

Comparative Study of Sterilization by Gamma-ray and Electron-Beam

Kyeonghwan Jeong,¹ Changhee Park^{1,*}

¹Department of Radiologic Technology, Daegu Health College

Received: August 11, 2020. Revised: October 20, 2020. Accepted: October 31, 2020

ABSTRACT

The elderly population in the modern society is growing rapidly due to advance medical technology and minimally invasive surgery. Therefore, as the tendency to use medical device is increasing, pathogenic infection is a concern. Therefore, the first aim of modern medicine is infection prevention in medical place. Recently, patient implants are increasing using 3D printing. Hydroxyapatite is used as a representative material. And, there haven't had currently absorbed dose standard for sterilization of hydroxyapatite discs. Escherichia coli and Streptococcus mutans contaminated on the surface of hydroxyapatite discs were irradiated at each absorbed dose of 0, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 kGy using Gamma-ray of cobalt and Electron-beam of linear accelerator. Then, the number of bacteria was measured in the sample by the decimal dilution method. After sterilization, a non-parametric testing method was performed to compare the survival of Escherichia coli and Streptococcus mutans. As a result, Escherichia coli was sterilized at 1 kGy or more and Streptococcus mutans at 3 kGy or more on absorbed dose. It is considered possible to perform sterilization at a lower value than the recommended absorbed dose of radiation sterilization.

Keyword: Sterilization, Gamma-ray, Electron-beam, E. coli, S. mutans

I. INTRODUCTION

현대사회는 의료기술 발전 및 최소 침습적 치료법 도입에 따라 의료 시스템이 변화하고 있으며, 노인 인구 및 의료수요가 증가하고 있다.^[1] 따라서 병원감염에 쉽게 노출될 수 있는 환자군 증가 및 의료기술 발달에 따른 의료기기 사용 증가로 인해 병원감염률이 높아지고 있다.^[2,3] 의료기기의 다양성과 복잡한 형태로 제작되어 구조적 문제로 인해 감염 예방을 위한 소독제 및 멸균제의 효과가 낮아지며, 온도에 민감한 의료기기 사용이 많아짐에 따라 병원성 감염이 우려되어 환자 및 의료기기 오염 및 감염 예방을 위해 무균 장벽을 생성하기 위한 다양한 의료기기 사용 및 멸균법을 제시하고 있다.^[4]

현재 의료분야에서는 다양한 살균 및 멸균법들

이 존재한다. 화학적 멸균법은 의료기기에 멸균제의 침투가 쉬우나 미국 식품의약처(FDA; Food and Drug Administration)에서 규정한 에틸렌옥사이드(Ethylene oxide) 가스의 잔류 위험성으로 최근 방사선 멸균법을 제시하고 있으며, 그중 감마선 멸균을 가장 많이 이용하고 있다.^[5-7]

감마선 멸균은 국제표준화기구(ISO; International Organization for Standardization) 11137-2에서도 의료기기 품목별로 방사선 멸균 선량 설정을 권장하고 있다.^[6] 감마선 멸균은 단시간에 다양한 의료기기 및 수량의 멸균처리가 가능하지만, 흡수선량 25 kGy 이상을 권장하기 때문에 특정 장소와 숙련된 인원의 필요 등의 제한점을 가지고 있다.^[8] 또한, 전리방사선 사용은 관리구역 내의 작업종사자의 피폭 노출 기회를 증가시키고, 방사선 사고 등의 위험성 문제점을 가지고 있다.^[9] 인체에 이식되는 의

* Corresponding Author: Changhee Park

E-mail: chpark@dhc.ac.kr

Tel: +82-53-320-1315

료기기는 3, 4등급 고위험품목으로 분류되어 철저한 멸균법이 적용되며, 고·중위험군 이하의 의료기기도 살균 또는 멸균을 시행하고 있다.^[4]

