

## 滅菌製劑工程의 Validation

金 吉 洙  
梨花女子大學校 藥學大學

### Validation of Sterilization Process

Kil Soo Kim

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

Validation이란 용어는 1970년대에 우리나라에 GMP개념이 도입되면서 처음 사용되기 시작하여 지금은 흔히들 사용하면서도 그 개념은 아직도 정확히 이해되고 있지 않은 것 같다.

제약공업에서의 validation의 적용범위는 아주 광범위하며 제조기기, 제조공정, 조직, 인원 등에 그 개념을 도입하여 관리하고 있다. 따라서 본 란에서는 validation의 일반적인 개념을 서술한 후 액상제제 특히 무균제제에 대한 validation 중 멸균공정에 대하여 상술하고자 한다.

#### Validation의 정의

T. Byers : 어느 공정에 있어서 그 공정이 목적하고 또한 기대하고 있는대로 작동함을 합리적으로 보증하기에 충분한 증거를 최신의 과학 및 제제기술을 적용하여 획득하고 그 기록을 작성하는 것.

C. Broker : 어느 공정에 있어서 각 단계나 기타 요인이 발생되지 않는 경우에 적절히 관리되고 있다는 전제로 그 방법은 품질이 우수한 제품을 재현성있게 제조하고 있음을 실증하는 것(합리적 높은 수준의 보증).

FDA 제안 : Process validation은 특정 어떤 제품을 미리 설정한 규격 및 품질특성에 적합하도록 재현성있게 생산할 수 있다는 것을 높은 수준으로 보증하는 기록화된 과정.

위의 정의를 종합해보면 process validation은 어떤 제조공정에 필요한 장비, 그 장비의 작동조건, 원료조건, 공정순서 등 모든 조건이 이 공정을 거쳐 생산된 제품이 미리 설정된 기준에 적합한 제품을 재현성 있게 생산할 수 있다는 것을 합리적이고 이론적인 방법으로 보증하는 과정 및 이의 기록을 말하는 것이다.

예를 들면 무균 주사제 제조공정에서 멸균공정에 대한 validation은 멸균기, 측정장치, 멸균조건등이 이 기기를 사용하여 설정된 조건에서 멸균한 제품이 무균임을 보증할 수가 있어야 하며 그러기 위하여 그 조건을 이론적인 배경으로 설정하는 과정으로 설명할 수 있다.

의약품 제조공정에서의 validation 역사를 보면 1976년 FDA가 메트릭연구소에서 생산된 주사제가 이 회사의 품질 검사에서는 합격판정을 받았으나 시판제품 중에서 세균에 오염된 것이 있다는 사실을 알았으며 그 원인을 조사한 결과 멸균공정에 이상이 있었음을 밝혀 validation개념이 도입되었다.

실제 멸균에서의 시료 채취 계획을 보면 1,000병을 멸균한 후에 1,000병 중 1병이 미생물에 제 7 회 제제기술 워크샵(1985. 9. 19 삼성호텔)에서 발표되었음.

오염되었을 경우 1,000명 중 무균시험용으로 20명을 시료로 했을때 무균시험용 시료중에 오염된 것이 시료로 될 확률은 0.02 즉 2%밖에 되지 않는다.

### Validation을 위한 조직

- (1) Structure
  - A. Consultant 자문위원
  - B. Task force 전문위원
  - C. Dedicated group 독립부서
- (2) 책임부서
  - A. Production 생산
  - B. Quality assurance 품질보증
  - C. Engineering
  - D. Research and development 연구개발
- (3) Validation work의 범위
  - A. General

Validation work	Tested for
Personnel	Qualifications, responsibilities
Buildings	Design, construction
Services	Water (city, deionized, distilled water for injection), lighting, heating/cooling, cleaning, ventilation, waste disposal, sanitation.
Equipment	Design, size, location, materials of construction, manufacturer's drawings, change parts, maintenance, operating parameters, cleaning.
Raw material and components	Control, testing, storage, vendor audit.
Procedures	Standard operating procedures, manufacturing direction, sampling, yield calculation, processing time limitations, microbial contamination, reprocessing.
Packing/labeling	Materials, issue of labels, expiry dating.
Warehousing/distribution	General procedures.
Laboratory controls	Testing, release, stability testing, special tests, reserve samples( <i>etc.</i> ).
Records and reports	Equipment cleaning and use, components, containers, closures, labels, master and batch production control, production record review, laboratory, distribution and complaint records, product returns.

