



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

**Análisis de piezas de mano
odontológicas mediante prueba de
Trifosfato de adenosina bajo dos
protocolos de descontaminación.**

TESIS

Para Obtener el Grado de:

Doctor en Ciencias de la Salud

Presenta:

Mtro. Cesar Ivan Velázquez Ramírez.

Comité Tutorial:

Dr. Ulises Velázquez Enríquez.

Tutor Académico

Dra. Laura Emma Rodríguez Vílchis.

Tutor Interno

Dr. A. Enrique Acosta Gío.

Tutor Externo

Toluca, Estado de México, Junio de 2019.



Agradecimiento.

Agradezco el apoyo del Dr. y siempre amigo Ulises Velázquez Enríquez, por su valioso apoyo, conocimiento y guía en un proyecto que rebasa los estudios de Doctorado.

Agradezco el apoyo del Dr. Acosta Gío, por ayudarme a tener una perspectiva más amplia de lo que es la verdadera investigación y por todo el apoyo profesional y personal brindado.

Agradezco a mi esposa Andrea Gómez Llata Maya por su comprensión y apoyo en todo momento.

Agradezco especialmente a mi madre, María Ramírez.

Sinceramente.

Cesar Velázquez.

ÍNDICE

	Pág.
Introducción	1
1. Antecedentes	1
Marco teórico conceptual	5
2. Planteamiento del problema	10
3. Justificación	13
4. Hipótesis	15
5. Objetivos: general y específicos	16
6. Diseño metodológico	17
6.1 Diseño del estudio	17
6.2 Universo y Muestra	17
6.3 Procedimientos	17
6.4 Criterios de inclusión	19
6.5 Criterios de exclusión	19
6.6 Instrumentos	20
6.7 Recolección de datos	21
6.8 Análisis de datos	21
6.9 Aspecto ético	22
7. Resultados	23
7.1 Artículo y/o capítulo del libro aceptado	23
7.1.1 Título del artículo	23
7.1.2 Carta de aceptación	23

7.1.3 Resumen	24
7.1.4 Apartados del artículo	25
Introducción	25
Metodología	26
Resultados	29
Discusión de resultados	30
Conclusiones	31
Referencias	35
7.2 Artículo enviado	37
7.2.1 Título del artículo enviado	37
7.2.2 Carta de envío y/o recepción del artículo	37
7.2.3 Resumen	38
7.2.4 Apartados del artículo	39
Introducción	39
Métodos	40
Resultados	41
Discusión	41
Conclusiones	42
Referencias	43
8. Bibliografía utilizada	46
9. Anexos	51

Introducción.

1. Antecedentes.

La prevención de infecciones en los métodos de la descontaminación de los instrumentos odontológicos son esenciales para asegurar que las personas que utilizan los servicios de salud odontológica reciben una atención segura y eficaz. La prevención de las infecciones debe ser parte de la práctica cotidiana y ser aplicada conscientemente por el profesional de la salud.

En 1956 el Dr. John V. Borden resolvió las demandas de la ingeniería con una turbina accionada por aire y en 1957 el S.S. White Company introdujo el rotor Borden Air, la primera pieza de mano accionada por aire con éxito, con un alcance de 300 000 revoluciones por minuto (rpm).¹

Las piezas de mano así como sus diversos componentes, juegan un papel clave en la práctica odontológica y requieren atención especial cuando se trata de la prevención y control de infecciones. En un gran número de entornos destinados a la atención odontológica, las posibilidades de reducir la carga microbiana de las piezas de mano se ven limitadas debido al diseño tan complejo de dichos instrumentos (huecos con conductos internos estrechos) que imponen altos retos en el mantenimiento adecuado y meticuloso. El mantenimiento diario del sistema de la pieza de mano es importante, especialmente con respecto a la limpieza, desinfección, lubricación y esterilización. Las evaluaciones clínicas han demostrado

que la limpieza y la lubricación de las piezas de mano son los factores más críticos en la determinación del rendimiento.^{2,3}

Las piezas de mano representan un problema particular en la descontaminación debido a su conformación; presentan una superficie externa e interna (una turbina y dos conductos alimentados por una corriente de aire y de agua) que se contaminan durante el uso clínico. Cuando el aire y el agua suministrados a la pieza de mano durante el funcionamiento son detenidos, se produce una presión negativa inducida, produciendo una retracción de aire y fluidos contaminados, dicha acción conlleva al almacenamiento de secreciones orales (restos de materiales restaurativos) y residuos biológicos (microorganismos, saliva, sangre y restos de tejido) en los conductos y en las hojas de la turbina.⁴ Los residuos adheridos a la pieza de mano pueden dar lugar a la formación de biopelícula.⁵

Recientemente las exigencias del proceso higiénico de la pieza de mano requieren para la limpieza interior procedimientos que brinden resultados seguros. Algunas empresas comercializadoras de dichos dispositivos recomiendan algunos procedimientos empleando soluciones químicas libres de alcohol para la limpieza manual interior e intensiva de las piezas de mano.⁶ La pieza de mano al estar en contacto con fluidos bucales es clasificada como un instrumento semi-crítico, por lo que las recomendaciones actuales son que dicho instrumento debe ser esterilizado en un autoclave mediante vapor a presión entre la atención de cada paciente.⁷

Por otra parte, existen indicadores rápidos útiles en la verificación de la limpieza de dispositivos empleados en la atención de la salud, como es el caso de las pruebas

de Trifosfato de adenosina (ATP, por sus siglas en inglés); la detección de ATP indica la presencia de vida de cualquiera de estas fuentes: células humanas, animales, vegetales, de bacterias, de levaduras y de mohos. Los análisis de ATP cuantifican la cantidad de la misma en una muestra mediante una enzima (luciferasa) que induce la emisión de luz, esta luz emitida puede cuantificarse en un luminómetro. El número de Unidades Relativas de Luz (URL) detectado con el luminómetro es directamente proporcional al número de moléculas presentes de ATP en una muestra.⁸ A pesar de que las pruebas de ATP han sido utilizadas ampliamente en la evaluación de la limpieza en dispositivos médicos como son los endoscopios,⁹ y en superficies de infraestructura médica que exigen niveles altos de limpieza, éstas no han sido empleadas en el análisis de instrumental odontológico.

La limpieza eficaz de la pieza de mano es fundamental en el proceso de descontaminación para asegurar un reprocesamiento seguro que garantice la esterilización de la pieza de mano. En algunos dispositivos médicos como los endoscopios se emplean cepillos especiales para lavar los conductos internos,¹⁰ en el reprocesamiento de la pieza de mano no existen aditamentos similares.

A finales del siglo pasado los Doctores Lewis y Boe¹¹ demostraron que la contaminación de la pieza de mano odontológica se encuentra en su parte interna, publicando los riesgos latentes a los que están expuestos los pacientes y los operadores. Sin embargo, es importante identificar los pasos que se llevan a cabo en el reprocesamiento de la pieza de mano por parte de los profesionales en el

área odontológica para evaluar el cumplimiento de los protocolos recomendados por las organizaciones encargadas del control de infecciones. Una herramienta fiable son los instrumentos en formato de encuesta que permite evaluar el comportamiento, el conocimiento, las percepciones, entre otras, de las poblaciones.¹² Una encuesta requiere una planificación extensa, tiempo y esfuerzo. Los instrumentos de medición de la salud bucal desempeñan un papel clave dentro de la salud pública, la práctica clínica y los procesos de toma de decisiones para la organización de servicios de salud.¹³ En odontología, se han desarrollado y usado varios instrumentos para evaluar el impacto que tienen las enfermedades orales o incluso la mala salud oral en el funcionamiento diario, el bienestar o la calidad de vida relacionada con la salud oral de individuos y familias.¹⁴ Estos datos son una fuente útil de información para la planificación, modificación y organización de modelos educativos que mejoren la calidad de la atención odontológica, dirigida a la población estudiantil. La mayoría de estos instrumentos han sido adaptados y validados interculturalmente para ser utilizados en muchos países.¹⁵

Marco Teórico Conceptual.

Inicios de la pieza de mano odontológica.

El uso de instrumentos giratorios para la eliminación de sustancias dentales es un arte que ya se conocía en las culturas históricas. Los hallazgos arqueológicos sugieren que las piezas de mano dentales se utilizaron por razones médicas en el tratamiento de los dientes cariados hace ya 9000 años.¹⁶ Los descubrimientos también demuestran que la práctica dental fue empleada por los mayas hace 2000 años aproximadamente.¹⁷ La primera pieza de mano odontológica fue patentada por el Dr. Green en 1875¹⁸ y mas adelante en 1956 el Dr. John V. Borden, ex oficial odontólogo de la marina de los EE.UU., resolvió los problemas de la ingeniería con una pieza de mano con una turbina accionada por aire. En 1957 la S. S. White Company presentó el rotor Borden Air, la primera pieza de mano odontológica exitosa accionada por aire, que funcionó a 300,000 rpm aproximadamente.¹

Componentes de la pieza de mano odontológica.

También conocida como pieza de alta velocidad. Es clasificada como un instrumental rotatorio que se compone de tres partes:

- 1) Turbina: instrumento rotatorio de alta velocidad, que alcanza entre 100 000 y 500 000 rpm. Dicha velocidad es útil para eliminar los tejidos duros del diente, como el esmalte, en los procesos de tratamiento de la caries.

- 2) Cabeza de la pieza: es la parte de la pieza que aloja a la turbina y ésta sujeta la fresa dental (aditamento para realizar el corte del tejido dental). En ella se encuentra también un sistema de salida de agua (variable según los modelos) que sirve para irrigar la fresa y disminuir la generación de calor al realizar el tratamiento.
- 3) El cuerpo de la pieza: es la zona de sujeción por parte del operador, normalmente su superficie presenta rugosidades para facilitar el agarre, la longitud de la pieza es variable según la marca del fabricante. En su zona final hay un dispositivo que se une con la manguera del equipo dental para recibir las conexiones y retornos de aire y agua. En ocasiones, cuando los terminales de ambos son diferentes hace falta el uso de adaptadores.¹⁹

Reprocesamiento de la pieza de mano odontológica.

