

# 멸균 의약외품의 평가 가이드라인

2009. 8. .



바이오생약국  
화장품심사과

# 인 사 말

일상생활에서 흔히 발생하는 상처 등의 보호를 위하여 일회용반창고 등 지면류 제품을 사용하는 경우가 많습니다. 약사법에 따르면 사람이나 동물의 질병을 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유, 고무제품 또는 이와 유사한 제제의 경우 의약품으로 관리하도록 있으며 구체적인 의약품의 범위는 보건복지부장관 고시로 규정하도록 되어 있습니다. 이와 같은 의약품에는 생리처리용 위생대를 비롯하여 마스크, 붕대, 탈지면, 반창고 등이 있으며 일부 제품의 경우 방사선 조사 또는 에틸렌옥사이드 가스 등의 살균 공정에 의하여 멸균한 제품을 공급하고 있습니다.

방사선을 조사하여 제품을 멸균하는 경우 방사선 조사후 제품의 물리화학적 안정성, 생물학적 활성 등의 변화가 있을 수 있으며 방사선 조사에 따른 분해산물 등이 발생할 수 있어 제품의 안정성을 입증하는 자료를 제출하여 식품의약품안전청의 허가를 받아야 합니다. 또한, 에틸렌옥사이드 멸균제품의 경우 에틸렌옥사이드 가스 또는 그 분해산물인 에틸렌클로로하이드린이 제품에 잔류하는지를 확인하기 위하여 잔류량 시험을 수행하도록 되어 있습니다.

이에 바이오생약국에서는 방사선 조사 제품의 안정성시험 및 에틸렌옥사이드 잔류량시험 등의 시험법을 표준화하여 관련 업체 및 심사자에게 도움을 주고자 본 가이드라인을 마련하였습니다. 이 가이드라인에는 방사선멸균제품의 안정성 시험 및 에틸렌옥사이드 잔류량 시험의 표준화된 시험법과 기준, 자료제출 요건 등이 제시되어 있습니다.

이 가이드라인이 멸균 의약품의 품질평가를 원활히 수행하는데 도움이 되고 관련 산업의 발전 및 국민 건강에도 기여할 수 있게 되기를 바랍니다.

2009년 8월

식품의약품안전청  
바이오생약국장 이 정 석

사람이나 동물의 질병을 치료·경감·처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유·고무제품 또는 이와 유사한 것에 해당하는 제품들은 약사법에 따라 의약외품으로서 식품의약품안전청에서 품목별 심사 및 허가를 하고 있습니다. 이와 같은 제품중에는 방사선 조사 또는 에틸렌가스 살균 방식을 이용하여 멸균 공정을 거쳐 공급되는 제품들이 있습니다.

방사선 멸균의 경우 방사선 조사 후 제품의 효능변화, 독성학적 안전성, 물리화학적 안정성, 그리고 생물학적 활성 등에 영향을 받을 수 있으므로 방사선 조사된 제품의 품목허가를 받기 위해서는 안정성 자료를 제출하여야 합니다.

본 가이드라인은 방사선멸균제품의 안정성 시험 및 에틸렌옥사이드 잔류량 시험의 표준화된 시험법과 기준, 자료제출 요건 등이 제시되어 있습니다.

또한, 이 가이드라인은 현재까지의 경험과 과학적 사실에 근거한 것이므로 새로운 과학적 근거가 있을 경우 언제든지 개정될 수 있으며 이러한 사항이 있을 경우 식품의약품안전청에 의견을 제시하여 주시기 바랍니다.

※ 본 지침에 대한 의견이 있을 경우 식품의약품안전청 바이오생약국 화장품심사과로 문의하시기 바랍니다.