의료기술 발전으로 인공 뼈 대체 의료기기의 치료가 급증하면서 병원성 감염에 대한 우려가 커지고 있다. 또한, 뼈 대체 의료기기는 4등급 품목으로 고위험군으로 분류되어 철저한 멸균법이 적용되어야 한다.^[10] 현재 수산화인회석(HA; hydroxyapatite) 뼈 대체 재료는 감마선 멸균법을 이용하고 있다. 하지만, HA 의료기기는 방사선 멸균법에 관한 흡수선량 기준이 없다. 국내에서 메디셰이(Medyssey)가 식약처에서 환자맞춤형 임플란트를 허가받았으며, 서울 신촌 세브란스 병원은 골육종 환자에게 3D 프린트된 엉덩이뼈 임플란트 이식술을 시작하여 식약처에 의해 최근 3D 프린팅 의료기기의 안전관리 방안연구가 시행되었다.^[11] 이 연구는 전리방사선을 이용하여 HA의 적절한 멸균 조사조건을 검증하고 제시하려고 한다.

전리방사선은 온도 상승과 무관하며, 단파장이므로 높은 에너지 조사가 가능하고 다른 멸균법과 비교하여 멸균 안전성이 높다. HA에 관한 연구들은 있지만, 살균 및 멸균에 관한 연구 결과 제시가 부족하므로 제안하고자 한다.^[12,13] 그래서 감마선, 전자선으로 HA 뼈 대체물의 멸균 조건을 제안한다. 이 연구는 인공 뼈 대체물로 일반적으로 사용되는 HA 디스크의 멸균과정에서 발생할 수 있는 문제를 해결하기 위한 것이며, HA 디스크 표면에 대장균과 충치균의 오염에 의한 감마선, 전자선의 흡수선량에 따른 멸균 효과를 평가 실험을 통하여 검증하고자 한다.

II. MATERIAL AND METHODS

1. 실험재료

1.1 HA 디스크

수산화인회석(HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; Junsei, Japan) 원료를 사용하여, 입자크기가 동일하도록 분쇄 및 체가름을 시행하여 얻어진 분말로 총 120분 동안 1250 °C에서 유지 후, 냉각시켜 HA 디스크 샘플을 제조하였다.

1.2 SEM & XRD

출발 원료 HA를 소결 전, 후 입자크기 및 이차상을 알아보기 위해 SEM(Scanning electron microscopy, TM3030; Hitachi, Japan) 및 XRD(X-ray diffraction, X'PertMPD-PRO; Panalytical, UK) 검사를 시행하였다.

1.3 세균 도포

방사선 조사 전후 멸균 여부 확인을 위하여 대장균(*E. coli*; *Escherichia coli*)과 충치균(*S. mutans*; *Streptococcus mutans*)을 피펫(Pipet)으로 HA 디스크 표면 중앙에 각각 1 μl , 직경 약 1 cm로 도포시켰으며, 약 30분간 건조한 후 세균이 도포된 HA 디스크를 월플레이트에 6 개씩 고정하였다.

1.4 멸균

멸균을 위한 방사선원은 한국원자력연구원 첨단 방사선연구소(Jeongeup, Korea)의 코발트 조사기 및 선형가속기를 이용하였다. 선량의 균일도(Dose uniformity ratio)는 조사 선원, 기계장치, 팔레트 형태에 따라 멸균 제품을 적재하면 균일도가 달라지기 때문에 적재를 하지 않고, 각각 감마선, 전자선 방출 면에서 고정된 월플레이트를 단일 방향으로 적재하였다.

2. 실험방법

2.1 전리방사선

감마선은 코발트(Co-60 ; MDS Nordion, Canada) 고준위 방사성동위원소 장치를 이용하였고, 반감기 5.27년, 코발트 동위원소에서 1.33 MeV의 감마선을 흡수선량 0, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 kGy로 각 HA 디스크에 조사하였다.

전자선 조사는 선형가속기(ELV-10-10S; NIEFA, Russia)를 이용하였다. RF 에너지원은 클라이스트론이며, 전자선은 에너지 10 MeV, 흡수선량 0, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 kGy가 각 HA 디스크에 조사하였다.

2.2 세균 생존을 측정법

전리방사선이 조사된 각 디스크를 생리식염수 1 ml에 희석 후 추정, 확정, 완전시험을 행하고 십진 희석법으로 검체 1 ml로 대장균 및 충치균을 측정

하였다.