Mientras existen métodos validados para el reprocesamiento de instrumental médico-quirúrgico como el área de la endoscopía, actualmente no parece existir un protocolo validado para el reprocesamiento de la pieza de mano odontológica emitido por las organizaciones encargadas de la prevención y el control de las infecciones. En México, la Norma Oficial Mexicana (NOM013 SSA2-2015) para la prevención y control de enfermedades bucales en su numeral 8.22 establece que, clínicas y consultorios dentales deberán contar con un equipo de esterilización de vapor a presión (autoclave) para esterilizar mediante vapor a presión diversos instrumentos no procesables por calor seco, como las piezas de alta y baja velocidad.⁷

Algunos fabricantes emiten las siguientes recomendaciones:

- 1) Frotar y enjuagar: frotar adecuadamente hasta retirar la suciedad visible y enjuagar bajo un chorro de agua del grifo.
- 2) Lubricación: limpiar y lubricar con una rociada rápida del agente lubricante soluble en agua (evitar los lubricantes fabricados a base de petróleo) insertando la boquilla de accesorio en la terminal del tubo de aire de impulso de la pieza de mano. Hacer funcionar la pieza de mano en la estación de aire para piezas o con otra fuente de aire durante 30 segundos o hasta que alcance una velocidad normal y se expulse todo el excedente del lubricante. Se finaliza este paso con el secado escrupuloso.
- 3) Esterilización: insertar la pieza de mano en una bolsa para esterilización bien cerrada e introducirla al autoclave (se recomienda el uso de bolsas de esterilización con al menos una cara de papel). Las piezas de mano se deben procesar en el autoclave durante 15 minutos, como mínimo, a una temperatura de 132 °C / 270 °F (mantener la pieza de mano en la bolsa hasta que sea empleada en la atención del paciente. No es necesario lubricarla nuevamente). Para dispositivos de vapor saturado con cámara, las piezas de mano se deben procesar sin bolsa durante 3 a 5 minutos, como mínimo, a una temperatura de 135 °C / 275 °F.

Mantenimiento adicional; limpieza con ultrasonido:

- a) Colocar la pieza de mano con el cabezal hacia abajo dentro de un vaso con solución limpiadora (dentro de la tina ultrasónica).
- b) Activar la sonicación durante 10 minutos.

- c) Continuar desde la sección frotar y enjuagar, descrita anteriormente.²⁰

Pruebas de Trifosfato de adenosina para identificar el grado de contaminación.

Trifosfato de adenosina (del inglés Adenosine TriPhosphate) es un nucleótido fundamental en la obtención de energía celular. Está formado por una base nitrogenada (adenina) unida al carbono 1 de un azúcar de tipo pentosa, la ribosa, que en su carbono 5 tiene enlazados tres grupos fosfato. Se produce durante la fotorrespiración celular, y es consumido por muchas enzimas en la catálisis de numerosos procesos químicos. Su fórmula es C₁₀H₁₆N₅O₁₃P₃.²¹ La D-luciferina se somete a una descompactación oxidativa en presencia de la luciferasa, el ATP, el oxígeno y el Mg²⁺, produciendo luz amarilla-verde a una longitud de onda máxima de 562 nm. La cantidad de luz producida es proporcional a la cantidad de ATP presente. El ATP está presente en las células bacterianas y en todo el material animal y vegetal, incluida la mayoría de los alimentos y residuos de alimentos. Por lo tanto, no solo se puede utilizar la bioluminiscencia del ATP para la detección y cuantificación de microorganismos, sino que también se puede usar como un medio de control de la higiene o validación de la limpieza. Es importante mencionar que al igual que con cualquier ensayo basado en enzimas, factores externos como el pH y los productos químicos pueden afectar la actividad de la enzima. Los factores que influyen en la estabilidad de la reacción de luciferasa y luciferina incluyen sales, iones metálicos, conservantes, soluciones limpiadoras (detergentes y desinfectantes), alcohol y presencia de agentes oxidantes.²²

Pruebas microbiológicas para identificar el grado de contaminación.

La microbiología es la ciencia encargada del estudio y análisis de los microorganismos, seres vivos pequeños no visibles para el ojo humano, también conocidos como microbios. Se dedica a estudiar los organismos que son sólo visibles a través del microscopio. La genética y la biología molecular ayudan a los científicos a comprender las relaciones evolutivas entre los microbios y sus hábitats. Cultivar es el término utilizado para describir los microbios en crecimiento, generalmente combinado con pruebas para ver en qué condiciones pueden vivir. Los medios de cultivo son colocados en cajas Petri.²³

Encuesta.

Es una serie de preguntas que se hace a varias personas para reunir datos o para detectar la opinión pública sobre un asunto determinado. En el caso particular de las encuestas auto-administradas, una muestra de los encuestados se reúne y se le pide que responda a una secuencia estructurada de preguntas. Tradicionalmente, los cuestionarios se administran en entornos grupales por conveniencia, es decir, el investigador puede dar el cuestionario a quienes se encuentren presentes y estar bastante seguro de que habrá una alta tasa de respuesta. Si los encuestados no están claros sobre el significado de una pregunta, pueden pedir que se les aclare la duda.²⁴

2. Planteamiento del problema.

En la práctica odontológica se requiere del uso de piezas de mano debidamente esterilizadas entre la atención de cada paciente. La descontaminación de los instrumentos odontológicos conforma una parte integral en la prevención de infecciones iatrogénicas. Mientras que las normas y directrices legislativas para la descontaminación de instrumental quirúrgico y de endoscopios están documentadas y validadas, hay una escasez general de información relativa a la descontaminación de las piezas de mano odontológicas. Desde que las piezas de mano fueron aplicadas a la práctica odontológica con éxito; hasta el día de hoy parece no haber ningún proceso de limpieza validado para asegurar un reprocesamiento seguro que garantice la esterilización de dichos instrumentos. Durante el uso de rutina, las piezas de mano están contaminadas con material biológico incluyendo bacterias, virus, sangre y tejidos humanos dependiendo del sitio de operación, por lo que, los fabricantes están obligados a proporcionar métodos validados científicamente de los procesos de limpieza, desinfección y esterilización. Se ha argumentado que la eficacia de la esterilización depende de seguir las instrucciones del fabricante a detalle, particularmente debido a la creciente sofisticación, complejidad estructural y funcional de los dispositivos modernos, los cuales pueden tener múltiples canales pequeños, superficies irregulares, componentes articulados, entre otros que alberguen residuos de materia orgánica. Se sabe que la presencia de materia orgánica puede reducir la efectividad de la esterilización tanto en procesos físicos como químicos.²⁵⁻²⁷

A pesar de esta responsabilidad ética, las instrucciones del fabricante pueden ser de calidad variable además de carecer de procesos de validación.

Desde hace varios años hasta los tiempos más recientes se han reportado procesos infecciosos relacionados a la atención odontológica, entre ellos reportes de infecciones asociadas al uso de agua contaminada introduciendo a las bacterias en procesos pulpar durante el uso de la pieza de mano.²⁸ Si bien, se ha reportado que las bacterias están presentes en el agua, la escasez de información que descarte o confirme el almacenamiento de microorganismos en los conductos estrechos de la pieza de mano es evidente. En respuesta a este riesgo para la salud, la industria actualmente produce piezas de mano dentales autoclavables, sin embargo, contrariamente a los estándares de seguridad más altos, el cumplimiento con la esterilización de la pieza de mano dental sigue siendo un desafío importante para la educación y la práctica profesional en todo el mundo.²⁹

En el año 2016, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades en EE. UU. (CDC) declararon lo siguiente: “Las piezas de mano dentales y los accesorios asociados, incluidos los motores de baja velocidad y los ángulos de profilaxis reutilizables, siempre deben esterilizarse con calor entre pacientes y no deben desinfectarse al alto nivel. Aunque estos dispositivos se consideran semicríticos, los estudios han demostrado que sus superficies internas pueden contaminarse con los materiales del paciente durante el uso. Si estos dispositivos no se limpian adecuadamente y no se esterilizan con calor, el próximo paciente puede estar expuesto a materiales potencialmente infecciosos”.⁴

Mientras que en los EE. UU. la satisfacción percibida y el cumplimiento con el plan de estudios de control de infecciones en las escuelas de odontología se ubican en una posición alta,³⁰ la educación sobre el control de infecciones se está retrasando en América Latina,³¹ incluida la capacitación específica en el reprocesamiento de la pieza de mano dental.

Por otra parte, se ha evaluado la esterilización de la pieza de mano mediante diversas pruebas, sin embargo, parece no existir investigaciones empleando la técnica de ATP; dicha prueba tiene la ventaja de ser rápida, aunque no especifica el tipo de contaminación bacteriana puesto que el ATP también está presente en otros tipos de materia orgánica.

2.1 Pregunta de investigación.

¿Qué protocolo de reprocesamiento para la pieza de mano odontológica será el más eficiente mediante pruebas de ATP y microbiológicas?

