

둘 째 날

식품제조 검사 시 품질관리

김 경 민 대리
(바슈롬 코리아)

식품제조 검사 시 품질관리

바슈름 코리아 김 경 민

A. 품질보증(Quality Assurance)의 개념

1. 품질이란 무엇인가 ?

- 1) 고객의 명시적 또는 묵시적 요구를 만족시켜 줄 능력을 지니는 특정전체(사용목적에의 적합도, 제품에 대한 소비자요구의 반영도 또는 합치도)
- 2) 제품이 출하된 후 사회에 미치는 총 손실(손실이 적을수록 품질이 좋다)
- 3) 품질 : 어떤 실체가 지니고 있는 명시적 요구 및 묵시적 요구를 만족시켜 줄 능력에 관계되는 특성의 총체
- 4) 품질관리 : 품질요구사항을 충족시키는데 사용되는 운영상의 기법 및 활동
- 5) 품질보증 : 어떤 실체가 품질요구사항을 충족시킬 것이라는 적절한 신뢰를 주기 위하여 품질 시스템 내에서 실시되고 필요에 따라 실증되는 모든 계획적이고 체계적인 활동
- 6) 품질시스템 : 품질경영을 실행하는데 필요한 조직 구조, 절차, 공정 및 자원
- 7) 품질경영 : 품질방침, 목표 및 책임을 결정하고 또한 품질시스템내에서 품질기획, 품질관리, 품질보증 및 품질개선과 같은 수단에 의해 이들을 수행하는 전반적인 경영 기능의 모든 활동

2. 품질시스템

- 1) 품질방침 : 경영이념, 철학 - 고정적 부분
- 2) 품질목표 : 품질방침을 도달하기 위한 구체적 수치
- 3) 품질시스템
 - 품질방침 ----- 목표, 기대, 효과
 - 매뉴얼 ----- 관리방식범위
 - 절차서 ----- 기능 단위간 업무
 - 지침서, 양식, 표준 ----- 상세한 업무

3. 품질경영이란?

- 1) 기업의 기본적인 사명 ; 좋은 품질을 창조하여 고객만족과 사회에 공헌
- 2) 21세기의 품질 : 최고의 품질만이 살아 남는 고품질, 글로벌, 판매자 위험부담시대
- 3) 품질경영 실현을 위한 기본적인 자세
 - ① 품질과 코스트
 - ② 불량에 대한 재인식
 - ③ 품질경영의 실현 : Product 차원, Process 차원, Personal차원
- 4) QM(Quality Management)의 기본이념 : 고객중시/만족, 품질제일주의, 인간성 존중, 사회에의 공헌
- 5) QM의 접근단계
 - 고객(고객의 요구 : Quality, Cost, Delivery), Product Quality, Management Quality, Personal Quality

4. QM의 발전

시장생존 (QC단계)	시장확보 (QA단계)	시장선도 (TQC단계)	우량기업 (TQM단계)
품질통제시대 통제지향의 활동	품질시스템시대	품질전략시대 기업문화/행동변화	QM문화시대 지향의 활동

5. QM의 9대 핵심요소

- 1) 고객중심 기업문화로의 변화
- 2) 구성원 행동의식의 변화
- 3) 간부의 리더쉽 발휘
- 4) 인재육성과 인적자원 활용(우량기업의 기준)
- 5) 전사적 품질정책과 전략
- 6) 계획, 관리와 지속적 개선
- 7) 실적에 의한 관리와 과학적 기법의 활용
- 8) 장기적인 성과의 평가
- 9) 협력관계의 증진과 사회적 책임

6. 제품의 품질 - 5M 1E

- 1) Man OJT, 교육프로그램, 의식교육
- 2) Machine : Total Production Maintenance
- 3) Measurement : Gage R & R(반복적 및 재현성)
- 4) Materials : 수입검사 / 검사 데이터 활용, 외주관리
- 5) Method : 작업표준
- 6) Environment

7. 국제표준화기구(ISO)

- 명칭 및 설립 : International Organization for Standardization(1947년에 설립)
- ISO Family : ISO기술위원회에서 제정한 품질경영과 품질보증에 관한 국제규격
- 인증규격 및 범위
 - ISO 9001(KS A 9001)품질시스템 ;
설계, 개발, 생산 설치 및 부가서비스에 대한 품질보증모델(20개 항목)
 - ISO 9002(KS A 9002)품질시스템 ;
생산 설치 및 부가서비스에 대한 품질보증모델(19개 항목)
 - ISO 9003(KS A 9003)품질시스템 ;
최종 검사 및 시험에 대한 품질보증모델(16개 항목)

8. 품질시스템 인증제도

- 1) ISO 9000 품질시스템의 요건과 용어 이해
- 2) ISO 20가지 요건과 품질 매뉴얼, 사규(절차서, 규정)를 접속하고 이행, 시행조치, 개정
을 지속
- 3) 업무처리절차 : 표준화, 간단화, 명료화(계획은 철저히, 실행은 신속히)
- 4) 사규 . 준수의 인식도 고취
- 5) 업무분장(책임과 권한)
- 6) 정해진 절차에 따라 업무, 고객 입장에서 보증활동 업무 인식
- 7) 문서, 자료 및 기록 : 작성일자, 검토, 승인
- 8) 자기개발과 회사의 발전을 위하여 지속적인 교육
- 9) 고객 : 외부고객과 내부고객으로 구분하여 고객만족 - 나의 고객은 누구인가를 인식

