

辐 照 灭 菌

张朝武¹ 叶梅君¹ 李文碧¹ 刘衡川¹ 余倩¹ 王骏¹ 尹谷梧² 陆以佳¹
邓世璞¹ 姚绍清¹ 李光蓉¹

辐照灭菌是国际上五十年代发展起来的一种灭菌新工艺,与高压蒸气灭菌和化学消毒相比有其独特的优点:穿透力强、消毒均匀彻底、对物品损伤小、无放射残留物、立即可用,且可连续操作、节省能源、对环境无污染,特别适用于热敏材料和不耐化学腐蚀材料的灭菌。它为医药工业和医疗用品灭菌开辟了广阔的前景。

为加速这一技术的开发和应用,我们从1982年元月至1984年6月,对用⁶⁰钴辐照灭菌的吸收剂量、辐照物品的理化性质、临床使用情况进行了研究。现将结果报告如下:

材料和方法

一、指示菌:

1.细菌:选用大肠杆菌、绿脓杆菌、金色葡萄球菌、枯草杆菌芽胞作为指示菌。

①将上述各菌制备成 10^8 /毫升和 10^9 /毫升的菌悬液备用;

②制备试验片。将制备好的菌悬液滴加于 1×2 厘米的滤纸片上,制成 10^7 个/片的试验片 37°C 干燥后分别置无菌试管内,每管1片。置消毒包内上、中、下和四角各一支含试验片的试管。然后置辐照场按所需剂量辐照。照后,试管内试验片以无菌手续取出置无菌肉汤管中(内含肉汤5毫升), 37°C 培养48小时。取肉汤转种平板3只,每只0.5毫升, 37°C 培养。对肉汤管检菌,并观察1周出报告。平板培养24~48小时,观察菌落生长并计数。以未照射标本作对照。试验重复5次。

2.乙型肝炎病毒(HBV):

①采集HBsAg、HBeAg均阳性的献血员

标本,分离血清,置 -20°C 冰箱备用;

②本实验选用HBsAg、HBeAg均阳性,均查到Dane颗粒的血清5份,其中adr亚型2份,adw亚型3份。

③用 1×7.5 厘米试管,每管装试验血清4毫升,加塞密封,置辐照场按需要剂量辐射,照射后标本置 -20°C 保存备查,以未辐照标本作对照;

④对所试验标本测HBsAg滴度(R-PHA)、HBeAg(ID和ELISA法)^[1]和HBcAg(ELISA法)^[2];

⑤用免疫电镜技术查Dane颗粒^[3]:取0.1毫升待检血清,加不同稀释度的抗-HBs 0.1毫升,30分钟待用。取厚2毫米、长宽各2.5厘米的1%琼脂糖盐水凝胶板,置2层洁净滤纸上。在凝胶板上滴一滴制备好的复合物(HBsAg-抗-HBs)使之呈珠状,将有支持膜的铜网倒扣在液珠上,待液珠快干时迅速取下铜网作负染,然后用透射电镜观察。

⑥DNA聚合酶活力:用放射性同位素³H的标记物掺入法测定。

二、医疗用品:我们选用的医用材料有:塑管头皮输液针头、医用棉布、各种注射针头、外科手术丝缝线、脱脂棉、纱布、乳胶手套、外科手术器械等。

三、辐照方法:

1.将肉汤管或血清管置柱源辐照场(剂量为 2.35KGy/小时)辐照。将⁶⁰钴源升高4厘米;

2.被照医疗用品采用聚乙烯薄膜密封包装

1 华西医科大学

2 四川省原子核应用技术研究

后，置30×20×43厘米的木箱中。然后置双板源(剂量为4.35KGy/小时)，双通道辐照场中照射。用Fricke—FeSO₄剂量计作剂量监测，剂量误差为6%。以堆码辐照法，辐照剂量达所照剂量一半时进行内外、上下、左右对木箱翻面，以保证各部分均匀达到剂量要求。

