

이산화염소가스에 의한 훈증멸균 결과보고서

**(Report for Chlorine Dioxide Gas
Decontamination of Stem cell Laboratory)**

**서울대학교 수의과대학 수의공중보건학
제대혈줄기세포 응용사업단 실험실(726호)**

Doc No.	RDC – OTI – 1407-001
Revision No.	00
Equipment	Bactericide X05 Bactericide R01 Bactericide Mini 200 Bactericide Mini 500

<i>ClO₂ Gas</i> <i>Decontamination</i>	제대혈줄기세포응용사업단 실험실 (726 호) 멸균 평가 보고서	<i>Report No</i>	<i>RDC - OTI - 1407-001</i>
		<i>Date</i>	<i>2014. 07. 17.</i>
		<i>Page</i>	<i>1 / 13 Page</i>

목 차

1. 목적 및 범위	2
2. 일반 정보	3
3. Equipment	4
4. 시약	6
5. Decontamination	8
6. 시험결과	9
7. 결론	13
8. 도면	14
9. 첨부자료	15

	<i>Department</i>	<i>Signature</i>		<i>Date</i>
<i>Prepared by</i>				
<i>Prepared by</i>				
<i>Approved by</i>				
<i>Approved by</i>				

CIO₂ Gas Decontamination	제대혈줄기세포응용사업단 실험실 (726 호) 멸균 평가 보고서	Report No	RDC - OTI - 1407-001
		Date	2014. 07. 17.
		Page	2/ 13 Page

1. 멸균평가 보고서의 목적 및 범위

- 1.1 본 보고서는 Mycoplasma 에 오염된 서울대학교 수의과대학 수의공중보건학교실 제대혈줄기세포 응용사업단 실험실(726 호)을 (주)옥시테라피의 이산화염소발생기 Bactericide X05, Bactericide K, Bactericide R01, Bactericide Mini200, Bactericide Mini 500 에서 발생시킨 이산화염소가스를 사용하여 실험실, BSC, Incubator 를 동시에 훈증 멸균 후 멸균이 확실히 수행되었는지를 확인하기 위한 보고서이다.
- 1.2 본 보고서는 멸균 공정의 최적화를 위한 것이 아니다.
- 1.3 본 보고서는 Bio burden 이 아닌 Bio Indicator (BI)와 Chemical Indicator(CI)를 사용하여 멸균을 확인하는것을 목적으로 한다.
- 1.4 책임과 권한
본 평가를 위한 책임 및 권한을 아래와 같이 분장한다.
- 1.4.1 (주)옥시테라피
평가를 위한 계획을 하고 수행한다. 수행된 결과의 적/부 판정을 실시하며 결과를 참고하여 멸균평가 보고서를 작성한다.
- 1.4.2 (주)국제씨엘에스
평가에 필요한 테스트 수행을 실시한다.
- 1.4.2 서울대학교 수의과대학 수의공중보건학교실
평가를 위한 계획을 검토하고 승인한다. 테스트에 따른 장비의 가동 및 조작에 필요한 Utilities 등을 지원하며, 테스트 수행 중 발생한 일탈사항에 대한 검토와 완성된 보고서를 검토하고 승인한다.
- 1.5 일정(Schedule)
본 평가의 일정은 아래 일정표-1 과 같다

일정표-1

	구분	일정
1	평가 계획 수립, 검토, 승인	2014.07.28 ~ 2014.07.02
2	멸균평가 수행	2014.07.07. 09:00 ~ 18:00
3	멸균평가 보고서 작성, 검토, 승인	2014.07.09 ~ 2014.07.25

2. 밸리데이션에 관한 일반 정보

2.1 실시 대상: 서울대학교 수의과대학 수의공중보건학 제대혈줄기세포응용사업단 실험실

2.2 준비 작업: 2014. 07.07. 10:00 ~13:00

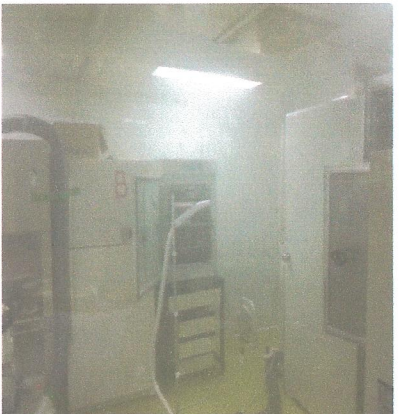
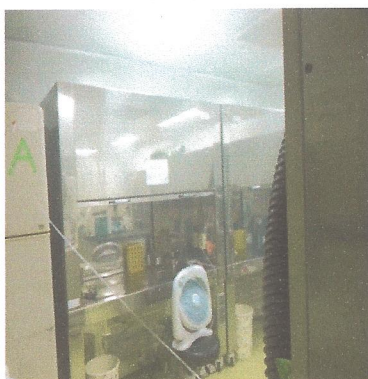
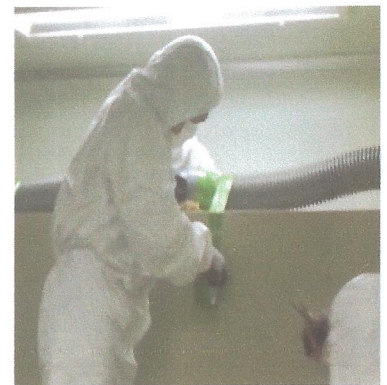
이산화염소 공급라인설치

