



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102015991 B

(45) 授权公告日 2012. 11. 14

(21) 申请号 200980116732. 4

(22) 申请日 2009. 05. 06

(30) 优先权数据

2008902264 2008. 05. 09 AU

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 11. 09

(86) PCT申请的申请数据

PCT/AU2009/000564 2009. 05. 06

(87) PCT申请的公布数据

W02009/135259 EN 2009. 11. 12

(73) 专利权人 新药研究(澳大利亚)有限公司

地址 澳大利亚新南威尔士

(72) 发明人 S·克里茨勒 A·萨瓦

(74) 专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司

公司 11322

代理人 龙淳

(51) Int. Cl.

C12N 9/50(2006. 01)

C11D 7/26(2006. 01)

C11D 7/60(2006. 01)

(56) 对比文件

US 6143707 A, 2000. 11. 07,

CN 1232665 A, 1999. 10. 27,

审查员 宋雪

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图 6 页

(54) 发明名称

仪器清洁剂

(57) 摘要

一种用于清洁医学或牙科仪器的组合物或浓缩物,其包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇例如苯氧基乙醇的组合,该苯氧基醇选择为在上述组合的工作溶液稀释度下,苯氧基醇的浓度低于所选择的苯氧基醇针对铜绿假单胞菌(ATCC 15442)的MIC,并且其中的组合在4小时内仍然有效地将6log浓度的铜绿假单胞菌(ATCC 15442)降低至少1log浓度。该组合物或浓缩物可以还包括一种或多种水解酶,和/或硼或硼化合物。该组合物可以用于清洁受污染的医学或牙科仪器的方法中,例如用于超声浴。

1. 一种用于清洁医学仪器的组合物,其特征在于:

包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇的组合,所述苯氧基醇选择为在所述组合物的工作溶液稀释度下,所述苯氧基醇的浓度低于所述苯氧基醇针对铜绿假单胞菌(*Pseudomonads aeruginosa*)ATCC15442 的 MIC,并且其中所述的组合物在 4 小时内仍然有效地将 6log 浓度的铜绿假单胞菌 ATCC 15442 降低至少 1log 浓度。

2. 一种用于清洁医学仪器的组合物,其特征在于:

包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇,所述苯氧基醇的浓度低于其针对铜绿假单胞菌 ATCC 15442 的 MIC,其中所述组合物在 4 小时内有效地将 6log 浓度的铜绿假单胞菌 ATCC 15442 降低至少 1log 浓度。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的组合物,其特征在于:

所述组合物在 4 小时内有效地将 6log 浓度的假单胞菌降低至少 2log 浓度。

4. 一种用于清洁医学仪器的组合物,其特征在于:

包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇,所述苯氧基醇的浓度低于其针对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)ATCC 6538 的 MIC,并且其中所述组合物在 4 小时内有效地将 6log 浓度的金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 降低至少 1log 浓度。

5. 如权利要求 4 所述的组合物,其特征在于:

所述组合物在 4 小时内有效地将 6log 浓度的葡萄球菌降低至少 2log 浓度。

6. 如权利要求 1 或 2 所述的组合物,其特征在于:

所述组合物至少对金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 有效。

7. 根据权利要求 1、2 和 4 中任一项所述的组合物,其特征在于:

所述的苯氧基醇是苯氧基乙醇,其在意图以至少 100 : 1 稀释的稳定浓缩物中存在的浓度大于 10000ppm。

8. 如权利要求 7 所述的组合物,其特征在于:

苯氧基乙醇在意图以 > 100 : 1 稀释的稳定浓缩物中存在的浓度为 30000ppm 或更大。

9. 如权利要求 1、2 和 4 中任一项所述的组合物,其特征在于:

其用于超声浴。

10. 如权利要求 1、2 和 4 中任一项所述的组合物,其特征在于:

所述医学仪器是牙科仪器。

11. 一种浓缩物,其特征在于:

包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇,所述苯氧基醇的浓度为当稀释至工作浓度时,苯氧基醇的浓度低于所述苯氧基醇针对铜绿假单胞菌 ATCC 15442 的 MIC,并且其中所述浓缩物在工作浓度下在 4 小时内仍然有效地将 6log 浓度的铜绿假单胞菌 ATCC 15442 降低至少 1log。

12. 一种浓缩物,其特征在于:

包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇,所述浓缩物在稀释后提供权利要求 1 ~ 10 中任一项所述的组合物。

13. 如权利要求 11 或 12 所述的浓缩物,其特征在于:

所述苯氧基醇是苯氧基乙醇,其在浓缩物中存在的浓度超过 10000ppm。

14. 如权利要求 13 所述的浓缩物,其特征在于:

所述苯氧基醇是苯氧基乙醇,其在浓缩物中存在的浓度超过 30000ppm。

15. 如权利要求 11 或 12 所述的浓缩物,其特征在于:

所述浓缩物在使用之前以 $> 100 : 1$ 稀释。

16. 如权利要求 11 或 12 所述的浓缩物,其特征在于:

还包括一种或多种水解酶。

17. 如权利要求 11 或 12 所述的浓缩物,其特征在于:

还包括硼或硼化合物。

18. 如权利要求 11 或 12 所述的浓缩物,其特征在于:

能够将感染性朊病毒蛋白质裂解成非感染性的肽。

19. 如权利要求 11 或 12 所述的浓缩物,其特征在于:

其用于超声浴。

20. 一种清洁受污染的医学仪器的方法,其特征在于:

包括将污物曝露于权利要求 1 ~ 10 中任一项所述的组合物的步骤。

21. 一种清洁受污染的医学仪器的方法,其特征在于:

包括将污物曝露于以 $> 100 : 1$ 稀释的权利要求 11 ~ 19 中任一项所述的浓缩物的步骤。

22. 如权利要求 20 或 21 所述的方法,其特征在于:

所述医学仪器是牙科仪器。

仪器清洁剂

技术领域

[0001] 临床环境中仪器的再处理面临着许多问题。对于再使用来说,仪器必须确保清洁、无菌并且安全,没有患者和工作人员交叉感染的风险。牙科仪器在使用中尤其容易被非常难于除去的不溶性的基质(matrix)污染,从而难以使其清洁、无菌和安全。本发明提供用于清洁这样的仪器的组合物和方法。本发明主要对牙科仪器进行说明,但并不限于此,其适合于对其他的被类似顽固性污物污染的仪器进行清洁,例如,某些医学、科学仪器以及食品加工设备。

背景技术

[0002] 所遇到污物的类型包括生物类(例如唾液、蛋白质、血液、脂类、细菌)、有机类(例如聚合补剂)和无机类(例如汞合金)。而且,可能的污物和底物的组合根据与平整表面例如不锈钢手术刀的松散连接直到与碳钢的胶状物理-化学粘附而变化。更加难于去除的是粘附于复杂细节表面例如金刚石牙钻表面的生物和非生物的基质。

[0003] 污物粘附可以通过例如在转动工具的情况下由摩擦导致的热而增加,或者通过对仪器进行不适当清洁的高压消毒而增加,由此导致蛋白质的变性和固定。例如,牙钻常常以例如30000rpm的高速使用,可以达到200℃的温度,牙钻槽变得被骨/牙、血液、唾液、复合材料、汞齐填料的糊状物封死,该糊状物烤进牙钻槽中。许多健康机构(例如Decreto Legislativo 28/09/1990:Norme di protezione dal contagio professionale da HIV nelle strutture sanitarie ed assistenziali pubbliche e private. Gazzetta Ufficiale Repubblica Italiana 1990;235:78e80)要求对接触血液的仪器进行即时去污染,以作为对抗HIV的措施。这种去污染常常用含氯漂白剂、苯酚、QUATs和其他可以进一步固定仪器上的蛋白质的试剂进行。

