

21.5.2011

1 (7)

Entsyymit, proteolyttiset

HTP-ARVON PERUSTELUMUISTIO

Yksilöinti ja ominaisuudet

CAS No:	9068-59-1
EINECS No:	232-966-6
EEC No:	647-013-00-3
Synonyymit:	subtilisiinit proteaaasit proteinaasit
Tiheys:	-
Sulamispiste:	-
Kiehumispiste:	-

Proteolyttisiä entsyymeitä ovat mm. subtilisiinit, joita saadaan *Bacillus subtilis*- bakteerista tai sen sukuisista organismeista. Niiden molekyylipaino on noin 28 000 ja ne sisältävät noin 275 aminohappoa. Muita proteolyttisiä entsyymejä ovat esimerkiksi kymotrypsiini, trypsiini, pepsini, papaiini, pektinaasi ja bromelaiini. Osa niistä saadaan tuotettua kasvi- ja osa eläinkunnasta.

Proteolyttiset entsyymit ovat yleensä kiinteitä valkoisia tai kellertäviä jauheita, jotka liukenevat vaihtelevasti veteen.

Varoitusmerkit:	Xn
R-lauseet:	36/37/38-42

Esiintyminen ja käyttö

Proteolyyttisiä entsyymejä on käytetty mm. alkoholin valmistuksessa, rehuteollisuudessa, leipomoissa, oluenpanossa, pesuaineteollisuudessa ja nahkateollisuudessa.

Suomalaisessa pesuainetehtaassa proteaasin työilmapitoisuudet olivat yleensä alle 20 ng/m³, mutta ajoittain todettiin pakkausalueella ja kunnossapidossa huippupitoisuuksia 80 ng/m³ ja yli 1000 ng/m³ sekoitusosastolla (Vanhanen työtovereineen, 2000).

Rehuteollisuudessa proteaasin mediaanipitoisuudet olivat neljässä tehtaassa hengitysvyöhykkeeltä mitattuna 25- 170 ng/m³ (Vanhanen työtovereineen, 2001).

Aineenvaihdunta

Proteolyyttisille entsyymeille altistutaan työssä pääasiassa hengitysteitse.

Perinteisesti on ajateltu, ettei ihmisen suolistoepiteeli läpäise proteiineja. Kuitenkin proteolyyttisistä entsyymeistä bromelaiinia suun kautta annettuna tiedetään imeytyvän suolistosta muuttumattomana noin 40 %. Sen puoliintumisaika veressä on 6-9 tuntia ihmisellä.

Terveysvaikutukset

Ihmisiä koskevat tiedot

Proteolyyttiset entsyymit ärsyttävät ihoa, silmiä ja hengitysteitä.

Proteolyyttiset entsyymit ovat pesuaineteollisuudessa aiheuttaneet astmaa (Flindt, 1969; Pepys työtovereineen, 1969; Stubb, 1972). Laboratorionhoitajilla on havaittu astman lisäksi allergista nuhaa ja sidekalvontulehdusta sekä nokkosrokkoa jauhemaisen proteaasin käsittelystä (Kempf työtovereineen, 1999). Myös entsyymien suomalaisella tuotantolaitoksella on kuvattu proteaasin aiheuttama nokkosrokko ja allerginen nuha sekä sidekalvontulehdus (Kanerva ja Vanhanen, 2001).

Myös viivästyneestä astmaattisesta reaktiosta 41-vuotiaalla kirurgisen osaston työntekijällä on raportoitu. Kyseisen henkilön työhön kuului kirurgisten välineiden pesu nestemäisellä proteolyyttistä entsyymiä sisältävällä valmisteella (Lemiere työtovereineen, 1996).

Suomalaisessa pesuainetehtaassa proteaasille altistuneista työntekijöistä yhdeksän (22 %) oli herkistynyt. Kaikilla herkistyneistä todettiin nuha ja yhdellä myös astma. Altistustaso oli yleensä alle 20 ng/m³, mutta tilapäisesti huippupitoisuudet olivat 80 ng/m³ (Vanhanen työtovereineen, 2000).

