




Survol de la problématique reliée à la subtilisine présente dans les savons enzymatiques



Geneviève Marchand Ph.D., RMCCM SCCM(ENV)


Chercheure
Institut de recherche Robert-Sauvé en santé
et en sécurité du travail
Prévention des risques chimiques et biologiques



Question de faire connaissance

Qui êtes-vous ?

- Gestionnaire
- Travailleur
- Représentant syndical
- Ressource SST
- Autre



Question de faire connaissance un peu plus


Comment utilisez-vous le savon ?

Lavage manuel

- Injection submergée
- Pompe manuelle
- Verse manuellement à partir du contenant
- Non utilisé

Appareil automatisé

- injection en circuit fermé
- Autres
- Non utilisé



La subtilisine

Enzyme de type protéase

Catalyseur de réaction

↓

Permet à des réactions de se produire des millions de fois plus vite qu'en leur absence


↓

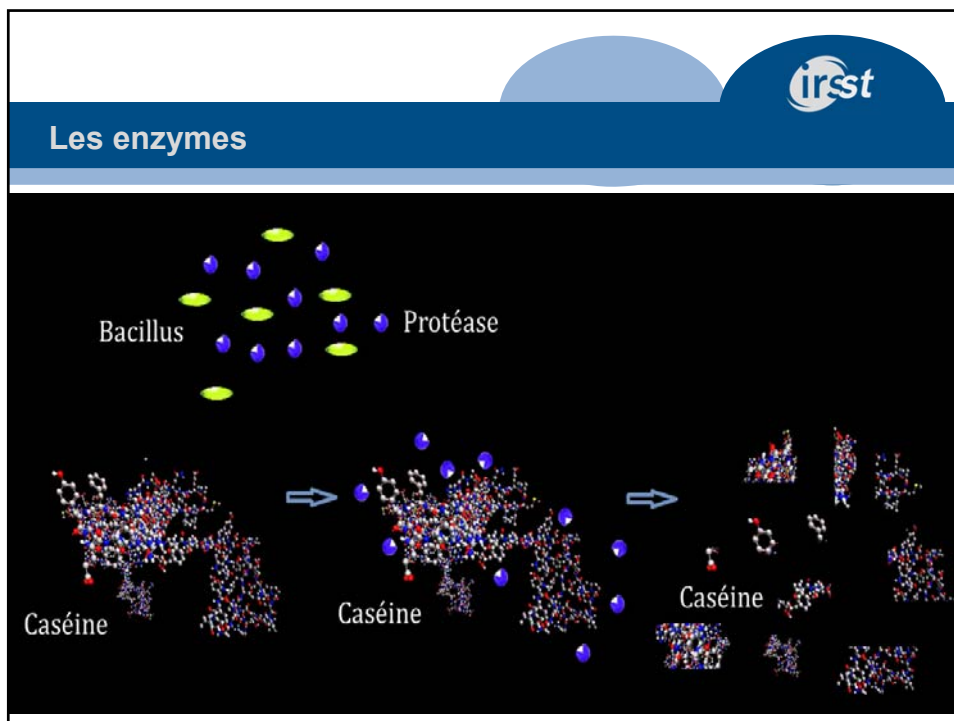
Les enzymes diffèrent des autres catalyseurs par leur très grande spécificité

Digestion des protéines

↓

La **subtilisine** hydrolyse des protéines avec une faible spécificité






La productrice

Produite par bactérie du genre ***Bacillus***
Principalement subtilis

Pas produit pour faire du lavage !!!

Réduire la taille pour faciliter l'incorporation
de petites molécules dans la cellule

ASSSAS
ASSOCIATION DES SAVONS ET SAVONNIERS


Effets sur la santé 


Bacillus spp
Microorganismes du groupe de risque 1...
sauf *B. cereus* et *B. anthracis*

Gr1 = Risque faible pour la personne, faible pour la collectivité

Sans aucun risque !!!!

Utilisé partout et N'importe où !!!



Les GROUPES DE RISQUE... ça vient d'où ? 

Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire
Agence de la santé publique du Canada
Groupe de risque 1 Agent biologique peu susceptible **d'infecter** une personne saine ou un animal sain

~~Autres milieux de travail~~

~~Autres risques de la santé
Immuno-allergique
Toxicologique~~

Marquez les effets à la santé possible selon vous

Symptômes respiratoires Asthme Congestion pulmonaire

Sensibilisation Œdème pulmonaire Infertilité

Aspergillose Dépression ABPA

Pneumonie

Hémorragie pulmonaire Dermatitis Cancer

Réactions allergiques pulmonaires Irritation

Les effets sont...

Symptôme respiratoire Asthme Congestion pulmonaire

Sensibilisation Œdème pulmonaire Infertilité

Aspergillose Dépression ABPA

Pneumonie

Hémorragie pulmonaire Dermatitis Cancer

Réaction allergique pulmonaire Irritation

Les normes d'exposition

Substance hautement toxique

Le RSST utilise une valeur plafond de **60 ng/m³ d'air** et prohibe la recirculation d'air


Le HSE utilise *workplace exposure limit* de **40 ng/m³ d'air

***UE : substance hautement toxique pour l'environnement aquatique...
Mais comme elle est efficace pour laver le linge et la vaisselle

Elle fait partie des exceptions et peut obtenir le cycle « ECO »

Où est utilisée la subtilisine?

- Dégraissant dans les lessives
- Industrie de la tannerie
- Conserves dans l'industrie alimentaire
- Désinfection des lentilles de contact
- Fontaines biologiques (ex. : nettoyage de pièces mécaniques)
- **Agent de pré-stérilisation**




Concentrations mesurées en milieu de travail:


Peu d'études publiées à ce jour

Pas de méthode standard pour l'air
➤ Norme très faible = grand défi méthodologique

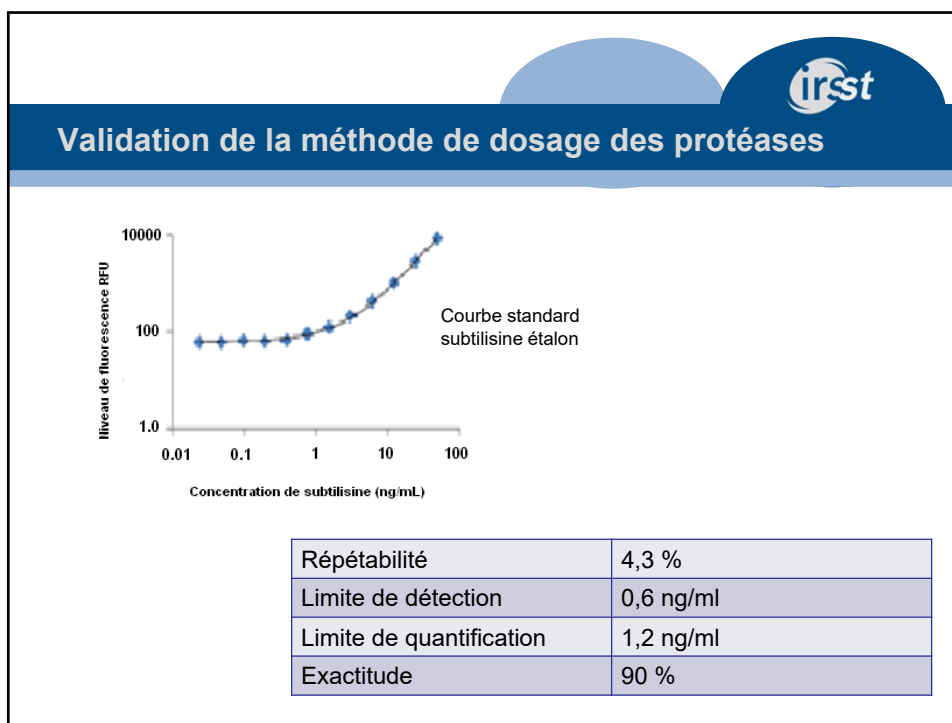
Health and Safety Laboratory (HSL)
Angleterre




Dosage des protéases-méthode du HSL



Intensité de fluorescence proportionnelle à la concentration de subtilisine
Plus il y a de la subtilisine, plus le nombre de molécules de caséine digérées est élevé et plus les fluorophores vont émettre fortement

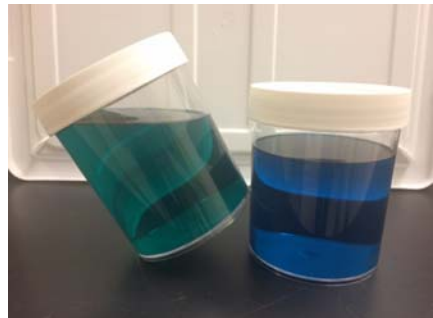





Pourquoi avoir dosé dans les savons ?