Distribution Fan 설치 - 4 unit

Steam Humidifier 설치 - 2 unit

Chemical Indicator (C.I.) 설치 - 13 point

Bio Indicator (B.I.) 설치 - 13 point



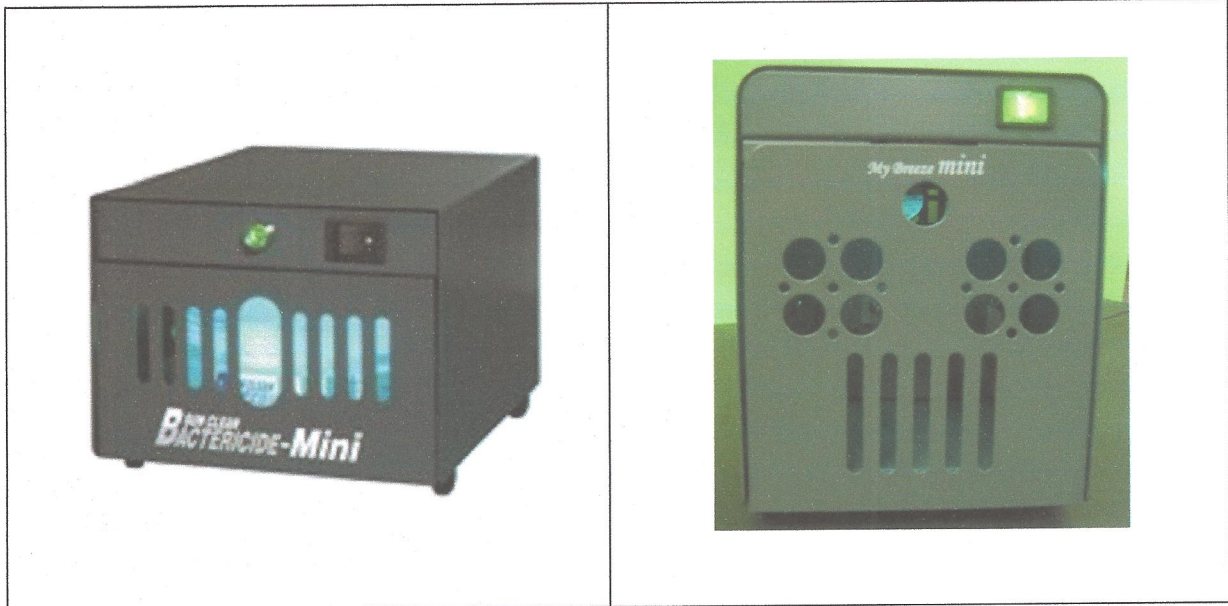
ClO_2 Gas Decontamination	제대혈줄기세포응용사업단 실험실 (726 호) 멸균 평가 보고서	Report No	RDC - OTI - 1407-001
		Date	2014. 07. 17.
		Page	4/ 13 Page

3. Equipment

3.1 시스템 개요(System Description)

본 평가에 사용한 이산화염소가스 발생기(Chlorine Dioxide gas Generator)는 겔(Gel) 형태로 존재하는 안정화이산화염소(Stabilized Chlorine Dioxide)에 자외선을 조사하여 이산화염소를 가스 형태로 공기 중으로 방출시켜 미생물에 오염(Contamination)된 밀폐된 실내를 멸균하는 장치이다. 장비 내부에서 발생한 이산화염소가스는 밀폐된 실내로 토출되어 확산되는 한편, 장비 내부에 장착된 팬에 의하여 장치내부로 흡입되어 다시 실내로 보내지는 순환구조이다. Chlorine Dioxide gas Generator 에 연결된 이산화염소가스농도측정장치(Chlorine Dioxide Monitoring System)에서 설정된 농도와 멸균대상인 실내의 실제 측정된 이산화염소농도가 동조되어 설정된 농도 이상으로 감지되면 자외선 조사장치가 자동으로 작동이 정지되어 이산화염소가스의 방출은 멈추게 되고, 사용자가 설정 멸균과정에서 이산화염소가 분해되어 농도가 설정한 농도보다 낮아지게 되면 자외선 조사장치가 작동하여 이산화염소가스는 다시 방출하게 된다. 멸균시간, 이산화염소농도는 임의로 설정할 수 있으며, 이산화염소가스가 방출되어 실내를 멸균하는 전 공정은 모니터에 표시되어 프린터를 통해 출력이 가능하다.





