

以钴⁶⁰γ射线杀灭羊毛中布鲁氏菌的试验

陕西省卫生防疫站 胡德育 刘文贞

为了预防毛纺工人通过羊毛感染布鲁氏菌病，我们于1974年12月至76年以钴⁶⁰γ射线在实验室进行了15次杀菌试验，并取得了射线对羊毛杀菌的完全致死剂量，其后，于1979年在陕西第一毛纺厂建立起钴⁶⁰γ射线消毒羊毛的车间。今将试验结果报告如下。

试验器材

1、辐射源：由24个钴⁶⁰棒组成，直径为12.6厘米，高度为16厘米的空心源，总强度为12,300克镭当量（74.7）。该源由西北水土保持研究所同位素研究室管理。

2、辐射剂量：5万~15万伦琴。

3、剂量率：4070伦琴/分钟（经国家计量院标定其误差<5%，照射距离为19.5公分，圆周均匀度±5%）。

4、环境条件：室温12~30.5℃，空气相对湿度62~89%。

5、布氏菌种：牛种（104M弱毒株）、羊种（16M强毒株、M₂₈强毒株）、猪种（S₂弱毒株）。

6、培养基：胰胨琼脂、肝琼脂、生理盐水、蒸馏水等。

7、试验动物：体重18~20克小白鼠。

方法及结果

一、钴⁶⁰γ射线对牛、羊、猪三个种布氏菌的杀灭作用：为了探索钴⁶⁰γ射线对布氏菌的杀灭作用，我们用104M、S₂、16M布氏菌作了试验。方法为：取胰胨培养基上生长48小时的布氏菌培养物，用斜面培养基和稀释的菌悬液，按5、6、7、8、9、10、11、12万伦琴不同剂量进行辐照。将辐照后的布氏菌分别取一白金耳接

种胰胨培养基上，72小时后观察结果（表1）。

表1 牛、羊、猪三型布氏菌辐照后存亡结果

布氏菌株	辐照剂量 (万伦琴)	辐照管数	存活管数
S ₂ (猪)	5	4	4
	8	4	4
	10	4	1
	12	4	0
104M (牛)	6	4	4
	8	4	4
	10	4	0
16M (羊)	11	4	0
	7	4	4
	8	4	4
	9	4	3
	10	4	0
	11	4	0
	12	4	0

注：各型未经辐照之对照管，布氏菌生长良好。

从表1看出，辐照剂量在8万伦琴以下者，均不能完全致死牛、羊、猪三个种的布氏菌。10万伦琴对猪种布氏菌仅一管未被完全杀死，11万伦琴以上可将三个种布氏菌完全杀死，看来钴⁶⁰γ射线对牛、羊、猪三个种布氏菌的致死量基本一致，在10~11万伦琴之间。

二、钴⁶⁰γ射线照射布氏菌后的存活曲线的测定：钴⁶⁰γ射线对布氏菌致死的动态观察，系采用5、6、7、8、9、10万伦琴六种剂量作了存亡菌数的测定。方法为将16M布氏菌经48小时培养物，制成菌悬液，用细胞计数法计算菌数后，再稀释成每毫升含一亿的菌悬液，按上述剂量进行辐照，辐照后分别按10×稀释至10⁻⁶，再取10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶三个稀释度，各按0.1毫升接种平皿，作倾注培养（同时用未照的菌液作对照）。96小时后进行细菌计数，分别计算存

亡之数及百分率(表2)。

表2 不同辐射剂量对布氏菌杀灭情况

辐照剂量 (万伦琴)	5	6	7	8	9	10	对照
活菌数 ($\times 10^5$)	48	27	3	1.7	0.1	0	57.6
%	83.0	46.8	5.5	2.9	1.7	0	100
死菌数 ($\times 10^5$)	9.6	30.6	54.6	55.9	57.5	57.6	
%	17.0	53.2	94.5	97.1	98.3	100	