Inutile d'aller en milieu de travail faire des prélèvements d'air si aucun produit ne contient de la subtilisine

Utilisateurs pas toujours informés
Ce n'était pas facile de savoir si des savons contenant de la subtilisine étaient utilisés



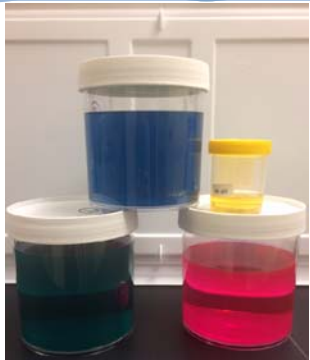


Pourquoi avoir dosé dans les savons ?


Une bonne façon pour le savoir...
C'était de vérifier nous-mêmes au laboratoire

Permettait aussi de vérifier la méthode

Les concentrations dans les savons sont plus élevées que dans l'air, donc l'analyse est plus facile




15 savons



Concentrations dans les savons - hôpitaux

Tableau 1 : Concentration de protéases de « type subtilisine » dosée dans les savons fournis par les hôpitaux participants.


Nom commercial du savon (détergent)	Concentration de subtilisine ou protéases selon la FDS	Numéro de l'hôpital où le savon est utilisé	Concentration mesurée	
			ng/ml	Concentration en % poids/volume
PO	-	1 et 6	$12 \cdot 10^4$	0,0012
EP	-	3	$5,5 \cdot 10^3$	0,5500
SO	-	2 et 6	$1,0 \cdot 10^7$	1,0000
AL	-	1	<0,15	
NK	-	1	<0,075	
LJD	-	1 et 3	<0,3	
NW	-	6	<0,007	
TW	-	6	<0,007	
MD	-	1	<7,5	
EC	inconnu	1	$4,5 \cdot 10^6$	0,4500
AA	0,1-1 %	1, 2 et 3	$2,0 \cdot 10^6$	0,2000
VEC	0,1-1 %	1, 3 et 6	$3,4 \cdot 10^6$	0,3400
K	0,1-1 %	6	$7,8 \cdot 10^6$	0,7840
EM	0,1-1 %	1	$3,0 \cdot 10^7$	3,0000
PR	1-5 %	1, 2, 3, 4 et 5	$2,5 \cdot 10^7$	2,5000



Savons avec subtilisine

Tableau 1 : Concentration de protéases de « type subtilisine » dosée dans les savons fournis par les hôpitaux participants.

Nom commercial du savon (détergent)	Concentration de subtilisine ou protéases selon la FDS	Numéro de l'hôpital où le savon est utilisé	Concentration mesurée	Concentration en % poids/volume
			ng/ml	g/100 ml
PO	-	1 et 6	$12 \cdot 10^3$	0,0012
EP	-	3	$5,5 \cdot 10^3$	0,5500
SO	-	2 et 6	$1,0 \cdot 10^7$	1,0000
EC	inconnu	1	$4,5 \cdot 10^5$	0,4500
AA	0,1-1 %	1, 2 et 3	$2,0 \cdot 10^6$	0,2000
VEC	0,1-1 %	1, 3 et 6	$3,4 \cdot 10^6$	0,3400
K	0,1-1 %	6	$7,8 \cdot 10^5$	0,7840
EM	0,1-1 %	1	$3,0 \cdot 10^7$	3,0000
PR	1-5 %	1, 2, 3, 4 et 5	$2,5 \cdot 10^7$	2,5000




Savons – Non concordance

Tableau 1 : Concentration de protéases de « type subtilisine » dosée dans les savons fournis par les hôpitaux participants.