**전화번호** 02-380-1721~2

**팩스번호** 02-385-2154



## 서론

1. 이 가이드라인은 방사선 멸균의 경우 「의약품등의 품목허가·신고·심사규정」 식약청고시 제2009-42호(2009.6.30.) 제14조7항과 에틸렌옥사이드 멸균의 경우 의약품에 관한 기준 및 시험방법 식약청고시 제2009-6호(2009.2.23)와 관련하여 제출되는 멸균 의약품의 심사와 관련된 가이드라인이다.
2. 「의약품등의 품목허가·신고·심사규정」 식약청고시 제2009-42호(2009.6.30.) 제14조7항에 “필요에 따라 최종제품을 방사선조사하여 멸균하는 경우에는 그 조건(방사선량, 시간 등)을 명기하되, 방사선을 조사한 제품과 조사하지 아니한 제품에 대한 분해산물 생성유무비교 등 안정성시험자료(3개 로트)를 첨부하여야 한다.”로 규정되어 있다.
3. 의약품에 관한 기준 및 시험방법 중 「생리처리용 탐폰의 기준 및 시험방법」에 “에틸렌옥사이드(EO) 가스 잔류량 시험은 에틸렌옥사이드 가스로 멸균하는 제품에 대해 시행한다.”로 규정되어 있다.
4. 이 가이드라인은 의외품을 제조·수입하는데 있어 제품에 따라 필요한 멸균공정 중 방사선 및 에틸렌옥사이드 멸균 제품에 대하여 심사시 필요한 자료를 준비하는데 도움을 주기 위한 것이다.



## 방사선 멸균 제품의 안정성 시험

의약품등은 제조과정 중에서 방사선 조사 후 제품의 효능변화, 물리화학적 안정성, 생물학적 독성 등이 영향을 받을 수 있다. 따라서, 방사선 멸균제품을 허가받기 위해서는 방사선 조사로 인한 물리화학적 변화나 분해산물 생성 유무를 확인하기 위하여 다음과 같은 안정성 시험자료를 제출하여야 한다.

### 1. 용어 정의

- ① 멸균 : 물질 중에서 모든 미생물을 물리적·화학적 자극을 가하여 사멸시키거나 제거하는 것을 말한다. 따라서, 대상을 완전히 무균상태로 하는 멸균과 거의 무균상태에 이르도록 하는 소독과 구별된다.
- ② 가속시험 : 짧은 기간으로 가속조건에서 의약품등의 안정성에 미치는 영향을 평가하기 위한 시험을 말한다.

### 2. 시험기준(가속시험)

#### 1) 기준

가. 기준 및 시험방법에 설정되어 있는 항목의 경우 그 기준에 적합하다.

나. 용출물 시험의 경우 다음 기준에 적합하다.

- ① pH 기준 : 검액 및 대조액의 pH 차이는 1.5 이하이다.
- ② 자외부흡수스펙트럼(이하 UV) 기준 : 220 ~ 241nm 미만에서의 흡광도는 0.08 이하, 241 ~ 350 nm 이하에서의 흡광도는 0.05 이하이다.
- ③ 세포독성 기준 : 세포균락 형성율이 50%가 되는 검액의 농도(IC<sub>50</sub>(%))는 90% 이상이다. 그 외의 표준시험법을 썼을 때 결과는 음성이다.

2) 로트의 선정

가. 시판할 제품과 동일한 처방, 제형 및 포장용기를 사용한다. 다만, 안정성에 영향을 미치지 않을 것으로 판단되는 경우에는 예외로 할 수 있다.

나. 3로트 이상에 대하여 시험하는 것을 원칙으로 한다.

3) 보존조건 : 온도는  $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 상대습도는  $75\pm 5\%$  또는 온도에 따른 적절한 상대습도를 고려하여 장기보존시험 지정 저장온도 보다  $15^{\circ}\text{C}$  이상 높은 온도로 한다. 다만, 반투과용기의 경우 온도  $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 상대습도 25%이하로 한다.

4) 시험기간 : 6개월 이상 시험한다.

5) 측정시기 : 시험개시일로부터 2개월 간격으로 시험개시 때를 포함하여 최소 3번의 시험이 수행되어야 하며, 개발단계 도중 가속시험에서 유의적인 변화가 관찰된 경우에는 최소 4번의 시험이 수행되어야 한다.