3. Justificación.

Para la atención odontológica se requiere del uso de instrumental debidamente reprocesado de acuerdo al riesgo de infección. La pieza de mano odontológica se considerada un instrumento semi-crítico³² y debe ser esterilizada entre la atención de cada paciente, así lo señala actualmente la normatividad establecida en el Diario Oficial de la Federación en México (NOM013 SSA2-2015, para la prevención y control de enfermedades bucales).⁷ Las piezas de mano de alta velocidad, impulsadas por aire y refrigeradas con agua, salieron a la venta a mediados del siglo pasado y nunca se pensó en esterilizarlas puesto que sus componentes no eran resistentes al calor, además no era común tener autoclaves en los consultorios dentales.³³ Actualmente, en respuesta a los riesgos de contraer o contagiar alguna infección en el consultorio dental, las piezas de mano están fabricadas de materiales que resisten las altas temperaturas, además contar con un autoclave en el consultorio dental es un requisito normativo.⁷

A pesar de la escasa información con evidencia de transmisión de infecciones asociadas al uso de la pieza de mano, existe un riesgo latente de infecciones cruzadas durante la atención odontológica. Con el avance de la tecnología, a la pieza de mano se le ha agregado luz y más de un orificio de irrigación, esto hace aún mas compleja la geometría interna y por lo tanto la convierte en un instrumento que puede servir de reservorio de microorganismos patógenos. El desarrollo constante de la odontología y la introducción de nuevas posibilidades para tratar las enfermedades orales puntualizan nuevas demandas y exigencias en como los

procedimientos dentales pueden llevarse a cabo bajo condiciones de seguridad. Día a día un gran número de pacientes de casi todas las edades son tratados en consultorios odontológicos alrededor del mundo, involucrando una gama amplia de tratamientos que conllevan ciertas dificultades que exigen rutinas de higiene integrales. Con el aumento del conocimiento acerca del riesgo de transmisión, infección e higiene, el cuidado dental se puede brindar en condiciones seguras e higiénicas que reducen al mínimo el riesgo de transmitir la infección.

El paciente espera y merece ser atendido con instrumental estéril debidamente procesado para su uso. Nuestros pacientes jamás nos otorgarían su consentimiento para ser atendidos con un instrumento a sabiendas de que contiene sangre y saliva de otros pacientes.³³

Derivado de la escasez de información, se requiere de un esfuerzo interdisciplinario llevado a cabo por profesionales para el control de las infecciones, políticos responsables, investigadores, odontólogos, consultores y fabricantes, para sugerir y formular un protocolo validado en el reprocesamiento de las piezas de mano, de esta manera se asegura una atención confiable y se colabora en la prevención de infecciones adquiridas en la consulta odontológica.

4. Hipótesis.

- H_1 : El protocolo de descontaminación de piezas de mano odontológicas siguiendo las recomendaciones de esterilización será mejor que el protocolo empleado por los alumnos mediante pruebas de ATP y crecimiento microbiano.
- H_0 : El protocolo de descontaminación de piezas de mano odontológicas siguiendo las recomendaciones de esterilización no será mejor que el protocolo empleado por los alumnos mediante pruebas de ATP y crecimiento microbiano.

5. Objetivos.

Objetivo general:

- Analizar y comparar los protocolos empleados para la descontaminación de piezas de mano odontológicas analizado mediante pruebas de ATP y pruebas microbianas.

Objetivos específicos:

- Cuantificar el grado de contaminación persistente mediante Unidades Relativas de Luz (URL) y Unidades Formadoras de Colonias (UFC) después de llevar a cabo los protocolos de descontaminación.
- Identificar la presencia de microorganismo mediante cultivos bacterianos.
- Cuantificar los microorganismos presentes en los medios de cultivo.
- Comparar los protocolos después de la descontaminación de las piezas de mano mediante pruebas de ATP y pruebas microbianas.
- Identificar cuál de los dos protocolos después de la descontaminación logra reducir la carga microbiana mediante pruebas de ATP y pruebas microbiológicas.
- Determinar cuál de los dos protocolos empleados es el mas viable para la descontaminación de las piezas de mano odontológicas.
- Dar a conocer a los estudiantes de último año de la carrera de Odontología los resultados de la presente investigación mediante una intervención educativa.
- Evaluar la percepción y el conocimiento de los estudiantes de último año de la carrera de Odontología antes y después de una intervención educativa.

6. Diseño metodológico.

6.1 Diseño del estudio: experimental, cuasiexperimental.

6.2 Universo y muestra: 137 muestras (piezas de mano odontológicas) que se analizaron mediante el protocolo de esterilización para análisis de ATP y pruebas microbianas y 137 muestras (piezas de mano odontológicas) que se analizaron mediante el protocolo que los estudiantes emplean para ser analizadas mediante pruebas de ATP y pruebas microbianas. Para la intervención educativa la muestra estuvo compuesta por 60 alumnos para cada intervención (dos intervenciones).

6.3 Procedimientos:

Pruebas de laboratorio.

Piezas de mano lavadas externamente. Para evaluar el alcance de la contaminación interna inmediatamente después del uso clínico en los pacientes, 137 piezas de alta se lavaron a mano externamente y se transportaron individualmente al laboratorio en una bolsa de plástico estéril. Para extraer los contaminantes internos, las piezas de mano dental se sumergieron individualmente en un tubo de ensayo con 20 ml de agua destilada estéril y se sometieron a ultrasonidos durante 10 minutos a 40 KHz (Digital pro, Chicago IL, EE. UU.) y la suspensión resultante se probó mediante bioluminiscencia con ATP y bacteriología aeróbica. Después de la recolección de la muestra, las piezas de mano dental se esterilizaron en autoclave y se devolvieron a la clínica.

Piezas de mano lavadas externamente y esterilizadas. Para la comparación, después de un segundo uso clínico, las piezas de mano dental lavadas externamente se recolectaron nuevamente y se esterilizaron en autoclave, posteriormente se sometieron a ultrasonidos y la suspensión resultante se probó con ATP y se colocó en placas con medio de cultivo. Después de la recolección de la muestra, las piezas de mano dentales se esterilizaron en autoclave nuevamente y se devolvieron a la clínica.

Evaluación por bioluminiscencia de ATP. La prueba de ATP se realizó utilizando el kit de prueba de agua 3M Clean-Trace® ATP (3M, Saint Paul, EE. UU.). Se tomaron muestras de la suspensión ultrasónica. Las Unidades Relativas de Luz (URLs) se midieron utilizando el luminómetro de mano Clean-Trace®. Se usó agua destilada estéril como control negativo.

Estudiantes.

Los estudiantes de cuarto año de odontología fueron evaluados porque están en el último año del programa de pregrado y todos ellos deben tener un conocimiento más completo y antecedentes prácticos sobre el reprocesamiento de la pieza de mano dental.

Intervención educativa.

Inmediatamente después de aplicar la primera encuesta, un investigador brindó una intervención educativa para el reprocesamiento de la pieza de mano dental. Para proporcionar contenido en la intervención educativa, se evaluó la

contaminación interna de piezas de mano dentales usadas en las clínicas de la escuela de odontología del estudiante.

En un aula de clases, a los estudiantes les fueron presentadas diapositivas que comparaban los resultados de las pruebas de laboratorio de bioluminiscencia con ATP y bacteriología aeróbica con piezas de mano dental “lavadas” contra “lavadas y esterilizadas”. Catorce días después de la sesión educativa, el instrumento de la encuesta se aplicó nuevamente para evaluar el impacto de la intervención educativa en el cambio de las percepciones y el conocimiento de los estudiantes sobre el reprocesamiento de la pieza de mano dental.

6.4 Criterios de inclusión.

- Piezas de mano de alta velocidad pertenecientes a alumnos de último año de la carrera de Odontología que autorizaron participar de forma libre.

Encuestas:

- Estudiantes de último año de la carrera de Odontología que aceptaron participar en la aplicación de dos encuestas para evaluar la percepción y el conocimiento antes y después de una intervención educativa.

6.5 Criterios de exclusión:

Pruebas de laboratorio:

- Piezas de mano que presentaron daños en su estructura.
- Piezas de mano que posterior al reprocesamiento tuviesen contacto con restos o superficies contaminadas.

- Piezas de mano con características distintas a las de “alta velocidad”.
- Piezas de mano pertenecientes a estudiantes que no hayan aceptado participar en la investigación.
- Muestras que presenten fallas en el momento de la lectura (luminómetro).
- Piezas de mano nuevas (puesto que podrían representar un sesgo).
- Muestras que se tomaron de la pieza de mano y que previo a su análisis, éstas hayan sido contaminadas con cualquier tipo de superficie.

Encuestas:

- Estudiantes que no hayan aceptado participar en contestar las encuestas.
- Encuestas que no hayan sido contestadas completamente.
- Encuestas que fueron contestadas en una forma diferente a la indicada o que presentaron respuestas de forma incomprensible para el investigador.

6.6 Instrumentos:

Cuestionario.

Se utilizó un cuestionario estructurado, administrado por el entrevistador para recopilar los datos. El instrumento de la encuesta fue diseñado y aplicado para obtener información sobre el conocimiento y la percepción de los estudiantes con respecto al reprocesamiento de la pieza de mano dental. La encuesta incluyó elementos que obtuvieron información demográfica y de antecedentes. Para probar sus percepciones, los elementos se diseñaron en un formato de escala Likert, clasificado como "muy fuerte", "fuerte", "regular", "bajo" y "muy bajo" para permitir que los encuestados indicaran su grado de acuerdo con declaraciones tales como;

"El paciente debe ser tratado con una pieza de mano dental estéril". Preguntas cerradas se formularon directamente acerca de su conocimiento, tales como; "Sé que el ATP se puede usar para evaluar la contaminación de la pieza de mano dental", "Sé que la esterilización de la pieza de mano dental mediante vapor a presión es el estándar de oro". Las respuestas sobre las prácticas se registraron como "Sí", "No" o "No sé". Los formularios del cuestionario están disponibles a través del autor correspondiente. La encuesta se aplicó antes y dos semanas después de la intervención educativa.

6.7 Recolección de datos:

Las respuestas fueron capturadas en una base de datos de la cual se obtuvieron las tablas de frecuencia.

6.8 Análisis de datos:

Análisis estadístico.