Turkkilaisen pesuainetehtaan 65 työntekijää ryhmiteltiin proteaaseille altistuneisiin ja altistumattomiin (Kizkin työtovereineen, 2002). Altistuneilla havaittiin kymmenen

vuoden seurannassa osoituksena hengitysfunktion laskusta tilastollisesti merkitsevästi alentuneet vitaalikapasiteetti ja sekuntikapasiteetti (FVC ja FEV₁).

Neljällä kiinalaisella pesuainetehtaalla tutkittiin 795 työntekijän oireita ja hengitys funktiota. Kolmella tehtaalla työilman entsyymipitoisuus oli korkeimmillaan 9,92 ng/m³ ja neljännellä se vaihteli välillä 0,16- 31,36 ng/m³. Epäspesifisiä ärsytysoireita esiintyi, mutta keuhkofunktio ei poikennut verrokkiryhmästä. Tutkijat esittivät työilman kahdeksan tunnin raja-arvoksi 15 ng/m³ ja lyhytaikaiseksi raja-arvoksi 30 ng/m³ (Zhang työtovereineen, 2004).

Proteaaasille pesuainetehtaassa altistuneilla havaittiin alempien hengitysteiden sairauksien kaksinkertaistuminen altistustasolla 7,9 ng/m³ (Brant työtovereineen, 2009).

Herkistymistä keskimääräiselle proteaasipitoisuudelle 12 ng/m³ on havaittu (Brisman, 1994).

Pektinaasi on proteolyttinen entsyymi, jonka on kuvattu aiheuttavan allergiaa, kuten astmaa. Italialaisen tehtaan 13 työntekijää tutkittiin oirehtimisen vuoksi. Tutkittujen keski-ikä oli 39,2 vuotta ja keskimääräinen altistus aika pektinaasille työssä 4,3 vuotta. Heistä viidellä todettiin allerginen työperäinen astma, yhdellä lisäksi työperäinen ärsytysastma ja yhdellä työperäinen ärsytysnuha. Herkistyneitä oli 61 % altistuneista (Belleri työtovereineen, 2002).

Myös kymotrypsiini, trypsiini (Colten työtovereineen, 1975; Baur työtovereineen, 1984; van Toorenbergen työtovereineen, 1991), pepsini (Cartier työtovereineen, 1984; Marques työtovereineen, 2006), papaiini (Niinimäki työtovereineen, 1993; Quinones työtovereineen, 1999; van Kampen työtovereineen, 2005) ja bromelaiini (Baur & Fruhmann, 1979; Gailhofer työtovereineen, 1988; van Kampen työtovereineen, 2007) ovat aiheuttaneet työssä astmaa tai allergista nuhaa.

Saksalaisessa lääketehaassa entsyymeille herkistyneistä 10 työntekijästä yhdeksän oli herkistynyt papaiinille, kahdeksan trypsiinille ja kymotrypsiinille, seitsemän bromelaiinille ja vain kolme amylaasille ja lipaasille. Herkistyminen osoitettiin prick-testeillä (Zentner työtovereineen, 1997).

Tanskalaisessa tutkimuslaboratoriossa esiintyi kymmenellä 22: sta työntekijästä työperäistä silmien kutinaa ja nuhaoireita. Kolme työntekijästä oli herkistynyt papaiinille (Rosenthal & Blond, 2008).

Eläinkokeiden havainnot

Eläinkokeissa amylaasientsyymi on osoittautunut voimakkaammaksi allergian aiheuttajaksi kuin proteolyttiset entsyymit (Sarlo työtovereineen, 1997).

Marsuilla kuuden tunnin altistuminen pitoisuudelle 1 mg/m³ subtilisiinia aiheutti keuhkopöhöä ja lievää verenvuotoa (ACGIH, 2001).