[0004] 这种污物的类型和组合的变化性在令人满意的清洁组合物的配置中造成了严重的挑战。

[0005] 人们广泛认可不清洁的仪器不能确保无菌。出于该原因,在最终的灭菌之前(在大多数牙科诊所中,通过高压消毒),仪器再处理必须包括有效的清洁步骤。因此,为了确保无菌,清洁必须具有绝对的最佳作法。

[0006] 全世界的公共健康机构(例如Robert Koch Institute Recommendations. Hygienic Requirements for Processing of Medical Devices. Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz 2001;44:1115-1126)对仪器再处理的清洁步骤均加以严格的规定。尤其是有关于牙科临床医师规定了牙髓学工具是一次性使用的,除非使用了有效的清洁方法。这种确保有效的清洁在文献中被认为是有问题的(Smith, A., Letters, S., Lange, A., Perrett, D., McHugh, S., Bagg, J., 2005. Residual protein levels on reprocessed dental instruments. Journal of Hospital Infection, 61, 237-241; F. Tessarolo et al. Different Experimental Protocols for Decontamination Affect the Cleaning of Medical Devices. A Preliminary Electron Microscopy Analysis

Journal of Hospital Infection(2007)65,326-333)。

[0007] 迄今,清洁通常包括在浸浴或超声浴中,在水性溶液中使用清洁剂,使用或者不使用手工刷洗/擦洗(Bagg, J., Sweeney, C. P., Roy, K. M., Sharp, T., Smith, A., 2001, Cross infection Control Measures and the Treatment of Patients at Risk of Creutzfeldt Jakob Disease in UK General Dental Practice. British Dental Journal, 191(2), 87-90)。

[0008] 尽管手工刷洗和擦洗可以带来一些可靠性,但必须注意到,根据 AS4815 :2006, 擦洗器具必须是非磨蚀性的(用于清洁牙科牙钻的钢丝则明显例外)。刷洗或擦洗均不能对难于触及的表面实现彻底均匀的可再现的清洁,并且不能成为确保有效清洁的唯一因素。对超声的使用还提出了进一步的要求,即清洁组合物在超声条件下必须是有效的,尤其是对污物的再沉积方面而言。

[0009] 进一步高度期望用于清洁的清洁剂具有抑菌或杀菌特性,以便防止浸浴的微生物集落。许多可接受的生物杀灭剂通过使蛋白质变形和固定发挥作用,因此不能用于清洁组合物。

[0010] 具有生物杀灭特性的仪器清洁剂的需求非常明显,已知医务人员使用基于阳离子的清洁剂用于清洁医学仪器,而这与指南(ISO15883, AS4187)中的注意事项是相悖的(Smith, A., Bagg, J., McHugh, S., 2006. No to Chlorhexidine (Letter to Editor), British Dental Journal, 200, 31-31)。已有报道,一些英国诊所使用阳离子外科手工洗剂作为浸浴和超声浴中的清洁浓缩物(Bagg et al, 2006, supra)。

[0011] 人们广泛认可蛋白质通常是除去生物污物面临的巨大挑战。为了有效地除去蛋白质,清洁剂通常应当含有与淀粉酶和脂肪酶组合的蛋白酶,以有效地使脂蛋白和糖蛋白裂解。一个制剂中组合杀生物剂和酶蛋白质在面临难以应付的制剂上的挑战。美国专利 US6235692“Foaming Enzyme Spray Cleaning Composition and Method of Delivery(发泡酶喷雾剂组合物及递送方法)”通过使用配制成不经稀释应用的“与酶相容的”抗微生物剂而实现了这一点。

[0012] 另外,将清洁剂配制成可稀释(至少 1 : 100)的组合物,即浓缩物,是非常有利的。

[0013] 有少数目前可提供的清洁剂声称具有抑制生物特性。Endozyme AW (Ruhoff) 含有~10%的异丙醇。这种产品中的异丙醇使蛋白质变性,导致在存储过程中酶活性丧失,因此导致清洁效力的降低。

[0014] 在仪器再处理过程中工作人员的若干个职业健康和安全(Occupational Health and Safety, “OH&S”)问题有所增加。针对气溶胶形成以及工作人员曝露于清洁剂的标准警告事项(AS4815 :2006)建议,仪器的手工擦洗最好加以最少化或消除。本发明的发明人已经观察到,钢丝-刷洗和擦洗可以从清洁点起散布远至 10 米的微滴。

[0015] 超声浴和浸浴应当定时清空并用新鲜的清洁溶液重注。尽管标准因地区而异(Aus、US、UK NHS),没有地方规定牙科每一批次被处理的受污染仪器均使用新鲜的清洁溶液。溶液可以对于许多批次的仪器重复使用,在苏格兰重复使用 4 个小时,在澳大利亚重复使用 1 天(NHS, Scotland, 2003, AS4815 :2006)。在最糟糕的情况下,有报道诊所在更换超声浴溶液之间的间隔超过 5 天(Bagg et al, 2006, supra)。本发明的发明人观察到,在 8 个

小时的牙科诊所工作日末,超声浴中的细菌水平为 $10E+7-10E+10$ cfu/ml。考虑到浸浴条件与孵育细菌所采用的条件密切相似——暗处、水性、含有丰富的营养、温度在 $35-40^{\circ}\text{C}$ 的大致范围内,发现这样高的细菌数并不令人惊奇。

[0016] 目前对重注之间对浸浴槽进行灭菌 / 卫生消毒没有要求。因此,大量的细菌可以从之前的使用周期继续传播。建有装有难于清洗的排水管的排水出口的超声浴槽使这一点更加恶化。更糟糕的是,当护士或技师被迫清空更大的超声浴槽时,存在着很高的溢出以及人体与内容物意外接触的风险。

[0017] 澳大利亚、美国和英国标准推荐以清洁可见受污染的浸浴槽并且在清洁之前应当从仪器上除去粗的污染物作为判断标准。污染水平可能很容易被低估,即时是在最好的情况下,肉眼看不到的致病生物及其群落将会交叉感染浸浴槽及其中的其它仪器,并比最初加倍增加了随后的患者以及工作人员的感染危险。

[0018] 尽管不要求清洁产品对仪器进行灭菌,有效的抗菌或抑菌特性可以限制仪器交叉感染以及人员感染的风险,并且有助于牙科办公室中清洁区域的常规卫生。

[0019] 另一个要考虑的问题是 vCJD 可能经由可重复使用的医学仪器传播。在牙科文献中,由于与三叉神经末梢亲密接触,这种风险与牙根管治疗过程中使用牙髓锉有关 (Smith, A., Dickson, M., Aitken, J., Bagg, J., 2002, Contaminated dental instruments. *Journal of Hospital Infection*, 51, 233-235)。人们广泛认可高压消毒周期不能可靠地使朊病毒蛋白变性或失活 (Taylor, D.M., 1999, Inactivation of prions by physical and chemical means. *Journal of Hospital Infection*, 43 (Supp), S69-S76)。因此,人们极为需要可以在清洁周期中使朊病毒感染失活的仪器清洁制剂。

[0020] 人们公认对仪器的有效清洁被认为是减少 vCJD 继续传播的风险的关键步骤 (Bagg, 2006, supra)。Parashos 提到“目前对于朊病毒疾病风险的考虑认为,应当考虑将牙髓学仪器作为一次性使用”。