2.3 통계

멸균 후 대조군과 멸균된 균의 생존 비교 분석하기 위해 SPSS(Ver. 1.25; IBM, USA) 프로그램을 사용하였다. 통계 방법은 두 모집단간의 중심위치를 비교하기 위해 비모수 검정법에서 맨 휘트니스 윌콕슨 순위 합 검정법으로 수치화시켰다. 연속이며 같은 분포형태를 갖는 두 집단의 독립적인 모집단을 확률표본으로 각각 추출하였다($p < 0.01$).

III. RESULT

1. HA 분석

1.1 SEM

HA 디스크에 소결 전과 후의 평균 입자 및 소결의 정도를 파악하기 위해 SEM을 하였다. Fig. 1처럼 소결 후 입자가 치밀하게 소결된 모양을 볼 수가 있었다.

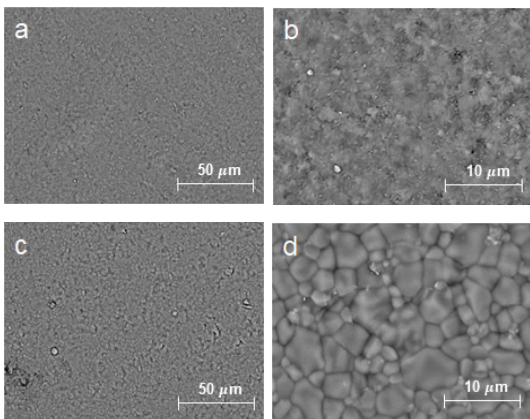


Fig. 1. Sem of HA discs; before(a, b) and after(c, d) sintered (left: x1k, right: x5k).

1.2 XRD

디스크 소결 전과 후는 Fig. 2에 HA(ICSD 87670)상이 나타났으며, 소결 후에 이차상은 발견되지 않았다. 소결 전후 모두 100 % HA 상으로 이루어져 있었다.

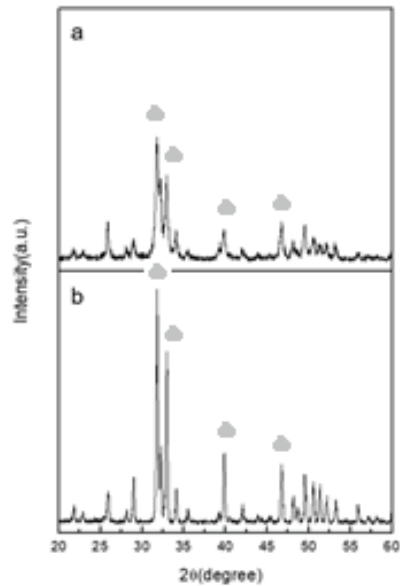


Fig 2. XRD patterns of HA. (a) Before sintered powder, (b) Sintered HA

2 전리방사선 멸균

2.1 감마선 멸균

감마선 조사 후 대장균 멸균력은 Table 1에서 나타나듯이 흡수선량 0.5 kGy에서는 완벽한 멸균력을 나타내지 못하였다. 1 kGy부터 대장균 멸균력이 나타났다. Table 2 비모수 검정 방법에서 0.5 kGy는 근사유의확률(양측)이 0.011로 유의한 차이가 없었으며, 1, 3, 5 kGy에서는 근사유의확률(양측)이 0.006으로 통계적으로 유의하였다.

Table 1. Comparison of volumes of survived E. coli depending on the absorbed dose of gamma irradiation.

	Sample Number						Mean ±SD
	1	2	3	4	5	6	
Control	-	-	-	-	-	-	3.8 × 103 ±1,952
E.coli							
0.5a	<10*	40	<10	<10	<10	<10	6.67 ±16.33
1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10
3	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10
5	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10

Values are mean±standard deviation(n=6)
*: colony forming unit/ml
a: Absorbed Dose(kGy)

Table 2. Test statistic of E. coli depending on the absorbed dose of gamma irradiation.

Mann-Whitney Test		
Absorbed Dose(kGy)	Result	P-value
0.5	-2.546	0.011
1, 3, 5	-2.761	0.006

P<0.01

감마선 조사 후 총치균 멸균력은 Table 3에서 나타나듯이 흡수선량 0.5, 1 kGy에서는 완벽한 멸균력을 나타낼 수가 없었다. 총치균은 대장균과 다르게 3 kGy부터 멸균력이 나타났다. Table 4 비모수 검정 방법에서 0.5, 1 kGy는 근사유의확률(양측)이 각각 0.020, 0.015로 유의한 차이가 없었으며, 흡수선량 3, 5 kGy에서는 근사유의확률(양측)이 0.006으로 통계적으로 유의하였다.