HTP-arvon perusteet

Proteolyyttisten entsyymien työilma-arvoa asetettaessa keskeisiä ovat niiden hengitysteitä herkistävät vaikutukset, joita voi esiintyä jo pitoisuudella 8-12 ng/m³.

Työturvallisuussäännöksiä valmisteleva neuvottelukunta esittää, että proteolyyttisten entsyymien haitallisia vaikutuksia työssä voidaan vähentää asettamalla niiden HTP-arvoksi 15 ng/m³ kahdeksan tunnin vertailuaikana ja 60 ng/m³ hetkellisenä arvona.

Eri asettajien ilman epäpuhtauksien raja-arvojen vertailu

Asettaja	Vuosi	Vertailuaika				Hetkellinen		Huomautus
		8 h ppm	ng/m ³	15 min ppm	ng/m ³	ppm	ng/m ³	
Suomi	2012	-	-	-	-	-	-	-
Ruotsi	2007	-	1	-	-	-	3	glysiiniyk- sikköä/m ³
Norja	2008	-	-	-	-	-	60	-
Tanska	2007	-	-	-	-	-	60	-
Hollanti	2007	-	-	-	-	-	-	-
Saksa	2007	-	-	-	-	-	-	-
Englanti	2007	-	-	-	-	-	40	-
ACGIH	2011	-	-	-	-	-	60	-
EU	2010	-	-	-	-	-	-	-
Sveitsi	2009	-	-	-	60	-	-	-
Ehdotus, Suomi	2014	-	15	-	-	-	60	-

Viitteet

- ACGIH (2001): Subtilisins. In: Documentation of TLVs and BEIs, Cincinnati, OH, 2s
- Basketter D, Broekhuizen C, Fieldsend M, ja muut (2010): Defining Occupational and Consumer Exposure Limits for Enzyme Protein Respiratory Allergens under REACH, *Toxicology* 268, 165-170
- Baur X & Fruhmann G (1979): Allergic Reactions, Including Asthma, to the Pineapple Protease Bromelain Following Occupational Exposure, *Clin Allergy* 9, 443-50
- Baur X, Wiessmann K & Wutrich B (1984): Enzymes Are the Allergenic Components of Inhaled Pancreatin, *Dtsch Wochenschr* 109, 257-60
- Belleri L, Brunelli E, Crippa M, ja muut (2002): Occupational Exposure to Pectinase, *Allergy* 57, 755
- Brant A, Upchurch S, van Tongeren M, ja muut (2009): Detergent Protease Exposure and Respiratory Disease: Case-Referent Analysis of a Retrospective Cohort, *Occup Environ Med* 66, 754-8
- Brisman J (1994): 111. Industrial Enzymes, *Arbete och Hälsa* 1994:28
- Cartier A, Malo J, Pineau L, ja muut (1984): Occupational Asthma due to Pepsin, *J Allergy Clin Immunol* 73, 574-7
- Colten H, Polakoff P, Weinstein S, ja muut (1975): Immediate Hypersensitivity to Hog Trypsin Resulting from Industrial Exposure, *N Engl J Med* 292, 1050-3
- Cullinan P, Harris J, Newman Taylor A, ja muut (2000): An Outbreak of Asthma in a Modern Detergent Factory, *Lancet* 356, 1199-1200
- Flindt M (1969): Pulmonary Disease due to Inhalation of Derivatives of *Bacillus subtilis* Containing Proteolytic Enzyme, *Lancet* 1, 1177-81
- Gailhofer G, Wilders-Truschnig M, Smolle J, ja muut (1988): Asthma Caused by Bromelain: An Occupational Allergy, *Clin Allergy* 18, 445-50
- Juniper C, How M, Goodwin B, ja muut (1977): *Bacillus subtilis* enzymes: A 7-Year Clinical, Epidemiological and Immunological Study of an Industrial Allergen, *J Soc Occup Med* 27, 3-12
- van Kampen V, Merget R & Bruning T (2005): Occupational Allergies to Papain, *Pneumologie* 59, 405-10
- van Kampen V, Merget R & Bruning T (2007): Occupational Allergies to Bromelain, *Pneumologie* 61, 159-61
- Kanerva L & Vanhanen M (2001): Occupational Allergic Contact Urticaria and Rhinoconjunctivitis from a Detergent Protease, *Contact Dermatitis* 45, 49-51
- Kempf W, Oman H & Wutrich B (1999): Allergy to Proteases in Medical Laboratory Technicians: A New Occupational Disease?, *J Allergy Clin Immunol* 104, 700-1