四、临床应用：

1.健康人：选用健康年青的工作人员10人检查体温、脉搏、呼吸、血压及心电图，证实为正常后，用辐照灭菌的塑管输液针头静脉推注5%葡萄糖50毫升，次晨再推50毫升，每次推后4小时和12小时作前述指标测定；

2.手术病人：选一类手术病人100例(男21人，女79人)，年龄9~80岁。手术种类包括：内翻倒睫矫正、霁状胬肉切除等眼科术；皮脂腺囊肿、血管瘤、黑色素瘤、甲状腺瘤切除术，乳腺包块切除术，扩张的颈外静脉窦切除术、淋巴活检等外科手术；剖腹产、各种卵巢瘤、子宫肿瘤等妇科手术均采用辐照灭菌的手术器械包。术后观察切口反应及愈后情况。以同期同类手术(用高压蒸汽灭菌的手术包)病人100例作对照。

3.输液：选内、外科等10个病区的输液病人，使用辐照灭菌的塑管针头输液。统计1,100人次，男653人，女447人，年龄14~85岁，观察输液后反应及局部反应。

结 果

一、各指示菌在不同辐照剂量辐照后检菌结果：如表1。

表1中所有对照均检出有菌生长。当辐照剂量为3.8KGy和4.8KGy时，均检出有菌生长。在辐照剂量为8.0KGy时，除枯草杆菌芽胞外，其他菌均未检出，而辐照剂量达9.6KGy时，所试各菌均未检出有生长。

二、HBV在辐照前、后及不同剂量下各项标志检测结果：如表2。表2显示，不同标志所需辐照剂量不同。

1.HBsAg的滴度随辐照剂量增加而降低。

表 1 辐照剂量和检菌结果

辐照剂量 (KGy)	大肠杆菌	绿脓杆菌	金色葡萄球菌	枯草杆菌芽胞
3.8	+	+	+	+
4.8	+	+	+	+
6.7	-	-	-	+
8.6	-	-	-	+
9.6	-	-	-	-
14.4	-	-	-	-
19.2	-	-	-	-
对照	+	+	+	+

注：+检出细菌生长；-无细菌生长。

表 2 辐照剂量和HBV标志检测结果

辐照剂量 (KGy)	HBsAg 几何平均滴度	HBeAg		HBcAg	Dane 颗粒
		ID	ELISA		
14.4	1:1433	+	+	+	查见
19.2	1: 614	-	+	+	未查见
24.0	1: 230	-	-	+	未查见
28.8	1: 64	-	-	-	未查见
38.4	1: 38	-	-	-	未查见
48.0	1: 29	-	-	-	未查见
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
192.0	0	-	-	-	未查见
对照	1:1638	+	+	+	查见

注：+为阳性；-为阴性。

但HBsAg完全消失需很高的辐照剂量(192KGy)。

2.HBeAg在辐照剂量达19.2KGy时，用ID法已查不到，而用ELISA仍可查到。当达到24.0KGy的辐照剂量时，两种方法均查不到HBeAg。

3.HBcAg在辐照剂量达28.8KGy时就全查不到了。

4.Dane颗粒，对照标本均可查到。当辐照剂量达19.2KGy时，免疫电镜已查不到Dane颗粒了。

5.DNA聚合酶活力测定结果为：辐照前和辐照剂量为14.4KGy时为DNA聚合酶活力阳性，而剂量达19.2KGy以上就测不到DNA聚合酶活力了。

三、医疗用品辐照前后理化性能测定结

果:

1. 高压蒸汽和辐照灭菌的棉布测试结果如表3。棉布按纺织工业部颁布的标准规定,断力强力不可降低8%(即本试验材料不低于48.85公斤)。表3显示,用高压蒸汽灭菌4次后,断力强力与对照比已不符合部颁标准,而辐照灭菌4次的棉布仍符合部颁标准,且外观上高压后的棉布变黄,辐照后色泽如故,说明其对棉布损伤较小。

