

***RELEVAMIENTO DE LA  
ACTIVIDAD PROTEOLITICA:  
METODO PROPUESTO COMO  
INDICADOR RAPIDO PARA EL  
MONITOREO DE LAS  
SOLUCIONES DE  
DETERGENTES ENZIMATICOS.***

Farm. Bioq. Benitez Sergio, Farm. Segui María  
Eugenia , Farm. Bioq. Vecino Valeria, Farm.  
Bioq. Benatar Viviana, Bioq. Cucci Victoria

**INTRODUCCION:** Las técnicas convencionales para determinar la actividad proteolítica de los detergentes enzimáticos requieren equipamiento y capacitación, por lo que no pueden usarse de manera práctica en el monitoreo diario de dichos productos.

La bibliografía cita que la placa radiográfica posee una capa de gelatina entre sus componentes que puede ser sustrato de proteasas incluídas en los detergentes enzimáticos, en los que resulta importante verificar la actividad enzimática, que puede reducirse por fallas de conservación, fabricación o errores de dilución final.

**OBJETIVO :** Demostrar que la técnica de hidrólisis de gelatina de la placa radiográfica, puede utilizarse como sistema INDICADOR rápido, para evaluar la actividad PROTEOLITICA de las soluciones de detergentes enzimáticos, permitir evidenciar la preparación correcta de las diluciones de los mismos en el área de trabajo, y su estabilidad en el periodo de uso en comparación con una dilución fresca patrón .

**DISEÑO:** Experimental-prospectivo

**MATERIALES Y METODOS:** tiras de placa radiográfica no expuestas a rayos X y no revelada de 3 cm<sup>2</sup>, tubos de vidrio cónicos de centrifuga, detergente no enzimático no iónico Extran (R) Merck, cinco marcas de detergentes enzimáticos de uso común en el ámbito hospitalario. Los ensayos se realizaron por triplicado. Variables del sistema: Dilución, Temperatura, Calidad del agua de dilución. Se preparo la dilución de la solución de detergente enzimático siguiendo las indicaciones del fabricante, se colocaron 10 mililitros de dicha solución en tubo cónico de centrifuga. Controles: 1) tubo con agua con detergente enzimático, 2) tubo con agua y placa RX, 3) tubo con agua y solución de detergente no enzimático no iónico con placa RX. Se registro el momento de aparición de turbidez en el fondo del tubo y el momento de transparentización total de la placa radiográfica. (ver FOTOS 1 a 4)

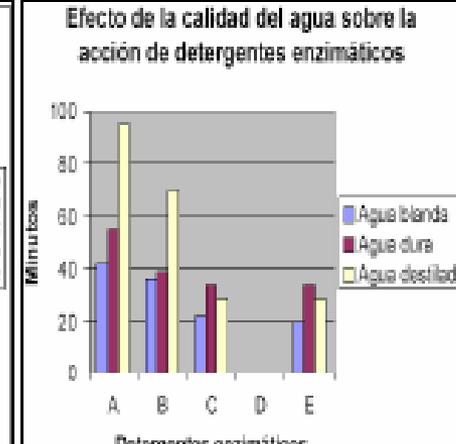
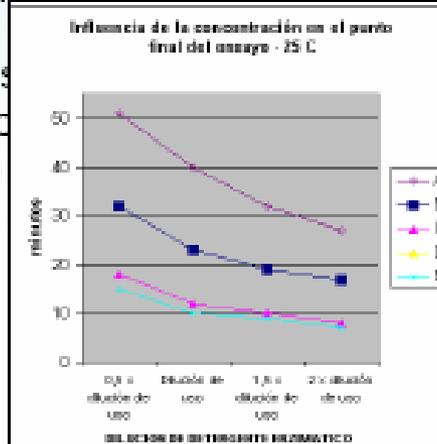
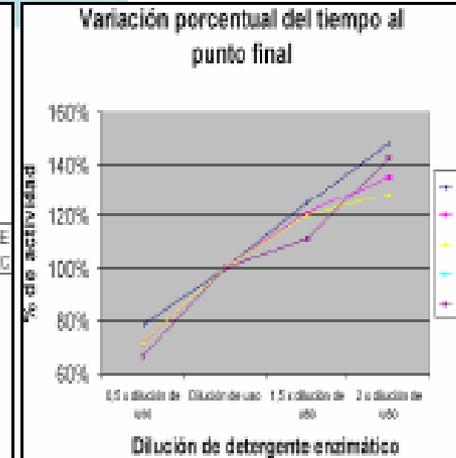
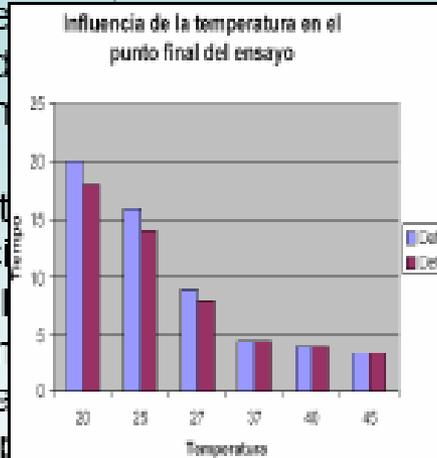
**RESULTADOS:** se verificó correlación y reproducibilidad para las variables: temperatura, dilución, marca de detergente y calidad de agua, al medir tiempo para transparentizar placa de rayos X. La temperatura incrementó la capacidad de remoción de placa entre 20 y 45°C, no se encontró actividad a 15°C o menos. El incremento de la concentración del detergente enzimático produjo un aumento de actividad. El tipo de agua modificó la capacidad de remoción de placa en algunas marcas de detergente.