Las diferencias de los valores de las URL entre ambos protocolos se evaluaron mediante la prueba de Mann-Whitney. La consistencia interna del cuestionario se probó utilizando el coeficiente α de Cronbach, que proporciona una medida de la confiabilidad del ítem. Un alfa de Cronbach de 0.7 se considera un nivel de acuerdo aceptable.³⁴ Las respuestas de la encuesta fueron capturadas en una base de datos de la cual se obtuvieron las tablas de frecuencia. Las diferencias en las respuestas entre antes y después de la intervención educativa se analizaron mediante la prueba t de muestras pareadas. Los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico IBM SPSS del software (V23®, Nueva York, EE. UU.). Un valor

crítico de $p \leq 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo. Los resultados de las encuestas se presentan como porcentajes redondeados.

6.9 Aspecto ético:

Esta investigación se adhirió a las directrices pertinentes para el diseño de una investigación ética apropiada y a las normas pertinentes para garantizar la protección de los participantes. El protocolo fue revisado y aprobado por los Comités de Ética y Bioseguridad en la Escuela de Odontología de la UAEMex. Todos los estudiantes participantes recibieron información sobre el propósito de la encuesta, el número y el tipo de preguntas, los temas tratados y la seguridad de que se mantendría el anonimato.

7. Resultados.

7.1 Artículo publicado.

7.1.1 “Aplicación de trifosfato de adenosina en una intervención educativa sobre el reprocesamiento de la pieza de mano odontológica”.

7.1.2 Carta de aceptación.



**DR. CESAR VELÁZQUEZ RAMÍREZ
DR. ULISES VELÁZQUEZ ENRÍQUEZ
DRA. LAURA RODRÍGUEZ VÍLCHIS
DRA. EDITH LARA CARRILLO
DR. ROGELIO SCOUGALL VÍLCHIS
DR. A. ENRIQUE ACOSTA GÍO**
P R E S E N T E S

Por medio de la presente informo que el artículo titulado **“Aplicación de trifosfato de adenosina en una intervención educativa sobre el reprocesamiento de la pieza de mano odontológica”**, del cual son ustedes autores, ha sido aceptado para su publicación en la **Revista Odontológica Mexicana**.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarles un cordial saludo.

**Atentamente
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cd. Universitaria, CDMX. , a 25 de abril de 2019.**

A handwritten signature in black ink, appearing to be that of Dr. Cesario Velázquez Ramírez.



**COMITÉ EDITORIAL
REVISTA ODONTOLÓGICA MEXICANA**

7.1.3 Resumen:

Purpose: To assess the impact of an educational intervention to show dental students DHPs' internal contamination using adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence. *Methods:* A convenience sample study was carried out of undergraduate dental students, answered a confidential, self-administered questionnaire with closed-format questions on their perceptions and knowledge before and after an educational intervention presenting the results of ATP on DHPs.

Results: The before and after questionnaire survey revealed a positive change in students perceptions on the importance of DHP reprocessing (100% response rate).

Conclusion: This educational intervention using ATP, to demonstrate internal contamination, successfully changed dental students perceptions and knowledge on the importance of DHP reprocessing.

7.1.4 Apartados del artículo:

INTRODUCTION

First available in the mid-20th century, early construction of the air-driven dental handpiece (DHP) did not take into account the need for sterilization between patients. However, these surgical power tools have a complex internal geometry where biofouling occurs.¹ In response to this health risk, industry currently produces autoclavable DHPs but contrary to the highest safety standards, compliance with DHP sterilization remains a major challenge for education and professional practice worldwide.² In 2016 the U.S. Centers for Disease Control and Prevention stated the following: “*Dental handpieces and associated attachments, including low speed motors and reusable prophylaxis angles, should always be heat sterilized between patients and not high level or surface disinfected. Although these devices are considered semicritical, studies have shown that their internal surfaces can become contaminated with patient materials during use. If these devices are not properly cleaned and heat sterilized, the next patient may be exposed to potentially infectious materials.*”³

While in the US the perceived satisfaction and compliance with the infection control (IC) curriculum in dental schools ranks high,⁴ education on infection control is lagging in Latin America,⁵ including specific training on DHP reprocessing.

Adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence technology detects the presence of organic debris, including viable and nonviable bioburden, on surfaces and water.⁶ ATP has been used as a quality control to estimate residual organic load after washing hollow instruments, such as endoscopes.⁷ ATP compares well with other

clinically relevant benchmarks including visual inspection, bacteriological sampling and organic residual rapid tests to detect protein, carbohydrate or haemoglobin.⁸

The aim of this investigation was to assess dental students' knowledge and perceptions on DHP reprocessing before and after an educational intervention using adenosine triphosphate to reveal DHPs' internal contamination.

MATERIALS AND METHODS

Bioethical considerations.

This investigation adhered to relevant guidelines for appropriate ethical research design and the relevant standards to ensure the protection of human subjects. The protocol was reviewed and approved by the Ethics and Biosafety Committees at UAEM's School of Dentistry. All participant students were given information on the survey's purpose as well as the number and type of questions, topics covered and the assurance that anonymity would be maintained.

Students.

Fourth-year dental students were evaluated because they are in the last year of the undergraduate program and all of them should have more complete knowledge and practical background on DHPs reprocessing.

Questionnaire.

An interviewer-administered, structured questionnaire was used to collect data. The survey instrument was designed and applied to obtain information on students' knowledge and perception regarding DHP reprocessing. The survey included items that elicited demographic and background information. To probe their perceptions, items were designed in a Likert scale format, ranked as "very strong", "strong",

"medium", "low", and "very low" to allow respondents to indicate their degree of agreement with statements such as "The patient must be treated with a sterile DHP". Closed-ended questions asked directly about their knowledge such as " I know that ATP can be used to evaluate DHPs contamination", "I know that sterilizing DHP by steam pressure is the gold standard". Responses on practices were registered as "Yes", "No" or "I Don't know". Questionnaire forms are available from the corresponding author. The survey was applied before and two weeks after the educational intervention.

Educational intervention.

Immediately after applying the first survey, a researcher provided an educational intervention addressing DHP reprocessing. To provide content for the educational intervention, DHPs in use at the student's dental school clinics were tested for internal contamination.

In a classroom, students were shown slides comparing laboratory-test results from ATP bioluminescence and aerobic bacteriology with "cleaned" versus "cleaned and sterilized" DHPs. Fourteen days after the educational session, the survey instrument was applied again to assess the impact of the educational intervention in changing students' perceptions and knowledge on DHP reprocessing.

Laboratory-tests.

Handpieces cleaned externally. To assess the extent of internal contamination immediately after clinical use on patients, 137 DHPs were externally washed by hand and individually transported to the laboratory in a sterile plastic bag. To extract the internal contaminants, DHPs were individually submerged in a test tube with 20 mL of sterile distilled water and ultrasonicated for 10 min at 40 KHz (Digital pro,

Chicago IL, USA), and the resulting suspension was tested by means of ATP bioluminescence and aerobic bacteriology. After sample collection, the DHPs were autoclaved and returned to the clinic.

Handpieces externally cleaned and sterilized. For comparison, after a second clinical use, the externally washed DHPs were collected again and autoclaved. The sterile DHPs were ultrasonicated and the resulting suspension was ATP-tested and plated on culture medium. After sample collection, the DHPs were autoclaved again and returned to the clinic.

ATP assessment. ATP testing was performed using the commercially available 3M Clean-Trace® ATP water test kit (3M, Saint Paul, USA). Samples were taken from the ultrasonicate suspension. Relative Light Units (RLUs) were measured employing the handheld Clean-Trace® luminometer. Sterile distilled water was used as a negative control. After manual external washing alone, ATP testing yielded a median of 5,178.57 relative light units (RLU's) \pm 6,680.91 SD. In contrast, externally cleaned and sterilized DHPs yielded 52.86 RLU's \pm 73.95 SD ($P=0.001$ Cl_{95%} 3,997.68 – 6,253.75), as shown in table 1.

Aerobic bacteriology. The ultrasonicate samples were serially diluted 1:10 in phosphate-buffered saline and 0.1 mL was spread onto tryptic soy agar medium (Neogen corporation, Lansing MI) and incubated aerobically for 24 hr at 37°C. Bacteria isolated from externally washed but non-sterile HPs included *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Escherichia* and *Meningococcus*.

Statistical analysis.

The questionnaire's internal consistency was tested using Cronbach coefficient α , which provides a measure of item reliability. A Cronbach alpha of 0.7 is considered

an acceptable level of agreement.⁹ The survey responses were captured in a database from which frequency tables were obtained. Differences in responses between before and after the educational intervention were analysed by means of paired-samples *t* test using the software IBM SPSS statistical package (V23®, New York, USA). A critical value of $p \leq 0.05$ was considered statistically significant. Results are presented as rounded percentages.

RESULTS

The participant students (15 males and 45 females) had a median age of 22 years, all answered the questionnaire in full (100% response rate Cronbach alpha = 0.704).

Perceptions survey.

Comparison of their “very strong” perceptions, on a Likert-type scale, showed an increase from 2% to 92% on the acceptability of “I must wash, lubricate and sterilize the DHP between patients” after the educational intervention. Students expressed also improved perceptions that “The patient must be treated with a sterile DHP”, “The patient deserves to be treated with a sterile DHP”, “I can infect my patients through the use of contaminated DHPs” (Table 2).

Knowledge survey.

Through the educational intervention the students learned that autoclaving is “the gold standard” ($p=.001$) to reprocess DHPs (Figure 1). They seemed more interested in knowing the DHP manufacturer’s instructions of theirs’ ($p=.071$) and their correct identification of DHPs as semicritical instruments increased to 72% before and after. They consistently responded (95% and 97%, respectively) that

faculty members had instructed them to use chemical solutions for DHPs reprocessing.

DISCUSSION

The results of this investigation, among a convenience sample of undergraduate dental students, indicate that the participant's perceptions and knowledge on DHP reprocessing improved after an educational intervention where ATP and bacteriology revealed internal DHP contamination.