9. 품질시스템 개발과정

(1) 단계별 추진방법

- 1) 정보수집 및 분석
- 2) 현황과악
- 3) 추진계획수립
- 4) 추진조직구성
- 5) 추진자 교육
- 6) 품질시스템 수립 및 문서화 : 품질시스템 수립, 품질시스템의 문서체계, 품질 매뉴얼 작성
- 7) 품질시스템 시행 : 시행전 교육, 시행, 수정 및 보완
- 8) 품질시스템 유지개선

(2) 품질문서 작성

1) 개요

- 절차 : 활동을 수행하기 위해 규정된 방법
- 절차서 : 활동을 수행하기 위하여 규정된 방법을 기술한 문서
(5W 1H에 근거하여 작성한다)

2) 절차서 작성 포인트

- 절차의 적용범위, 목적, 용어의 정의, 책임과 권한을 명확히 한다.
- 개정의 빈도가 많지 않도록 배려한다.
- 간결하고 알기 쉬운 것으로 한다.
- 문장별로 5W 1H 원칙을 준수한다.
- 현실에 벗어난 이상적인 요건 설정을 지양한다.
- 업무흐름에 따라 순서적으로 기술한다.
- 모호한 표현을 하지 않는다.

3) 절차의 문서화 추진 순서

- 문서와 대상업무 선정. 문서화 분류 체계 설정, 문서화 계획 수립, 문서화 추진계획의 실시
- 문서의 검토 및 승인, 문서의 등록 및 발행, 문서의 배포, 문서의 효력발생, 주지의 철저

B. Microbiological Environmental Monitoring Program

1. 서론

1) 목적

식품 또는 의약품 및 장비의 제조에 있어서의 미생물의 Control 개념 및 원리를 정의하고 한다. 비록 Non-viable particulate와 endotoxin testing data 역시 제조라인의 환경에 매우 중요한 역할을 하나 여기서는 미생물적인 측면에서만 언급한다. 우수한 생산환경을 유지하기 위해서는 Microbiological Control Program은 다음과 같은 조건에 의해 뒷받침되어야 한다.

- a. Sound facility design and maintenance
- b. Documentation system
- c. Validated/qualified decontamination procedures
- d. Reliable process control
- e. Good housekeeping practices
- f. Effective area access controls
- g. An effective training and performance program
- h. Quality assurance of materials and equipment

2) 미생물 환경관련용어의 정의

a. Alert levels - 잠재적인 미생물오염(drift) 위험수준(quality level)

미생물수가 이 기준을 벗어나면 이것은 정상적인 환경에서의 잠재적인 이탈을 의미하며 더 많은 환경검사가 요구된다. 그러나 직접적인 미생물오염 제거활동은 요구되지 않는다.

b. Action levels - 실질적인 미생물오염(drift) 위험수준(quality level)

미생물수가 이 기준을 벗어나면 이것은 정상적인 환경에서의 실질적인 이탈을 의미하며 직접적인 미생물오염 제거활동이 요구된다. Alert level과 Action level은 많은 데이터를 근거로 하여 통계적으로 얻어지며 이 수준(limit)은 항상 두 수준(Alert level과 Action level)을 요구하는 것은 아니다.

c. Manufacturing process

Manufacturing process은 다음과 같은 공정을 포함한다.

- Sampling, testing, inspection support functions
- Material handling, product processing, fabrication and formulation, product filling and packaging

d. Process control parameter

이것은 생산품의 동일성(identity), 강도(strength), 품질(quality), 순도(purity) 등에 잠재적인 영향을 미칠 수 있는 Manufacturing process와 관련된 조건을 말한다(예 ; process rate of flow, weight, volume, temperature, pressure).

e. Environmental control parameters

이것은 생산품의 동일성(identity), 강도(strength), 품질(quality), 순도(purity) 등에 잠재적인 영향을 미칠 수 있는 Manufacturing process에서 이용되는 장비(facilities & equipment)와 관련된 조건을 말한다(예 ; Air flow rate와 pattern, pressure differentials, materials, personnel flow, temperature, relative humidity, foreign substance의 bioburden(non-viable and viable particulate).

f. Aseptic filling

이것은 무균환경에서 멸균된 제품이 멸균된 용기에 포장되는 공정을 말한다.

g. Terminal sterilization

이것은 포장이 완료된 제품을 멸균하는 공정을 말한다.

3) 감시절차(Surveillance Procedures)

a. Microbiological concepts

데이터는 GMP(Good Manufacturing Practices)와 상응한 방법으로 얻어야 한다. Environmental program (EP)을 감독, 수행하는 사람은 관련전공교육과 적당한 교육을 받았어야 하며 자격부여가 되어 있어야 한다. 검사에 이용되는 장비는 calibration되어야 하며 준비된 배치와 모든 절차는 기록되어야 한다. 절차에는 대조구가 따라야 한다. 미생물적 감시 프로그램을 수행하기 위해서는 out of control 조건인 장소에 대해 기록화 된 시스템이 있어야 하며 부가적으로 데이터에 상응하여 취해지는 활동의 verification을 위한 피드백 메카니즘이 있어야 한다.

