaching the year 2000. *Journal of the American Dental Association*, 130(11), 1653–1664.

Ajami, B., Ghazvini, K., Movahhed, T., Ariaee, N., Shakeri, MT., & Makarem, S. (2012). Contamination of a dental unit water line system by *legionella pneumophila* in the Mashhad School of Dentistry in 2009. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 14(6), 376–378.

Atlas, RM., Williams, JF., & Huntington, MK. (1995). Legionella contamination of dental-unit waters. *Applied and*

Environmental Microbiology, 61(4), 208–1213.

<https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1208-1213.1995>

Blake, GC. (1963). The incidence and control of bacterial infection of dental spray reservoirs. *British Dental Journal*, 115(10), 413–416.

Donlan, RM. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881–890.

<https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>

Donlan, RM., & Costerton, JW. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167–193.

<https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>

Harper, NJN., Cook, TM., Garcez, T., Farmer, L., Floss, K., Marinho, S., Torevell, H., Warner, A., Ferguson, K., Hitchman, J., Egner, W., Kemp, H., Thomas, M., Lucas, DN., Nasser, S., Karanam, S., Kong, KL., Farooque, S., Bellamy, M., & McGuire, N. (2018). Anaesthesia, surgery, and life-threatening allergic reactions: epidemiology and clinical features of perioperative anaphylaxis in the 6th National Audit Project (NAP6). *British Journal of Anaesthesia*, 121(1), 159–171.

<https://doi.org/10.1016/j.bja.2018.04.014>

Karpay, RI., Plamondon, TJ., Mills, SE., & Dove, SB.(1999).Combining periodic and continuous sodium hypochlorite treatment to control biofilms in dental unit water systems. *Journal of the American Dental Association*, 130(7), 957–965.

- <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1999.0336>
- Martin, MV. (1987). The significance of the bacterial contamination of dental unit water systems. *British Dental Journal*, 163(5), 152–154.
<https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4806220>
- Mills, SE. (2000). The dental unit waterline controversy: defusing the myths, defining the solutions. *Journal of the American Dental Association*, 131(10), 1427–1441.
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.2000.0054>
- Morrison, AJ. Jr., & Shulman, JA.(1986). Community-acquired bloodstream infection caused by *Pseudomonas paucimobilis*: case report and review of the literature. *Journal of Clinical Microbiology*, 24(5), 853–855.
<https://doi.org/10.1128/jcm.24.5.853-855.1986>
- Noopan, S., Unchui, P., Techotinnakorn, S., & Ampornaramveth, RS. (2019). Plasma sterilization effectively reduces bacterial contamination in dental unit waterlines. *International Journal of Dentistry*, 2019(4), 1–6.
<https://doi.org/10.1155/2019/5720204>
- Pankhurst, CL. (2003). Risk assessment of dental unit waterline contamination. *Primary Dental Care*, 10(1), 5–10.
<https://doi.org/10.1308/135576103322504030>
- Porteous, NB. & Cooley, RL. (2004). Reduction of bacterial levels in dental unit waterlines. *Quintessence International*, 35(8), 630–634.
- Schiff, J., Suter, LS., Gourley, RD., & Sutliff, WD. (1961). Flavobacterium infection as a cause of bacterial endocarditis. Report of a case, bacteriologic studies, and review of the literature. *Annals of Internal Medicine*, 55(3), 499–506.
<https://doi.org/10.7326/0003-4819-55-3-499>
- Singh, V., Nagaraja, C., & Hungund, SA. (2013). A study of different modes of disinfection and their effect on bacterial load in dental unit waterlines. *European Journal of General Dentistry*, 2(3), 246–251.
<https://doi.org/10.4103/2278-9626.115999>
- Szymańska, J., Sitkowaska, J., & Dutkiewicz, J. (2008). Microbial contamination of dental unit waterlines. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 15(2), 173–179.
- Walker, JT., Bradshaw, DJ., Finney, M., Fulford, MR., Frandsen, E., Østergaard, E., ten Cate, JM., Moorer, WR., Schel, AJ., Mavridou, A., Kamma, JJ., Mandilara, G., Stösser, L., Kneist, S., Araujo, R., Contreras, N., Goroncy-Bermes, P., O’Mullane, D., Burke, F., . . . Marsh, PD. (2004). Microbiological evaluation of dental unit water systems in general dental practice in Europe. *European Journal of Oral Sciences*, 112(5), 412–418. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2004.00151.x>
- Zhang, W., Onyango, O., Lin, Z., Lee, SS., & Li, Y. (2007). Evaluation of Sterilox for controlling microbial biofilm contamination of dental water. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 28(11), 586–588, 590–592.