[0021] 总之,牙科仪器非常昂贵,不适合作为一次性的,但迄今并没有令人满意的对其进行清洁的方法。目前,对牙科仪器进行刷洗、在超声浴中预清洗、蒸汽灭菌并再使用。但是,在大多数情况下,牙钻和一些其他的复杂牙科仪器即使在最佳的实际清洗之后也可能保留污物,并且是潜在的朊病毒 (蒸汽灭菌不会使其失活) 载体。类似的问题在若干外科仪器中也存在,特别是那些不能被加热灭菌的仪器,或者是其中可能在生物膜基质内容纳有抗灭菌的朊病毒的仪器,上述的朊病毒在使用超声或不使用超声的情况下,均不能通过酸、碱或酶处理去除。人们还广泛认可目前长周期使用超声浴槽和浸浴槽中的清洁溶液的作法表现出交叉感染和普通 OH&S 危险两个方面的危险。

[0022] 说明书全文中任何对现有技术的讨论绝不应当视作是认可这些现有技术广为人知或者形成本领域公知常识的一部分。

发明内容

[0023] 本发明的目的在于克服或改善现有技术中的至少一项缺点,或者提供有用的替代方案。

[0024] 更具体而言,本发明的目的在于提供用于清洁牙科和医学仪器的改善的组合物及方法,特别是清洁被基质 (matrices) 污染的仪器的改善的组合物及方法。

[0025] 除非在上下文中明确指出,说明书和权利要求书全文中的措辞“包括”、“包含”等均应当理解成包括的含义,而不是排他或穷举的含义;也就是说,是“包括、但不限于”的含义。

[0026] 根据第一个方面,本发明提供一种用于清洁医学或牙科仪器的组合物,其包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇的组合,所述苯氧基醇选择成在组合物的适当工作溶液稀释下,苯氧基醇的浓度低于所选择苯氧基醇的 MIC,并且其中所述组合在 4 小时内仍然有效地将 6log 浓度的铜绿假单胞菌 (*Pseudomonads aeruginosa*, ATCC 15442) 至少降低到 5log 浓度。

[0027] 根据第一个方面,本发明提供一种用于清洁医学或牙科仪器的组合物,其包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇,所述苯氧基醇的浓度低于其针对铜绿假单胞菌 (ATCC 15442) 的 MIC,并且所述组合物在 4 小时内有效地将 6log 浓度的铜绿假单胞菌 (ATCC 15442) 至少降低 1log 浓度。

[0028] 另外,根据第一个方面,本发明提供一种用于清洁医学或牙科仪器的组合物,其包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇,所述苯氧基醇的浓度低于其针对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, ATCC6538) 的 MIC,并且所述组合物在 4 小时内有效地将 6log 浓度的金黄色葡萄球菌 (ATCC 6538) 至少降低 1log 浓度。

[0029] 在优选的实施方式中,所述组合在 4 小时内有效地将 6log 浓度的假单胞菌降低到低于 4log 浓度,并且至少针对金黄色葡萄球菌 (ATCC6538) 同样有效,即,在优选的实施方式中,所述组合在 4 小时内有效地将 6log 浓度的葡萄球菌至少降低 2log 浓度

[0030] 在优选的实施方式中,所选择的苯氧基醇是苯氧基乙醇,并且在意图以至少 100 : 1 稀释的稳定浓缩物中,其存在的浓度大于 10000ppm,优选大于 30000ppm。

[0031] 迄今,苯氧基乙醇已经作为杀真菌剂或生物杀灭剂使用。因此,其已经以 15000ppm 的浓度使用,该浓度略微超过其对抗性金黄色细菌葡萄球菌 (ATCC 6538) 的最小抑制浓度 (“MIC”)10000ppm。MIC 在微生物学中定义为“抗微生物剂在过夜孵育后抑制微生物可见生长的最低浓度”。当低于 MIC 而存在时,苯氧基醇将不会防止微生物的繁殖。人们通常认为,苯氧基乙醇的 MIC 范围从针对黑曲霉 (*Aspergillusniger*, ATCC 16404) 的 2500ppm 直到针对金黄色葡萄球菌的 10000ppm (Phenoxetol A Universal Solution. Clariant)。

[0032] 根据本发明的第二个方面,本发明提供一种根据第一个方面的组合物,其包括浓缩物,所述浓缩物包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇,所述苯氧基醇的浓度为当稀释至工作浓度时,苯氧基醇的浓度低于所选择苯氧基醇的 MIC,并且其中的组合在工作浓度下在 4 小时内仍然有效地将 6log 浓度的铜绿假单胞菌 (ATCC 15442) 至少降低 1log。

[0033] 根据本发明的第二个方面,本发明还提供一种包括蛋白酶和对抑制生物有效的苯氧基醇的浓缩物,该浓缩物在稀释时提供根据第一个方面的组合物。

[0034] 在本发明根据第二个方面的优选实施方式中,苯氧基醇是苯氧基乙醇,其在浓缩物中存在的浓度超过 10000ppm,更优选超过 30000ppm。浓缩物意图在使用之前以 100 : 1 稀释。当稀释时,浓缩物不但能够将超声浴中的仪器清洁至现有清洁剂在相同条件下所无法实现的标准,而且还能够降低浴中微生物的浓度。本发明并不限于用于超声浴中,当用作以其他方式应用的浸泡或清洗溶液时,组合物同样有效。

[0035] 根据第三个方面,本发明提供一种根据第一个方面的组合物,其还包括一种或多

种水解酶。

[0036] 根据酶的 EC 数量分类法,水解酶被分类为 EC 3。基于水解酶发生作用的键,其可以进一步分成若干个小类:

[0037] • EC 3.1 :酯键 (酯酶 :核酸酶、磷酸二酯酶、脂肪酶、磷酸酶)

[0038] • EC 3.2 :糖 (糖酶 /DNA 糖酶、葡糖苷水解酶)

[0039] • EC 3.3 :醚键

[0040] • EC 3.4 :肽键 (蛋白酶 / 肽酶)

[0041] • EC 3.5 :肽键以外的碳 - 氮键

[0042] • EC 3.6 :酸酐 (酸酐水解酶,包括解旋酶和 GTP 酶)

[0043] • EC 3.7 :碳 - 碳键

[0044] • EC 3.8 :卤键

[0045] • EC 3.9 :磷 - 氮键

[0046] • EC 3.10 :硫 - 氮键

[0047] • EC 3.11 :碳 - 磷键

[0048] • EC 3.12 :硫 - 硫键

[0049] • EC 3.13 :碳 - 硫键

[0050] 根据第四个方面,本发明提供一种根据前述方面中任一个的组合物,其还包括硼或硼化合物。

[0051] 根据第五个方面,本发明提供一种根据前述方面中任一个的组合物,其能够将感染性朊病毒蛋白质裂解成非感染性的肽。

[0052] 要理解到,尽管本发明在此主要使用苯氧基乙醇作为苯氧基醇进行说明,但其他的苯氧基醇,例如苯氧基甲醇、丙醇或更长链的取代醇均可以使用。可以使用苯氧基二醇。苯氧基基团可以具有其他取代基。本领域技术人员能够基于本文的教导通过简单的实验来确定合适的苯氧基醇。

[0053] 根据第六个方面,本发明提供一种对受污染的医学或牙科仪器进行清洁的方法,其包括将污物曝露于根据前述方面中任一个的溶液的步骤。

附图说明

[0054] 图 1 显示本发明的稀释组合物在降低铜绿假单胞菌 (ATCC15442) 的细菌数浓度方面随时间变化的效果,并与稀释的市场主导酶清洁剂产品比较。

[0055] 图 2 显示本发明的稀释组合物在降低金黄色葡萄球菌 (ATCC6568) 的细菌数浓度方面随时间变化的效果,并与稀释的市场主导酶清洁剂产品比较。

[0056] 图 3 显示本发明的稀释组合物在降低变形链球菌 (*Streptococcus mutans*) 的细菌数浓度方面随时间变化的效果,并与稀释的市场主导酶清洁剂产品比较。