- B. Equipment qualification
  - 1) Installation qualification (I.Q.)
  - 2) Operation qualification (O.Q.)
- C. Priority of work
  - Large volume parenterals
  - Small volme parenterals

- Ophthalmics and biologics
- Sterile solids
- Low-dose/high-potency oral solids
- Other tablets and capsules
- Oral liquids and topicals

- (4) Manpower requirements
- (5) Protocols

제조과정 중 critical point의 상세한 설명, 측정되어야 할 parameter, parameter에 대한 허용기준 및 측정방법 등이 기록되어야 한다.

- (6) Documentation

**증기멸균의 validation**—Validation의 개념이 도입되게 된 동기가 LVP의 멸균공정에 유래하듯이 무균제제에서 validation이 가장 필요한 공정이 멸균공정이며 멸균공정의 validation이 필요한 공정은 다음과 같다.

- Cleaning of containers and closures<sup>11-13)</sup>
- Cleaning of production equipment<sup>14)</sup>
- Water systems<sup>15)</sup>
- Air systems<sup>16)</sup>
- Pressure and vacuum systems<sup>17)</sup>
- Facilities<sup>18,19)</sup>
- Filling machine accuracy and consistency<sup>19)</sup>
- Calibration of instruments, sensors, measuring devices and equipment
- Sanitization and cleaning agents
- Depyrogenation of rubber closures
- Bulk manufacturing processes: e.g. weighing, temperature, pH, mixing time limitations, storage conditions, etc.
- Container/closure integrity
- Lyophilization cycles

**멸균공정의 validation**—무균제제 제조과정에서의 멸균공정의 validation은 다음의 5단계로 생각할 수 있다.<sup>10)</sup>

- (1) 제품에 대한 기대되는 특성의 결정 : 무균이어야 한다.
- (2) 기대되는 특성에 대한 규격 설정 : 멸균되지 않을 확률이  $10^{-6}$ 이 되는데 충분한 멸균공정일 것.
- (3) 적절한 공정과 장비의 선정.
  - microbial kinetic equation을 사용하여 멸균되지 않을 확률 측정.
  - bioburden을 최소한으로 줄이기 위한 장비 및 용기 세척공정 확인.
  - 적절히 조작되도록 보증된 고압멸균기의 선정, validation 시험을 위한 thermocouples, thermal sensing devices, biological indicators 배치등의 선택.
- (4) 공정, 장비, 인력 평가 및 모니터를 위한 시험의 설정 및 시행.
  - 용기에 충전하기 전 microbial load count.
  - biological indicator organism을 사용하여 D 및 Z value 측정.

- 공멸균기와 적재된 멸균기에 대한 연분포 시험.
- 멸균기에 적재된 제품의 각 부위에서의 열침투 시험.
- 시험조작의 정확도 및 신뢰도를 확인하기 위한 시험조작 자체의 검토.
- 시간과 온도를 변수로 할 때의 thermocouples의 정확도.
- 온도 및 F value 재현성과 관련된 고압 멸균기 사이클의 재현성.
- bioindicator organism의 수준을 달리한 멸균 cycle의 challenge.
- bioburden을 적게 유지하기 위한 세척공정의 신뢰도.

또한 각 공정마다 protocol을 작성하여야 한다.

**D value의 측정**—일정한 온도에서 시간에 따른 미생물수의 감소 속도를 나타낸 수치인데 일정한 수의 log감소에 필요한 시간으로 나타내며 90% 감소하는데 필요한 시간이다.

측정에 있어서는 첫째, 일정한 균수의 bioindicator 및 실험온도를 설정하여야 하며 그 다음 시간에 따른 세균수를 측정해야 한다.

- (1) 일정한 수의 세균포자를 접종시킨 현탁액 또는 spore strip을 사용
- (2) 적어도 5개를 1군으로 하여 일정한 온도에서 시간 간격을 3개로 한다.  
예) 121°, 10분, 20분, 30분(각 시간에 같은 수의 포자를 함유한 sample 5개씩)
- (3) 처음 포자수를 알기 위하여 열처리하지 않은 대조군을 둔다.
- (4) 열처리에 의하여 생존한 세균수를 colony count 등의 방법으로 계산한다.

**Survival curve에 의한 방법**<sup>6)</sup>—일정한 온도에서 시간에 따른 세균수의 log감소를 나타내면 Fig. 1에서와 같이 직선을 나타낸다. 직선의 방정식을 구하면,

$$\log N = a + bt \dots\dots\dots(1)$$

$N$ : number of surviving organism,  $a$ : Y intercept,  $b$ : slope of the line

기울기  $b$ 의 역수를  $D$  value라 한다.

$$D = \frac{1}{b} \dots\dots\dots(2)$$

Log Number of Surviving Microorganisms

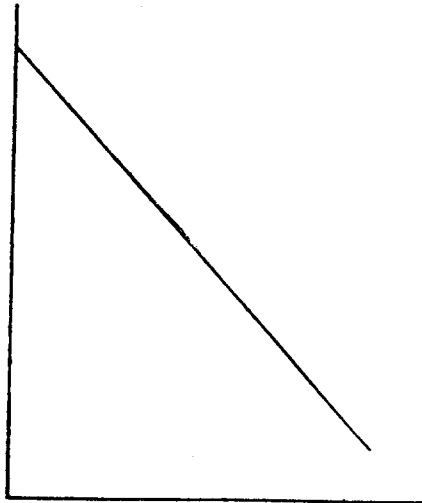


Fig. 1—Linear survivor curves.

