

【论 著】

观察不同储存条件对多酶清洗剂酶活度的影响

胡银清¹, 郭宏涛²

(1 广东省深圳市第二人民医院, 广东深圳 518035; 2 深圳市芭格美生物科技有限公司)

摘要 目的 通过测定 3 种多酶清洗剂中脂肪酶、蛋白酶的活度, 观察储存温度和时间对其的影响, 为临床多酶清洗剂的选择提供依据。**方法** 采用 GB/T 23535-2009 电位滴定法和 GB/T 23527-2009 福林法分别测定 3 种多酶清洗剂中脂肪酶和蛋白酶的活度。再将清洗剂分成两组, 一组 25℃ 存放 56 周, 每隔 8 周测定 1 次; 另一组 40℃ 恒温箱存放 36 周, 每隔 6 周测定 1 次。**结果** 3 种多酶清洗剂 A、B、C 的脂肪酶活度分别为: 0 u/ml、0 u/ml、388 u/ml, 蛋白酶活度分别为: 5 153 u/ml、4 289 u/ml、9 872 u/ml。在 25℃ 存放条件下, 3 种多酶清洗剂只有 C 能测出脂肪酶活度, 存放 56 周后下降 71.13%; 蛋白酶活度在存放 56 周后均有下降, A 下降 99.20%, B 下降 30.17%, C 下降 9.55%。40℃ 存放条件下, 3 种多酶清洗剂只有 C 能测出脂肪酶活度, 存放 3 周后 C 的脂肪酶活度下降至 0; 存放 6 周后, A 的蛋白酶活度下降至 0, 36 周后 B 的蛋白酶活度下降 76.43%, C 下降 5.57%。**结论** 25℃ 和 40℃ 储存条件下, 随着时间的延长, 3 种多酶清洗剂的脂肪酶和蛋白酶活度均有不同程度的下降, 下降趋势相同, 说明储存时间会影响多酶清洗剂中酶的活度。

关键词 多酶清洗剂; 脂肪酶; 蛋白酶; 酶活度

中图分类号: R187

文献标识码: A

文章编号: 1001-7658(2019)08-0623-03

DOI: 10.11726/j.issn.1001-7658.2019.08.019

The effect of storage conditions on enzyme activity on multi-enzyme cleaning agents

HU Yin-qing¹, GUO Hong-tao²

(1 Shenzhen Second People's Hospital of Guangdong, Shenzhen Guangdong 518035; 2 Shenzhen Bagemei BIO-ENZYME Technology CO. LTD, China)

Abstract Objective To observe the effect of storage time and temperature on lipase activity and protease activity in three kinds of multi-enzyme cleaning agents (named A、B、C) and provide the basis for clinical selection of multi-enzyme cleaning agents. **Methods** At storage temperature 25℃ or 40℃, the lipase activity and protease activity of three kinds of multi-enzyme cleaning agents were tested with GB/T 23535-2009 and GB/T 23527-2009. **Results** The lipase activity of cleaning agents A, B and C was 0 u/ml, 0 u/ml and 388 u/ml, respectively; the protease activity was 5 153 u/ml, 4 289 u/ml and 9 872 u/ml, respectively. Lipase activity was only measured by C, which decreased by 71.13% after 56 weeks at 25℃. At 25℃ the protease activity of A、B、C decreased after 56 weeks, while A decreased 99.20%, B decreased 30.17%, C decreased 9.55%. Also only C measured the lipase activity, but decreased to 0 after 3 weeks at 40℃. At 40℃, the protease activity of A decreased to 0 after 6 weeks, B decreased 76.43% after 36 weeks, C decreased 5.57%. **Conclusions** The lipase activity and protease activity in three kinds of multi-enzyme cleaning agents (A、B、C) are all decreased with the storage-time increased. The decrease trend of enzyme activity was the same at storage temperature 25℃ or 40℃, indicating that storage time would affect the activity of lipase and protease in multi-enzyme cleaning agents.