[0057] 图 4 是用 1 : 100 稀释的 Empower 处理后的牙钻的照片,在仪器表面上有清晰可见的碎片 (debris)。

[0058] 图 5 是显示以与 Empower 相同的稀释比例使用的制剂 B 完全除去所有的可见污物的照片。

[0059] 图 6 显示参照表 1 进行的清洁效力测试的结果。

[0060] 图7是曝露于制剂2之后PrP-res朊病毒蛋白(M1000株)的蛋白质印迹(Western Blot)。PrP-res信号的强度被所有测试的稀释液降低。

具体实施方式

[0061] 现在仅参考具体实施例,通过实施例的方式对本发明进行更具体的说明。

[0062] 如上所述,澳大利亚和英国的标准分别推荐以每天或每半天的间隔更换超声清洗溶液。基于使用后的超声清洁溶液是不可避免并且被证实的(Miller et al,1993),进行挑战测试,以便将根据本发明的组合物的抗微生物效力与迄今用于清洁牙科仪器的市场主导组合物进行比较。挑战涉及三种常见的菌株,以及有机和无机的负荷。

[0063] 材料和方法

[0064] 根据本发明的制剂A

[0065]

	Wt/Wt%
Teric 168(低发泡性嵌段共聚物非离子表面活性剂)	7.0
Borax	0.8
丙二醇	9.2
苯氧基乙醇	8.6
枯草杆菌蛋白酶 Savinase 16L	7.3
淀粉酶 Termamyl 300L	1.3
香料	0.3
染料	0.02
水	至 100
pH = 8.5	

[0066] 根据本发明的制剂B举例说明牙科技师使用的制剂:

[0067]

	Wt/Wt%
十二烷基苯磺酸钠盐	11.5
硼砂	0.8
丙二醇	4.2

苯氧基乙醇	7.3
枯草杆菌蛋白酶 Savinase 16L	7.3
脂肪酶 Lipolase 100L	0.1
纤维素酶 Carezyme 4500L	0.08
淀粉酶 Termamyl 300L	1.3
香料	0.1
染料	0.0048
水	至 100
pH = 8.5	

[0068] 将实施例 A 和 B 与四种牙科仪器清洁领域中的市场主导产品比较。它们是 EmPower™(Kerr);Endozime™ AW Plus(Ruhof);Biosonic™(Coltene) and Cidezyme™(Johnson&Johnson)。

[0069] 将清洁剂(表 1)在 100ppm AOAC 硬水中以 1 : 100 稀释。加入有机负荷,该有机负荷含有 10mL 5% w/w 酵母提取物(根据澳大利亚 TG054 方法制备)、5% w/w 去纤维蛋白的马血(Oxoid)以及由马血、蛋黄、粘蛋白和白蛋白的混合物(等份的各个制剂以 0.1mL 各自的细菌接种剂接种(大约 10^8 CFU/mL)(表 2))。

[0070] 样品以 $40 \pm 1^\circ\text{C}$ 孵育 24 小时。对于每次的前 8 个小时,包括有 10 分钟超声。在 1、4、8 和 24 小时的时间点提取 1mL 样品,并加入至 9mL 具有中和剂(5% w/w Tween 80(Sigma)、3% w/w 卵磷脂(Sigma)、0.1% w/w L-组氨酸(Sigma)和 0.5% w/w 硫代磷酸钠(Sigma))的胰蛋白胨大豆肉汤中。将中和后的样品涡旋振动,顺次用盐水溶液稀释,并在胰蛋白胨大豆琼脂(Oxoid)上进行定量。板以 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 孵育 48 小时。

[0071] 表 1

[0072]

No.	名称	制造商	批次 #	失效日期
1	根据本发明的测试制剂 A			
2	根据本发明的测试制剂 B			
3	EmPower	Kerr	2106510	11/2007
4	Endozime AW Plus	Ruhof		2008
5	Biosonic	Coltene	6326	10/2008

6	Cidezyme	J&J	71076	04/2008
---	----------	-----	-------	---------

[0073] 表 2

[0074]

细菌	ATCC
铜绿假单胞菌	15442
金黄色葡萄球菌	6538
变形链球菌	

[0075] 上述细菌识别被挑战的植物性革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌。它们是相对难于杀死的抗性微生物。

[0076] 结果

[0077] 结果分别表示于表 3a、3b、3c 和附图 1、2、3 中。

[0078] 表 3a. 曝露于稀释的酶清洁剂之后铜绿假单胞菌 ATCC15442 的细菌数变化

组合物	经过一段时间后的浓度 CFU/ml				
	0 小时	1 小时	4 小时	6 小时	24 小时
制剂 A	2.94E+06	3.00E+05	7.30E+04	2.00E+03	5.62E+02
制剂 B	2.94E+06	7.60E+05	1.50E+03	4.00E+02	2.30E+02
EmPower	2.94E+06	1.17E+07	1.83E+08	8.20E+07	1.70E+09
Endozime AW Plus	2.94E+06	8.40E+06	5.80E+07	5.22E+07	6.00E+09
Biosonic	2.94E+06	6.80E+06	1.13E+08	5.00E+07	5.10E+09
Cidezyme	2.94E+06	4.60E+06	1.06E+07	1.35E+07	1.44E+09
对照 1 仅蛋白酶	2.94E+06	3.69E+08	2.06E+09	3.80E+09	1.46E+11
对照 2 苯氧基乙醇	2.94E+06	4.11E+07	1.55E+08	8.34E+09	9.03E+10

[0080] 表 3b. 曝露于稀释的酶清洁剂之后金黄色葡萄球菌 (ATCC 6538) 的细菌数变化

组合物	经过一段时间后的浓度 CFU/ml				
	0 小时	1 小时	4 小时	6 小时	24 小时
制剂 A	4.21E+07	9.01E+05	6.23E+02	2.10E+00	1.25E+00
制剂 B	4.21E+07	3.26E+05	9.17E+01	1.00E+00	1.00E+00
EmPower	4.21E+07	1.12E+07	8.86E+04	1.10E+04	6.77E+03
Endozime AW Plus	4.21E+07	2.95E+07	2.03E+07	4.16E+06	2.96E+06
Biosonic	4.21E+07	3.01E+06	1.30E+08	1.05E+08	2.82E+08
Cidezyme	4.21E+07	4.74E+05	2.39E+05	4.06E+04	5.89E+02
蛋白酶 Savinase	4.21E+07	1.58E+08	1.26E+08	2.00E+08	7.94E+07
苯氧基乙醇	4.21E+07	3.50E+08	6.04E+07	4.98E+05	6.00E+06

[0082] 表 3c. 曝露于稀释的酶清洁剂之后变形链球菌的细菌数变化

组合物	经过一段时间后的浓度 CFU/ml				
	0 小时	1 小时	4 小时	6 小时	24 小时
制剂 A	1.40E+07	1.80E+06	5.50E+03	3.20E+03	1.00E+00
制剂 B	1.40E+07	7.90E+06	8.00E+04	3.59E+03	9.00E+01
EmPower	1.40E+07	1.05E+07	9.90E+06	7.60E+06	6.80E+03
Endozyme AW	1.40E+07	2.89E+06	1.06E+05	3.46E+04	1.00E+00
Biosonic	1.40E+07	1.00E+00	1.00E+00	1.00E+00	1.00E+00
Cidezyme	1.40E+07	1.00E+07	1.13E+07	1.00E+07	8.63E+06
对照 1 蛋白酶 Savinase	1.40E+07	3.65E+07	2.00E+06	1.60E+06	1.16E+06
对照 2 苯氧基乙醇	1.40E+07	5.10E+07	9.00E+06	7.30E+06	1.30E+07