**Fraction negative method**<sup>7)</sup>—각 시간마다 적어도 10개의 동일수의 organism을 갖는 시료를 사용하여 가열한 후 적당한 배지에서 그 균이 가장 잘 자라는 온도에서 적어도 7일간 배양하여 균이 자라지 않는 시료의 비를 기록한다.

(1) Stumbo, Murphey등에 의한 MPN method.

$$D = \frac{U}{\log A - \log B} \dots\dots\dots(3)$$

$U$ : heating time at specified temperature,  $A$ : initial number of organism on each replicate,  $B$ :  $2.303 \log(n/q)$ ,  $n$ : total number of replicates,  $q$ : number of negative replicates

이때  $D$  값은 각 측정 시간에서의  $D$  value의 평균치를 말한다.

(2) Spearman Karber method

$$D = \frac{2.3026\bar{x}}{0.57722 + \ln N_0} \dots\dots\dots (4)$$

$N_0$  : initial number of spores on each replicate.

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^k (t_{i+1} - t_i) (p_{i+1} - p_i) \dots\dots\dots (5)$$

$t_i$  : heating time,  $p_i$  : proportion of sterile tubes at  $t_i$ .

시간 간격이 동일한 때는

$$\bar{x} = t_k + \frac{d}{2} - d \sum_{i=1}^k p_i \dots\dots\dots (6)$$

$d$  : interval between heating times,  $t_k$  : first time interval showing all negative replicate.

윗 식에서의 variance는

$$V(\bar{x}) = \frac{d^2}{N-1} \sum_{i=1}^k p_i (1-p_i) \dots\dots\dots (7)$$

$N$  : number of replicates.

95% 신뢰한도 범위는

$$\bar{x} \pm 2 \sqrt{V(\bar{x})} \dots\dots\dots (8)$$

가열과 냉각시간에 따른 보정은 가열되는 제품중에 thermocouple을 넣고 온도를 측정하여 제품이 목적인 온도에 도달할 때까지 일정 간격으로 온도를 기록한다.

냉각 때도 마찬가지로 행한다.

100°C 이상 되었을 때 각시간 온도 간격마다 치사율을 계산한다.

$$L = \log^{-1} \frac{T_0 - T_b}{Z} = 10^{T_b - T_0/Z} \dots\dots\dots (9)$$

$Z$  : 10°C로 가정,  $T_0$  : 가열되는 제품의 온도,  $T_b$  :  $D$  value를 측정하는 온도(121°C).

$U$  = lethality during come up + time of product at set temperature + lethality during come down.

$U$ 를 heating time으로 하여  $D$  value를 계산한다.

**Z-value의 측정**— $Z$  value는 온도의 변화에 따른 내열성을 말하며  $D$  value 90% 변화에 필요한 온도의 변화를 측정하는 것이다.

실제 측정방법은 적어도 3개 온도를 설정하여 각 설정된 온도에서의  $D$  value를 구하여  $D$  value의 대수치와 온도와의 관계를 도면화하면 Fig. 2와 같이 직선을 얻을 수 있다. 이 직선으로 부터 다음 식에 의하여  $Z$  value를 구한다.<sup>8)</sup>

$$Z = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2} \dots\dots\dots (10)$$

다음 그림에서 기울기는 온도에 따른 치사율을 나타낸다.

**F-value의 측정**—측정된  $Z$  value를 사용하여 설정한 멸균온도에서의 유효 노출시간에 해당하는  $F$  value를 구한다.  $F$  value는 특정품목에 설정된 멸균온도(예, 121°)에서 노출된 평형 시간이며 clock time은 아니다.  $F$  value는 다음식에 의하여 계산한다.

$$F = \Delta t \sum 10^{(T-T_0)/Z} \dots\dots\dots (11)$$

$\Delta t$  : time interval for the measurement of product temperature  $T$ ,  $T_0$  : reference temperature (예, 121°).

