

電離放射線을 利用한 醫療製品 滅菌研究(Ⅲ)

—放射線이 抗生劑의 抗菌力에 미치는 影響—

李康淳 · 千基貞 · 金琦洙

(韓國原子力研究所, 放射線生物學研究室)

Radiosterilization of Medical Products (Ⅲ)

—Effect of Gamma Irradiation (^{60}Co) on Activity of Antibiotics—

RHEE, Kang Soon, Ki Jung CHUN, and Ki Soo KIM

(Radiation Biology Laboratory, Korea Atomic Energy Research Institute)

ABSTRACT

Fifteen kinds of antibiotics both in liquid or dry states were investigated for the purpose of radiation effect on the antibiotic activities after irradiation.

In liquid states, the antibiotics such as amoxyllin, ampicillin, cepharolidin and he-tacillin were inactivated 90% of their antibiotic activities at radiation doses of 50Krad, and penicillin, dicloxacillin, cephalothin, cloxacillin, erythromycin and cephalixin were inactivated at 500Krad, however, the tetracyclin, chloramphenicol, gentamicin and kanamycin were decomposed at radiation doses of 1.5Mrad, respectively.

In dry states, all antibiotics were stable at radiation doses of 5Mrad.

On the other hand, the neomycin in liquid state was rather increased the antibiotic activity about 1.2 and 8 times when the *E. coli* ATCC 113-3 and *B. subtilis* ATCC 6633 were used as a standard microorganisms, whereas, the decreased antibiotic activities were observed in *S. typhi* Ty-2 (36.2%), *St. faecium* (10.79%), *B. sphaericus* CIA (9.065%) and *St. aureus* ATCC 6538p (70%).

緒 論

오늘날 醫藥品の 發達로 生産 및 開發이 활발히 進行되고 있으며 特히 抗生劑의 利用度는 날로 增加하고 있다.

이들 醫藥品들은 大部分 滅菌을 必要로 하고 있다. 滅菌法에는 여러가지가 있으나 産業的 滅菌法으로 널리 使用되는 法은 Co^{60} γ -ray를 利用하는 放射線 滅菌法이다. 放射線 滅菌法은 1960년에 부터 開發되었으며 그

당시에는 易熱性 製品에 大部分 適用되었으나 現在에는 滅菌을 必要로 하는 모든 製品에 適用되어 pharmaceuticals, bioproducts 및 vaccine등에도 상당히 利用되고 있다.

Controulis *et al.* (1954)에 의하면 calcium gluconate, ascorbic acid, DPT vaccine등을 放射線 照射하여 對照群과 activity를 比較 觀察한 結果 potency의 變化가 없었으며, streptomycin HCl, aureomycin, chloramphenicol등을 放射線 照射한 結果 potency의 變化를 認知할 수 없었다고 報告하고 있다.

또한 Gupta *et al.* (1973)은 아미피실린(ampicillin)의 數種을 neutron과 γ -radiation을 照射하여 activity의 變化를 觀察한 結果, antibiotic activity에 影響이 없음을 報告하고 있다. 이와같이 放射線 照射에 따른 醫藥品의 potency 變化에 대한 研究가 활발히 進行되고 있다.

著者들은 지난 1974年度에 antibiotic 중 tetracyclin HCl에 대한 放射線의 效果에 대해 physico-chemical test 및 activity變化 如否를 測定하여 報告하였었다.

따라서 tetracycline의 우리나라에서 市販되는 14種의 antibiotic을 對象으로 하여, liquid state와 dry state로 區分 照射하여 inhibition zone의 의한 activity의 變化를 調査하여 若干의 成績을 얻었기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 抗生劑

Y.J. 藥品 製造會社로 부터 ampicillin, amoxycillin, cepharolidin, hetacillin, penicillin, dicloxacillin, cephalothin, cloxacillin, erythromycin, cephalixin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, neomycin 및 tetracycline 등 15種의 原料를 購入하여 試料로 使用하였었다.

2. 菌株 및 培養

本 實驗에 使用한 菌株는 *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p, *Escherichia coli* ATCC 113-3, *Staphylococcus epidemidis*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Salmonella typhi* Ty-2, *Bacillus sphaericus* CIA 및 *Streptococcus faecium* 이었으며 이들은 모두 國立 保健院에서 分讓받았다.

培養은 TGY broth에서 37°C, 18時間 培養하였었다.

3. 試料의 製造

Liquid state는 inhibition zone 15~30mm를 나타내는 濃度가 되도록 각각 平量하여 蒸溜水로 溶解하여 使用하였고, dry state는

powder를 그대로 使用하였었다.

4. 放射線 照射

韓國 原子力 研究所 所在 TRC panoramic irradiator (10,000Ci Co^{60} γ -ray source)를 利用하여 2.3Krad/min의 dose rate로 實溫 大氣壓下에서 照射하였었다.

5. Antibiotic activity 測定

가. Paper disc에 依한 inhibition zone 觀察 : Whatman No. 1 filter paper disc(直徑 6mm)를 만들어 121°C, 15分間 高壓滅菌하여 乾燥하였었다. 그후 試料 및 1/4濃度 稀釋液을 묻혀 各各의 base media와 seed media를 부어 굳힌 agar plate에 貼착 후, 37°C에서 18時間 增殖 培養하여 生成되는 inhibition zone의 크기를 測定하였었다.