(유의성 있는 변화의 예)

가) 규격에 적합하지 않는 경우

나) 초기값보다 5% 이상의 함량변화가 있는 경우

다) 제형에 따라 pH 또는 용출시험(pH, UV, 세포독성) 결과가 기준에 적합하지 않은 경우

라) 색상, 물리적 성질, 기능적 시험에서 기준에 적합하지 않은 경우

6) 시험항목 :

가. 방사선을 조사한 제품과 조사하지 아니한 제품에 대하여 기준 및 시험방법에 설 정되어 있는 전 항목을 원칙으로 한다.

나. 방사선을 조사한 제품과 조사하지 아니한 제품에 대하여 분해산물 생성유무 비교 시험을 한다.

※ 함량시험 등으로 분해산물 비교가 가능한 경우 방사선 조사 전후의 분해산물 생성유무를 LC, GC 등의 방법으로 입증가능하나, 탈지면, 거즈 등 의약품의 경우에는 대부분 HPLC 분석 등의 방법으로 분해산물 비교가 불가능하기 때

문에 용출물의 pH, UV 시험자료를 제출하여야 한다. 함량시험이 가능한 경우에는 성분 분석을 통하여 분해산물이 있는 경우 세포독성시험 결과를 제출하여야 한다. 또한, 팩거즈 등 플라스틱을 포함하고 있는 경우에는 용출물의 세포독성시험 자료를 제출하여야 한다.

### 3. 시험방법

1) 기준 및 시험방법에 설정된 항목은 허가받은 기준의 시험방법에 따라 시험한다.

2) 용출물에 대한 pH, UV, 세포독성 시험

가. 검액 및 대조액의 제조

방사선을 조사한 제품을 검체로 하여 앞뒤 양면의 표면적 합계가 약 600cm<sup>2</sup>가 되도록 잘라 절단편을 모으고 이들을 적당한 크기로 잘게 잘라 물로 씻은 다음 실온에서 건조한다. 이 건조물을 용기에 넣고 물 200mL를 정확하게 넣어 적당하게 마개를 한 다음 121℃에서 1시간 고압증기멸균기로 가열한 다음 용기를 꺼내어 실온이 될 때까지 방치하고 추출액을 검액으로 한다. 따로 방사선을 조사하지 않은 제품을 가지고 같은 방법으로 조작하여 대조액을 만든다. 검액 및 대조액을 가지고 다음 시험을 한다.

나. 조 작

(1) pH : 검액 및 대조액 20mL 씩을 취하여 여기에 염화칼륨액(1→1000) 1.0 mL 씩을 넣고 두 액의 pH를 측정하여 그 차이를 산출한다.

(2) UV : 검액 및 대조액을 가지고 자외가시부흡광도측정법에 따라 시험하여 파장 220 ~ 240 nm 및 241 ~ 350 nm에서 최대흡광도를 측정한다.

(3) 세포독성 : 본 실험은 세포배양 기술을 이용하여 방사선 조사 제품의 용출물에 의한 세포의 용해(세포괴사), 세포성장저해 및 그 외 세포에 미치는 영향에 대하여 알아보는 실험이다. 검액을 만들 때는 미생물과 다른 이물에 의한 오염이 나타나지 않도록 조심할 필요가 있다. 이 시험법 이외에도 동 시험법과 동등 이상의 표준시험방법을 쓸 수 있다. 다만 시험결과에 대하여 의심이 있을 때에는 이 방법에서 규정하는 방법으로 최종 판정한다.

① 세포주 : 세포주는 L929세포 (ATCC CCL1)로 한다. 이 세포를 소태아혈청이

첨가된 이글최소필수배지에 계대배양한다. 세포층이 80% 이상 플레이트를 덮을 때까지 이산화탄소농도가 5±1%, 온도가 36 ~ 38℃ 인 이산화탄소배양기에서 24시간 이상 배양한다. 현미경으로 세포배양액을 관찰할 때 균일하고 일정한 세포층을 갖는지 확인한다. 다만 미리 세포균락의 형태와 결과의 재현성을 검정하여 그것이 기재된 세포주와 거의 같으면 다른 세포주도 쓸 수 있다.

- ② 배지 : 이글최소필수배지를 쓴다. 다음의 물질들을 물 1000mL에 녹이고 121℃에서 20분간 고압증기멸균하고 실온까지 식힌 다음, 따로 멸균하여 둔 탄산수소나트륨용액 22mL 및 글루타민용액 10mL를 넣는다. 여기에 소태아혈청을 10 v/v %가 되도록 넣는다.