[0083] 如图 1 所示,在铜绿假单胞菌(ATCC 15442)的情况下,初始浓度为 6log。在第一个小时末,组合物 3-6 微生物浓度增加。之后,微生物浓度持续增加 4 小时,并且在 24 小时后变得更大。与此相反,根据本发明的制剂 A 和 B 显示,在 4 小时内微生物浓度降低 2log,并且在 24 小时的测试中始终持续降低。由于样品 A 和 B 中的苯氧基乙醇浓度显著低于 MIC,这是非常令人意外的。单独的蛋白酶或苯氧基乙醇在这些浓度下均不能实现降低。尽管不太显著,其他被挑战的微生物的结果也与之类似。根据本发明的组合物 A 和 B 是仅有的在每种情况下均在 4 小时内使微生物降低 1log 的组合物。Cidezyme 和 Empower 对于金黄色葡萄球菌在 4 小时后实现了一定程度的降低,但其低于 1log,并且远非本发明的组合物实现的降低那样显著。

[0085] 本发明的组合物是仅有的在每种情况下均能使微生物数随时间降低并且在挑战物种上表现出最广的活性谱的组合物。假单胞菌是在用于稀释清洁剂的饮用水中普遍存在并且最具抗性的革兰氏阴性细菌。由于该项研究中使用的金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌分别是最具抗性的革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌,因此它们常规用于挑战医院的消毒剂(AOAC 测试法)。

[0086] 超声浴通常是封闭操作的。加盖的超声清洁浴的条件对于细菌生长是非常理想的——暗处、~40°C 环境,具有从受污染的仪器上清洁下来的充分的营养素。大部分所测试的产品没有抑制细菌的生长,细菌数达到了 $\log 10$ - $\log 11$ cfu/ml 的水平。

[0087] 应当注意到,在许多诊所中,在超声浴中预浸泡之后进行仪器的刷洗。在该过程中散布的受污染的气溶胶和微滴产生严重的 OHS/ 感染风险。

[0088] 在一些办公室设置中仪器再处理区域不具有界定的清洁区和污染区,因此这些微滴甚至可能污染无菌仪器的存储堆。

[0089] 清洁效力

[0090] 初始筛选测试 - 主导产品的清洁效力

[0091] 不借助超声能,使用标准化污物测试筛选用于清洁效力的测试产品。Browne STF “负荷校验”测试条 (Albert Browne Ltd., UK) 被公认为用于医院洗涤剂的可重复、严格的验证测试。它们包括两种蛋白质、一种碳水化合物和一种磷脂的代用污物。

[0092] 材料和方法

[0093] 以 $40 \pm 1^\circ\text{C}$ 在 100ppm 合成 AOAC 硬水中以 1 : 100 稀释六种仪器清洗剂 (表 1)。将 100mL 各种稀释的产品溶液分配在各自的 120mL 玻璃烧杯中。通过将每一测试条裁成两半而制备 Browne STF 负荷校验指示器,产生两个匹配的 Browne STF 方块。在每个烧杯中

放置一个方块,使方块靠着烧杯壁向上直立。倒计时计时计在 10 分钟开始。

[0094] 10 分钟后,从烧杯中取出 Browne STF 方块,通过将其以最小的搅动在清洁水中浸泡而小心地漂洗,将其置于干燥的白色纸巾上进行干燥和照相。

[0095] 清洁产品的有效性测量为除去的红色代用污物的比例的函数。

[0096] 结果

[0097] 仅有制剂 A 和 B 表现出从测试条上完全除去污物的能力。Cidezyme (Johnson & Johnson) 和 EmPower (Kerr) 也显示出一定的效果,但很明显,在七种测试产品中,只有制剂 B 能够通过其配方的有效性而对困难的代用医学污物进行清除的挑战。六种其他产品的变化的性能则表现出对机械清洁力(例如手工或超声“擦洗”)的依赖。Biosonic 显示出的清洁效力比单独的水更差。

[0098] 最糟糕的情况下污物的比较。EmPower 和制剂 B

[0099] 已经确定制剂 B 通过了初始的清洁效力筛选测试,并判定 EmPower 是“次最佳”,设计一种最糟糕情况的情景——特别是对于牙科环境来说。

[0100] 就代表非常困难的牙科对于清洁的挑战而言,“最糟糕情况”的情景需要考虑到底物和应用的污物双方。同时,挑战需要是真实的,并且产生的方案要考虑到仅要求可见的清洁度,以实现可靠的灭菌或消毒。

[0101] 在广泛咨询牙科技师并分析文献之后,选择金刚石牙钻作为最糟糕的情况下仪器表面的代表。圆头碳化钨和碳钢牙钻已经被广泛用作人工污物的测试底物,但是由于它们呈现没有小的闭合和裂缝的较为简单的切割表面,它们被证实按照标准程序较容易清洁。

[0102] 牙髓锉类似地报道为难于清洁。但是,锉的形状和不锈钢(亲水表面)的使用表现出小于金刚石牙钻的在清洁处理上的挑战。

[0103] 由于金刚石牙钻以金刚石粉末的精细物质填充,其精细表面是完全无规的,呈现出对污物去除最富挑战性的表面。结合在使用中摩擦生热,化学粘附变性蛋白质性物质的可能非常高。

[0104] 测试污物受到许多医学洗涤剂消毒剂的欧洲标准测试污物的影响 (prEN ISO 15883-1 :2002)。它包括多种蛋白质源(血白蛋白、蛋黄)、粘膜碳水化合物(粘蛋白)和脂类。将其调节成低粘度,使其能够渗透进表面的刻面和裂缝,并烤到底物上,使蛋白质变性并增加粘附。

[0105] 材料和方法

[0106] 蛋黄 10% w/w

[0107] 1%白蛋白 10% w/w

[0108] 1%粘蛋白 10% w/w

[0109] 合成肉汤 68% w/w

[0110] 溶剂蓝 #36 2% w/w

[0111] 将污物粘度调节至大约 600mPa. s,以保证污物渗透进牙钻裂缝中。

[0112] 如表 4 所示,以不同的稀释比例在超声浴中对制剂 B 和 Empower 针对金刚石和碳钢牙钻进行测试。对照物在 40℃ 饮用水中进行超声。

[0113] 结果

[0114] 每次处理后对牙钻的清洁度以 0 至 10 的等级进行定性检验,10 表示完全可见除去

污物,0 表示察觉不到去除。括号内表示重复处理的次数。

[0115] 表 4

[0116]

处理	制剂 B	Empower	水
以 1 : 50 超声碳钢牙钻 5 分钟	10(6)	9(6)	6(3)
以 1 : 50 超声金刚石牙钻 5 分钟	10(6)	7(6)	5(3)
以 1 : 100 超声碳钢牙钻 5 分钟	10(3)	7(3)	5(3)
以 1 : 100 超声金刚石牙钻 5 分钟	10(5)	8(4)	5(3)

[0117] 讨论

[0118] 已经在清洁效力方面证明了“基于配方”的制剂 B 的优越性,其与其最接近的竞争者(综合抗微生物测试和清洁测试)Empower 进行比较。当进行针对非常难以清除的污物测试时,借助于超声,制剂 B 在推荐的使用稀释度下没有留下可见的污物。Empower 显然好于单独的水和超声,但在所有情况下均留有可见的污物。

[0119] 由于其复杂的表面轮廓,很容易在金刚石钻上沉积挑战量的人工污物。与此相反,即时使用苛刻的干燥-焙烧模式,也不可能在牙髓锉、根管扩大针和倒刺针上沉积有显著量的污物——在这些条件下,在以 1 : 100 稀释的制剂 B 中超声 2 分钟之后仪器是可见清洁的。