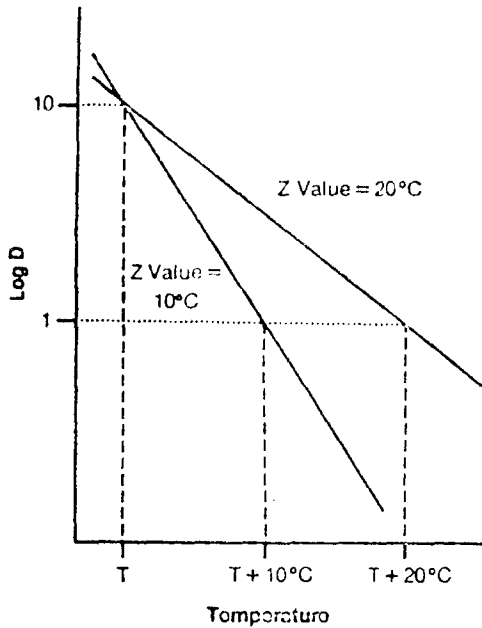


Fig. 2—Thermal resistance plots of log D versus temperature, showing slopes equivalent to Z=10°C and Z=20°C.

F value를 다른식으로 나타내면

$$F = \int_{t_1}^{t_2} L dt \dots\dots\dots (12)$$

여기서  $L=10^{(T-T_0)/Z}$ 는  $t_1$ 과  $t_2$  사이의 적분된 치사율 상수이다.

일반적으로는 F value를 Z=10°C,  $T_0=121^\circ\text{C}$ 에서 얻은 것을 많이 사용하며 이 때의 F value를  $F_0$ 라 한다.

$$F_0 = \Delta t \sum 10^{(T-121)/10} \dots\dots\dots (13)$$

Table I은  $F_0$  값의 실측예이다.

Table I에서와 같은 멸균 cycle로 멸균을 한다면 실제 멸균효율은  $121^\circ\text{C}$ 에서 5분동안 가열한 것과 같은 효율을 나타낸다. USP에서는  $F_0$ 를 적어도 8분으로 규정하고 있다.

다시 말하면 멸균기내에 멸균할 제품을 넣고 가장 온도진달이 안되는 부분이  $121^\circ\text{C}$ 에서 최소한 8분의 노출상당 시간이 필요하다는 것이다.

D value를 구하기 위한 미생물의 대수적 감소와 시간과의 관계식은 다음과 같다.

$$D_t = \frac{t}{\log A - \log B} \dots\dots\dots (14)$$

$t$ : 특정온도에서의 가열시간,  $A$ : 멸균하기전 미생물수(bioburden),  $B$ :  $t$ 시간 멸균한 후 생존한 미생물수.

위 식에서  $t$ 를 주어진 온도  $T$ 에서 노출상당 시간이라고 규정하면,

$$D_t = \frac{F_T}{\log A - \log B} \dots\dots\dots (15)$$

Table I—A manual calculation of  $F_0$  value.

Sterilization time (min)	Product temperature( $^\circ\text{C}$ )	$10^{(T-121)/10}$
5	100	0.008
6	103	0.016
7	106	0.032
8	109	0.063
9	112	0.126
10	115	0.251
11	118	0.501
12	121	1.000
13	121	1.000
14	121	1.000
15	118	0.501
16	115	0.251
17	112	0.126
18	109	0.063
19	106	0.032
20	103	0.016
21	100	0.008

$F_0=5.000\text{min}^a$

$^a F_0 = \Delta t (\sum \text{of lethal rates}) = 1 \times 4.994 = 5.0\text{min}$ ,  
 $\Delta t$  is the time interval between successive temperature measurements.

식 15로 부터

$$(\log A - \log B) = Y_n = \frac{F_T}{D_T} \dots\dots\dots (16)$$

예로서  $F_T=8$ 분,  $D_T=1$ 분이라면 미생물 감소값  $Y_n=8$  즉 특정온도  $T$ 에서  $D=1$ 분을 갖는 미생물수에서  $10^8$  감소가 충분히 이루어질 수 있다.

식 16으로부터 다음식을 유도할 수 있다.

$$B = \text{antilog}\left(\log A - \frac{F_T}{D_T}\right)$$

예를 들어  $B$ 가  $10^{-6}$ 이라 함은  $F_T$  즉 노출상당시간 이후 초기 미생물수가  $A$ 인 것이 최종적으로  $10^{-6}$ 으로 감소되어 진다는 것을 말한다. 통계적 의미로는  $F_T$ 의 멸균노출에 의하여 100만개 제품중 한개가 멸균되지 않는다는 것을 의미한다.