Table 3. Comparison of volumes of survived S. mutans depending on the absorbed dose of gamma irradiation.

	Sample Number						Mean ±SD
	1	2	3	4	5	6	
Control	-	-	-	-	-	-	1.2 × 10 ³ ±208.16
0.5a	60*	15	<10	80	95	100	58.3 ±42.03
1	<10	<10	10	<10	200	<10	35 ±80.93
3	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10
5	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10

Values are mean±standard deviation(n=6)
* : colony forming unit/ml
a : Absorbed Dose(kGy)

Table 4. Test statistic of S. mutans depending on the absorbed dose of gamma irradiation.

Mann-Whitney Test		
Absorbed Dose (kGy)	Result	P-value
0.5	-2.324	0.020
1	-2.427	0.015
3, 5	-2.761	0.006

P<0.01

2.2 전자선 멸균

전자선 조사 후 대장균 멸균력은 Table 5에서 나타나듯이 흡수선량 0.5 kGy에서는 완벽한 멸균력을 나타내지 못하였다. 1 kGy부터 대장균 멸균력이 나타났다. Table 6 비모수 검정 방법에서 0.5 kGy는 근사유의확률(양측)이 0.018로 의미상 차이가 없었으며, 1, 3, 5 kGy에서는 근사유의확률(양측)이 0.006으로 통계적으로 유의하였다.

Table 5. Comparison of volumes of survived E. coli depending on the absorbed dose of Electron-beam.

	Sample Number						Mean ±SD
	1	2	3	4	5	6	
Control	-	-	-	-	-	-	3.8 × 10 ³ ±1,952
0.5a	<10*	<10	<10	<10	15	<10	2.5 ±6.12
1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10
3	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10
5	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10

Values are mean±standard deviation(n=6)
* : colony forming unit/ml
a : Absorbed Dose(kGy)

Table 6. Test statistic of E. coli depending on the absorbed dose of Electron-beam.

Mann-Whitney Test		
Absorbed Dose(kGy)	Result	P-value
0.5	-2.364	0.018
1, 3, 5	-2.761	0.006

P<0.01

전자선 조사 후 총치균 멸균력은 Table 7에서 나타나듯이 흡수선량 0.5, 1 kGy에서는 완벽한 멸균력을 나타낼 수가 없었다. 총치균은 대장균과 다르게 3 kGy부터 멸균력이 나타났다. Table 8 비모수 검정 방법에서 0.5, 1 kGy는 근사유의확률(양측)이 각각 0.020, 0.011로 의미상 차이가 없었으며, 흡수선량 3, 5 kGy에서는 근사유의확률(양측)이 0.006으로 통계적으로 유의하였다.

Table 7. Comparison of volumes of survived *S. mutans* depending on the absorbed dose of Electron-beam.

	Sample Number						Mean ±SD
	1	2	3	4	5	6	
Control	-	-	-	-	-	-	1.2 × 10 ³ ±208
0.5a	30*	<10	40	35	50	30	30.83 ±16.85
1	<10	15	10	<10	200	<10	37.5 ±79.85
3	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10
5	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ±<10

Values are mean±standard deviation(n=6)
* : colony forming unit/ml
a : Absorbed Dose(kGy)

Table 8. Test statistic of *S. mutans* depending on the absorbed dose of Electron-beam.

Mann-Whitney Test		
Absorbed Dose(kGy)	Result	P-value
0.5	-2.334	0.020
1	-2.546	0.011
3, 5	-2.761	0.006

P<0.01

IV. DISCUSSION

3D 프린팅은 다양한 산업 분야에서 활약하고 있으며, 의료분야에서도 응용연구 및 의료기기 제작 관심이 높아지고 있다.