Out-of-control의 상황이 발생하였을 때에 두 가지의 일이 발생할 수 있다.

첫째는 validation된 baseline의 이탈이다. 무엇이 일어나고 이 문제를 해결하는데 무엇이 필요한지를 결정하기 위하여 조사가 요구되어진다.

둘째는 out-of-control의 상황이 심각한 문제를 나타낼 수도 있다. Alert과/또는 action level의 처리를 가능하면 언제든지 계속적으로 할 수 있도록 논리적인 조사와/또는 시정조치활동이 미리 설정되어 있어야 한다. 조사활동의 목적은 관찰된 환경수준의 이탈정도와

이탈의 원인(오염원)사이의 원인-결과 관계를 설정에 있다.

조사/시정조치활동은 일반적으로 평소보다 더 강력한 활동(부가적인 시료채취, 검사, 반복적인 오염제거절차, 다른 검사 결과의 검토, 미생물의 동정, 시스템 validation방법의 재검토)을 포함한다. 다음의 표는 여러 부분에서의 연속적인 이탈시의 시정조치활동이 무엇인지를 서술하였다.

System for a Company	Investigative Possible Corrective Action
Compressed Air (sterilizer over pressure air)	<ul style="list-style-type: none"> - Repeat test immediately - Perform Gram stain on colonies - Replace air filter if excursion confirmed on retest
Room air (Filling room)	<ul style="list-style-type: none"> - Review level of personnel activity - Inspect incoming air filters - Review room decontamination procedures - Check area pressure differentials - Review risk to product
Facility surfaces (Filling room)	<ul style="list-style-type: none"> - Review relevant recent data at same sites and subsequent monitoring results available - Look for possible source - Evaluate decontamination practices - Check on possible unusual events during manufacturing operation - Examine areas during usage - Determine if controls were circumvented - Review risk of product contact - Determine sensitivity of isolate to disinfectants being used - Check for same organisms in other types of tests
Water (distilled water recirculation loop)	<ul style="list-style-type: none"> - Examine endotoxin test data on system water - Check sanitization procedure and schedule for water distribution system - Inspect system preventive maintenance records - Check for adequacy of sampling procedure for any unusual problem
Personality test (finger impressions of sterility test operator)	<ul style="list-style-type: none"> - Review sterility test data - Identify representative dissimilar colony types - Evaluate training of operator

위에서 언급된 모든 것이 포함되는 것은 아니다. 한 시스템에 대한 실례가 다른 시스템에도 적용될 수도 있을 것이다. 위에서 언급된 활동 단계 중 몇몇 개는 개별적인 회사의 디자인 및 공정에 의존할 것이다. 일단 Alert level과/또는 Action level이 설정되면 이 수준들은 공정의 개선, 기술의 진보 등의 변화와 더불어 필요한 경우, 정기적으로 검토되고 개정되어야 한다. 검사방법은 환경 프로그램에 중요한 부분을 차지하고 있다. 일반적인 감시를 위한 각각의 검사방법은 validation되어야 한다. Validation동안 방법들은 오염정도를

결정하기 위하여 통제된 방식을 이용하여야 한다. 일반적인 모니터링을 위해서는 validation에 이용된 방식과 같은 방식으로 검사방법을 이용하여야 한다. 만약 검사방법에 변화가 생긴다면 어떤 편차가 생길 것이고 데이터들 사이의 비교가 비논리적인 것이 될 것이다.

Alert / Action level, 모니터링의 빈도, 그리고 모니터링되는 장소의 수는 마지막 단계에서 멸균하는 생산품보다 무균적으로 충전이 요구되는 생산품에 더욱 엄하게 정해진다. 환경감시에서 발견된 미생물의 동정은 모니터링 프로그램에 매우 중요한 것으로 인식되고 있다. 그러나 이 사항은 두가지 문제에 봉착하게 되는데 하나는, 어느 정도 동정을 하여야 하는가?(i.e., Every isolate, excursions only, frequently, occasionally)이고 또 하나는 어느 정도까지 동정을 수행하여야 하는가?(i.e., Gram stain only, genus level, species level) 이다. 미생물의 동정은 sterility test positive, media fill positive, alert and action level excursion, 어떤 소독수에 저항이 있을 수 있는 미생물의 조사에 유용하다. 환경 Microflora에서 발견되지 않았던 미생물의 발견 등을 위하여 동정의 적용이 검토되어야 한다. 미생물의 동정과 검사프로그램의 이것의 유용성은 과학적인 훈련과 좋은 판단력에 의존한다. 미생물의 동정은 회사의 조건에 따라 정해진다. 대부분의 경우에 있어서 Species level까지의 미생물 동정은 얻어질 수 있는 부가적인 이익과 요구되어지는 노력을 저울질하여 실시한다. Gram staining은 일반적인 목적에 대해 충분할 수도 있다. Species level에서의 동정은 자동동정장치가 요구되어지면 그렇지 않을 경우에는 매우 많은 노동력이 요구된다. 전형적으로 많이 이용되는 동정을 위해 요구되는 방법은 다음과 같다.