由表2看出,辐照剂量愈大,致死率愈高。

三、消毒所需辐照剂量与菌液浓度的关系:为了解每毫升含10亿以上布氏菌的致死情况,进一步验证每毫升含10亿布氏菌的致死效应,以不同剂量与不同菌液浓度作了杀灭试验。方法为:取肝琼脂培养基上生长的M₂₈布氏菌48小时培养物,制成菌液,经标准比浊管测定后,按实含菌数,稀释成每毫升含10亿、30亿、50亿、80亿、100亿菌数的五种浓度,分别按3毫升分装于小试管内,进行辐照(留对照)。辐照后按菌液浓度排列,作10 \times 稀释。10亿/毫升及30亿/毫升,取10⁻²稀释液;50亿/毫升、80亿/毫升及100亿/毫升取10⁻³稀释液,分别取0.1毫升接种平板培养基三个。各管所剩之原菌液,用4000转/分离心30分钟,弃掉上清液,加生理盐水1毫升,混匀后,作倾注培养。96小时后,计算残存菌数,结果如表3。

表3 辐照剂量与菌液浓度的关系

照射剂量 (万伦琴)	菌液浓度(亿/毫升)				
	10	30	50	80	100
10	40	19,000	240,000	290,000	610,000
11	0	100	17,000	67,000	137,000
15	0	53	36,100	55,300	6,000

注:表内数字为残存活菌个数。

从表3看出:10亿/毫升菌量经10万伦琴辐照后,仍有残存菌,11万伦琴方可完全致死。如果菌量达30亿/毫升以上者,15万伦琴也不能完全杀死,表明消毒所需辐照剂量与菌液浓度有一定关系,即随着菌量的增加,消毒

辐照剂量也要增加。

四、布氏菌直接污染羊毛的杀灭试验:为探讨布氏菌在羊毛上的致死效应,分别以10、11、12.5、14万伦琴四种剂量,作了杀灭试验。为了便于观察结果,将羊毛分为两份进行。方法为:将羊毛按0.3克装入试管,一份高压15磅20分钟灭菌,另一份不经灭菌,用M₂₈布氏菌,100亿/毫升于各羊毛管中加入0.1毫升菌悬液(即10亿菌量),用灭菌竹扦混匀压成1立方厘米左右,进行辐照(留对照管)。羊毛辐照后,各管内加生理盐水,用竹扦搅拌充分洗涤,反复三次。将洗液分别并入一管,再用4000转/分离心30分钟,弃上清液,于沉淀物内加生理盐水1毫升混匀,分别作倾注培养,96~120小时后计算菌数(表4)。对未经消毒之羊毛经以上处理后,按辐照量分组,每组接种两只小白鼠,并接种对照动物,饲养21~26天后剖检(表5)。

表4 污染的羊毛经辐照后布氏菌存亡情况

剂量 (万伦琴)	辐照管数		存活菌数 (个)
	辐照管数	存活管数	
10	5	1	1
11	7	1	3
12.5	5	0	0
14	5	0	0

注:对照管布氏菌生长良好。

表5 动物试验结果统计

剂量 (万伦琴)	辐照管数		接种动物 (只)	动物感染数
	辐照管数	存活管数		
10	3	6	6	0
11	3	6	6	0
12.5	3	6	6	0
14	3	6	6	0