나. Cylinder method에 依한 inhibition zone 觀察 : Penicylinder를 各各의 base media와 seed media를 부어 굳힌 agar plate에 놓고 試料 및 1/4濃度 稀釋液을 0.25ml씩 넣어 37°C에서 18時間 培養 후 inhibition zone의 크기를 測定하여 Code of Federal Regulations에 따라 antibiotic activity %를 求하였었다.

結果 및 考察

抗生劑의 水溶液 狀態에서의 放射線 效果를 觀察한 結果는 Table 1에서와 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 90% antibiotic activity를 減少시키는 放射線 線量은 抗生劑의 種類에 따라 다름을 알 수 있었다. Amoxyllin, ampicillin, cepharolidin, hetacillin은 대체로 放射線에 sensitive하여 25~50Krad 以內에서, penicillin, dicloxacillin, cepharothin, cloxacillin, erythromycin, cephalixin은 200~500Krad에서 tetracyclin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin은 比較的 放射線 低抗性으로 2.5~5Mrad에서 antibiotic activity의 喪失을 보였다. 따라서 抗生劑의 種類에 따라 activity의 喪失을 보여주는 放射線 線량이 달랐으나 모두 水溶液狀態에서 放射線 照射에 依해 activity

Table 1. Radiation effect on antibiotic in an aqueous state

No.	Antibiotic	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Test organism	Diameter of* inhibition zone (mm)	Radiation dose for the reducti- on of 90% an- tibiotic activity (Krad)
1.	Amoxycillin	2.5	<i>S. lutea</i>	23	25—50
2.	Ampicillin	5	<i>S. lutea</i>	26	25—50
3.	Cepharolidin	10	<i>S. lutea</i>	20	25—50
4.	Hetacillin	2.5	<i>S. lutea</i>	20	25—50
5.	Penicillin	5	<i>St. aureus</i>	24	75—100
6.	Dicloxacillin	50	<i>St. aureus</i>	21	150—200
7.	Cephalothin	50	<i>St. aureus</i>	20	150—200
8.	Cloxacillin	500	<i>St. aureus</i>	28	250—350
9.	Erythromycin	25	<i>S. lutea</i>	21	250—300
10.	Cephalexin	500	<i>St. aureus</i>	23	400—500
11.	Tetracyclin	1,000	<i>St. aureus</i>	18	1,500—2,000
12.	Choloramphenicol	1,000	<i>E. coli</i>	26	1,500—2,500
13.	Gentamicin	2,000	<i>St. epidermidis</i>	22	2,500—5,000
14.	Kanamycin	2,000	<i>St. aureus</i>	20	2,000—2,500
15.	Neomycin	2,000	<i>B. subtilis</i>	16	7,500—10,000

Remark: * = Non-irradiated

Table 2. Radiation effect on antibiotics in dry state

No.	Antibiotic	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Test organism	Diameter of inhibition zone(mm)		
				Non-irradiated	2.5Mrad	5.0Mrad
1.	Amoxycillin	2.5	<i>S. lutea</i>	23	23	23
2.	Ampicillin	5	<i>S. lutea</i>	26	26	25
3.	Cepharolidin	10	<i>S. lutea</i>	20	21	20
4.	Hetacillin	2.5	<i>S. lutea</i>	20	21	21
5.	Penicillin	5	<i>St. aureus</i>	24	24	23
6.	Dicloxacillin	50	<i>St. aureus</i>	21	21	21
7.	Cephalothin	50	<i>St. aureus</i>	20	20	20
8.	Cloxacillin	500	<i>St. aureus</i>	28	28	27
9.	Erythromycin	25	<i>S. lutea</i>	21	21	22
10.	Cephalexin	500	<i>St. aureus</i>	23	22	23
11.	Tetracycline	1,000	<i>St. aureus</i>	18	18	18
12.	Chloramphenicol	1,000	<i>E. coil</i>	26	26	27
13.	Gentamicin	2,000	<i>St. epidermidis</i>	22	23	22
14.	Kanamycin	2,000	<i>St. aureus</i>	20	21	19
15.	Nemycin	2,000	<i>B. subtilis</i>	16	17	17

를喪失하고 있음을 알 수 있었다.

반면 dry state에서의 放射線 效果를 觀察한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2에서 보는 바와 같이 모든 抗生劑가 5Mrad에서도 放射線 照射치 않은 對照群과 類似한 activity를 그대로 維持함을 알 수 있었다.

Gopal *et al.* (1973)에 依하면 potassium benzyl penicillin, streptomycin, aureomycin 및 chloramphenicol은 1.9Mrad에서 stable하며 oxy and chlorotetracycline은 5~10Mrad에서 stable하였다고 報告하고 있다.