최근 골 질환 환자에게 3D 프린팅 맞춤형 임플란트를 이식하였다. 인공 구조물 재료로 HA를 사용하며, 최근 주목받고 있다.^[14] HA 의료기기를 제공하기 전에 ISO에 따른 감마선 멸균법이 세분되어 있지만, HA는 정확한 흡수선량 수치가 명시되어 있지 않고, 보편적으로 사용되는 흡수선량 25 kGy를 조사하고 있다.^[6] 25 kGy 조사는 많은 시간이 소요되며, 경제적 비용도 높아지게 된다. 또한, 의료기기 제품에 특성을 변화시킬 가능성도 존재한다.

국내 식품 멸균법에서 10 kGy 이상의 조사를 권

장하고 있다. FDA, ISO에서 방사선 멸균 후 식품에는 영향이 없다고 보고하였으나, Global Harmonization Initiative는 국가별 식품멸균에 관한 흡수선량 차이를 나타내고 있으며, 최근 EU는 방사선 식품멸균의 양이 감소하고 있는 것으로 보고하며, 방사선 관련분야에서 국가 규정 및 국제적 방사선 식품조사의 통합적 안전 프로그램을 권장하고 있다.^[6,15] 각 국가 규정이 다른 방사선 식품조사에서 안전사고뿐만 아니라 예측 불가능한 식품 안전성을 보장하기 위해 저흡수선량으로 균의 사멸을 나타내어 식품 안전성을 보장하고자 한다.

본 연구에서는 HA의 감마선, 전자선 멸균 적절한 흡수선량을 제시하여 의료기기 제공에 있어 좀더 경제적이며, 안전한 흡수선량 수치를 제시하고자 한다.

V. CONCLUSION

본 연구에서는 감마선, 전자선 각각 0, 0.5, 1, 3, 5 kGy 저흡수선량 조사 후 대장균과 충치균의 사멸력을 분석하고, 세포 증식의 변화 차이를 알아보았다.

소결 전과 후의 SEM 결과는 2-3 μm의 입자크기를 나타내어 관찰 전의 결과와 차이가 없음을 알 수 있었으며, XRD에서는 TCP와 다른 성분 검출이 나타나지 않았다. 즉, 고준위 전리방사선 조사 전후 HA 물리적 특성 변화가 없었다.

감마선, 전자선 0.5 kGy 조사 후 HA 디스크의 대장균 멸균은 각각 0.18, 0.07 %이었으며, 충치균은 0.5 kGy에서 각각 4.73, 3.04 %로 감염 예방으로 부족한 흡수선량이었다. 감마선과 전자선 멸균을 위해서는 흡수선량 대장균 1 kGy 초과; 충치균 3 kGy 초과에서 99.9 % 멸균력을 보여주었다. 이는 현재 멸균을 위해 고흡수선량을 권장하는 수치에 비해 상당히 낮은 수치이다.^[6] 의료기기 세분화에서 HA의 멸균 흡수선량은 25 kGy보다 낮은 권장 수치를 고려해야 한다. 그러나, 균의 종류에 따라 흡수선량 별 멸균력이 달랐다.

저흡수선량 감마선, 전자선에서 HA 디스크의 살균 효과는 우수하기 때문에 의료 및 치과 분야에서 다양한 의료기기를 살균하는데 광범위하게 사용될

수 있다. 그리고 대장균과 충치균의 방사선 감수성 때문에 멸균에 필요한 흡수선량이 달랐다. 세균별 방사선 내성이 다르므로 이는 새로운 유형의 의료 기기 멸균을 충족시키기 위해서는 적절한 전리방사선 멸균 흡수선량에 관한 다양한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Reference