염화나트륨	6.80g	염화칼륨	400mg
인산이수소나트륨(무수)	115mg	황산마그네슘(무수)	93.5mg
염화칼슘(무수)	200mg	포도당	1.00g
L-알기닌염산염	126mg	L-시스테인염산염(일수화물)	31.4mg
L-티로신	36.0mg	L-히스티딘염산염(일수화물)	42.0mg
L-이소로이신	52.0mg	L-로이신	52.0mg
L-리신염산염	73.0mg	L-메티오닌	15.0mg
L-페닐알라닌	32.0mg	L-트레오닌	48.0mg
L-트립토판	10.0mg	L-발린	46.0mg
숙신산	75.0mg	숙신산나트륨(육수화물)	100mg
중타르타르산콜린	1.8mg	폴산	1.0mg
미오이노시톨	2.0mg	니코틴산아미드	1.0mg
D-판토텐산칼슘	1.0mg	염산피리독살	1.0mg
리보플라빈	0.1mg	염산티아민	1.0mg
비오틴	0.02mg	페놀레드	6.0mg

다. 시약

- ① 탄산수소나트륨용액 : 탄산수소나트륨 10g을 물에 녹여 100mL로 하고 기밀상태로 121℃에서 20분간 고압증기멸균하거나 공경 0.22µm 이하의 멤브레인필터로 여과하여 멸균한다.
- ② 글루타민용액 : L-글루타민 2.92g을 물에 녹여 100mL로 하고 공경 0.22µm 이

하의 멤브레인필터로 여과하여 멸균한다.

- ③ 염화나트륨완충액 : 염화칼륨 0.20g, 인산이수칼륨 0.20g, 염화나트륨 8.00g 및 인산수소이나트륨(무수) 1.15g을 물에 녹여 1000mL로 하고 121℃에서 20분간 고압증기멸균한다.
- ④ 트립신용액 : 트립신 0.5g, 에틸렌디아민테트라아세트산디나트륨 0.2g을 인산염완충액에 녹여 1000mL로 하고 공경 0.22 $\mu$ m 이하의 멤브레인필터로 여과하여 멸균한다.
- ⑤ 묽은 포름알데히드시액 : 포름알데히드액을 물로 10배 희석한다.
- ⑥ 묽은 김자시액 : 김자시액을 희석액으로 약 50배로 희석하고 여과지로 여과하여 불용물을 제거한다. 쓸 때 만든다.  
※ 김자시액 : 아주르 II-에오신 3g 및 아주르 II 0.8g을 글리세린 250g에 넣고 60℃에서 가온하여 녹인 다음 식히고 메탄올 250g을 넣어 잘 섞어서 만든다. 24시간 방치한 다음 여과한다. 마개를 하여 보존한다.
- ⑦ 희석액 : 인산이수소칼륨 4.54g 및 무수인산수소이나트륨 4.75g을 물에 녹여 1000mL로 한다.

#### 라. 기구 및 장치

- ① 피펫 : 파스퇴르피펫, 메스피펫, 팁식미량피펫
- ② 나사마개 유리병 : 50 ~ 1000mL
- ③ 플라스틱제 멸균원심침전관 : 15mL 및 50mL
- ④ 플라스틱제멸균배양플라스크 : 25cm<sup>2</sup> 또는 75cm<sup>2</sup>
- ⑤ 플라스틱제멸균배양플레이트 (24칸)
- ⑥ 현미경 : 도립(倒立)현미경 및 실체현미경
- ⑦ 이산화탄소배양기 : 이산화탄소 농도를 5%로 하고 온도를 37℃로 유지
- ⑧ 양성대조 배양액 : 아연디에틸디티오카바메이트를 함유하는 폴리우레탄필름 등 제품의 특성에 적합한 것으로 선정
- ⑨ 음성대조 배양액 : 폴리에틸렌 필름 등 제품의 특성에 적합한 것으로 선정