Nom commercial du savon (détergent)	Concentration de subtilisine ou protéases selon la FDS	Numéro de l'hôpital où le savon est utilisé	Concentration mesurée	Concentration en % poids/volume
			ng/ml	g/100 ml
PO	-	1 et 6	$12 \cdot 10^3$	0,0012
EP	-	3	$5,5 \cdot 10^3$	0,5500
SO	-	2 et 6	$1,0 \cdot 10^7$	1,0000
EC	inconnu	1	$4,5 \cdot 10^5$	0,4500
EM	0,1-1 %	1	$3,0 \cdot 10^7$	3,0000

Non concordance

1/3




Constats - Fiches de données de sécurité

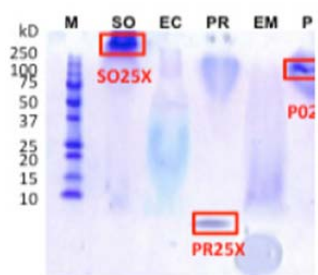
Dans 33 % du temps, les concentrations rapportées ne concordent pas avec les informations fournies

En raison des « secrets industriels » il arrive que la subtilisine soit dissimulée dans « **solution d'enzyme** »

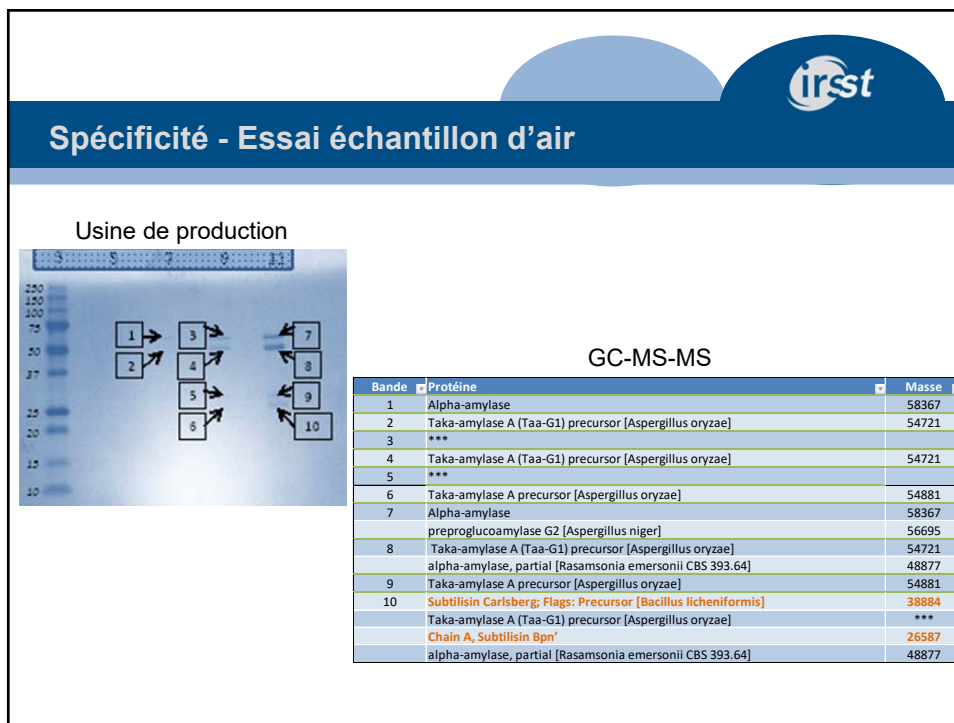
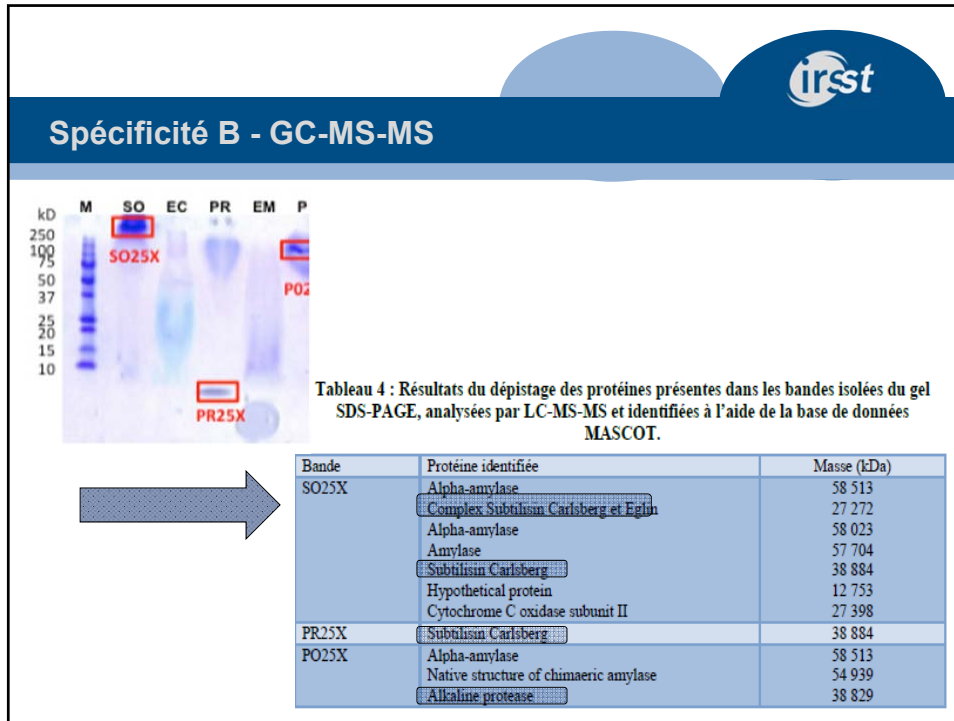
Limitation du constat :
spécificité de la méthode analytique