Social-desirability was not apparent in the students' perceptions in the "before" survey but may be present in the "after" results. Intention may be more positive than the behavior reflected with the patient.¹⁰ A follow-up study would confirm whether those students exposed to this learning experience would integrate DHP sterilization into their clinical practice. However, the challenge remains that students form their future professional criteria based on what faculty teach them and what the school establishes they must comply with. In a recent survey, of 207 dentists graduated from 43 different schools in Latin America, only 35% declared that they had been trained to sterilize DHPs between patients.⁵

Interestingly, students more often agree that "the patient must be treated with a sterile DHP" than "the patient deserves to be treated with a sterile DHP", this observation warrants further investigation on what appears to be a dental education failure to build empathy toward patients.

Immersion in disinfectants is not acceptable for reprocessing DHPs.¹¹ Nevertheless, before the educational intervention, sixty percent of the participant students wrongly expressed that DHPs could be sterilized by immersion in chemical solutions, and

more than ninety-five percent of them indicated that it was faculty members who recommended using chemical solutions to reprocess DHPs.

Diverse deficiencies in infection control education persist in this region.² It is possible that evidence-based infection control procedures published in English are not reaching dental school leadership and faculty, may be due to language barriers and limited access to leading professional publications. Also, few faculty members attend to major scientific meetings abroad, where they can become exposed to current professional standards.

One possible limitation of this research is the size and selection of the sample, as well as the follow-up time between the two surveys. Continuing education may further enhance the desired effects. Thus, this intervention should be applied for a longer time period. Tracking the students who have already graduated and knowing the professors' perspective and knowledge warrants additional investigation. The teachers' evaluating through a survey would provide more specific data of the students' deficiencies and, therefore, strategies of continuous improvement could be implemented to improve the educational quality provided.

CONCLUSION.

This study found that participant's perceptions and knowledge on DHP reprocessing improved after an educational intervention. Schools of dentistry are valuable resources to society. To continue educating future dental professionals and serving their communities by offering safe high-quality dental treatment, schools of dentistry in Latin America must update their libraries and readily disseminate relevant information to all of their faculty and students through available digital social

networks. Deans may seek resources available from the Organization for Safety Asepsis and Prevention (OSAP) and other relevant organizations.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Dr Carlo Medina Solís for his valuable comments and suggestions.

DISCLOSURE

This work was conducted with material resources available at the participant's home institutions and without financial support from any third parties. The authors have no potential conflict of interest to declare.

Table 1. Internal bioburden in 137 dental handpieces evaluated by adenosin triphosphate bioluminescence and aerobic bacteriology.

	Washed externally		Washed externally and autoclaved	
	Median		median	
RLU*	5,178.57**	6,680.91 SD	52.84	73.95 SD
c.f.u./mL	19,886.36	0-170x10 ³	0	0

* Relative Light Units

** $p = 0.001$ CI_{95%}, 3,997.68 – 6,253.75

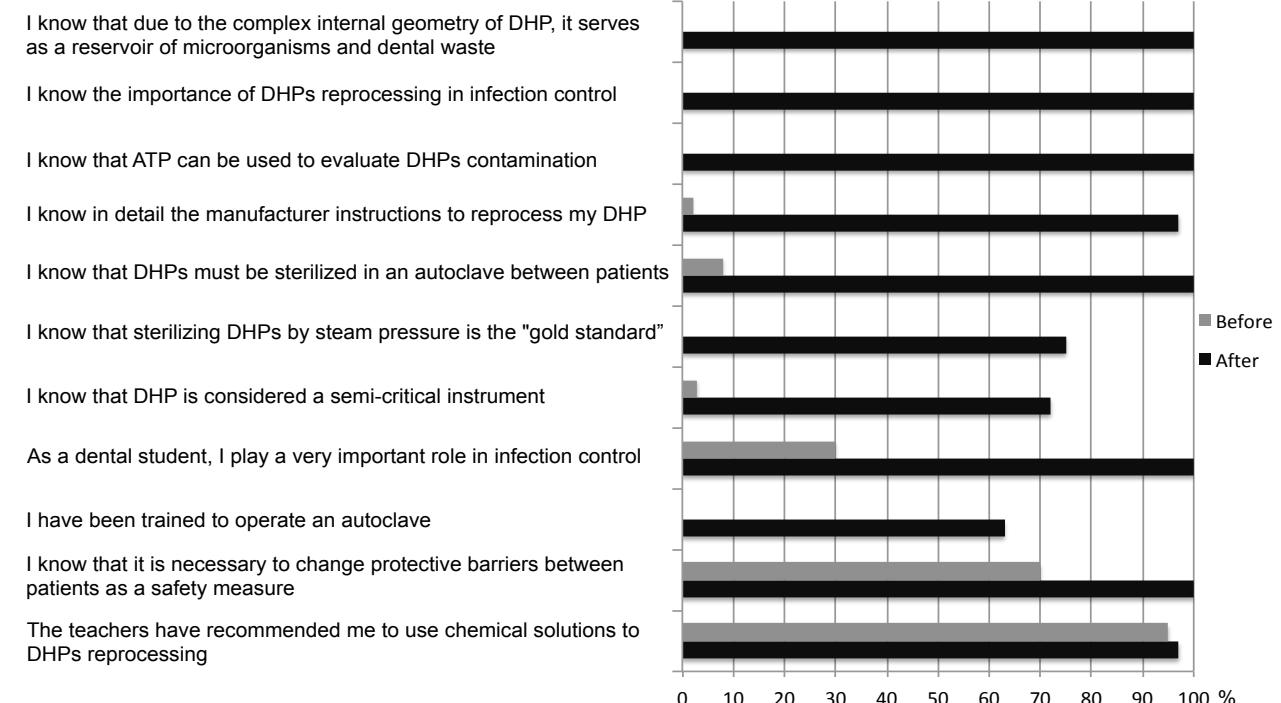


Figure 1. Comparison of students' (n= 60) knowledge before and after the educational intervention.

Table 2. Changes in students' (n=60) perceptions before after an educational intervention.

"Very strong". Agreement with statement.

	Percent	Paired differences			
	Before	After	Mean	SD	P (two-tailed)
I must follow the manufacturer's instructions for sterilizing DHPs	2%	93%	-1.300	.561	.001*
I must wash, lubricate and sterilize the DHP between patients	2%	92%	-1.667	.572	.001*
I can improve my practices for DHPs reprocessing	3%	90%	-1.183	.596	.001*
The patient must be treated with a sterile DHP	0%	88%	-1.567	.563	.001*
I can infect my patients through the use of contaminated DHPs	0%	87%	-1.850	.515	.001*
The patient deserves to be treated with the protection barriers for their safety	0%	87%	-1.100	.573	.001*
The DHPs must be sterilized with the same criteria as the instruments that touch blood	0%	82%	-1.833	.587	.001*
Faculty should check that DHP is sterile before letting me treat patients	0%	80%	-1.750	.680	.001*
No patient deserves to be treated with a non-sterile DHP	2%	81%	-1.650	.732	.001*
The patient deserves to be treated with a sterile DHP	2%	68%	-1.400	.718	.001*
The patient deserves to be treated in a dental chair previously disinfected	0%	50%	-1.300	.671	.001*
The dental chair must be disinfected between patients	0%	43%	-1.400	.558	.001*
DHPs can be sterilized by immersion in chemical solutions	30%	2%	3.000	.902	.001*

* $p \leq 0.05$

REFERENCES

1. Deshpande A, Smith GW, Smith AJ. Biofouling of surgical power tools during routine use. *J Hosp Infect* 2015;90:179-185.
2. Acosta E, Borges A, Castillo L, et al. Infection control attitudes and perceptions among dental students in Latin America: implications for dental education. *Int Dent J* 2008;58:187-193.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Summary of Infection Prevention Practices in Dental Settings: Basic Expectations for Safe Care. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Dept of Health and Human Services; October 2016. Available at: www.cdc.gov/oralhealth/infectioncontrol/pdf/safe-care2.pdf.
4. Porteous NB, Bizra E, Cothron A, Yeh C-K, A Survey of Infection Control Teaching in U.S. Dental Schools. *Journal of Dental Education* 2014;78(2):187-194.
5. Osegueda-Espinosa A, Sánchez-Pérez L, Perea-Pérez B, Labajo-González E, Acosta-Gío AE. Dentists survey on adverse events during their clinical training. *J Patient Saf*. 2017 Nov 4. doi: 10.1097/PTS.0000000000000296. [Epub ahead of print].
6. Carling P. Methods for assessing the adequacy of practice and improving room disinfection. *Am J Infect Control* 2013;41:s20-s25.
7. Alfa MJ. Monitoring and improving the effectiveness of cleaning medical and surgical devices. *Am J Infect Control* 2013;41:S56-S59.
8. Alfa MJ, Olson N and Murray B. Comparison of clinically relevant benchmarks and channel sampling methods used to assess manual cleaning compliance for flexible gastrointestinal endoscopes. *Am J Infect Control*

2014;42:e1-e5.

9. Nunnally JC, Bernstein IH. *Psychometric Theory*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 1994.
10. Freire DN, Pordeus IA, Paixao HH. Observing the behavior of senior dental students in relation to infection control practices. *J Dent Educ* 2000;64:352-356.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for infection control in dental health-care settings—2003. *MMWR Recomm Rep* 2003;52:1-61.

7.2 Artículo enviado.

7.2.1 Adenosine Triphosphate evaluation of dental handpieces.

7.2.2. Carta de envío del artículo.

International Dental Journal



Adenosine Triphosphate evaluation of dental handpieces.