#### 마. 조작

- (1) 세포부유액의 조제 : 세포를 배양하여 둔 플라스틱제 멸균배양플라스크로부터 배지를 제거하고 인산염완충액 적당량을 가만히 넣어 플라스크를 천천히 2, 3회 기울여 세포층을 씻은 다음 인산염완충액을 버린다. 트립신시액을 세포층이

노출되지 않을 정도로 넣고 플라스크의 마개를 하여 이산화탄소배양기에 넣고 1 ~ 2분간 방치한다. 플라스크를 배양기에서 꺼내어 벗겨진 상태를 현미경으로 관찰한다. 배지 적당량을 넣어 파스퇴르피펫으로 가만히 취하여 세포를 플라스크 벽면으로부터 완전하게 벗겨낸다. 이 액을 플라스틱제 멸균원심분리관에 옮기고 1분간 800 ~ 1000회전으로 2 ~ 5분간 원심분리한다. 상정액을 버리고 새로운 배지 일정량을 넣은 다음 파스퇴르피펫으로 가만히 취하여 균질한 세포부유액을 만들어 세포농도를 혈구계산판을 써서 측정한다.

- (2) 세포독성시험 : 세포부유액을 배지로 희석하여 세포농도를  $10^5$ 개/mL로 한다. 이 액 0.5mL씩을 플라스틱제 멸균배양 플레이트의 각 칸에 분주한다. 배양플레이트를 이산화탄소배양기 중에서 4 ~ 6시간 정치하여 세포를 플레이트의 밑판에 접촉시킨다. 배양플레이트의 각 칸의 배지를 버리고 앞서 조제한 여러 농도의 검액, 대조액 또는 새로운 배지 0.5mL를 각각의 칸에 넣는다. 각 액의 조건마다 각각 4칸을 사용한다. 배양플레이트는 바로 이산화탄소 배양기에 다시 넣어 정해진 기간 배양한다. 배양기간은 L929 세포는 7 ~ 9일간 한다. 배양이 끝난 다음 배양플레이트의 검액 등을 버리고 묽은 포름알데히드시약을 적당량 넣고 약 30분간 방치하여 세포를 고정한다. 각 칸의 묽은 포름알데히드시약을 버리고 묽은 김자시약을 적당량 넣는다. 세포균락이 잘 염색된 것을 확인한 다음 묽은 김자액을 버리고 각 칸의 세포균락수를 센다. 각 농도의 검액의 세포균락수를 평균하고 그 값은 배지만일 때의 세포균락수의 평균값으로 나누어 해당검액 및 대조액의 세포균락형성율(%)을 산출한다. 편대수 그래프 용지의 대수축에 검액농도(%)를, 다른 한편의 축에 세포균락 형성율을 취하여 얻은 결과를 플롯트하여 증식저해곡선을 얻는다. 이 곡선으로부터 세포균락 형성율이 50%가 되는 검액농도[IC<sub>50</sub>(%)]를 읽는다. 필요하면 양성대조배양액 또는 음성대조배양액을 시험하여 시험의 감도나 재현성을 확인한다.

#### 4. 시험자료의 제출

시험자료는 이 규정의 시험기준에 따라 설비가 충분한 시설에서 경험과 책임이 있는 시험자에 의하여 검증된 시험법에 따라 실시한 자료이어야 하며, 다음과 같은 내용이 포함되어야 한다.

- 1) 시험기관의 명칭, 소재지, 시험에 사용된 주요설비 등 시설에 관한 사항
- 2) 시험책임자 및 시험자의 성명
- 3) 제품명, 첨가제를 포함한 원료약품의 분량, 용기 및 포장형태, 제조일자, 생산량 및 제조번호
- 4) 시험보고서  
예시) 용출물에 대한 세포독성시험
  - ① 시험일자 및 기간
  - ② 시료에 대한 설명
  - ③ 세포주
  - ④ 배지
  - ⑤ 시험방법
  - ⑥ 음성, 양성 및 대조군
  - ⑦ 관찰사항, 시험결과 및 분석
  - ⑧ 그 외 결과 평가에 필요한 관련자료
- 5) 시험결과에 대한 시험책임자의 종합의견



## 에틸렌옥사이드 멸균 제품의 에틸렌가스 잔류량 시험

에틸렌옥사이드 가스로 멸균한 탐폰의 경우에는 기준 및 시험방법에 다음과 같은 에틸렌옥사이드 및 에틸렌하이드린 잔류량시험을 설정하여야 한다.