Key words multi-enzyme cleaning agents; lipase; protease; enzyme activity

复用医疗器械的清洗是否合格直接影响其消毒

和灭菌的质量, 从而影响患者的就医安全和医护人员的安全^[1-3]。WS 310.1-2016 中将医用清洗剂分为 4 类, 即碱性清洗剂、中性清洗剂、酸性清洗剂和酶清洗剂。其中酶清洗剂注解为: 含酶的清洗剂, 有较强的去污能力, 能快速分解蛋白质等多种有机污染物。近年来, 医疗器械结构的复杂性增加, 污染

〔基金项目〕 深圳市科创委科技项目 (JCYJ20160422172903230)

〔作者简介〕 胡银清 (1973-), 女, 湖北黄冈人, 本科, 副主任护师, 从事消化内镜专科护理及管理工作。

〔通讯作者〕 郭宏涛, Email: guohongtao@bagemei.com

物危害性和清洗难度,使得消毒灭菌难度加大,因此对医用清洗剂提出了更高的要求。随着酶制剂技术的发展,目前市场上已经由仅含有蛋白酶的含酶清洗剂转变为含有多种生物酶的多酶清洗剂。生物酶具有专一性,一种酶通常只能催化分解一类底物,所以多种生物酶的协同作用能快速分解和清除医疗器械上的各种有机物。目前多酶清洗剂通常宣称至少含有蛋白酶、脂肪酶和糖酶,能分解人体所产生的蛋白质、脂肪和碳水化合物等有机物。多酶清洗剂能增加清洗时去除物体表面微生物的能力,预防和减少细菌生物膜的形成,被广泛应用于各种复用医疗物品的清洗。目前直接以多酶清洗剂中酶活性为基础的研究尚未见报道,本文主要探讨储存条件对3种多酶清洗剂酶活度的影响,以便为多酶清洗剂的选择和应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

多酶清洗剂:A(国产产品)为一种绿色液体,B(美国进口产品)为一种蓝色液体,C(美国进口产品)为一种深蓝色液体,3种液体都均匀无沉淀,且处于保质期内。3种产品都标称含蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶。依据我国标准,蛋白酶和脂肪酶能检测到酶活度,而淀粉酶无法测定活度,所以本文仅对比蛋白酶和脂肪酶。

主要试剂:聚乙烯醇、橄榄油、95%(体积分数)乙醇、氢氧化钠、甘氨酸、氯化钠、福林酚试剂、无水碳酸钠、三氯乙酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、L-酪氨酸、干酪素。

主要仪器:恒温箱、数显恒温振荡器、高速分散器、磁力搅拌器、分析天平、紫外-可见分光光度计、恒温水浴锅、pH计、微量滴定管。

1.2 方法

1.2.1 存放条件 将每种多酶清洗剂分成两组,分别储存在25℃和40℃恒温箱中,恒温箱控温精度为0.1℃。

1.2.2 脂肪酶检测方法 采用国家标准 GB/T 23535-2009《脂肪酶制剂》中规定的电位滴定法测定清洗剂原液中脂肪酶活度^[4]。

1.2.3 蛋白酶测定方法 采用国家标准 GB/T 23527-2009《蛋白酶制剂》附录B的福林法测定清洗剂原液中蛋白酶活度^[5]。

2 结果

2.1 脂肪酶活度测定结果

存放前,A、B、C 3种多酶清洗剂的脂肪酶活度

分别为0 u/ml、0 u/ml、388 u/ml。25℃和40℃储存条件下只有C多酶清洗剂能测出脂肪酶活度。25℃条件下,每隔8周测定一次,随着储存时间的增加,脂肪酶活度呈下降趋势,8周后C多酶清洗剂的脂肪酶活度下降至228 u/ml,下降了41.24%;56周后脂肪酶活度下降至112 u/ml,下降了71.13%,详见图1。40℃条件下,每隔1周测定1次,C多酶清洗剂1周内脂肪酶活度下降至94 u/ml,下降了75.77%;3周后下降至0。故,40℃时脂肪酶活度下降速度更快,详见图2。