注:对照动物2只,感染2只

从表4看出:污染羊毛经11万伦琴辐照七管,六管全部死亡,其中一管残存三个布氏菌。

表5说明,污染羊毛经10万伦琴辐照三管后,作了动物试验,各组动物经26天观察,全部正常,解剖后未检出布氏菌,而在对照动

物中,两只小白鼠患典型布病,检菌阳性。

讨 论

布鲁氏菌病主要传染源为羊、牛、猪等。病羊可通过流产分泌物污染羊毛,羊毛作为传播因子,对毛纺职业人群造成威胁。为了预防布病,除了对人群进行布氏菌苗接种、增强机体免疫力外,对羊毛进行消毒,把住传播因子这一关,至为重要。目前,对羊毛消毒多采用化学、物理等方法,但是这些方法却存在一定缺点。用钴⁶⁰γ射线对羊毛消毒,国外虽有应用,但缺少资料,因此,我们开始进行了摸索性试验,通过钴⁶⁰γ射线对含有布氏菌的羊毛消毒,证明了辐照11万伦琴,就能杀灭羊毛中的布氏菌。根据本实验提供的数据,在陕西第一毛纺厂建立了钴⁶⁰源的装置(钴⁶⁰源羊毛包消毒车间)。我们以同样方法在新钴⁶⁰源的环境下进行了复试,进一步证明,整个实验提供的数据是可靠的。因此于1979年国家组织了技术鉴定和验收。建立了我国第一个钴⁶⁰羊毛消毒装置车间,正式投入生产。经连续几年观察,运转良好,消毒效果可靠,从1979年以来进入新作业环境下的新工30名,再未发现新发布病病人。

毛包中到底有多少布氏菌?不易计算,检测困难些,因而对羊毛消毒的辐照剂量,只能从自然条件下羊毛中布氏菌存活的时间来分析。布氏菌在羊毛上的存活时间一般为3~4个月,我们历年来在流行病学调查中发现,因接流产羔而感染布病者,临床上多呈现急性经过,而在皮毛等有关职业人群中感染,临床上多呈现慢性或隐性感染经过,这与布氏菌的数量、毒力及接触频度有关。根据动物在发生布病性流产,分泌物大量污染羊毛,有一段过程(剪毛、收

购、打包以至加工),在这个过程中羊毛中的布菌逐渐减少,一个100×80×50立方厘米的羊毛包,与我们实验中用10亿布氏菌污染0.3克/立方厘米羊毛相比,含菌量要少得多。因而,我们认为对10亿/毫升范围内布氏菌用11万伦琴作为羊毛消毒的辐照剂量是安全有效的,同时,通过动物实验证明即是在10万伦琴的辐照剂量下(表5),布氏菌已丧失了致病能力。至于表4残存的三个布氏菌,在实际工作中不会构成对人的威胁。

摘 要

应用钴⁶⁰辐射源,对羊毛中的布鲁氏菌进行了杀灭实验研究。

通过反复试验,证实11万伦琴即能杀灭羊毛中的布氏菌。本试验结果基本上是,辐照剂量与菌液浓度有关,即菌液浓度愈大,辐照剂量愈大,细菌致死量愈高。并根据羊毛中存在布氏菌数量的综合分析,认为一个100×80×50立方厘米的羊毛包,按每立方厘米0.3克羊毛中含10亿个布氏菌的模拟,经11万伦琴辐照后,证明灭菌效果良好。并根据实验提供的数据,在陕西第一毛纺厂建立了我国第一个辐射法原毛消毒车间,经几年来的观察,证明运转良好,消毒效果可靠。

ABSTRACT

Brucella-killing activity of ^{60}Co - α -ray was tested in woolen disinfection. The result showed that 110,000 Roentgen is high enough to kill woolen contaminating *Brucella*. Dosage required was dependent upon cell concentration, i.e. the more concentrated the cell, the higher the dosage of radiation required for complete disinfection. In general, for a wool parcel sized $100 \times 80 \times 50 \text{ cm}^3$ with an average cell concentration of 10^9 cells/cm^3 , a dose of 110,000 Roentgen was sufficient. Based on the parameter mentioned above, a workshop has been established in the first Shanxi wool textile factory where disinfection with ionoradiation was first used in China. The effectiveness has so far proved satisfactory.

更 正

本刊本年第3期第133页《福建省近年来检出鲍氏志贺氏菌》一文,第一作者系郑国槐同志,因故漏排,特此更正,并向郑国槐同志致以歉意!