- Colony morphology
- Gram stain and microscopic morphology
- Biochemical testing
- Commercial test kit and reagents
- Automated ID system

생산환경에 발견된 미생물은 화학적 그리고/또는 물리적 충격(열적 충격) 등의 받고 있을 것이다. 이 분리 균주로부터 전형적인 생화학적 반응을 얻어내기 어렵다. 상업적인 동정기기나 키트의 데이터 베이스는 임상미생물로 하였고 때문에 산업현장에서의 분리균주에 적용하기에는 불완전하다. 정확한 증거(예, 생산라인에서 발견된 미생물이 생산품의 sterility test에서 발견된 균주와 같은 종류이다)는 과학적 견해에서 생산품 오염을 설명할 수 없다(이러한 미생물자료의 해석은 실험적 판단이 요구된다). 일반적인 미생물의 경우에 있어서도 동정을 근거로 하여 Source에 관하여 결론을 내리는 것은 항상 가능한 것은 아니다. 그러나 동정은 어떤 Source의 가능성에 대하여 유용한 힌트를 줄 수도 있다. 예를 들면, Staphylococcus species는 일반적으로 피부에 존재하고 E. coli는 분변오염의 Indicator이다. 모니터링 프로그램에 있어서 제조라인 내 Microflora의 변화 또는 경향을 조사하는 것은 매우 중요한 것이다.

b. Sample Site Selection

실험실에서 선택한 동정 체계는 동정의 빈도와 방법의 표준절차가 잘 정의되어 있어야 한다. 적절한 시료채취장소는 Clean room design과 생산공정에 의존하여 넓게 변한다. 각 공정을 주의 깊게 평가하고 시료채취장소를 정해야 한다. 시료채취의 중요한 목적은 유용하게 분석할 수 있는 데이터(특별한 절차, 공정, 장비, 원 부자재와 관련된 실질적이거나 잠재적인 오염문제를 확인하는 데 도움이 되는 데이터)를 얻는데 있다. 어떤 장소가 오염되면 생산품에 영향(오염)을 미칠 수 있는 곳은 시료채취 장소로 정해야 한다. 그러나 생산품과 직접적으로 접촉하지 않으나 제품오염의 Indicator site를 정하는데 신중하여야 한다.

일반적인 환경감시를 위한 시료채취장소 설정의 요소는 다음과 같다.

1. 어떤 장소가 오염된다면 생산품의 품질에 악영향을 미치는가?
2. 제품생산동안 가장 미생물이 번식하기 쉬운 곳은 어디인가?(예, 문의 손잡이, 물기)
3. 시료채취장소의 선택에 통계적인 디자인이 관련되어야 하는가? 또는 시료채취장소의 선택이 grid profiling을 근거로 하여 만들어져야 하는가? 일상적인 모니터링을 위한 시료채취장소를 바꾸어주어야(rotation) 하는가?
4. 오염을 제거하기 가장 어려운 장소는 어디인가?
5. 주위환경을 대표할 수 있는 Indicator sites가 있는가?
6. 주위환경에서 미생물을 제거할 수 있는 방법은 무엇인가?
7. 주어진 site에서 시료채취 방법이 잘못된 데이터 또는 제품의 오염을 유발 할 수 없도록 되어있는가?

시료채취장소의 설정을 위해서는 제조환경에서 각 요소들과 생산품과 얼마나 접촉하는지를 우선 고려하여야 한다(생산품과 직접적인 접촉을 할 경우에는 생산품에 더 많은 Bioburden을 줄 수 있다).

- 생산품과 접촉할 수 있는 요소는 다음과 같다 ; 압축공기(Compressed air), Room air, 제조장비, 도구, 작업대 표면, 저장용기, 컨베이어, 작업자의 손 또는 장갑 그리고 물
- 생산품과 직접 접촉하지 않는 요소는 다음과 같다. ; 벽, 바닥, 문, 의자, 작업자 옷, 쓰레기통, 폐기물통 그리고 검사장비

공기시료의 채취장소는 대개가 노출된 생산품 또는 용기의 air flow upstream의 위치가 선택되어진다. 선택된 시료채취장소는 traffic patterns 또는 cleaning하기 어려운 지역과 관련시켜야 한다. Air handlers, passthroughs, air-locks, 장비, 압축공기 그리고 inert gas는 검사되어야 할 다른 시료채취장소들이다. 또한 Water system은 오염원 중 하나이다. Water의 미생물학적 품질은 다양한 washing과 각 공정들의 rinsing에 water가 이용되므로 매우 중요하다. 일단 water system이 validation되면 적당한 시료를 주기적으로 미생물적 품질을 평가하기 위하여 holding distribution system으로부터 취해야 한다. 가장 중요한 한 지점만을 선택하는 것이 항상 실질적이 아니라는 것을 인식해야 한다. 어떤 대표적인 시료

채취장소는 다음과 같을 것이다.