예로서  $121^\circ\text{C}$ 에서  $D$ 값이 1분인 미생물  $10^6$ 개는 온도  $121^\circ\text{C}$ 에서  $F_T$  12분의 멸균 cycle을 통하여 멸균하면

$$B = \text{antilog}\left(\log 10^6 - \frac{12}{1}\right) = 10^{-6} \text{이 된다.}^{9)}$$

오염될 확률을 미생물수의 대수값과 시간(특정온도에서의 상당시간)의 관계로 plot했을 때  $D$  값의 외삽으로 얻어진다. Fig. 3에서는 bioburden 수에 따른 비멸균치로  $10^{-6}$ 을 얻는데 필요한  $F_0$ 의 값을 나타낸 것으로 bioburden이 감소하면 그만큼 멸균시간을 줄일 수 있다는 것을 말해 주고 있다.

위에서 설명한 바와 같이 멸균 cycle의 결정에 절대적인 역할을 하는 것이  $F_0$  value이며 멸균기에 대하여 열분포 및 열침투 시험을 행하여 이 결과와 bioburden 수 및 비멸균치를  $10^{-6}$ 으로 했을 때의  $F_0$  값과 일치하도록 멸균 cycle을 설정하여야 할 것이다.

위에서 관찰한 바에 의하면 효과적인 멸균 즉  $B$ 의 값을 최소로 하기 위하여는 다음 세가지 방법이 있다.

- (1) Bioburden의 감소 : 용기, 제품, (2)  $F_0$  (equivalent exposure time)의 증가, (3)  $D$ -value가 낮은 미생물

실제에서 (3)항은 고정된  $D$  값의 가장 내성이 큰 미생물이 멸균점정에 이용되므로 불가능하며 멸균에 앞서 미생물수를 극소화하거나 멸균시간을 증가시켜야 한다.

멸균기의 기계적 검정 및 적격화—멸균기를 기능적으로 도시하면 Fig. 4와 같다. 멸균기에 사용되는 설비는 품질, 적절한 설치 및 오염도 등에 관하여 검사하여야 한다. 증기멸균에 있어서 중요한 것은 증기이며 또한 멸균기에 사용되는 온도계, 압력계 등 모든 장치는 반드시 calibration되어야 한다.<sup>20)</sup>

**Thermocouple의 선택과 측정—Thermo-**

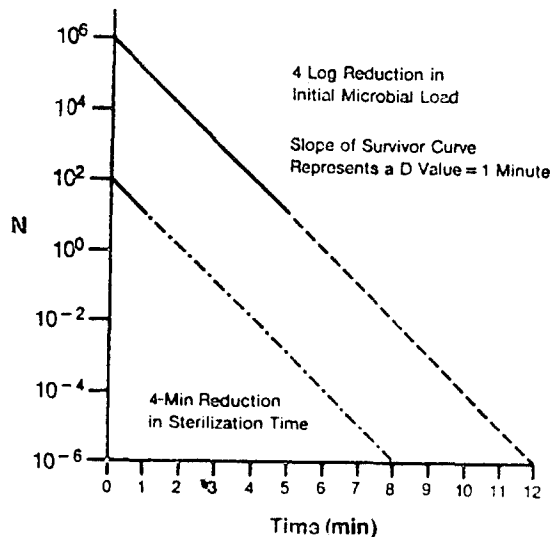


Fig. 3—Survivor curves showing the effect of decreasing the microbial load (A) from  $10^6$  to  $10^2$  on the time required to achieve a probability of nonsterility (B) of  $10^{-6}$ .

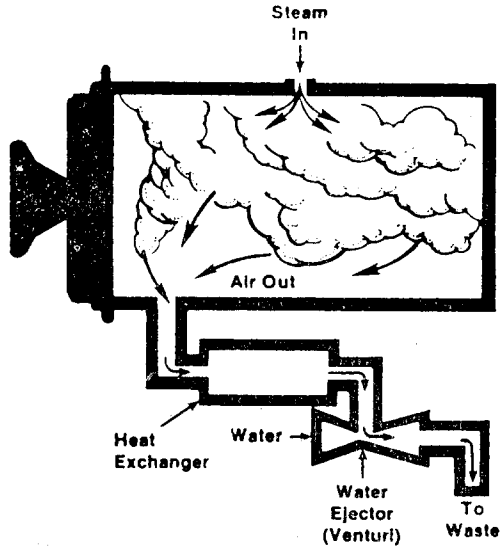


Fig. 4—The functional parts of a modern autoclave (Courtesy of American Sterilizer Company, Erie, Pennsylvania.).