表3 高压蒸汽和辐照灭菌对棉布性质的影响

	断力伸长(厘米)		断力强力(公斤)	
	平均值	(±S.D)	平均值	(±S.D)
对 照	12.4	0.68	53.1	4.9
高压蒸汽*	15.4	0.54	45.4	6.3
辐 照△	12.6	0.48	50.0	2.7

* 20磅20分钟; △28.8KGy n=4

2 高压蒸气和辐照灭菌对乳胶手套性能影响情况如表4。

表4 高压蒸汽和辐照灭菌乳胶手套比较

	外观	抗断强度(公斤/平方厘米)	抗断强度下降率(%)
对 照	浅黄	335	0
高压蒸汽*	深黄	188	43.88
辐照5次△	浅黄	265	20.89
辐照10次	浅黄	240	28.36

* 15磅20分钟 △28.8KGy n=5

表4结果显示,高压蒸汽灭菌5次后的乳胶手套变黄,变脆,已不符合化工部颁标准(乳胶制品抗断强度不得低于200公斤/平方厘米);而辐照灭菌即使10次后,抗断强度仍符合部颁标准。辐照后的乳胶手套经红外分光光度计作光谱分析,波形与对照基本相同。

四、辐照灭菌的医疗用品临床使用情况:

1. 健康青年职工静脉推注5%葡萄糖后,其体温、脉搏、呼吸、血压及心电图均无异常变化。一周内穿刺部位及全身均无感染征象。

2. 100例一类手术病人,除1例手术属乙级愈合外,其余均为甲级愈合,与对照组比较无差异,亦未见其他异常反应。

3. 1,100例辐照塑管输液针头输液者,均无异常反应。与酒精浸泡消毒的针头比较,针头锋锐度不受影响,且无酒精对穿刺部位的刺激性疼痛,很受病员和医护人员欢迎。迄今,华西医科大学附属医院和四川省人民医院共使用辐照灭菌的塑管输液针头达11万人次未见异常反应。

讨 论

HBV对医疗用品的污染是严重的。据北京市卫生防疫站资料(全国医疗用品辐照消毒论证会资料,1983年8月),医疗器械上乙型肝炎病毒的检出率可达19%。我国在输液中广泛使用塑管针头,但它不能用高压蒸汽灭菌。而酒精浸泡对HBsAg消毒效果较差;我们将污染了HBV的塑管输液针头,经常规清洁处理后浸泡于新配制的75%酒精液中,24小时后HBsAg检出率为33.3%。可见,用酒精消毒HBV污染的塑管针头是不可靠的。

本文介绍用辐照灭菌医疗用品,可杀灭HBV,减少HBV医源性交叉感染的危险。我们在辐照灭菌中确定以Dane颗粒、HBeAg、HBcAg、DNA聚合酶活力这些象征HBV传染性的指标的存在与否来确定辐照杀灭HBV的剂量,并推算出杀灭HBV的安全剂量。

根据微生物学计算灭菌条件的公式: $SD = D \times \log NO/N$ 。式中,SD为灭菌剂量;D为指示菌D值;NO为灭菌前污染菌数;N为灭菌后存活菌数。本文中电镜下查不到Dane颗粒时的辐照剂量为19.2KGy。设灭菌前含 10^8 个/毫升Dane颗粒,且设免疫电镜下查不到Dane颗粒而血清中可能每毫升仍含有 10^4 个Dane颗粒。代入上式中,即为 $19.2KGy = D \times \log 10^8/10^4$,所以 $D = 4.8KGy$ 。

但欲将 10^8 个/毫升Dane颗粒杀灭到1个或1个以下时,则需8D,故需38.4KGy。所以38.4KGy可作为辐照灭HBV的安全剂量。在正常情况下,清洗过的医疗用品上所含Dane颗粒的浓度远低于 10^8 个/毫升,杀灭应是安全