System	Site
- Air(filling line)	- Near open, filled containers
- Room air	- Proximal to air return
- Water	- Point of use at mixing tank
- Surface(facility)	- Floor, door handles
- Surface(equipment)	- Filling nozzle
- Compressed air	- Site farthest from compressor
- Sterility test manifold	- Port closest to vacuum source
- Operator on filling line	- Gloved hand
- Laminar airflow	- Near obstacles that may create turbulence

시료채취장소를 선택할 때는 많은 고려사항을 생각하여야 한다(예, facility design, line configuration, validation data, process, historical data, test methodology)

c. Sampling frequency

시료채취의 빈도는 몇몇 요소에 따라 매우 넓게 변한다(생산품의 타입, facility/process design, human intervention의 양, 최종공정에서의 멸균공정, 미생물적인 환경요소 등). Sampling scheme중 모든 환경에 적당한 것은 없다. 시료채취빈도의 변화(일시적이거나 계속적인)는 practices의 변화, 중요한 미생물환경의 개선, 새로운 기계 도입 등에 의해서 이다. 가장 중요한 것은 시스템의 결함을 선정된 빈도로 확인될 수 있어야 한다. 검사의 빈도는 주어진 facility/process에 적합해야 하며, 적당한 빈도는 관련된 요소들에 대한 지식은 가지고 자격이 부여된 전문가에 의해 결정되어야 한다.

d. Alert and Action Levels

다음의 수준은 Published limits이다.

System	Alert and Action Levels	Remarks
Drinking water	100 organisms per ml	
Autoclave cooling water	1 organism per 100ml in three consecutive samples of liter or more from the same site	
Final rinsing water or component water	10 organism per 100ml in three consecutive samples of 250ml or more taken from the same site	
Initial rinsing water	50 organisms per 100 ml in three consecutive samples from the sample site	
Air over filling lines	0.1 viable microorganism per cubic foot	
Compressed air	0.1 viable microorganism per cubic foot at points of use	
Purified water	100 organisms per ml	
Water for injection	10 organisms per 100 ml	

각각의 회사들은 그들 자신의 alert and/or action level을 미생물학적 원리와 부합되는 미생물검사방법을 이용해서 설정하여야 한다.

4) Documentation

Environmental Program의 Documentation은 다음사항을 고려하여야 한다.

Documentation	Remarks
- Data and time of test	
- Test method	
- Activity level at site during test	
- Sampler	
- Area	
- Schematics of areas showing sample site location	
- Sample site	
- Test result	
- Evaluator of results	
- Data results read	
- Alert and/or Action level	
- Temperature and Time of Incubation	
- Control test results	
- Certification date, validation date, and expiration date of media used	
- Characterization of contaminants	
- Name of reviewer	
- Reporting of data	
- Review of historical data	
- Change control system	
- Calibration date on instrumentation	
- Methodology, analysis used to specify Action/Alert levels	
- System for documenting investigative/corrective action ; 1. Description of deficiency 2. Possible cause(s) of problem 3. Identification of person responsible for relevant corrective action 4. Description of action steps and their schedule for implementation 5. Evaluation of effectiveness of Action steps	

5) Interpretative of Data

검사결과가 무엇을 의미하는지를 이해하는 것은 많은 기술적인 측면이 관련된다.

- a. 제조라인환경의 오염은 개별적이고, 일정하지 않고 그리고 dynamic entities로써 존재할 것이다.
- b. 어떤 부분에 존재하는 모든 미생물들은 다음과 같은 이유로 감지되지 않을 수 있다.
 - 미생물들 사이의 최적성장조건과 검사조건의 차이
 - 집락의 겹침 또는 (특히 집락수가 많을 경우)
 - 시료채취기술
 - 형성된 집락의 수는 미생물의 총수라고 할 수 없다.
- c. 전통적인 검사방법은 많은 배양시간을 요구하기 때문에 부가적인 제조라인과 control step이 진행되어 retest를 동일한 조건에서 수행할 수 없다.
- d. 계절적인 variation이 하나의 고려해야 할 요소이다.
- e. 낮은 수준의 미생물의 존재는 Sampling과 testing의 본질적인 한계를 만든다. 특히 모든 population중에서 단지 한정된 부분만을 검사할 때 그러하다.
한정되거나 작은 시료량은 실질적인 데이터를 제공하지 못한다. 그러나 많은 수의 시료는 부분적으로 이 문제를 해결할 수 있다. 검사방법의 한계를 고려하여야 하며 특히 Zero count가 얻어졌을 때에는 더욱 그러하다.
- f. 시료채취절차가 오염원이 될 수 있다.
- g. 두 가지이상의 검사방법이 어떤 지역 또는 표면(surface)의 미생물 오염정도를 완벽하게 특징지을 수가 있을 것이다.
- h. Sampling times는 Production work cycle를 나타내지 못 할 수 있고 Sample site가 한 지역내의 모든 장비의 activity를 나타낼 수 없을 것이다.
- i. 오염된 미생물의 특징은 일단 한번 분리가 되면 변할 수 있다.