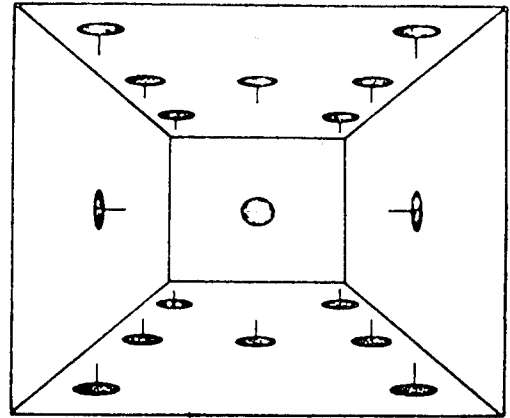


Fig. 5—Suggested locations for thermocouples on a single shelf for heat-distribution studies in heat sterilizers.

couple은 증기 멸균의 validation 및 모니터 중 계속 사용해도 충분히 견딜 수 있는 것이어야 한다. 테프론으로 피복한 copper constantan wire가 가장 흔히 사용되고 있다. thermocouple의 정확도는  $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 를 요구하며 thermocouple의 오차가 발생한다. 정확도 측정은 NBS traceable constant temperature calibration 등을 이용한다.

thermocouple의 calibration 온도가  $0.5^{\circ}\text{C}$  이상일 때는 다른 thermocouple로 교체해야 하며 기록에는  $0.1^{\circ}\text{C}$  단위로 기록할 수 있어야 한다.

**Bioindicator의 선택 및 calibration**—열에 가장 내성이 큰 미생물은 포자형인 *B. stearothermophilus*이다. 그래서 증기멸균에 가장 일반적으로 사용되고 있다. bioindicator의 사용목적은 최소  $F_0$  value를 계산하기 위한 것이며 BI의  $D_{121}$  및  $Z$  value를 정확하게 알고 있어야 한다.<sup>21)</sup>

validation에는 spore strip 또는 포자의 현탁액을 사용하며 이때는 strip당 미생물의 수 또는 현탁액의 ml당 포자수를  $D$  value와 같이 정확하게 알고 있어야 한다.

**열분포 시험(heat distribution)**—열분포 시험은 (1) 공멸균기내에서의 열분포 시험, (2) 적재된 멸균기 내에서의 열분포 시험 등 두 단계로 나눈다.

thermocouple의 수는 10~20개를 사용하여 배열에 따라 멸균기 chamber내에 위치하게 하고 테프론 테이프로 thermocouple을 지지하게 하고 tip은 고압멸균기 내벽 또는 다른 금속표면과 접촉하게 해서는 안된다. thermocouple 1개씩을 ice bath와 oil bath에 넣어 각cycle 마다 온도를 관측하여 보정해 준다. 열분포 시험에서는 chamber내의 cool spot의 위치 및 cool spot의 load size 및 configuration에 의한 영향 등을 측정한다. chamber 내의 평균온도와 가장 찬 곳의 온도의 차이가  $2.5^{\circ}\text{C}$ 를 초과해서는 안된다.  $1.0^{\circ}\text{C}$  이상이 되면 chamber 내에 공기 기류의 혼입을 예상케 한다.

Fig. 5에서는 멸균기 chamber 내의 thermocouper의 위치를 말해 준다.



**열침투 시험(heat penetration studies)**—validation 중 가장 중요한 부분이라고 할 수 있다. validated cycle의 성공여부는 열분포 연구에서 적재된 chamber내의 가장 찬곳에 위치한 제품 내부의 찬부분의  $F_0$  value를 구하는데 달려있다. 그러기 위해서는 열침투 시험을 정확히 해야 한다. 열분포 연구에서 chamber 중 온도가 가장 낮은 곳에 용기내 thermocouple의 probe를 넣고 다시 cycle을 되풀이하여 열침투 시험을 한다. 증기의 출구, 온도가 낮은 위치의 용기 내외에 thermocouple을 놓고 시험하여 최소 및 최대 loading configuration을 구한다. 이 조작을 되풀이하여 재현성을 통계적으로 처리하여 충분히 인정할 수 있어야 한다.

가압멸균 공정에 중요한 시간은 최소  $F$  value, design  $F$  value 및 멸균공정 시간등 3가지이며<sup>22)</sup> 최소  $F$  값은 미생물 아포 파괴에만 기초를 둔 것이며, design  $F$  값은 최소  $F$  값에서 열침투, 열분포등을 기초로 하여 일반적으로 50% 안전도를 부가하여 설정한 것이며, 예를 들어 최소  $F_0$  값을 8분이라면 design  $F$  값은 12분이 된다. 멸균공정 시간은 열침투 시험에서 열전달이 가장 느린 지역에 위치한 용기의 열변화에 기준을 두어 계산한다.

validation의 마지막 단계는 validated cycle이 앞으로도 항상 일정하게 유지될 수 있다는 것을 확인하는 monitoring program의 확립이다.

load size, load configuration, 용기등의 변화가 있을 때는 validation을 다시 하여  $F_0$ 치 등을 구하여야 한다.