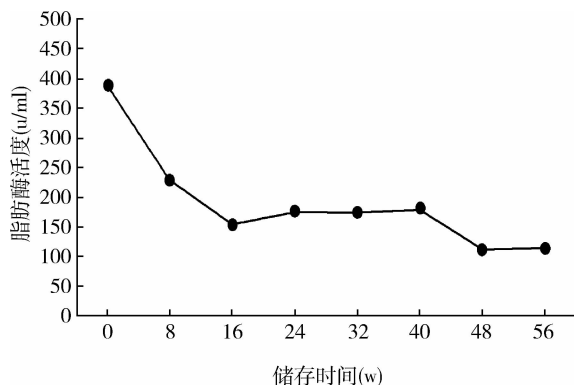


图1 25℃条件下脂肪酶活度随时间变化情况

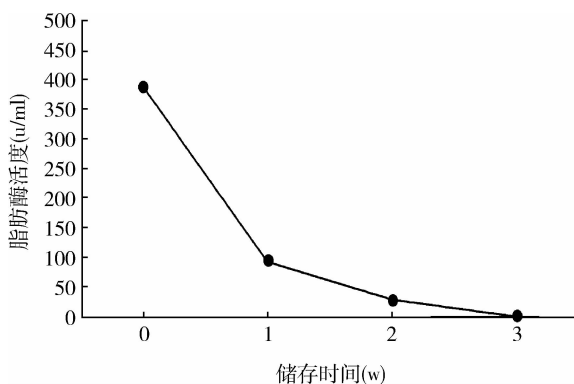


图2 40℃条件下脂肪酶活度随时间变化情况

2.2 蛋白酶活度测定结果

存放前,A、B、C 3种多酶清洗剂的蛋白酶活度分别为5 153 u/ml、4 289 u/ml、9 872 u/ml。25℃和40℃储存条件下,A、B、C 3种多酶清洗剂均能测出蛋白酶活度。在25℃条件下,每隔8周测定1次酶活度,8周后3种多酶清洗剂的蛋白酶活度均有明显下降。蛋白酶活度受清洗剂配方中蛋白酶种类、蛋白酶稳定剂和其他化合物的影响,配方设计不合理,蛋白酶活度下降速度会明显加快。从图3中可以看出,56周后A多酶清洗剂中蛋白酶活度下降至41 u/ml,下降了99.20%;B多酶清洗剂56周后蛋白酶活度下降至2 995 u/ml,下降了30.17%;C多酶清洗剂下降较少,56周后蛋白酶活度为

8 929 u/ml,下降了 9.55%。在 40 ℃ 条件下,每隔 6 周测定蛋白酶活性,从图 4 中可以看出,6 周后 A 多酶清洗剂蛋白酶活性下降至 0,稳定性较差;B 多酶清洗剂的蛋白酶活性下降也明显,36 周后下降至 1 011 u/ml,下降了 76.43%;C 多酶清洗剂蛋白酶活性略有下降,36 周后下降至 9 322 u/ml,下降了 5.57%。