전형적인 감시 프로그램은 각각의 시료에 대한 검사 결과뿐만 아니라 검사결과의 경향을 포함한다. 이 경향은 오염미생물수의 점차적인 감소 또는 증가, Microflora의 변화 또는 같은 날의 검사결과의 변화를 나타낼 것이다. Control chart procedure가 미생물오염의 경향을 알기 위하여 이용될 것이다. Microflora의 변화와 오염수의 변화에 대한 중요한 해석은 숙달된 사람의 경험적인 판단을 기초로 한다. Alert 또는 Action level의 적용은 일정한 방식으로 행해져야 한다. Alert/Action level이 생산품의 specification의 부가적인 부분이 아니라는 것을 상기하는 것은 중요하다. 만약 Alert level을 초과하면, 시정조치활동이 요구되지는 않으나 검사결과가 기준을 이탈하였다는 것을 기록하여야 한다. 만약 이탈(excursion)이 Action level에서 일어났다면 데이터를 검토하고 부가적인 시정조치활동이 행해진다.(다음의 행동에만 한정되는 것은 아니다)

- Investigative action
- Corrective action
- Informing responsible parties

만약 일어난 이탈(excursion)이 중요하지 않은 부분이라면, 검토자는 전문적인 판단을 하여 차기 검사결과가 나올 때까지 어떤 시정조치행동을 연기할 수 있다(이탈사실을 반드시 기록하여야 한다).

Appendix

이 Appendix의 목적은 여러 가지 검사방법의 중요한 장점과 단점을 언급하는데 있다. 부가적으로 수행할 검사방법을 선택하는데 도움이 되도록 적절한 과학적인 참고자료를 언급하였다. 방법의 선택을 제외한 모든 부분(Preparation, organization, sterilization, aseptic techniques, test controls, cleaning of equipment and the quality of equipment and materials)은 GMP에 부합하여야 한다. 정확성과 재현성의 한계에 기인하여 미생물검사 방법은 만족스러운 시료채취 계획 없이는 제조환경을 모니터링 하는 것은 부적절하다. 어떤 검사방법이 정량적인가를 명심하는 것은 매우 중요하다. 배양온도는 모든 EM에서 적절하게 조절되어야 한다. 미생물은 다양한 성장온도를 가지고 있기 때문에 하나의 배양온도가 모든 미생물에 적용될 수 없으며 또한 하나의 온도로 성장온도가 다른 미생물을 모든 미생물에서 배제시킬 수 없다.

배양시간과 온도는 목적으로 한 균주에 최적 조건이어야 한다.

배양시간은 세균에 대해 최소 2일이며 효모와 곰팡이는 부가적인 배양시간이 요구된다. 환경감시에 이용되는 중요한 배지는 목적으로 한 균주가 성장할 수 있어야 한다. 일반적으로 TSA(aerobes, fungi, facultative anaerobes가 성장가능)와 같은 배지는 적합한 배지로써 취급되고 있다. 최적 집락수는 47mm membrane상에는 30군 이하이고 100mm plate상에는 30-300군이다. 일반적으로 flat surface의 검사는 25cm²의 검사로 만족되어지며 물 분석에서의 시료량은 100-250ml가 적당하다. 공기의 시료채취량은 검사방법에 따라 다르다.

검사방법의 Validation은 좋은 결과(high quality result)를 얻기 위해서는 매우 중요하다.

비록 몇몇의 검사 방법이 공식적으로 인정되어 validation이 필요없는 것처럼 보이지만 그 방법의 적용이 적합하지를 입증해야 한다. 검사방법의 적합성에 보증(assurance)이 있어야 한다. 다양한 소독수가 Micro-control을 위해 공장에서 사용되고 있고, 이 소독수는 오염정도를 측정하는데 문제를 유발시킬수 있다(시료채취장소에 잔존해 있던 소독수가 배지에 전달되어 미생물의 성장을 억제하는 문제). 그렇기 때문에 불활성물질이 요구되어진다. 소독수에 저항을 가진 돌연변이 또는 환경적응 미생물을 항상 고려하여야 한다. 배지의 growth promotion test를 수행 시 Positive와 negative control이 필요하다. 감지(Detection)의 한계 또는 95% 신뢰한계는 많은 요인에 기인하여 잘 성립되지 않는다. 우리는 시료들이 무균조건에서 채취되지 않는다는 것을 알아야 한다. 가장 좋은 조건하에서 시료채취와 관련된 variability는 실험실상에서의 분석시보다 더욱 더 크다. 그러므로 시료는 주위 깊게 선택하

고 다루고 취한 후 신속히 옮기고 신속히 검사를 하지 않는다면 잘못된 결과가 나타날 것이며 EMP에 문제를 야기시킬 수 있다.