**건열멸균 validation**—제약공업에 이용되고 있는 건열멸균은 hot air oven과 tunnel system의 두가지 방법이다. 건열멸균 validation의 주안점은 재현성을 입증하는 것이다. 건열멸균의 재현성은 원하는 온도에 도달하여 그 온도를 유지하기 위한 지속성과 신뢰도를 의미한다.

증기멸균에서의 마찬가지로 멸균실 내의 모든 부위가 원하는 온도에 도달할 수 있어야 하며 그래서 반드시 멸균실 내의 가장 가열되기 어려운 곳을 확인하여야 한다.

다른 멸균에서의 마찬가지로 건열멸균기 validation의 첫단계는 멸균기에 사용하는 모든 장비와 기구의 적격성 시험이다.

일반적으로 사용되는 기구는 다음과 같다.

(1) 온도기록계와 thermocouple, (2) 항온조, (3) ampere meters, (4) manometers, (5) 디옥틸프탈레이트발생장치, (6) velometers, (7) tachometers (유속계).

calibration은 일정한 간격으로 시행되어야 하며, Simmons 등은 3개월의 특정간격을 권유하고 있다.

건열멸균기에서 시행하는 validation은 다음과 같이 2가지로 구분할 수 있으며 그 하나는 온도 조절, 공기 이물질수준, 벨트속도와 같은 물리적공정이며, 다른 하나는 미생물, pyrogen 파괴공정 등 생물학적 validation이다.<sup>23,24)</sup>

**Batch oven validation**—(1) air balance 측정 : 빈 오븐 내의 흡배기공기의 유속에서 자료가 얻어지며, 멸균지역은 항상 양압이 유지되어야 하며 문의 개방에 따라 이동하는 유속은 평균  $\pm 50$ FPM이다.

(2) empty chamber의 열분포 : 미리 정한대로 thermocouple을 고정시키고 온도의 재현성 및 온도분포의 최고 및 최저의 차이를 측정한다. 온도범위는  $\pm 15^\circ\text{C}$ 로 한다. 열분포 시험은 hood duct로 통하는 공기의 유속과 멸균 버너까지의 기체 유속을 함수로하여 측정한다.

(3) 열침투 시험 : 열침투 시험의 목적은 멸균기내의 제품에서 가장 온도 전달이 되지 않는 부위를 찾아내는 것이다. 이 실험은 실제로 biological challenge study를 위하여 필요한 것이다.

열침투에 영향을 주는 인자는 a) 시험 적재 변수, b) 온도 set point 변수, c) 노출시간 변수 등이다.

(4) 기계적 재현성 : 공기의 속도, 온도의 균일성, 오븐과 기계조질장치들의 재현성과 감도등, 기계적 재현성의 정도를 확실히 해야 한다.

**Tunnel sterilizer validation**—(1) Air balance determination, (2) 열분포 연구, (3) 열침투 연구, (4) 기계적 재현성<sup>25,26)</sup>

**Biological process validation of dry heat sterilization cycles**<sup>27)</sup>—(1) sterile : microorganism, survival approach, (2) Pyrogen free : microbial endotoxine, overkill approach(excessive heat,  $F_0$  value 12min), endotoxin : *E. coli* lipopolysaccharide

endotoxine 측정법은 limulus amebocyte lysate test (LAL test)이며,

$$F_{\text{endo}} = \Delta t \sum 10^{T-170/54}$$

**Validation of ethylene oxide sterilization cycle**—문제점은  $D$  값을 구하기 위한 변수가 열, 에틸렌옥사이드의 농도 및 상대습도 등 3가지가 되며 따라서 미생물 치사의 kinetics를 구하기 힘들다는 것이다.

**Radiation sterilization cycle의 validation**—Health Industry Manufacturers Association에 의하여 제안된 방사선멸균의 validation의 5단계 approach는 다음과 같다.<sup>28)</sup>

(1) 방사선 조사 전의 제품의 microbial load를 구한다.

(2) 제품에서의 natural flora에 대한  $D$ 값을 산출한다.

(3) natural flora가 biological indicator 보다 방사선에 대한 저항성이 약하다는 것을 증명하기 위해 제품에 대하여 biological indicator를 사용하여  $D$  값을 구한다.

(4) 제품내에 위치한 biological indicator spore strips의  $D$  값을 측정한다. 제품내의 최저 방사선 용량 점의 위치를 결정한다. 제품에 대한  $10^{-6}$  미멸균치 확률에 필요한 용량을 결정한다.

(5) biological indicator의  $D$ 값이 용량 변화율의 함수로서 변화하는지의 여부를 결정한다. 코발트 60에서는 용량 변화율 차는 무시될 수 있으나(variance : 0.1~0.5Mrad/m), 진자광살균에서는 분당 수 Mrads의 용량변화율의 편차가 발생한다.