[0120] 尽管在上文讨论的组合中蛋白酶和苯氧基乙醇以相等的比例存在,但比例也可以变化很大。以 2 : 1 至 1 : 2 的酶与苯氧基乙醇的比例,也能得到类似的结果。优选的制剂含有酶的混合物,例如淀粉酶、脂肪酶并可能有纤维素酶,而不是仅仅含有一种蛋白酶。优选地,包括易与水混溶的溶剂的组合作为洗涤剂。可以任选地加入香料和染料。本领域技术人员将会认识到,在不偏离本文公开的本发明构思的情况下,这些添加物的相对量也可以在很宽范围内变化,并且将会知晓可以使用的取代基。

[0121] 本发明的感染性朊病毒蛋白质裂解效力使用以下文献中描述的方法学测试: Victoria A. Lawson, James D. Stewart 和 Colin L. Masters, Enzymatic detergent treatment protocol that reduces protease-resistant prion protein load and infectivity from surgical-steel monofilaments contaminated with a human-derived prion strain *J Gen Virol* 88(2007), 2905-2914。

[0122] 在 50°C,在 98 微升 1 : 100 稀释的制剂 B 中加入 1 微克有患病动物获取的 10% 大脑匀浆。图 7 总结了实验结果。即使是在这种不利的酶洗涤剂与朊病毒蛋白质的比例(100 : 1)下,朊病毒蛋白质的浓度也降低了至少 2.5log。由于酶洗涤剂与染病毒蛋白质的试剂比例至少为 10000 : 1,可以预料,当在推荐的稀释比例和温度下使用制剂 B 处理仪器时,感染性朊病毒蛋白质的裂解率成比例地增加,并且能完全除去朊病毒感染力。