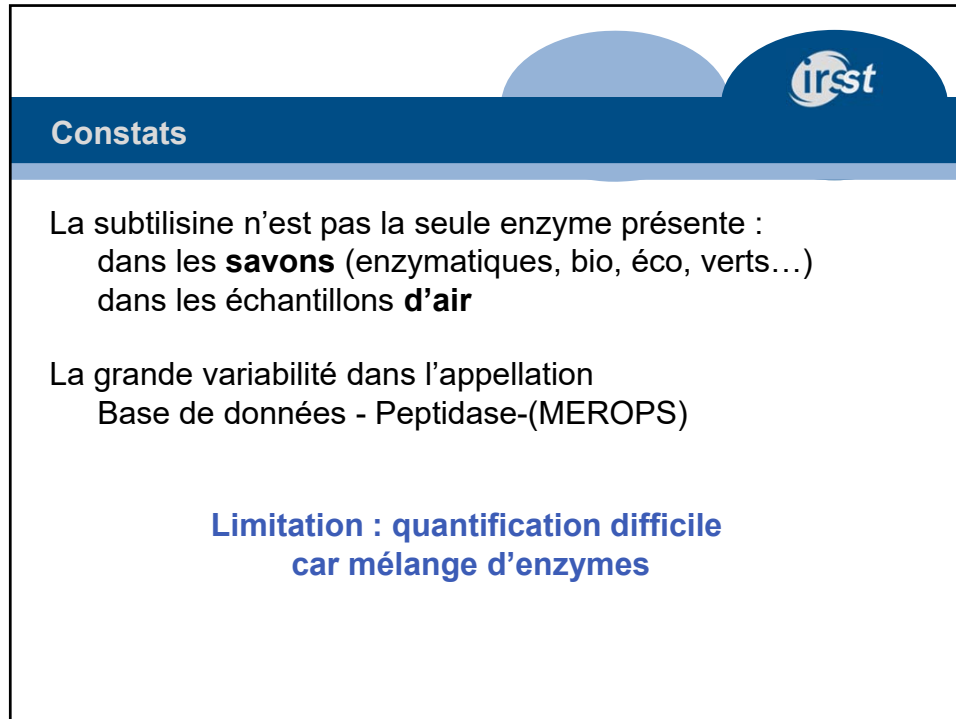
Spécificité A - Gel polyacrylamide



Limitation : migration dans le gel difficile, ce qui peut rendre la spéciation parfois impossible



Texte de la conférence présentée par Geneviève Marchand, chercheure, IRSST, lors du webinaire diffusé par l'ASSTSAS en mars 2017