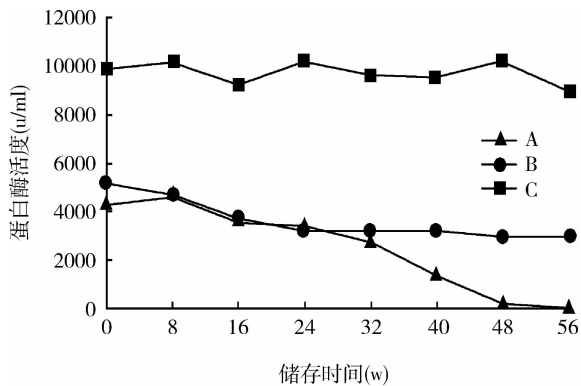


图 3 25 ℃条件下蛋白酶活性随时间变化情况

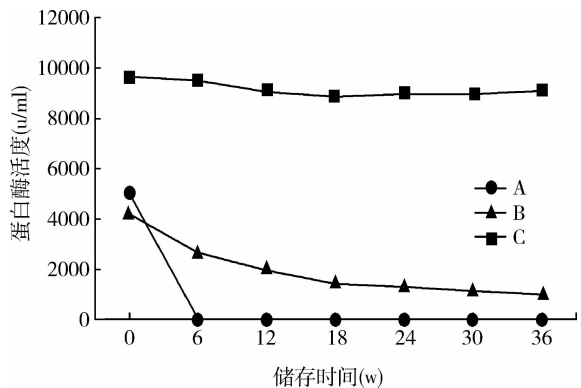


图 4 40 ℃条件下蛋白酶活性随时间变化情况

3 讨论

随着 WS 310 新版标准的贯彻实施,多酶清洗剂被广泛应用于复用医疗器械的清洗,医院要关注使用中多酶清洗剂的酶活性。临床使用后的手术器械通常含有各种有机污染物,其中最主要的污染物就是血液,而血液的主要成分是蛋白质。蛋白酶专一分解蛋白质,清洗剂中蛋白酶活性越高其分解速率就越快。手术后附着在复用器械上的脂类化合物很难通过清水清洗干净,脂类化合物只能被脂肪酶分解,而不能被其他酶分解,如果清洗剂中无脂肪酶,将会影响器械上脂类化合物的清洗,增加灭菌失

败的风险。临床使用后的器械上有机污染物各种各样,多酶清洗剂中生物酶种类越多、酶活性越高,其分解污物的能力就越强。目前医院探讨多酶清洗剂处理复用医疗器械的研究比较多,但是未见关于多酶清洗剂酶活性研究的报道。多酶清洗剂的核心是酶制剂,酶的种类、酶的活度和酶的稳定性是决定多酶清洗剂产品质量的关键因素,是衡量其去除器械上肉眼不可见有机污物的最重要指标。酶的活度容易受存放条件和温度等多种因素的影响,在储存和运输过程中,酶稳定性差会导致酶活性降低,导致产品中酶的种类减少或变成无酶的清洗剂,最终都会对清洗质量产生负面影响。在生物行业,液体酶制剂通常建议在 4 ℃ ~ 8 ℃ 的条件下储存,以维持酶的活度在 90 d 内不发生快速下降^[4,5]。而在医用多酶清洗剂领域通常没有用低温条件来储存,更多是常温自然放置,且产品保质期通常标注 2 年,所以酶活度的稳定性会出现问题从而影响产品应用性能。另外作为多酶复合产品,酶之间的相互作用,尤其是蛋白酶对其他酶等蛋白质的分解,会严重影响其他酶类的活度和效果,这种结果也会随着储存时间的延长更加显著。

本文考察了 25 ℃ 和 40 ℃ 两个存储温度条件,25 ℃ 模拟清洗剂在仓储阶段和科室使用阶段的室内环境温度,40 ℃ 模拟清洗剂在夏季高温物流阶段以及进口产品为期 3 个月海运阶段的环境温度。本研究中 A、B 多酶清洗剂随着储存时间的延长,蛋白酶活性下降明显,而且未检测到其含有脂肪酶;而 C 多酶清洗剂随着储存时间的延长蛋白酶活性下降不明显,但是脂肪酶活性下降显著。因此选择质量可靠的多酶清洗剂,不能只看产品标签的标注,应该让厂家提供检测报告等数据。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. WS 310. 2 - 2016 医院消毒供应中心第 2 部分:清洗消毒及灭菌技术操作规范[S]. 2016.

[2] 王君,刘淑菊. 影响复用手术器械清洗质量的原因分析及应对措施[J]. 中国消毒学杂志,2016,33(1):96-97.

[3] 谈智,王晓蕾,孙巍,等. 一种四合一多酶清洗剂杀菌性能及腐蚀性研究[J]. 中国消毒学杂志,2015,32(9):862-864.

[4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,国家标准化管理委员会. GB/T 23535 - 2009 脂肪酶制剂[S]. 2009.

[5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,国家标准化管理委员会. GB/T 23527 - 2009 蛋白酶制剂[S]. 2009.

(收稿日期:2019 - 02 - 11)