또한 Gupta *et al.* (1973)에 依하면 ampicillin外 12種의 抗生劑를 放射線 照射後 *E. coli* 및 *S. aureus*菌에 依한 activity로 paper disc에 의한 inhibition zone의 diameter를 觀察한 結果 對照群과 類似한 zone 크기를 測定하여 γ -radiation에 의한 影響이 없음을 報告하였다.

이와같이 antibiotic의 dry state에서는 高

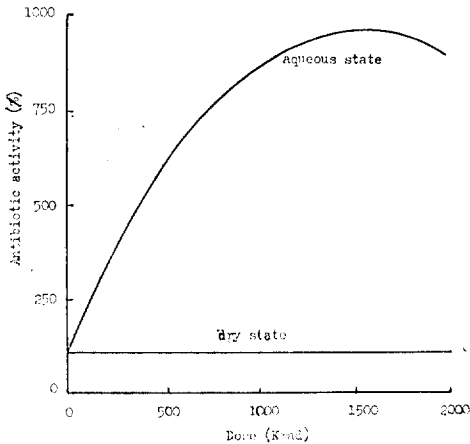


Fig. 1. Radiation effect on antibiotic activity of neomycin

Table 3. Antibiotic activities by various microorganisms of neomycin irradiated in aqueous state.

Strain	Antibiotic activity(%)	
	0 Mrad	1 Mrad
<i>S. typhi</i> Ty-2	100	36.2
<i>St. faecium</i>	100	10.79
<i>B. sphaericus</i> CIA	100	9.065
<i>St. aureus</i> 6538p	100	70
<i>E. coli</i> 113-3	100	118
<i>B. subtilis</i> 6633	100	800

Remark: Thi sample was irratted at the concentration of 2.5mg/ml in distilled water. Antibioic activity was measuredby cylinder method.

線量에서도 stable함을 알 수 있었다.

그러나 neomycin 경우에는 dry state에서 高線量에도 stable하였으나 水溶液 狀態서 다른 抗生劑와 相異한 結果를 Fig. 1에서 나타내고 있다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 2.5mg/ml 濃度에서 1Mrad照射時 *B. subtilis* ATCC 6633 菌에 대해 거의 8倍의 activity의 增加를 認知할 수 있었다.

따라서 *B. subtilis* ATCC 6633 菌 外에 *S. typhi* Ty-2 등 5 菌株에 대한 activity 測定한 結果는 Table 3와 같다.

Table 3에서 보는 바와 *S. typhi* Ty-2 36.2%, *St. faecium* 10.79%, *B. sphaericus* CIA 9.065%, *St. aureus* ATCC 6538p 70%로 activity가 減少되었으나 *E. coli* ATCC 113-3 118% 및 *B. subtilis* ATCC 113 800%로 activity가 增加함을 알 수 있었다. 따라서 特異 菌株에 의한 activity의 特性으로 看做되었다.

摘 要

15種의 抗生劑를 購入하여 liquid state와 dry state에서의 放射線의 影響을 觀察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) liquid state에서 amoxycilin, ampicillin, cepharolidin, hetacillin은 50Krad以內에서, penicillin.

dicloxacillin, cephalexin, cloxacillin, erythromycin, cephalothin은 500Krad以內에서, tetracyclin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin은 5Mrad以內에서 activity의 喪失을 보였으나 neomycin은 水溶液 狀態에서 照射時 8배의 activity增加를 보여 주었다.

2) dry state에서는 모든 抗生劑가 5Mrad 照射에도 對照群과 類似한 activity를 維持하고 있어 stable 함을 나타내었다.

3) activity의 增加를 나타내는 neomycin은 *S. typhi* Ty-2 36.2%, *St. faecium* 10.79%, *B. sphacricus* CIA 9,065% 및 *St. aureus* ATCC 6538p 70%로 activity가 減少되었으나 *E. coli* ATCC 1133 118%, *B. subtilis* ATCC 6633 800%로 activity의 增加를 나타내 特異菌株에 依한 antibiotic activity의 特性으로 看做되었다.

引用 文 獻

1. Code of Federal Regulations, 1971.
2. Controulis J. C.A. and L.E., Brownell, 1954. The effect of gamma radiation on some pharmaceutical products. **43**(2), 65--69.
3. Gopal, N.G.S., S. Rajagopalan and G. Sharma, 1973. Chemical effects of radiation on plastics and pharmaceuticals. Radiation sterilization of medical products, ISOMED, 105--148.
4. Gupta, K.G., K.K. Vyas, and N.S. Sekhon, 1973. Effect of radiation on activity of antibiotics. *J. Pharm. Science* **62**(5) 841 842.
5. Holland, J.F., A.I. Galatzeanu, M. Schulman, and G. Kozinets, 1967. Effect of gamma irradiation(⁶⁰Co) on the tetracyclin. IAEA, Vienna, 69--81.
6. National Formulary, fourteenth edition (NF XIV)
7. Rhee, K.S., K.J. Chun, and K.S. Kim, 1975. Radiosterilization of Medical Products (II). Effect of Gamma Irradiation (⁶⁰Co) on the tetracycline HCl. *Kor. Jour. Microbiol.* **13**, 64--70.
8. U.S. Pharmacopeia, nineteenth edition (USP XIX)