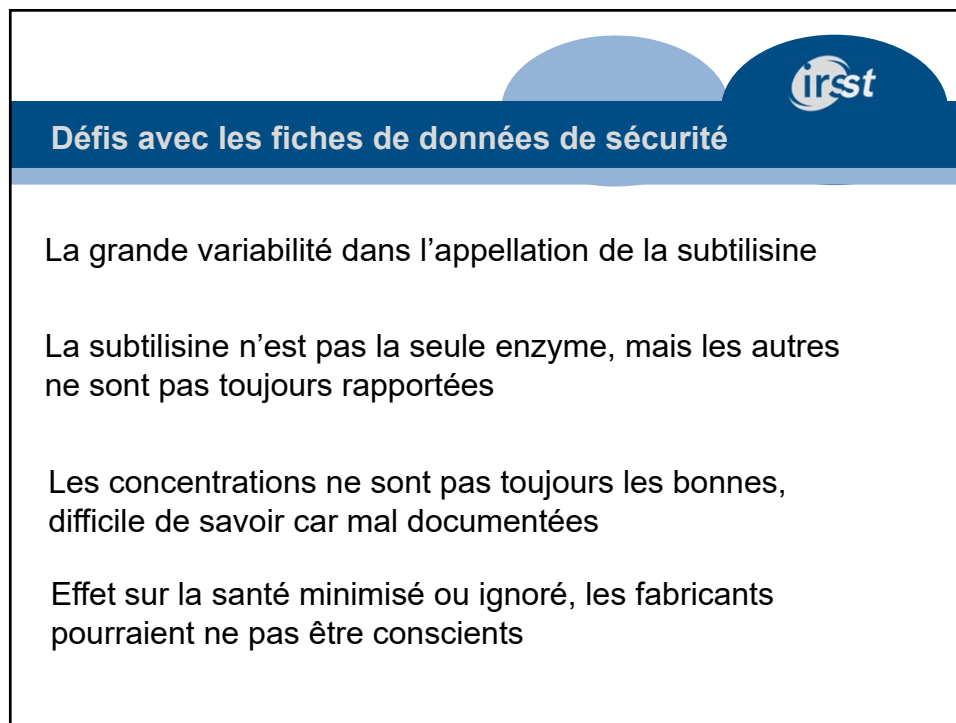


Constats

La subtilisine n'est pas la seule enzyme présente :
dans les **savons** (enzymatiques, bio, éco, verts...)
dans les échantillons **d'air**

La grande variabilité dans l'appellation
Base de données - Peptidase-(MEROPS)

**Limitation : quantification difficile
car mélange d'enzymes**




Défis avec les fiches de données de sécurité

La grande variabilité dans l'appellation de la subtilisine

La subtilisine n'est pas la seule enzyme, mais les autres ne sont pas toujours rapportées



Les concentrations ne sont pas toujours les bonnes, difficile de savoir car mal documentées


Effet sur la santé minimisé ou ignoré, les fabricants pourraient ne pas être conscients



Ses noms



Subtilisin Carlsberg,	Alcalase^{mc}
Subtilisin A	Savinase^{mc}
Subtilisin BPN	Maxatase ^{mc}
Subtilisin B	Esperase^{mc}
Subtilisin E	Milezyme ^{mc}
Subtilisin 309	Opticlean ^{mc}
Subtilisin 147	Optimase ^{mc}
Subtilopeptidase A	Durazyme ^{mc}
Subtilopeptidase B	Purafect ^{mc}
Subtilopeptidase C	OxP ^{mc}
Nagarse	Kannase ^{mc}
BLAP	KAP ^{mc}
BLAP S	Properase ^{mc}
Purafect	







Et autres surnoms...

alcalose	protéase
ALK-enzyme	protin A
bacillopeptidase	Orientase
biopraxe	alcalose
colistinase	thermoase
genenase	superase
maxatase	subtilopeptidase
Kazusase	
<i>Bacillus subtilis</i> alcaline protéinase	



 **Où est utilisée la subtilisine dans vos établissements ?**

Répondre directement sur la diapositive en utilisant l'outil « texte »



 **Évaluation en milieu de travail**

Unités


- Décontamination*
- Pré lavage*
- Retraitement*
- Stérilisation*

Nettoyage
manuel
automatique






Échantillonneur d'air




100 à 300 litres/minute
Prélèvement dans un liquide

Hypothèse : la faible dimension de la subtilisine provoque son réentrainement dans l'air créant son élimination du cône du Coriolis