的。国际上医疗用品辐照灭菌多采用25.0KGy (Gammaster B.V)。这说明用38.4KGy作为辐照含有HBV的医疗用品的剂量应是安全可靠的。因此,辐照灭菌医疗用品对于解决HBV等医源性交叉感染,保护人民健康,提高医疗质量均有好处。同时,辐照灭菌的经济效益也是很高的。据国内外资料(全国医疗用品辐照消毒论证会资料,1983年3月),辐照灭菌1立方米物品耗资1.2元,而高压灭菌则需5.4元,高达4.5倍。以成都为例,医疗用品年消毒量约10万立方米,若用辐照灭菌每年可节约42万元。乳胶手套辐照灭菌可延长其寿命1倍。以成都每年使用12万双手套计算,每年可节约5万元。因此,辐照灭菌若在我国有条件的大中城市推广,每年可节约上亿元开支,并将为我国医疗用品和医药工业灭菌提供一条经济、实惠的理想途径。

摘 要

本文介绍用⁶⁰钴辐照灭菌医疗用的效果和临床应用基本情况。对大肠杆菌、绿脓杆菌、金色葡萄球菌、枯草杆菌芽胞,⁶⁰钴辐照的吸收剂量在10KGy以下,对HBV,其吸收剂量为28.8KGy就查不到感染指标了,推算出安全剂量为38.4KGy。

辐照灭菌的医疗器械用于100例手术病人,静脉输液针头用于1,100例输液病人,无1例不良反应。辐照灭菌是一种很有发展前途的灭菌工艺,有大力推广使用的价值。

ABSTRACT

This paper reports the main conditions for effective clinical application of medical devices by ⁶⁰Co radiation methods of sterilization. Irradiated absorbed dose is less than 10KGy for *E.coli*, *Ps.aeruginosa*, *S.aureus*, *B.subtilis* while irradiated absorbed dose for the disappearance of infection indicators of HBV is 28.8-KGy and dose of 38.4KGy have been deduced for HBV for safety.

Irradiated medical devices and infusion needles by radiation methods of sterilization have been applied to 100 operation patients and 1,100 infusion patients, respectively. None of them have harmful reaction. It is considered that radiation methods of sterilization might have a great future and application in our country.

参 考 文 献

- 1.张朝武等:新医学, 2:273, 1983
- 2.乔宗愷等:卫生专业参考资料,研究生专辑,四川医学院卫生系科技情报室编,1982
- 3.王远萍等:四川医学院学报, 13(3):300, 1982
- 4.Hindman SH et al: Ann Intern Med, 85:458, 1976
- 5.Norderfelt E et al: Virology, 6:531, 1976
- 6.Alter HJ et al: New Eng J Med, 295:909, 1976
- 7.Marynard JE et al: J Infect Dis, 133:339, 1976

产肠毒素大肠杆菌引起腹泻爆发流行的报告

巍山县卫生防疫站 赵钟杰 李存兰

1983年12月,首发病例宝善村刘××因食积雪当夜突然发生恶心、呕吐、腹痛及频繁水样泻等类似霍乱样腹泻症状。随后几天内,全村120户608人中有72人患同样病症,并迅速波及县城及周围村屯,在三个区、镇发生腹泻爆发流行。在48份典型患者粪便材料中检出产肠毒素大肠杆菌31株,其中属致病性大肠杆菌血清型O₁₂₅B₁₂共23株,普通大肠杆菌8株。31株全部产ST型肠毒素。V/L比值最高为1.05,最低为0.4,平均0.51,稍低于M₄₀₃(ST/LT)的阳性对照,明

显高于Tox(一)阴性对照。对12种抗菌药敏感试验结果表明,高度敏感的有呋喃妥因(74.19%)、痢特灵(64.52%)、庆大霉素(61.29%)和氯霉素(54.84%);中度敏感的有卡那霉素(74.19%)、新霉素(74.19%)和红霉素(61.29%);对SD高度敏感及耐药株均为48.38%,对四环素和链霉素的耐药率较高,分别为38.71%和19.35%。对青霉素耐药率为100%。