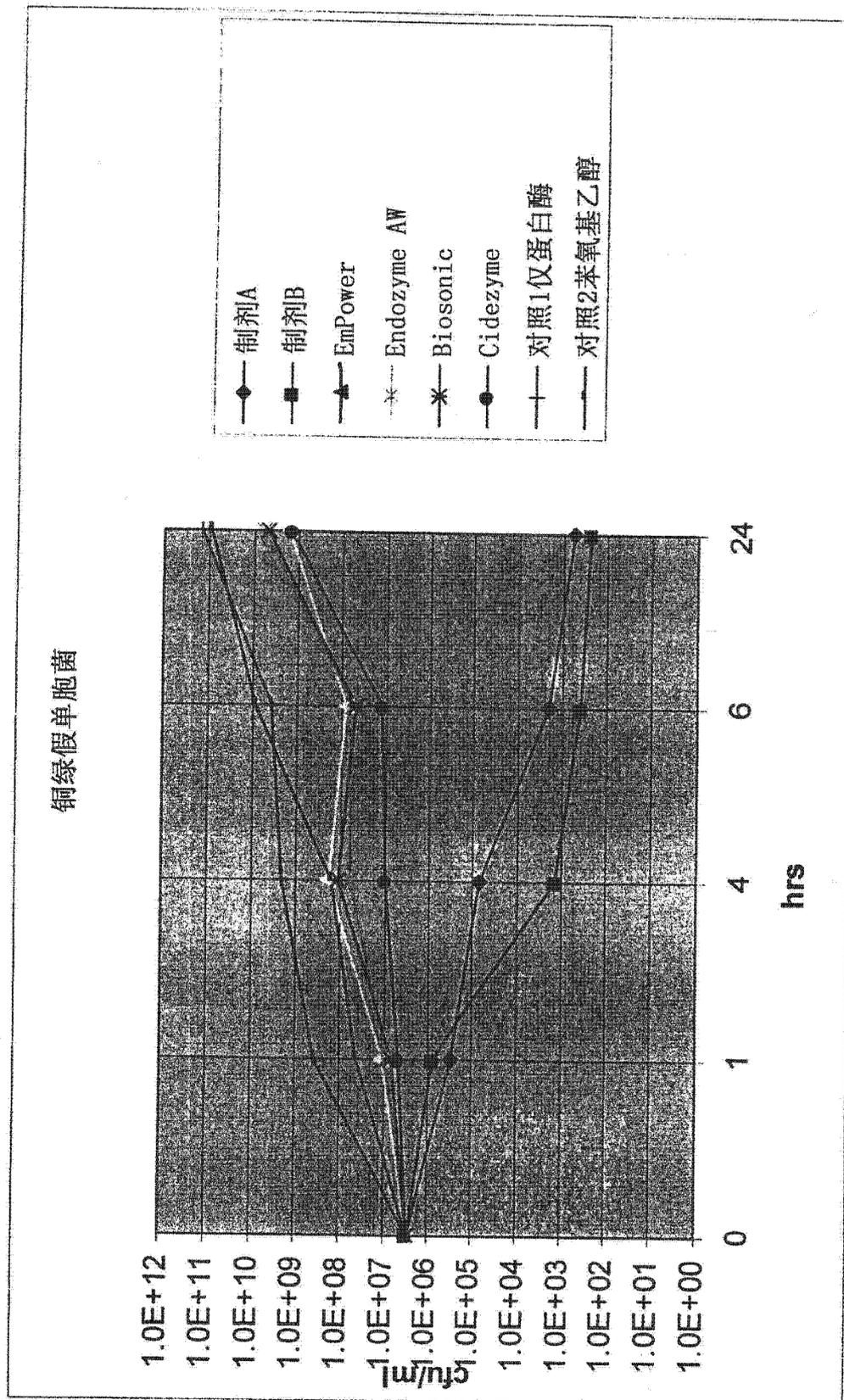


图 1

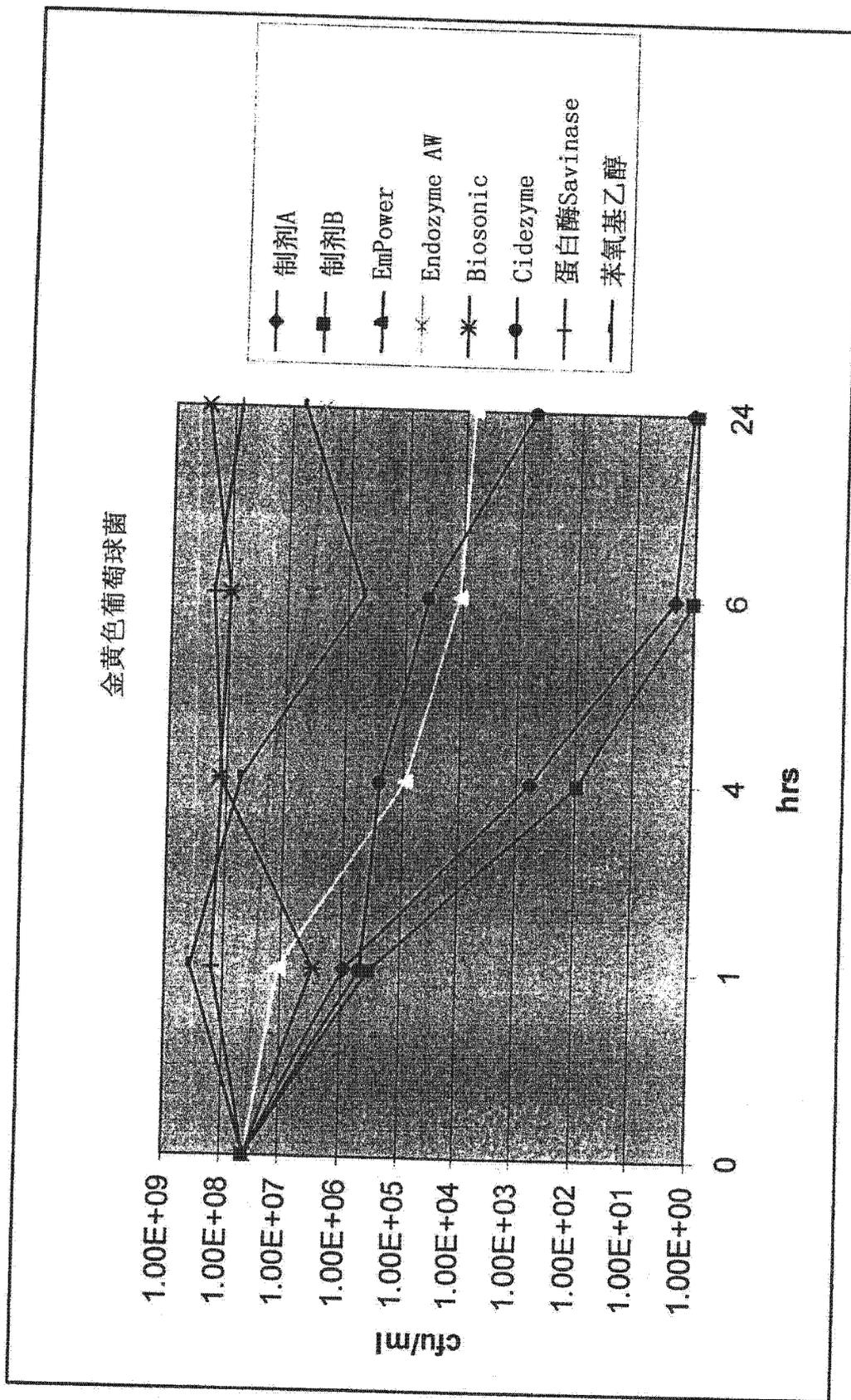


图 2

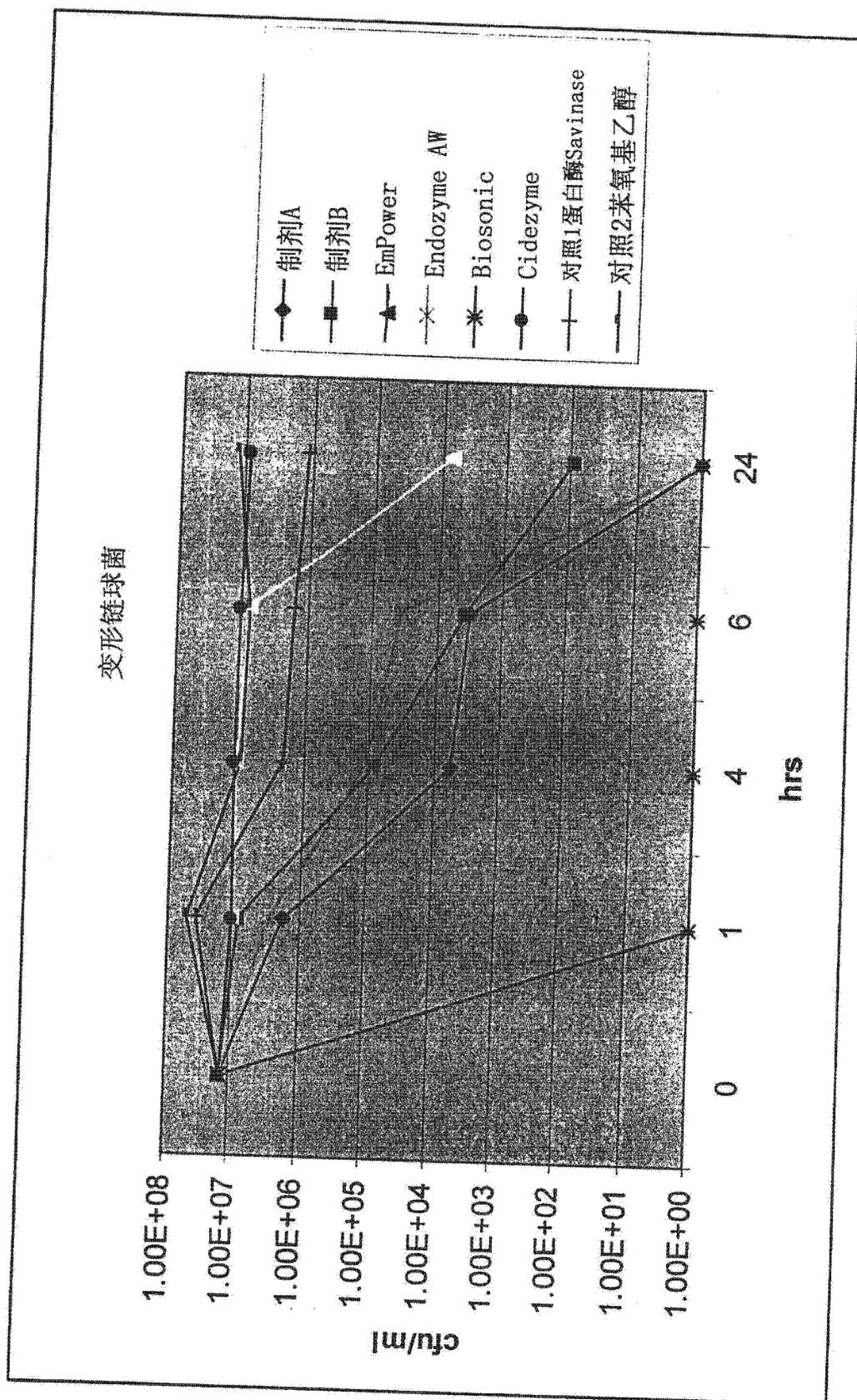


图 3

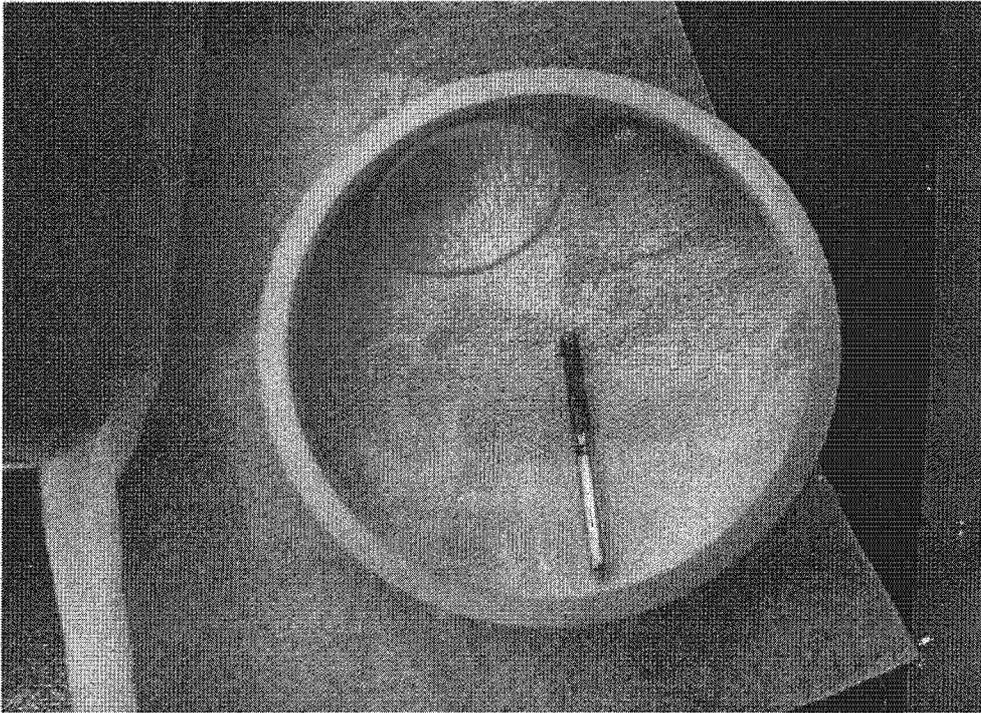


图 4

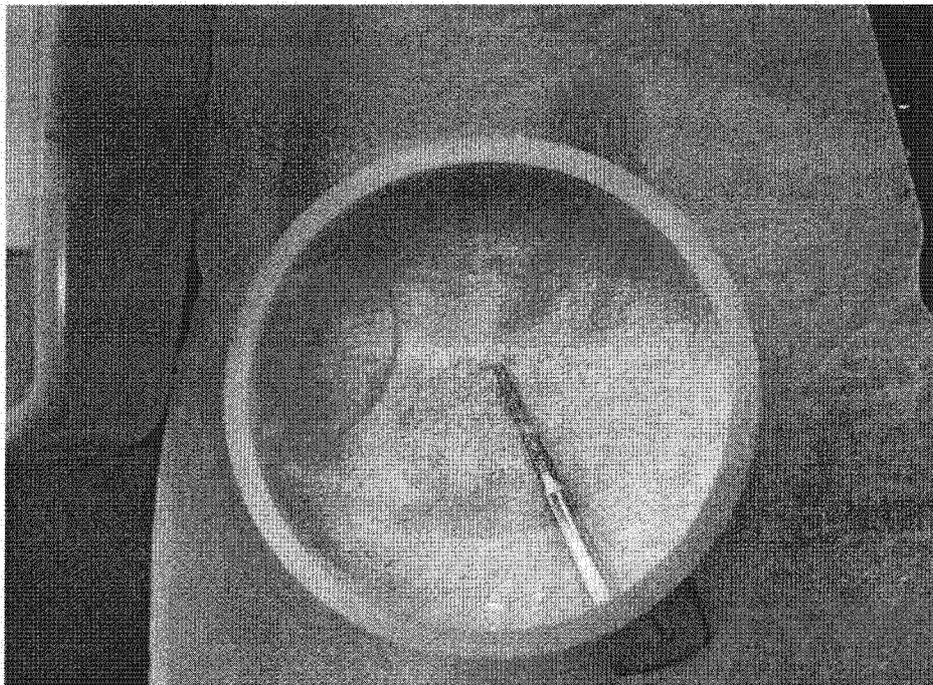