Test Methods for Air

공기중의 미생물오염은 solid 또는 liquid particle에서 일어난다. 이 입자는 하나의 세포 또는 미생물의 집합체로 구성되어있을 것이다. 미생물은 먼지에 붙어있거나 그 자체가 공기중에 떠다닐 것이다. 하나의 미생물은 매우 작기 때문에 (불규칙적인) 공기흐름이 있는 동안 계속 떠다닐 것이다. 총 입자수는 식품 또는 제약공장에서는 매우 중요하며 특히 viable airborne contamination이 중요하다. 공기를 청결하게 하기 위하여 HEPA filter를 이용한다고 해서 100%의 효과를 볼 수 있는 것은 아니다. 그렇기 때문에 미생물학적 공기 모니터링의 목적은 어떤 미생물이 존재하는지를 알기 위한 것이 아니고 표면(surface)등을 오염시킬 수 있는 오염원을 알고 Air handling system의 결함을 조사하는데 있다. 공기중의 미생물 오염정도를 조사하는데는 몇 가지 방법이 있다. Solid impact과 liquid impingement devices가 가장 일반적인 것이다.

1) Microbial Evaluation of Air

a. Evaluation of Environmental and Compressed Air by Agar Impact

Slit-to-agar impact sampler

- 장점 - 시간과 농도에 좋은 관계 유지가능. 높은 채취효과, 배양을 위해 또 다른 절차가 필요 없다.
- 단점 - 미생물의 농도가 높을 때는 부적합, 높은 감지의 한계, 장비를 습식멸균할 수 없다.

b. Evaluation of Air by Sieve Samplers - Andersen Air Samplers

- 장점 - 입자크기별로 시료채취가능, 회석 또는 plating 등의 부가적 절차 불필요. 검사 결과가 일정한 단위로 표시가능
- 단점 - 덩어리진 입자채취, 높은 농도에서는 부적합, 입자들이 겹쳐져서 채취될 수 있음. 높은 감지의 한계

c. Evaluation of Air by Biotest Centrifugal Air

- 장점 - 편리성, Speed, portability & flexibility, Independent power supply, 저소음, 부가적인 절차가 없음, 시료채취장소의 대표적인 균주를 나타낸다.
- 단점 - 시료(공기)채취량이 약 40L/min, 분당 40리터의 시료채취속도는 단지 4um보다 큰 입자에만 적용됨, 장비의 Calibration equation은 sampling rate가 입자의 지름(의 자승)에 따라 변한다는 것을 보임. 감지의 한계, Agar strip이 마르는 경향이 있음.

d. Evaluation of Environmental Air by Settling Plates (Fall-out)

- 장점 - 용이, 부가적인 절차 없음, 경제적임, 다양한 배지들이 이용될 수 있음. 한번에 여러 plate가 이용될 수 있음, 생산품의 오염을 나타낼 수 있음.
- 단점 - 입자크기가 클수록 시료채취가 많이 됨. 시료채취가 공기이동과 온도에 영향을 받음, 결과가 공기 부피당 세균수와 반드시 관계가 있는 것은 아님. 공기흐름의 속도와 방향이 결과에 많은 영향을 미침. 덩어리진 시료채취, 양적인 평가를 할 수 없음, 검사에 한계가 있음.

2) Surface Sampling Methods ;

5가지 방법이 있다(Agar syringe, Calcium alginate swab, contact plate, cotton swab, surface rinse)

a. Contact(RODAC) plates - Replicate Organism Detection and Counting ;

6cm의 diameter, convex agar layer

- 장점 - 정량분석에 적합, 쉽게 준비하고 쉽게 사용할 수 있다. 평평한 시료채취장소에 적합, 먼 위치에도 이용될 수 있다.
- 단점- 평면이 평평하지 않은 곳은 적용불가능, Agar 표면이 마르기 전에 사용하여야 한다, 만약 Agar 표면에 너무 물기가 많으면 어떤 미생물은 한곳으로 모이는 문제가 발생, 시료 채취후 채취장소에 남아있는 배지를 완전히 제거해야 함.

b. Swabbing

- 장점 - 경제적, 장비의 표준화, 평평하지 않은 곳에도 적당, 높은 오염지역에 적용가능, Sodium hexametaphosphate가 calcium alginate swab을 높이기 위하여 첨가될 수 있음.
- 단점 - 양적보다 질적조사에 적합, 정확성은 검사자(techniques와 subculturing)에 너무 의존함. Cotton으로부터 떨어진 입자가 미생물의 생육을 억제할 수 있음. 부가적인 절차가 있음.

3) Water Test Methods

a. Membrane filtration

- 장점 - 많은 양의 시료를 검사할 수 있으며 Total count을 빠르게 알 수 있다. 상업적으로 준비되어 있는 것을 사용할 수 있다. 낮은 오염정도도 측정가능하며 재현성이 우수하다.
- 단점 - 많은 균수의 시료에는 부적합, 시료의 입자들이 filter membrane에서 덩어리 질수 있다, 운동성이 있는 미생물은 초과된 배양시간에 배지표면을 집락으로 덮어버릴 수가 있다. 어떤 시료는 어떤 membrane filter에 적합하지 않을 수

가 있다.

b. Pour Plates

- 장점 - 적은 비용, 오염정도가 심각한 시료를 정확히 분석가능, 운동성 미생물에 의해 문제점 해결
- 단점 - Bacteriostatic sample은 Neutralization이 필요, 오염정도가 심각한 시료는 회석이 필요, 어떤 시료(oil 등)는 특별한 dispersing agent가 필요, 어떤 시료는 배지를 뿌얇게 하여 낮은 회석배수에서 계수를 어렵게 함, 용해된 배지의 높은 온도에 의해 많은 미생물이 죽거나 활력이 떨어져 정확한 미생물수를 측정하지 못하거나 보다 많은 배양시간이 요구됨, 검사되는 시료량이 최대 1ml 임.