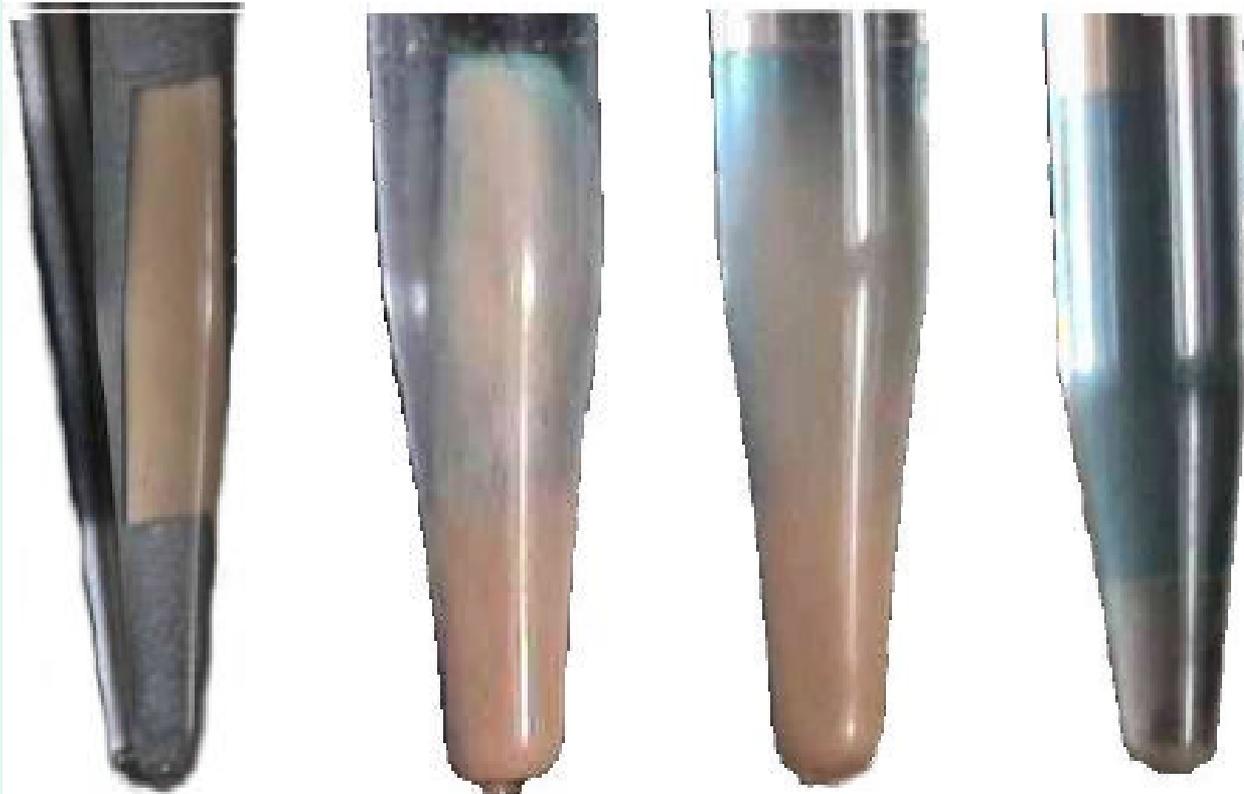
CODIGO DEL DETERGENTE ENZIMATICO	CANTIDAD DE ENZIMAS
A	TETRAENZIMATICO
B	TRIEENZIMATICO
C	MONOENZIMATICO
D	TRIEENZIMATICO
E	BIENZIMATICO