Journal:	<i>International Dental Journal</i>
Manuscript ID:	Draft
Wiley - Manuscript type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Velazquez-Enriquez, Ulises; Universidad Autonoma del Estado de Mexico - Facultad de Odontologia, CIEAO Velazquez-Ramirez, Cesar I; Universidad Autonoma del Estado de Mexico - Facultad de Odontologia, CIEAO Rodriguez-Vilchis, Laura Emma; Universidad Autonoma del Estado de Mexico - Facultad de Odontologia, CIEAO Acosta-Gio, A. Enrique; Universidad Nacional Autonoma de Mexico , División de Estudios de Posgrado e Investigación
Keywords:	ATP-test, Handpieces, microbial-test, sterilization
Abstract:	<p>Summary Background: Dental handpieces (HPs) are surgical power tools with a complex internal geometry that retains pathogenic microorganisms, thus increasing the risk of transmitting infections among patients Objective: The aim of this investigation was to assess the application of ATP bioluminescence to demonstrate internal contamination in HPs. Methods: A commercially available ATP test was applied to 137 HPs used in the clinic a) after manual external cleaning alone, and b) after manual external cleaning followed by steam sterilization. Results: ATP testing yielded a median of 5,178.57 relative light units (RLU's) \pm 6,680.91 SD for manual external washing only, and 52.86 \pm 73.95 SD for the sterile HPs ($P=0.001$ CI95% 3,997.68 – 6,253.75). Bacterial geni isolated from externally washed but non-sterile HPs included Staphylococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Escherichia and Meningococcus. Conclusions: ATP can be applied to demonstrate internal contamination in dental HPs. External brushing by hand is insufficient and sterilization remains the "gold standard" for the reprocessing of the dental HPs.</p>

SCHOLARONE™
Manuscripts

7.2.3 Resumen:

Summary

Background: Dental handpieces (HPs) are surgical power tools with a complex internal geometry that retains pathogenic microorganisms, thus increasing the risk of transmitting infections among patients. **Objective:** The aim of this investigation was to assess the application of ATP bioluminescence to demonstrate internal contamination in HPs. **Methods:** A commercially available ATP test was applied to 137 HPs used in the clinic a) after manual external cleaning alone, and b) after manual external cleaning followed by steam sterilization. **Results:** ATP testing yielded a median of 5,178.57 relative light units (RLU's) \pm 6,680.91 SD for manual external washing only, and 52.86 \pm 73.95 SD for the sterile HPs ($P=0.001$ CI_{95%} 3,997.68 – 6,253.75). Bacterial geni isolated from externally washed but non-sterile HPs included *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Escherichia* and *Meningococcus*. **Conclusions:** ATP can be applied to demonstrate internal contamination in dental HPs. External brushing by hand is insufficient and sterilization remains the “gold standard” for the reprocessing of the dental HPs.

7.2.4 Apartados del artículo.

INTRODUCTION

First available in mid-20th century, the air-driven handpieces (HPs) are rotary instruments that allowed significant advances in dental surgery. Early construction of HPs, however, didn't take into account the need for sterilization between patients. HPs are surgical power tools with a complex internal geometry where biofouling occurs.¹ In response to this health risk, industry currently produces autoclavable HPs. Furthermore, in 2016 the U.S. Centers for Disease Control and Prevention stated the following: "Dental handpieces and associated attachments, including low speedmotors and reusable prophylaxis angles, should always be heat sterilized between patients and not high level or surface disinfected. Although these devices are considered semicritical, studies have shown that their internal surfaces can become contaminated with patient materials during use. If these devices are not properly cleaned and heat sterilized, the next patient may be exposed to potentially infectious materials."² However, contrary to the highest safety standards, compliance with HPs sterilization remains a major challenge for dental education in Latin America³ and possibly for professional practice worldwide.⁴

Adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence technology detects the presence of organic debris, including viable and nonviable bioburden, on surfaces and water.⁵ ATP has been used as a quality control to estimate organic/microbial load after washing hollow instruments, such as endoscopes.⁶ ATP compares well with other clinically relevant benchmarks including visual inspection, bacteriological sampling and organic residual rapid tests to detect protein, carbohydrate or haemoglobin.⁷

The aim of this investigation was to test the hypothesis that ATP bioluminescence can detect internal contamination in dental HPs.

MATERIALS AND METHODS

Bioethical considerations.

This investigation adhered to relevant guidelines for appropriate ethical research design and the relevant standards to ensure the protection of human subjects. The protocol was reviewed and approved by the Ethics and Biosafety Committees at UAEM's School of Dentistry.

Handpieces.

To assess the extent of internal contamination, HPs were externally washed by hand immediately after clinical use, and individually transported to the laboratory in a sterile plastic bag. To extract the internal contaminants, HPs were individually submerged in a test tube with 20 mL of sterile distilled water and ultrasonicated for 10 min at 40 KHz (Digital pro, Chicago IL, USA), and the resulting suspension was tested through ATP bioluminescence and aerobic bacteriology. After sample collection, the HPs were autoclaved and returned to the clinic. For comparison, after a second clinical use, the externally washed HPs were collected again and autoclaved. The sterile HPs were then ultrasonicated and the resulting suspension ATP tested and plated on culture medium. After sample collection, the HPs were autoclaved again and returned to the clinic.

ATP assessment.

For ATP testing with the 3M Clean-Trace® ATP water test kit (3M, Saint Paul, USA), samples were taken from the solution. Relative Light Units (RLUs) were measured employing the handheld Clean-Trace® luminometer. Sterile distilled water was used as a negative control.

Aerobic bacteriology.

The ultrasonicate samples were serially diluted 1:10 in phosphate-buffered saline and then 0.1 mL spread onto tryptic soy agar medium (Neogen corporation, Lansing MI) and incubated for 24 hr at 37°C.

Statistical Analysis.

Differences in RLU values between washed and sterilized HPs were assessed using the Mann–Whitney U test. Data were analysed using the IBM SPSS statistical package (V23®, New York, USA). A critical value of $p<0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

ATP results from 137 HPs are presented in table 1. RLU's were significantly higher ($p = 0.001$ CI_{95%}, 3,997.68 – 6,253.75) in washed versus autoclaved HPs. Viable bacteria were extracted only from washed HPs. Aerobic geni identified included *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Escherichia* and *Meningococcus*. No statistically significant differences were observed in ATP or bacteriology among HPs brands or models (results not shown).

DISCUSSION

ATP bioluminescence and bacteriology revealed internal contamination in dental HPs after manual external cleaning. These results show that the ATP-test can provide a reliable, rapid and practical assessment of HPs cleanliness.

A recent publication investigated external cleaning.⁸ However, external brushing of HPs is insufficient because the contamination is internal.⁴ The meticulous internal and external reprocessing of dental HPs is fundamental to avoid transmission of pathogens, mainly because their internal complex designs may restrict the access to cleaning and sterilization agents.⁴ A similar internal contamination challenge is observed in

endoscopy,⁹ where there're documented cases of infections transmitted from one patient to another by endoscopes.¹⁰

After sterilization, the ATP test still yielded low URL's because ATP is present in viable organisms and nonviable organic debris.^{11,12,13} It's possible that residual ATP values could be further reduced with internal rinsing and flushing before sterilization.

The detection of microorganisms such as *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Escherichia* and *Meningococcus* after external washing demonstrated the risk of infection when HPs have not been autoclaved, no testing for viruses was done in this investigation.

In this study sonication, in an ultrasonic bath, was used to recover debris from the HP interior. As a cautionary note, routine sonication of HPs may not be recommended by the manufacturer. Always follow manufacturer's instructions when cleaning and autoclaving HPs. Moreover, to dislodge internal bioburden HPs manufacturers may provide device specific instructions and there're diverse rinsing and cleaning apparatuses and formulations. Comparative evaluation of the commercially available options was beyond the scope of this investigation.

The introduction of a validated protocol for assessing the efficacy of internal cleaning will help reduce the risk of transmitting infection. To this end, the ATP fluorescence technology has advantages as a quick technique to detect internal contamination but it's cost/benefit should be considered. In this investigation, the cost incurred in consumables was USD \$1,800 for 274 ATP tests.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was conducted with material resources available at the participant's home institutions and without financial support from any third parties. The authors have no potential conflict of interest to declare.

REFERENCES

1. Deshpande A, Smith GW, Smith AJ. Biofouling of surgical power tools during routine use. *J Hosp Infect*. 2015;90:179-185.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Summary of Infection Prevention Practices in Dental Settings: Basic Expectations for Safe Care. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Dept of Health and Human Services; October 2016. Available at: www.cdc.gov/oralhealth/infectioncontrol/pdf/safe-care2.pdf.
3. Osegueda-Espinosa A, Sánchez-Pérez L, Perea-Pérez B, Labajo-González E, Acosta-Gío AE. Dentists survey on adverse events during their clinical training. *J Patient Saf*. 2017 Nov 4. doi: 10.1097/PTS.0000000000000296. [Epub ahead of print].
4. Acosta-Gio E, Bednarsh H, Cuny E, Eklund K, Mills S and Risk D. Sterilization of handpieces. *Am J Infect Control*. 2017;45:937-938.
5. Carling P. Methods for assessing the adequacy of practice and improving room disinfection. *Am J Infect Control*. 2013;41:s20-s25.
6. Alfa MJ. Monitoring and improving the effectiveness of cleaning medical and surgical devices. *Am J Infect Control*. 2013;41:S56-S59.
7. Alfa MJ, Olson N and Murray B. Comparison of clinically relevant benchmarks and channel sampling methods used to assess manual cleaning compliance for flexible gastrointestinal endoscopes. *Am J Infect Control*. 2014;42:e1-e5.