## 문 헌

1. C.C. Mascoli, Should end-product sterility testing continue? *Med. Device Diag. Ind.* 3, 8 (1981).
2. F.W. Bowman, The sterility testing of pharmaceuticals. *J. Pharm. Sci.* 58, 1301 (1969).
3. R.R. Ernst, K.L. West, and J.E. Doyle, Problem areas in sterility testing. *Bull. Parenter. Drug Assoc.* 23, 29 (1969).
4. L.F. Knudsen, Sample size of parenteral solutions for sterility testing. *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. ed.* 38, 332 (1949).
5. J.H. Brewer, In *Antiseptics, Disinfectants, Fungicides, and Sterilization* (G.L. Redish, ed.), 2nd ed., Lea & Febiger, Philadelphia pp.160-161 (1957).
6. Validation of Steam Sterilization Cycles, Technical Monograph No.1, Parenteral Drug Association (1978).
7. I.J. Pflug, and R.G. Holcomb, Principles of thermal destruction of microorganisms. In *Disinfection, Sterilization and Preservation*, 2d ed. (S.S. Block, ed.), Lea & Febiger, Philadelphia pp.933-944. (1977)

8. Validation of dry heat processes used for sterilization and depyrogenation, Technical Report No.3, Parenteral Drug Association, Inc. (1981).
9. I.J. Pflug, Sterilization: science, not art. *Med. Device Diag. Ind.* pp.8-9 (March 1981).
10. Anon., Process validation in drug manufacture. *Drug Cosmet. Ind.* p.46 (August 1980).
11. P.T. Feldsine, E.W. Ferry, R.J. Gauthier, et al. A new concept in glassware depyrogenation process validation, *J. Parenter. Drug. Assoc.* **33**, 125 (1979).
12. M. Korczynski, Concepts and issues: container/closure microbial validation. *J. Parenter. Drug. Assoc.* **34**, 327 (1980).
13. R.T. Wood, Validation of elastomeric closures for parenteral use: an overview. *J. Parenter. Drug. Assoc.* **34**, 286 (1980).
14. T.L. Grimes, D.E. Fonner, J.C. Griffin, et al., An automated system for cleaning tanks and parts used in the processing of pharmaceuticals. *Bull. Parenter. Drug Assoc.* **31**, 179 (1977).
15. H.C. Kuhlman, Technical processes in the production of water for injection. *J. Parenter. Drug Assoc.* **35**, 54 (1981).
16. R.I. Gross, Testing of laminar flow equipment. *J. Parenter. Drug. Assoc.* **32**, 174 (1978).
17. R. Duberstein, and G. Howard, Sterile filtration of gases: a bacterial aerosol challenge test. *J. Parenter. Drug Assoc.* **32**, 192 (1978).
18. D.F. McQuillen, Design and testing of pharmaceutical sterile rooms. *Pharm. Tech.* p.44 (Nov. 1981).
19. G. Prout, Validation and routine operation of a sterile dry powder filling facility. *J. Parenter. Drug Assoc.* **36**, 199 (1982).
20. P.L. Simmons, Sterilizer validation. *Pharm. Tech.* **2**, 69 (1979).
21. R.A. Caputo, and C.C. Mascoli, The design and use of biological indicators for sterilization-cycle validation. *Med. Device Diagn. Ind.* p.23 (Aug. 1980).
22. I.J. Pflug, Monitoring the sterilization process. In *Syllabus for Introductory Course in the Microbiology and Engineering of Sterilization Processes*, 2d ed. Parenteral Drug Association, Inc., Philadelphia pp.19.2-19.4 (1978).
23. P.L. Simmons, Validation of dry heat sterilizers. *Pharm. Engineer* p.38 (May-July 1981).
24. P.L. Simmons, *Hot air and continuous sterilization*. Pharmaceutical Manufacturers Association p.27 (1978).
25. S. Wegel, Short time sterilization of glass materials under ultraclean conditions. *Bull. Parenter. Drug Assoc.* **23**, 122 (1974).
26. M.J. Akers, K.E. Avis, and B. Thompson, Validation studies of the Fostoria infrared tunnel sterilizer. *J. Parenter. Drug Assoc.* **34**, 330 (1980).
27. M.J. Akers, K. Ketron, and B. Thompson, F value requirements for the destruction of endotoxin in the validation of dry heat sterilization/depyrogenation cycles. *J. Parenter. Drug Assoc.* **36**, 23 (1982).
28. Report No.78-4.2 Medical Device Sterilization Monographs, *Sterilization Cycle Development*, Health Industry Manufacturers Association.
29. *Pharmaceutical Process Validation*, Loftus and Nash, Marcel Dekker, Inc., New York.