**DISCUSIÓN:** El análisis de los resultados obtenido muestra correlación reproducible para las variables temperatura, dilución, marca de detergente y calidad de agua, medido a través del tiempo requerido para transparentar una placa 3 cm<sup>2</sup> de film para rayos X. Sólo en un caso se halló ausencia de capacidad de remoción del film de gelatina, incluso entre distintos lotes del mismo producto, ensayos adicionales se han programado para identificar la causa de la falla del producto en el sistema. Más allá de este caso, el ensayo con las concentraciones de uso indicadas por el fabricante permitió obtener lectura en escasos minutos.

## IMÁGENES DEL ENSAYO: La secuencia

de imágenes muestra el proceso de transparentización gradual de la placa radiográfica. La imagen obtenida con la placa intacta. El efecto de la acción enzimática se manifiesta por la aparición de turbiedad en la porción ubicada por debajo de la línea de corte. Al incrementar gradualmente las diluciones 2 y 3 se aprecia con claridad el desprendimiento de la muestra. Al finalizar el tubo, una vez que han sido eliminados los residuos de film. Los controlaron presentaron el aspecto durante todo el ensayo.





**CONCLUSIONES:** El sistema propuesto es útil como INDICADOR, ya que permite visualizar con rapidez y facilidad variaciones en la actividad proteolítica sin necesidad de recurrir a aparatos de laboratorio ni reactivos adicionales. Consideramos que la aplicación de este método rápido permite la puesta en evidencia de la capacidad de limpieza del detergente enzimático en condiciones REALES de uso, mas allá de las recomendaciones teóricas dadas por el fabricante, ya que en el ámbito hospitalario podemos encontrar variaciones en la calidad de agua, temperatura, diluciones, condiciones de conservación, etc., que pueden afectar la actividad esperada y la efectividad del lavado.

---

## BIBLIOGRAFIA:

1. Alvarado et al, "APIC guideline for infection prevention and control in flexible endoscopy", AJIC, Volume 28, Number 2: 138 – 155.
2. Spach. Dy col. Transmission of infection by gastrointestinal Endoscopy and broncoscopy. Annals of Internal Medicine 1993,113- 117-128.
3. Kaczmarek RG,Moore RM Jr,McGowan J, et all Multi-state investigation of the actual disinfection sterilization of endoscopes in health care facilities. Am J Med. 1992,-92,-257-61.
4. Bronowicki JP, Venard V, Botte C, Monhoven N, Gastin I, Chone L, et al. Patient-to-patient transmission of hepatitis C virus during colonoscopy. N Engl J Med 1997;337:237-40.
5. Michele TM, Cronin WA, Graham NMH, Dwyer DM, Pope DS, Harrington S, et al. Transmission of Mycobacterium tuberculosis by a fiberoptic bronchoscope. JAMA 1997;278:1093-5.
6. Michels W, Frister H, Pahlke H, Fery R. Testing the cleaning performance of automated decontamination processes of minimally invasive instruments. Hyg Med 1996; 21: 324 – 330.
7. Frister H,Michels W. Comparative assessment and optimization of the cleaning performance of automated decontamination processes.Hyg Med 1994: 19; 673- 688.
8. Schrimm H,Sieber JP,HeegP,Roth K,Muller-Schauenberg W,Keller KD,Bueb O. A new method for validating and verifying the cleaning of tubular instruments.Zentr Steril 1994; 2: 313-324.
9. Fichetti et col. "A method to detect proteinase activity using unprocessed X-ray film". Anal Biochem, 1991 Nov 1; 198(2): 396.
10. A. P. Giri et Col. "Detection of Legume Protease Inhibitors by the Gel-X-ray Film Contact Print Technique". Biochemistry and Molecular Biology Education, 2002, 30 (1): 40-44.