Campagne de prélèvement en milieu de travail... prise 2


Porte filtre IOM et filtre de fibre de verre				IOM 10 Litres/min			
	Local	Poste	Volume d'air prélevé	Concentration enzyme de type subtilisine			
				ng/m ³ d'air			
Hôpital 1 IOM	décontamination petite salle	B	120	<10			
		C	120	<10			
		A	120	<10			
	décontamination grande salle	E	115	<10			
		D	115	40			
		E	120	<10			
Hôpital 2 IOM	décontamination	Près des travailleurs	60	<3			
			60	<3			
			60	<3			
			60	<3			
			60	<3			
Hôpital 3 IOM	retraitement bronchoscope	Poste A 1	150	<10			
		travailleur	140	20			
		Poste A et B 3	150	40			
		travailleurs	130	50			
	décontamination	Poste C aucun travailleur	120	<10			
		Poste D	110	60			
		Poste E	150	DT			
		Poste F	140	70			
Hôpital 4 IOM jour 2	salle pré lavage	A	115	<10			
			115	<10			
		H	120	110+reprise < 10			
		B	115	<10			
		C	115	50			
			115	10			
		D	120	50			
		E	115	20			
		F	115	30			
		G	115	<10			
Hôpital 4 IOM jour 1	Salle pré lavage	SOUS ÉVIER	115	<10			
			115	70			
		SOUS ÉVIER	115	<10			
		Poste A-1	135	50			
			135	90			
		Poste A-2	135	60			
			135	160			
			135	90			
		Poste B	180	<10			
			135	<10			
Hôpital 5 IOM	décontamination	Poste A	135	<10			
			135	<10			
			135	<10			
			135	<10			
	stérilisation	Poste C	140	<10			
			140	<10			
		Poste B	135	<10			
		Poste D	130	<10			
		125	<10				



Constats

La subtilisine peut être prélevée avec un porte filtre IOM muni d'un filtre de fibres de verre


Une extraction simple au laboratoire permet de recueillir la subtilisine avant l'analyse




Moyens de contrôle

L'objectif du projet n'était pas de proposer des moyens de contrôle

- 1- Substitution
Attention aux autres enzymes
- 2- Captation à la source






Moyens de contrôle

3- Évaluation des méthodes de travail
Brosser les endoscopes sous l'eau
Brasser doucement les instruments dans l'évier



L'objectif doit être de réduire la production d'aérosol




Moyens de contrôle - 2

4- Ajouter le savon dans un évier vide est à proscrire
Aérosolisation lorsque le jet d'eau atteint le fond de l'évier



5- Système d'injection submergé
À utiliser dans un évier avec de l'eau !!!






Moyens de contrôle - 2

6- Utilisation de « pads » absorbants à côté des éviers lors du lavage manuel



7- Le contrôle des surfaces pourrait permettre de déceler une contamination
Pourrait être utilisé à titre préventif