- Kizkin O, Turker G, Hacievliyagil S, ja muut (2002): Proteolytic Enzyme Sensitivity and Decrease in Respiratory Function (A 10-Year Follow-Up), *Int Arch Occup Environ Health* 75, 441-4
- Lemiere C, Cartier A, Dolovich J, ja muut (1996): Isolated Late Asthmatic Reaction After Exposure to a High- Molecular- Weight Occupational Agent, Subtilisin, *Chest* 110, 823-4
- Liss G, Kominsky J, Gallagher J, ja muut (1984): Failure of Enzyme Encapsulation to Prevent Sensitization of Workers in the Dry Bleach Industry, *J Allergy Clin Immunology* 73, 348-55
- Marques L, Lara S, Abos T, ja muut (2006): Occupational Rhinitis due to Pepsin, *J Investig Allergol Clin Immunol* 16, 136-7
- Niinimäki A, Reijula K, Pirilä T, ja muut (1993): Papain-induced Allergic Rhinoconjunctivitis in a Cosmetologist, *J Allergy Clin Immunol* 92, 492-3
- Pepys J, Longbottom J, Hargreave F, ja muut (1969): Allergic Reactions of the Lungs to Enzymes of *Bacillus subtilis*, *Lancet* 1, 1181-4
- Peters G, Johnson G & Golembiewski A (2001): Safe Use of Detergent Enzymes in the Workplace, *Appl Occup Environ Hyg* 16, 389-396
- van Rooy F, Houba R, Palmen N, ja muut (2009): A Cross-Sectional Study among Detergent Workers Exposed to Liquid Detergent Enzymes, *Occup Environ Med* 66, 759-765
- Rosenthal A & Blond M (2008): The Enzyme Papain in Industry and Food Causes Allergic Sensitization, *Ugeskr Laeger* 170, 3127-9
- Sarlo K, Fletcher E, Gaines W, ja muut (1997): Respiratory Allergenicity of Detergent Enzymes in the Guinea Pig Intratracheal Test: Association with Sensitization of Occupationally Exposed Individuals, *Fundam Appl Toxicol* 39, 44-52
- Stubb S (1972): Entsyymipesuaineet hengitystie- ja iho-oireiden aiheuttajana, *Duodecim* 88, 721-4
- van Toorenenbergen A, Huijskes-Heins M, Dieges P, ja muut (1991): Occupational Allergy to Pancreatic Powder: Characterization of IgE Binding Antigens in Pancreatic Extract by Immunoblotting, *J Allergy Clin Immunol* 87, 650-4
- Vanhanen M, Tuomi T, Tiikkainen U, ja muut (2000): Risk of Enzyme Allergy in the Detergent Industry, *Occup Environ Med* 57, 121-125
- Vanhanen M, Tuomi T, Tiikkainen U, ja muut (2001): Sensitisation to Enzymes in the Animal Feed Industry, *Occup Environ Med* 58, 119-123
- Zhang X, Liang Y, Lee C, ja muut (2004): Study on OELs for Enzyme-Containing Detergent in China, *Int J Immunopathol Pharmacol* 17 (2 Suppl), 25-30
- Zentner A, Jeep S, Wahl R, ja muut (1997): Multiple IgE-Mediated Sensitizations to Enzymes after Occupational Exposure: Evaluation by Skin Prick test, RAST, and Immunoblot, *Allergy* 52, 928-34