8. Pinto FM, Bruna CQ, Camargo TC, Marques M, Silva CB, Sasagawa SM, et al. The practice of disinfection of high-speed handpieces with 70% w/v alcohol: An evaluation. *Am J Infect Control* 2017 45:e19-e22.
9. Washburn RE and Pietsch JJ. Assessment of test methods for evaluating effectiveness of cleaning flexible endoscopes. *Am J Infect Control*. 2018 46(6):685-688.
10. Rutala WA, Weber DJ. J Hosp Infect. Reprocessing endoscopes: United States perspective. 2004 Apr;56 Suppl 2:S27-39.
11. Sherlock O, O'Connell N, Creamer E, Humphreys H. Is it really clean? An evaluation of the efficacy of 4 methods for determining hospital cleanliness. *J Hosp Infect*. 2009 72:140-146.
12. Hansen D, Benner D, Hilgenhoner M, Leisebein T, Brauksiepe A, Popp W. ATP measurement as method to monitor the quality of reprocessing flexible endoscopes. *Ger Med Sci*. 2004 2:1-5.
13. Ofstead CL. et al. Persistent contamination on colonoscopies and gastroscopes detected by biologic cultures and rapid indicators despite reprocessing performed in accordance with guidelines. *Am J Infect Control*. 2015 43:794-801.

Table 1. Internal bioburden in dental handpieces (n=137) evaluated by Adenosin Triphosphate bioluminescence and aerobic bacteriology.

Washed externally		Washed externally and autoclaved	
	median		median
RLU*	5,178.57**	6,680.91 SD	52.84
c.f.u./mL	19,886.36	0-170x10 ³	0

* Relative Light Units

** $p = 0.001$ CI_{95%}, 3,997.68 – 6,253.75

9. Bibliografía utilizada.

1. Hyson JM. The air turbine and hearing loss - Are dentists at risk? *J Am Dent Assoc*, Vol 133, No 12, 1639-1642. Online, Septiembre 2016 en <http://jada.ada.org/cgi/content/full/133/12/1639>
2. Andersen HK., Fiehn NE., Larsen T. Effect of steam sterilization inside the turbine chambers of dental turbines. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1999;87:184-8.
3. Leonardo DL., Charlton DG. Performance of high-speed dental handpieces subjected to simulated clinical use and sterilization. *J Am Dent Assoc*, 1999;130:1301-11.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Summary of Infection Prevention Practices in Dental Settings: Basic Expectations for Safe Care. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Dept of Health and Human Services; October 2016. Available at: www.cdc.gov/oralhealth/infectioncontrol/pdf/safe-care2.pdf.
5. Deshpande A, Smith GW, Smith AJ. Biofouling of surgical power tools during routine use. *J Hosp Infect*. 2015;90:179-185.
6. Instructions for use Kavo CLEANspray & Kavo DRYspray 2016 Apr 26. Disponible en <http://kavoesp.com/Productos/Sistemas-de-limpieza-y-mantenimiento/KaVo>.

7. Poder Ejecutivo Federal. Norma Oficial Mexicana NOM-013-SSA2-2015. Para la prevención y control de enfermedades bucales. México, D.F. Secretaría de Salud. Diario Oficial de la Federación. Noviembre 23, 2016.
8. DUKE Infection Control Outreach Network (DICON). Infection Prevention News. 2016;11(3). Disponible en PDF <http://dicon.medicine.duke.edu> el 8 de septiembre de 2016.
9. Rutala WA, Weber DJ. J Hosp Infect. Reprocessing endoscopes: United States perspective. 2004 Apr;56 Suppl 2:S27-39.
10. World Gastroenterology Organization/World Endoscopy Organization Global Guidelines. Endoscope disinfection-a resource-sensitive approach. February 2011.
11. Lewis D.L. and Boe R.K. Cross-Infection risks associated with current procedures for using high-speed dental handpieces. J Clin Microbiol. 1992;30(2):401-406.
12. Paiva S.M, Perazzo M, Ortiz F.R, Pordeus I.A, Martins-Junior P.A. How to select a questionnaire with a good methodological quality?. Braz Dent J. 2017;29:1-4.
13. Mokkink LB, Terwee CB, Patrick DL, Alonso J, Stratford PW, Knol DL, et al. The COSMIN checklist for assessing the methodological quality of studies on measurement properties of health status measurement instruments: an international Delphi study. Qual Life Res 2010;19:539- 549.
14. Locker D, Allen F. What do measures of 'oral health-related quality of life' measure? Community Dent Oral Epidemiol 2007;35:401-411.

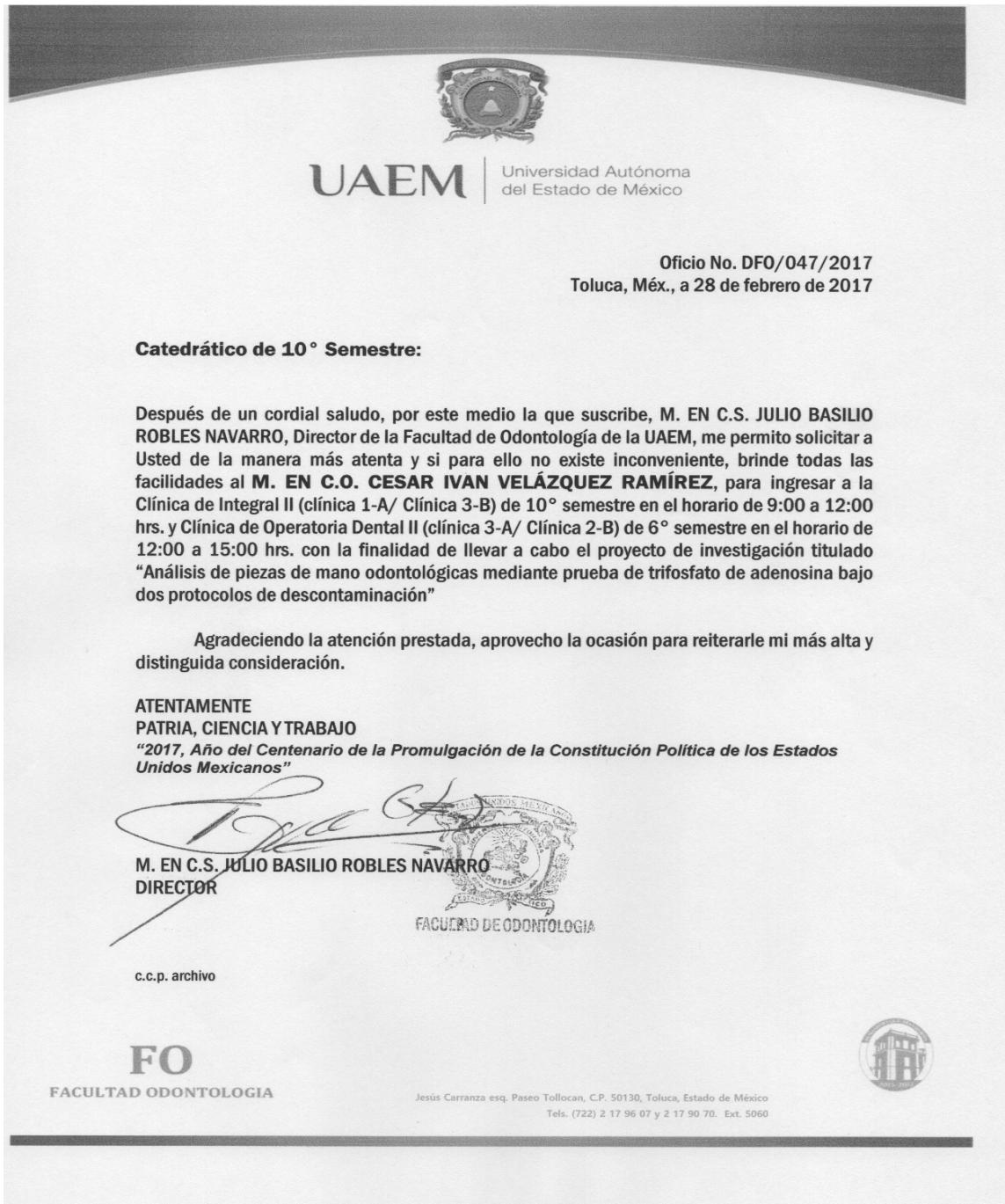
15. Jokovic A, Locker D, Stephens M, Kenny D, Tompson B, Guyatt G. Validity and reliability of a questionnaire for measuring child oral- health-related quality of life. *J Dent Res* 2002;81:459-463.
16. Avasthi A: 9,000-Year-Old Drilled Teeth Are Work of Stone Age Dentists. *National Geographic News*, April 5. 2006. Online, December 2010 at http://news.nationalgeographic.com/news/2006/04/0405_060405_teeth_drill.html.
17. Mayan roots of cosmetic dentistry. *British Dental Journal* 193, 187-190 (2002) Online, December 2010 at <http://www.nature.com/bdj/journal/v193/n4/full/4801520a.html>.
18. British Dental Association Museum. Clockwork drill and dental engine. Online, December 2010 at www.bda.org/museum/collections/dental-equipment/clockwork-drill-dental-engine.aspx.
19. Instrumental dental I. Disponible en http://www.edu.xunta.gal/centros/iesmontecastelo/system/files/TAO_06%28250308%29.pdf.
20. Midwest tradition / quiet air. High speed handpiece. Disponible en https://www.dentsplysirona.com/content/dam/dentsply/pim/manufacturer/Restorative/Dental_Handpieces/High_Speed/Midwest_TraditionL/87074-0708-Tradition--QA-83igrcg-en-1308.pdf.
21. F.B. Armstrong, B.Frank, T. Bennett. Bioquímica. Biochemistry. Biblioteca UNAM: Oxford University. Ed. Reverte (1982). pp. 232. ISBN -84-291-7008-1.