图 5

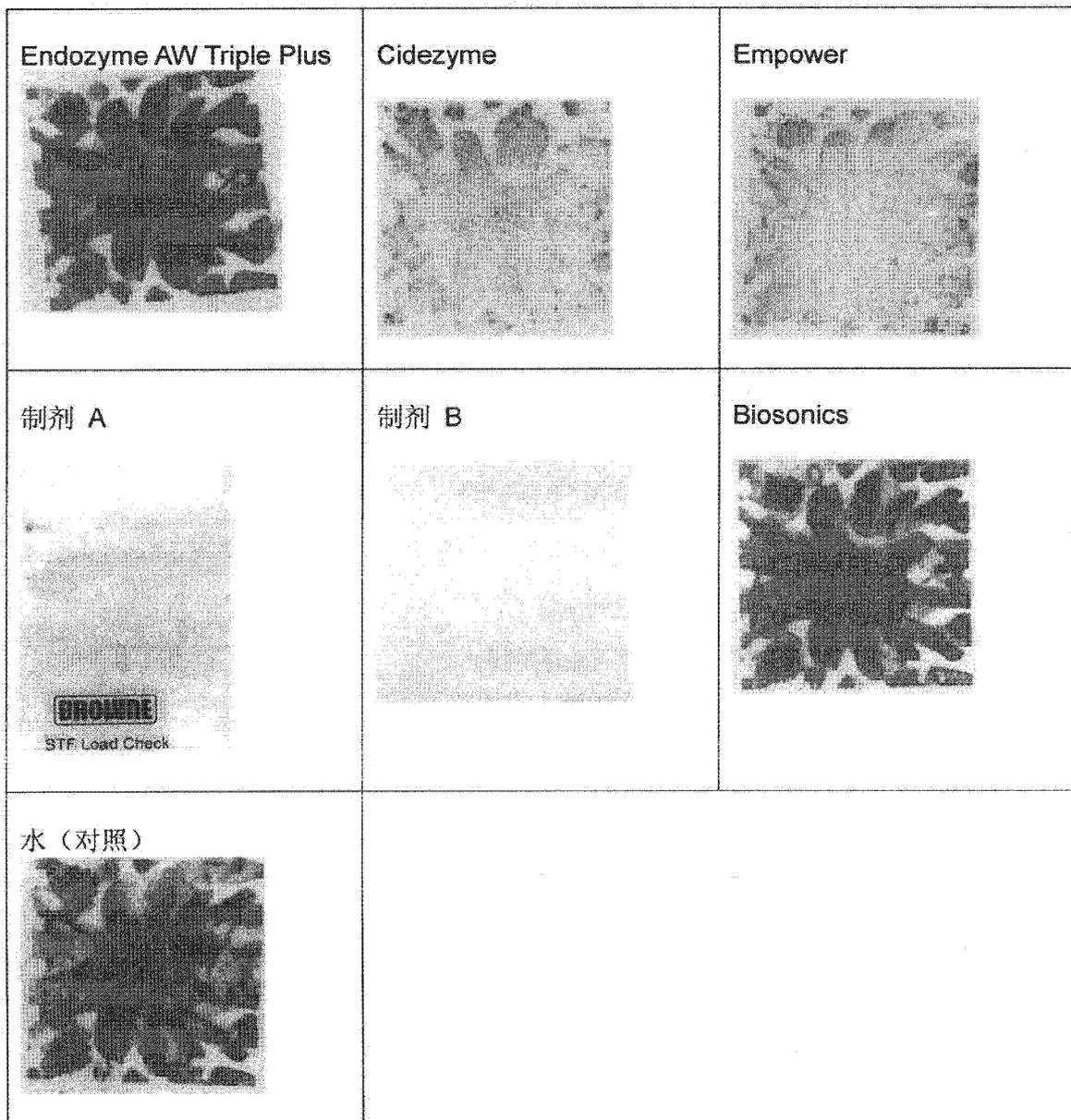
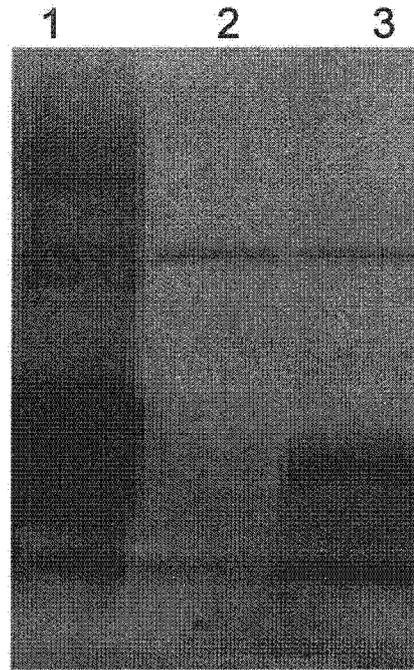


图 6



曝露之后 PrP-res 感染性朊病毒蛋白 (M1000 株) 的蛋白质印迹

第一列：水（对照）

第二列：以 1:200 稀释的制剂 2，50°C，曝露 30 分钟

第三列：100μg/ml 蛋白酶 K，50°C（参照说明）

图 7