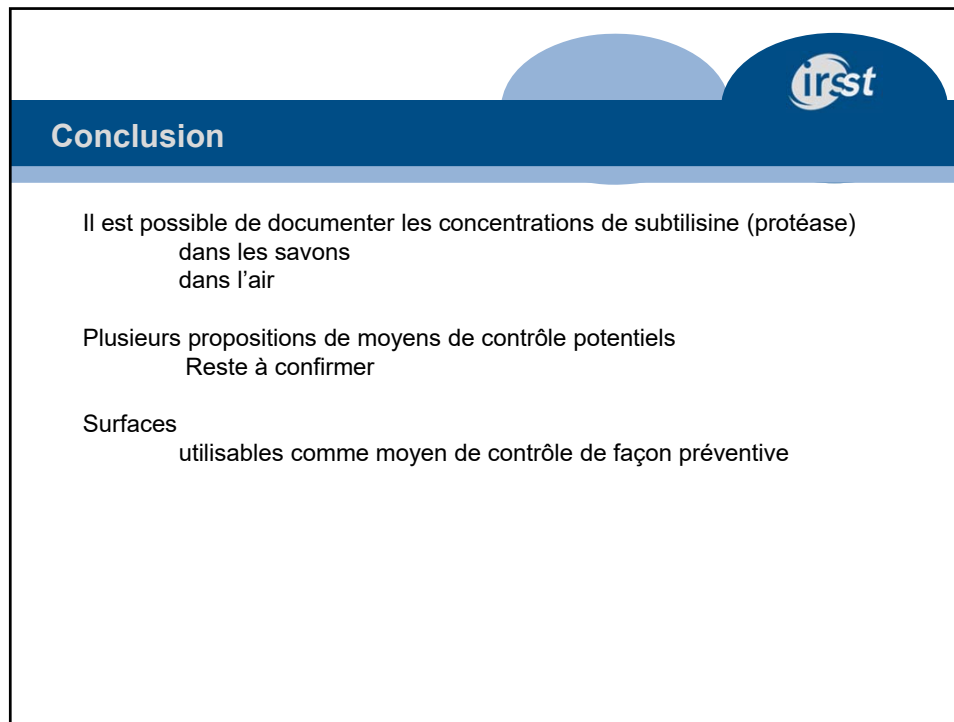


Moyens de prévention

Faire des échantillons de surfaces
suivre les niveaux de subtilisine déposés sol et comptoirs
évaluer la qualité d'un nettoyage

Éviter l'accumulation de la subtilisine sur les surfaces
?? reliée à une augmentation des concentrations dans l'air

Observation durant le projet suite à un déversement

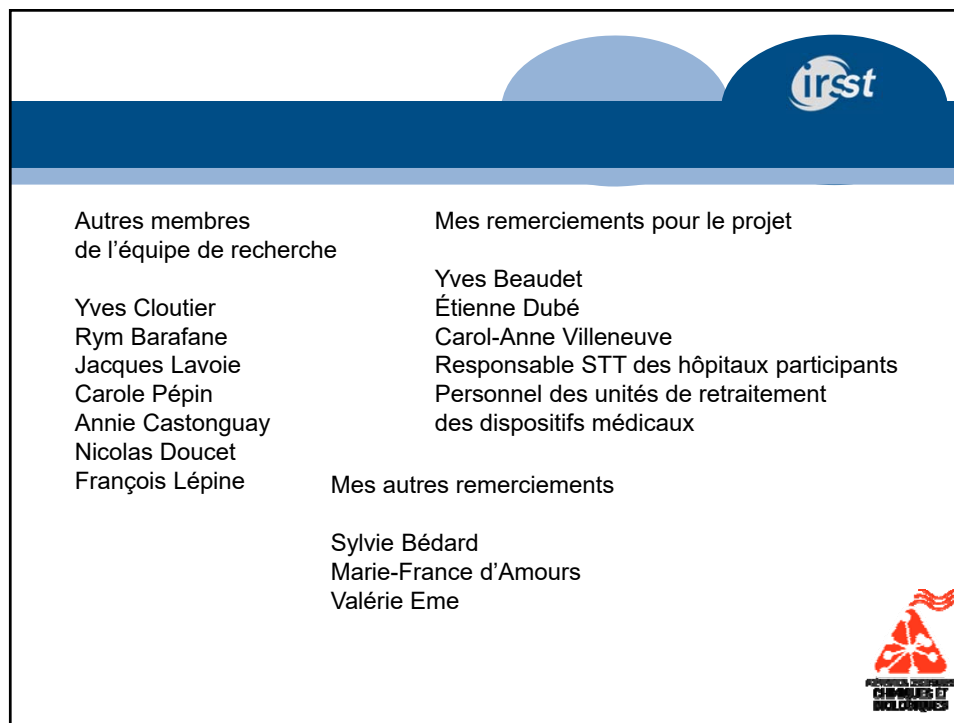


Conclusion

Il est possible de documenter les concentrations de subtilisine (protéase)
dans les savons
dans l'air

Plusieurs propositions de moyens de contrôle potentiels
Reste à confirmer

Surfaces
utilisables comme moyen de contrôle de façon préventive



Autres membres de l'équipe de recherche

Yves Cloutier
Rym Barafane
Jacques Lavoie
Carole Pépin
Annie Castonguay
Nicolas Doucet
François Lépine

Mes remerciements pour le projet

Yves Beaudet
Étienne Dubé
Carol-Anne Villeneuve
Responsable STT des hôpitaux participants
Personnel des unités de retraitement des dispositifs médicaux

Mes autres remerciements

Sylvie Bédard
Marie-France d'Amours
Valérie Eme