22. R.M. Calvert, H.C. Hopkins, M.J. Reilly and S.J. Forsythe. Caged ATP – an internal calibration method for ATP bioluminescence assays. *The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology* 2000;30:223-227.
23. World Health Organization. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. Geneva 2nd edition. 2003.
24. Social Research Methods, Web Center. Disponible en:
<http://www.socialresearchmethods.net/kb/survwrif.php>. Consultado en Marzo 2019.
25. A.J. Smith et al. A cross sectional study of water quality from dental unit wáter lines in dental practices in the West of Scotland. *British Dental Journal* 2002;192:645-48.
26. Charles G and Roberts MS. The role of biofilm in reprocessing devices. *American Journal of Infection Control*. 2013;41:S77-S80.
27. Velázquez-Ramírez CI, Scougall-Vilchis RJ, Sánchez-Pérez L and Acosta-Gó AE. Lack of sporicidal activity in diallyl-disulphide-oxide and a nanotechnology-product for sterilizing medical and dental instruments. *Int J Infect Control*. 2016;12:1-6.
28. Perkes C. 7 children hospitalized after treatment at Anaheim dental clinic, 500 more could be affected. Sept. 13, 2016. Disponible en
<http://www.ocregister.com/articles/procedure-728837-children-clinic.html>.
29. Acosta E, Borges A, Castillo L, et al. Infection control attitudes and perceptions among dental students in Latin America: implications for dental education. *Int Dent J* 2008;58:187-193.

30. Porteous NB, Bizra E, Cothron A, Yeh C-K, A Survey of Infection Control Teaching in U.S. Dental Schools. *J Dent Educ* 2014;78(2):187-194.
31. Osegueda-Espinosa A, Sánchez-Pérez L, Perea-Pérez B, Labajo-González E, Acosta-Gío AE. Dentists survey on adverse events during their clinical training. *Journal of Patient Safety*. 2017 Nov 4. doi: 10.1097/PTS.0000000000000296. [Epub ahead of print].
32. Spaulding E. H. (1968). Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: Lawrence C., Block S. S., (eds.). *Disinfection, sterilization and preservation* (517-531). Philadelphia, PA: Lea & Febiger.
33. Acosta-Gío E. Esterilización de la pieza de mano. *DENTAL TRIBUNE. Hispanic & Latin America*. 2015;12:8.
34. Nunnally JC, Bernstein IH. *Psychometric Theory*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 1994.

8. ANEXOS.

A) Aprobación para acceder a las clínicas de la Facultad de Odontología de la UAEMex.



B) Consentimiento informado.

Título: Análisis de piezas de mano odontológicas mediante prueba de Trifosfato de Adenosina bajo dos protocolos de descontaminación.

Lugar: Clínica de Operatoria Dental II (Clínica 3-A/2-B) de sexto semestre de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Investigador: M. en C.O. Cesar I. Velázquez Ramírez.

Tutor: Dr. en C. S. Ulises Velázquez Enríquez.

Número de teléfono asociado a la investigación: 7723661030.

Propósito del estudio: Este proyecto de investigación pretende analizar y comparar los protocolos empleados para la descontaminación de piezas de mano odontológicas analizado mediante pruebas de trifosfato de adenosina en dos fases.

Procedimientos: Una vez que usted haya terminado de realizar su práctica odontológica y que la pieza de alta velocidad haya sido lavada, se someterá a un lavado ultrasónico por 10 minutos y posteriormente será devuelta.

Riesgos: El desarrollo y las pruebas del estudio no pone en ningún riesgo la integridad de los componentes de la pieza de mano odontológica ni tampoco interviene en el funcionamiento normal de dicho instrumento, sólo se harán pruebas diagnósticas.

Beneficios: Cabe señalar que usted no recibirá ningún beneficio económico por participar en este estudio. Su participación es una contribución para el desarrollo de la ciencia y la implementación de un protocolo con sustento científico en el ámbito odontológico,. Con la contribución solidaria de muchas personas como usted mejoraremos la atención del paciente en cuanto a control de infecciones nos referimos. Del mismo modo, los resultados de éste estudio pueden ser otorgados en el momento en que lo solicite.

Participantes del estudio: El estudio es completamente voluntario. Usted puede participar o abandonar el estudio en cualquier momento sin ser penalizado.

Nombre y firma del participante

Fecha

Cesar I. Velázquez Ramírez

Nombre y firma del investigador principal

C) Encuestas aplicadas a los estudiantes.

5

Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Odontología
Esta encuesta es voluntaria y confidencial

1. Semestre en curso _____ 2. Edad _____ 3. Género _____ 4. Año de inicio de la carrera _____

INSTRUCCIONES: Lea cuidadosamente y no deje respuestas en blanco. Favor de contestar con tinta.

Tiempo estimado para completar este cuestionario = 10 min

Pregunta	Marque X en la casilla que mejor refleja tu percepción u opinión (lo que piensa)	nivel de concordancia %			
		muy fuerte	fuerte	regular	bajo
5.	El paciente merece ser atendido con una pieza de mano estéril				
7.	Puedo mejorar mis prácticas en el reprocessamiento de la pieza de alta				
8.	La pieza de alta es un medio potencial de contaminación cruzada en la práctica odontológica				
9.	El sillón dental debe ser desinfectado entre pacientes				
10.	Es aceptable que la pieza de alta pase al autoclave sin ser lavada previamente				
11.	Los profesores deben revisar que la pieza de alta esté estéril antes de dejarme atender pacientes				
12.	El paciente debe ser atendido con una pieza de mano estéril y desinfectar la pieza de alta				
13.	Debo lavar, lubricar y esterilizar la pieza de alta entre pacientes				
14.	La parte externa de las piezas de alta retiene mayor contaminación que la parte interna				
15.	El paciente merece ser atendido con las barreras de protección necesarias para su seguridad				
16.	La pieza de alta debe esterilizarse con los mismos criterios que los instrumentos que tocan sangre				
17.	Por medio del uso de la pieza de alta contaminada puedo infectar a mis pacientes				
18.	El vapor a presión daña la pieza de alta, debo evitarlo				
19.	El paciente merece ser tratado en un sillón dental desinfectado previamente				
20.	Debo seguir las instrucciones del fabricante para la esterilización de la pieza de alta				
21.	La pieza de alta puede esterilizarse por inmersión en soluciones químicas				
22.	Ningún paciente debe ser atendido con una pieza de alta sin esterilizarla				
23.	Las pruebas de ATP ayudan a detectar contaminación en la parte interna de la pieza de alta				
24.	Lo que aprendí sobre el reprocessamiento de la pieza de alta está actualizado				

1

Sí No No sé

WSTCS X en los osarios duele mucho y se siente si buceas (lo dice sonido)

Si No No sé

Sí No No sé

Marca X en la casilla que refleje el conocimiento adquirido durante la carrera. (lo que ocurrió)	Sí	No	No sé
25. Los profesores revisan que la pieza de alta esté estéril antes de atender al paciente			
26. Siempre he esterilizado la pieza de alta entre pacientes			
27. Conozco que un gran paso en la prevención de contagiar o contraer infecciones en la práctica odontológica es el cumplimiento de las recomendaciones internacionales para el reprocessamiento de la pieza de alta			
28. Se me ha capacitado para operar un autoclave			
29. Conozco a detalle las instrucciones del fabricante para reprocessar mi pieza de alta			
30. Los profesores me han recomendado emplear soluciones químicas para reprocessar la pieza de alta			
31. Conozco que esterilizar la pieza de alta mediante vapor a presión es el "estándar de oro"			
32. Conozco la importancia del reprocessamiento de la pieza de alta en el control de infecciones			
33. Yo como estudiante de odontología desempeño un papel de suma importancia en el control de infecciones			
34. Conozco que la pieza de alta es considerada un instrumento semicrítico si tiene uso en situaciones de riesgo			
35. Sé que la pieza de alta debe esterilizarse en autoclave entre paciente y paciente			
36. Sé que el trifosfato de adenosa (ATP) puede emplearse para evaluar la contaminación de la pieza			
37. Conozco que es necesario cambiar barreras de protección entre pacientes como medida de seguridad			
38. Conozco que debido a la geometría interna tan compleja de la pieza de alta, ésta sirve de reservorio de microorganismos y residuos dentales			
Total = 10 preguntas = 100% de crecimiento profesional			
Instrucción: Sección 3: Equipo de trabajo en el oficio dental			
4. El mejor equipo de trabajo es:			
5. El mejor equipo de trabajo es:			
6. El mejor equipo de trabajo es:			
7. El mejor equipo de trabajo es:			
8. El mejor equipo de trabajo es:			
9. El mejor equipo de trabajo es:			
10. El mejor equipo de trabajo es:			
Total = 10 preguntas = 100% de crecimiento profesional			
Instrucción: Sección 4: Equipo de trabajo en el oficio dental			
1. El mejor equipo de trabajo es:			
2. El mejor equipo de trabajo es:			
3. El mejor equipo de trabajo es:			
4. El mejor equipo de trabajo es:			
5. El mejor equipo de trabajo es:			
6. El mejor equipo de trabajo es:			
7. El mejor equipo de trabajo es:			
8. El mejor equipo de trabajo es:			
9. El mejor equipo de trabajo es:			
10. El mejor equipo de trabajo es:			

D) Reconocimiento. Segundo lugar en el 55 aniversario de la Facultad de Odontología de la UAEMex.



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Odontología

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A: Cesar Iván Velázquez Ramírez, Ulises Velázquez-Enríquez; Laura Emma Rodríguez Vilchis, Edith Lara Carrillo, Rogelio José Scougall Vilchis y Adelfo Enrique Acosta Gío.

Por obtener el **SEGUNDO** lugar en la modalidad cartel Trabajo de Investigación de Doctorado cuyo título es:

Aplicación de trifosfato de adenosina en una intervención educativa sobre el reprocesamiento de la pieza de mano odontológica

presentado durante el Congreso Conmemorativo del 55 Aniversario de la Facultad de Odontología, llevado a cabo el 10, 11 y 12 de junio de 2019.

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
“2019, Año del 75 Aniversario de la Autonomía ICLA – UAEM”

DRA. EN C.S. EDITH LARA CARRILLO
DIRECTORA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