- [1] B. R. Kim, "A study on an introduction of a medical device clinical evaluation", The Graduate School. Yonsei University, 2020.
- [2] E. Tartari, V. Weterings, P. Gastmeier, J. Rodríguez Baño, A. Widmer, J. Kluytmans, A. Voss, "Patient engagement with surgical site infection prevention: an expert panel perspective", Korean Journal Society of Manufacturing Process Engineers, Vol. 14, No. 3, pp. 1-8, 2015.
- [3] D. C. Kim, J. W. Kwon, J. H. Jung, S. M. Kim, "Safety and Performance Evaluation Method of Implantable Medical Device Based on Advanced Technology", Korean Society of FDC, Vol. 13, No. 2, pp. 125-131, 2018.
- [4] S. M. Yu, K. Y. Park, E. Y. Yun, "A Survival Analysis of Nosocomial Urinal Tract Infection", Kor. J. Data Anaysis Society, Vol. 12 No. 3, pp. 1351-1363, 2010.
- [5] FDA, "Ethylene Oxide, Ethylene Chlorohydrin, and Ethylene Glycol: Proposed Maximum Residue Limits and Maximum Levels of Exposure", Food and Drug Administration; Washington, DC, USA: 1978. 43 FR 27474
- [6] ISO, "Part-2: Establishing the Sterilization Dose", 11137-2, 2013
- [7] J. H. Nam, J. H. Shin, J. Y. Lee, D. H. Lee, "Effects of ionizing and ultraviolet radiation on microbial mutation and DNA damage", Korean Journal of Microbiology, Vol. 53, No. 1, pp. 20-28, 2017.
- [8] KCDC, "Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities." Korea Center for Disease control & prevention, 2014.
- [9] S. H. Kim, E. T. Park, J. H. Kim, "Study of Police Response to Radiation Accidents and Terrorism", Journal of the Korean Society of Radiology, Vol. 11, No. 7, pp. 646-653, 2017.
- [10] Y. Jeong, J. H. Choi, E. K. Kim, S. M. et. al, "Actual Disinfection and Sterilization Control in Korean Healthcare Facilities", Journal Korean Academy of Fundamentals of Nursing, Vol. 21, No. 4, pp. 392-402, 2014.
- [11] MFDS, "A Study on safety management plan for 3D-Printed Medical Device", Korean Ministry of Food&Drug Safety, 2015
- [12] MFDS, "Evulation for sterilization and packing effectiveness of dental implant", Korean Medical device department, 2015.
- [13] C. Santos, P. S. Gomes, J. A. Duarte, R. P. Franke, M. M. Almeida, M. E. V. Costa and M. H. Fernandes, "Relevance of the sterilization-induced effects on the properties of different hydroxyapatite nanoparticles and assessment of the osteoblastic cell response", Journal of the Royal Society. Interface, Vol. 9, No. 77, pp. 3397-410, 2012.
- [14] T. Y. Kim, J. S. Lee, S. J. Hong, H. S. Kim, K. R. Kwon, "Full mouth rehabilitation of patient with severe dental caries with implant fixed prosthesis fabricated with milling and 3D printing method : a case report", The Journal of Korean Academy of Prosthodontics, Vol. 57, No. 3, pp. 288-295, 2019.
- [15] Tatiana Koutchma, Larry Keener, Heidi Kotilainen, "Discordant international regulations of food irradiation are a public health impediment and a barrier to global trade", Global Harmonization Initiative, 2018.

감마선, 전자선에 의한 멸균 비교분석

정경환,¹ 박창희^{1,*}

¹대구보건대학교 방사선과

요 약

현대사회의 노인 인구는 첨단 의료기술과 최소 침습 수술로 인해 빠르게 성장하고 있다. 따라서 의료기기를 사용하는 경향이 증가하기 때문에 병원성 감염이 우려된다. 따라서 현대 의학의 최우선 목표는 감염 예방이다. 최근 3D 프린팅을 이용하여 환자 맞춤형 임플란트 이식술이 늘고 있다. 대표적 재료로 이용되는 것이 수산화인회석이다. 현재 HA 디스크 멸균을 위한 흡수선량 기준이 없으므로, HA 디스크 표면에 오염된 대장균과 충치균을 감마선 코발트와 선형 가속기를 이용하여 각 흡수선량 0, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 kGy로 조사 후, 십진 희석법으로 검체에서 균 수를 측정하였다. 멸균 후 대장균, 충치균의 생존 비교분석을 위해 비모수 검정법을 시행하였으며, 그 결과 대장균은 1 kGy 이상, 충치균은 3 kGy 이상에서 멸균되었다. 방사선 멸균 흡수선량 권고사항보다 낮은 수치에서 멸균을 시행하는 것도 가능할 것으로 생각된다.

중심단어: 멸균, 감마선, 전자선, 대장균, 충치균

연구자 정보 이력

	성명	소속	직위
(제1저자)	정경환	대구보건대학교 방사선과	겸임
(교신저자)	박창희	대구보건대학교 방사선과	교수