C. Laboratory Qualification

1. 문서화 절차(Documentation Procedures)

- 1) Protocol
- 2) Documentation Standards
- 3) Laboratory Sample Tracking
- 4) Record Retention
- 5) Quality records : Data forms, worksheets, Log books etc.

2. 실험실 절차(Lab Procedures)

- 1) Preparation of lab disinfectants
- 2) Lab Chemical/media receipt/handling/storage/disposal
- 3) Laboratory media, reagents and supplies preparation and qualification ;
Media Qualification(Media Growth Promotion and Sterility Verification Testing)

예) Tryptic Soy Agar(TSA)

Inoculate 10-100 viable organisms into duplicate poured-plates and into control media(a previously approved lot of TSA). Incubation time is 2 days at 30 - 35°C for growth promotion and control media and 3 days at 30 - 35°C for sterility verification.

Organism : S.aureus ATCC 6538, E.coli ATCC 8739

- 4) Laboratory cleaning and disinfection

- 5) Lab insect control
- 6) Determination of colony forming units
- 7) Power outage
- 8) Receipt/Preparation of cultures
- 9) Temperature monitoring of equipment and areas
- 10) Lab safety and housekeeping
- 11) Equipment cleaning procedures
- 12) Manual cleaning of labware

3. 검사 절차(Test Procedures)

Lab에서 수행되는 모든 검사방법이 절차화 되어있어야 한다.

(Test Method Validation을 포함한다.)

4. 장비 운영/유지 절차(Equipment Operation/Maintenance Procedures)

- 1) 모든 장비는 Validation되어있어야 한다.
- 2) Lab에서 사용하는 모든 장비의 운영방법 및 유지방법이 절차화 되어있어야 한다.
- 3) 측정장비는 주기적으로 교정(Calibration)을 실시하여야 한다.

5. Personnel Training and Qualification

모든 검사원은 자격이 부여된 교육자에 의해 교육을 받고 자격부여를 받아야 한다.

6. Lab utilities

Appropriate space(size, location), HAVC, electrical, water, vacuum, air supplies

D. Autoclave Validation

1. Probability of Survival Approach

- 1) 제품내 미생물수(로트벨, 멸균전 미생물성장가능성, 계절적 차이)와 이 미생물의 열저항성을 파악하여 10^{-6} Probability를 보증
- 2) 제품내 미생물수/ 열저항성 검사(D-value결정) 및 BI Calibration
제품당 최대의 포자형성균수 검사, 분리균주중 최고의 D value검사, 최소의 F_0 결정
- 3) Heat분포가 Acceptable한지 Study
 - ① 장비의 Certification

압력계, 시간장치, 온도기록장치, Steam generator, 압축공기, Air filtration system,
Power source, Calibration절차, 메뉴얼, 장비유지프로그램

- ② Heat Distribution : $\pm 2.5^{\circ}\text{C}$ 이내 / 온도비교 - Recording chart, Reference Temp.
Sensor 및 Sensor 옆의 Thermocouple의 온도비교 -1°C 이내인지
확인

4) Loading Pattern에 따른 Coldest Location설정

- ① Container 크기가 다를 때는 크기가 작은 Container는 Cold point로 고려하지 않음.
(많은 수의 T/C는 멸균기내 대류를 막아 Error를 발생)
- ② Container는 Max. fill Volume에서 수행.
- ③ 최소 및 최대 Loading에서 실시하며 반복실시
- ④ 멸균시간은 배지 멸균시간과 같다.
- ⑤ Layer간의 온도 비교실시
 - 전체 F값과 최저 F값을 One-sided T-Test($p=0.05$)실시 : 유의적 차이가 있으면 다음 Study에 Cool layer에 Probe가 집중된다.
 - Fo값의 계산: $F_0=10^{\sum((\text{측정온도}-121.1)/10)}$

5) 멸균사이클의 Reproducibility(Validation of Consistency)

- ① 충분한 반복 Studies가 실제 Fo가 요구되어지는 최소 Fo보다 크다는 것을 보증.
- ② Cold Point가 설정되면 Reproducibility studies가 Probe를 Coldest point에 넣고 멸균사이클을 반복하여 실시.
- ③ Probe의 위치는 Reproducibility study동안 같아야 한다.

2. Overkill Approach

- 1) 제품 내 미생물수와 열 저항성에 관계없이 Overkill 멸균(최소 12 log reduction -
D value : 1분)
- 2) 제품내 미생물수/ 열저항성 검사(D-value결정)는 필요하지 않음 : 제품내, Endotoxin
존재성때문에 제품 내 미생물수 관리
- 3) BI Calibration : 균수 및 D value결정
- 4) Heat분포가 Acceptable한지 Study
- 5) Loading Pattern에 따른 Coldest Location설정