### 1. 시험기준

에틸렌옥사이드 가스로 멸균한 제품을 가지고 시험할 때 에틸렌옥사이드(EO) 및 에틸렌클로로하이드린(ECH)은 각각 25 ppm 이하이어야 한다.

### 2. 시험방법

검체 1개를 취하여 가늘게 잘라 마개 달린 플라스크에 넣고 에탄올 50mL를 정확하게 넣은 다음 마개를 하고 70℃ 수욕조에서 2시간 진탕 추출한다. 추출한 다음 20℃로 식힌 후 여과하여 얻은 여액을 검액으로 한다. 따로 에틸렌옥사이드(EO) 표준원액 적당량을 정확하게 취하여 에탄올을 넣어 에틸렌옥사이드 농도를 1.0 ppm~30.0 ppm 함유하도록 희석하여 에틸렌옥사이드 표준액으로 한다. 에틸렌클로로하이드린(ECH)을 가지고 동일한 방법으로 조작하여 에틸렌클로로하이드린 표준액으로 한다. 검액 및 표준액(에틸렌옥사이드 및 에틸렌클로로하이드린) 각 2 $\mu$ L씩을 가지고 다음 각각의 조건으로 기체크로마토그래프법에 따라 시험하고, 표준액의 피크에서 얻은 검량선을 써서 검액의 에틸렌옥사이드 및 에틸렌클로로하이드린의 잔류량을 구한다.

#### (에틸렌옥사이드 조작조건)

검 출 기 : 수소불꽃이온화검출기

칼 럼 : 안지름 약 3mm, 길이 약 2m인 스테인레스강관에 충전제로서 폴리에틸렌글리콜 6000을 실란처리한 60~80  $\mu$ m의 크로모솔브 W에 10% 비율로 피복시킨 것을 충전한다.

칼럼온도 : 60℃ 부근의 일정온도  
주입구온도 : 120℃ 부근의 일정온도  
검출온도 : 120℃ 부근의 일정온도  
운반기체 : 질소  
유 량 : 60mL/분

### (에틸렌클로로하이드린 조작조건)

검 출 기 : 수소불꽃이온화검출기  
칼 럼 : 안지름 약 3mm, 길이 약 2m인 스테인레스강관에 충전제로서 폴리에틸렌글리콜 6000을 실란처리한 60~80 μm의 크로모솔브 W에 10% 비율로 피복시킨 것을 충전한다.  
칼럼온도 : 150℃ 부근의 일정온도  
주입구온도 : 215℃ 부근의 일정온도  
검출온도 : 215℃ 부근의 일정온도  
운반기체 : 질소  
유 량 : 60mL/분

### 3. 시험자료의 제출

시험자료는 이 규정의 시험기준에 따라 설비가 충분한 시설에서 경험과 책임이 있는 시험자에 의하여 검증된 시험법에 따라 실시한 자료이어야 하며, 다음과 같은 내용이 포함되어야 한다.

- 1) 시험기관의 명칭, 소재지, 시험에 사용된 주요설비 등 시설에 관한 사항
- 2) 시험책임자 및 시험자의 성명
- 3) 제품명, 제조일자 및 제조번호
- 4) 시험일자
- 5) 시험방법
- 6) 시험결과 및 분석



## 참고문헌

---

1. 의약품등의 품목허가·신고·심사 규정(식약청고시 제2009-42호, 2009. 6. 30)
2. 「의약품등의 품목허가·신고·심사 규정」 중 의약품등의 안전성·유효성 심사관련 해설서(2008. 12)
3. 의약품등의 안정성 시험기준(식약청고시 제2007-14호, 2007. 3. 19)
4. ISO 10993 Biological evaluation of medical device-part 5 : In vitro methods (Tests for cytotoxicity : in vitro methods)
5. 의약품외품에 관한 기준 및 시험방법(식약청고시 제2009-6호, 2009. 2. 23)