3.2 이산화염소 (Chlorine Dioxide)

화학적 ClO₂ 독특한 냄새를 가진 녹색의 가스로 표백제로 사용되어 왔으나 안정성 및 기체상태로 제조하는 것이 용이하지 않아 널리 사용되지 못하였다. 그러나 최근에 제조방법 및 사용상의 문제점을 해결하여 살균 및 소독, 의류표백, 악취제거 등 다양한 용도로 사용되고 있다. 이산화염소는 강산화제로 물에 잘 녹고, 휘발성이 강하며 열에 의해 폭발적으로 분해하며 강력한 산화와 표백작용을 가지고 있다. 기체는 자외선에 의해 쉽게 분해되는 광학적 분해작용이 있으나 물에서는 가수분해되지 않는다. 특히 악취의 원인물질인 암모니아, 황화수소, 머캅탄, 페놀 등을 산화시키거나 구조를 파괴하여 악취를 효과적으로 제거한다. 또한 염소계의 화합물로 살균하는 경우 유기물질과 반응하여 트리할로메탄(THM)과 같은 발암물질을 생성하나 이산화염소는 이와 같은 발암물질을 전혀 생성하지 않는다.

5. DECONTAMINATION ACTUAL OPERATION

5.1 대상(Object)

서울대학교 수의과대학 수의공중보건학 제대혈줄기세포응용사업단 실험실(706 호)
도면-1 평면도

5.2 시험 방법(Test Procedure)

- 5.2.1 이산화염소가스가 실험실내부에 골고루 확산되도록 실험실 내부의 서랍 등을 열어놓고 Chlorine Dioxide gas Generator 인 Bactericide X05 의 토출구에 Flexible PVC 관을 연결 시키고 5m 간격으로 Y 관, T 관을 연결하여 분기시킨 후 Flexible PVC 관을 연결한다.
- 5.2.2 실험실 내부의 상대습도를 75%RH 이상으로 유지시키기 위해 Steam Humidifier 를 2 대 설치하고, ClO₂ Gas 의 확산이 용이하도록 Distribution Fan 을 4 개 설치한다.
- 5.2.3 BSC 4 에는 Bactericide R01 1 대를 설치하고, Incubator 에 Bactericide Mini 200 2 대, Bactericide Mini 500 2 대를 각각 설치한다.
- 5.2.4 BI(biological indicator)와 CI(chemical indicator)를 실험실 내부의 테이블 위, 벽면 등 3point, BSC 4point, Incubator 6point 등 총 12 개의 point 에 각각 설치한다.
- 5.2.4 공조기의 가동을 중단하고 실험실 출입문을 밀폐한 다음 전원을 연결, Distribution Fan, Steam Humidifier, Chlorine Dioxide Generator (Bactericide Mini200, Mini 500, R01, X05) 를 가동하여 실험실 내부를 멸균시킨다.
- 5.2.5 멸균 조건

CIO ₂ 농도	상대습도	멸균시간
30 ppm 이상	75%RH 이상	240 분

- 5.2.5 멸균시험 종료 후 CI 를 수거하고 결과를 즉시 확인한다.
- 5.2.6 멸균시험 종료 후 BI 를 37±1℃에서 48 시간 배양하여 미생물의 증식 여부를 확인한다.

ClO_2 Gas Decontamination	제대혈줄기세포응용사업단 실험실 (726 호) 멸균 평가 보고서	Report No	RDC - OTI - 1407-001
		Date	2014. 07. 17.
		Page	8/ 13 Page

5.3 허용기준(Acceptance Criteria)

5.3.1 BI 의 Certificate Of Analysis 에 명시된 유효기간은 멸균테스트 수행일을 포함하여야 한다.

5.3.2 CI 는 변색되어야 한다. (노란색 ⇒ 초록색 또는 황갈색)

5.3.3 배양된 BI 에서 미생물 증식은 없어야 한다. (오렌지색)

5.3.4 대조군 BI 에서는 미생물이 증식되어야 한다. (노란색)

5.4 규정 및 지침(Regulation & Guideline)

대한민국 약전 제 10 개정, 별표 5 일반시험법

< 이하여백 >

CIO₂ Gas
Decontamination

제대혈줄기세포응용사업단
실험실 (726 호)
멸균 평가 보고서

Report No	RDC - OTI - 1407-001
Date	2014. 07. 17.
Page	9/ 13 Page

6. 시험결과(Test Result)

6.1 BI 성적서 확인

NO	점검항목	점검결과		점검문서 첨부	판정		Initials/Date
		성적서번호	유효기간		적합	부적합	
1	Biological Indicator 성적서			☒ Yes ☐ No	☒	☐	

6.2 CI 변색

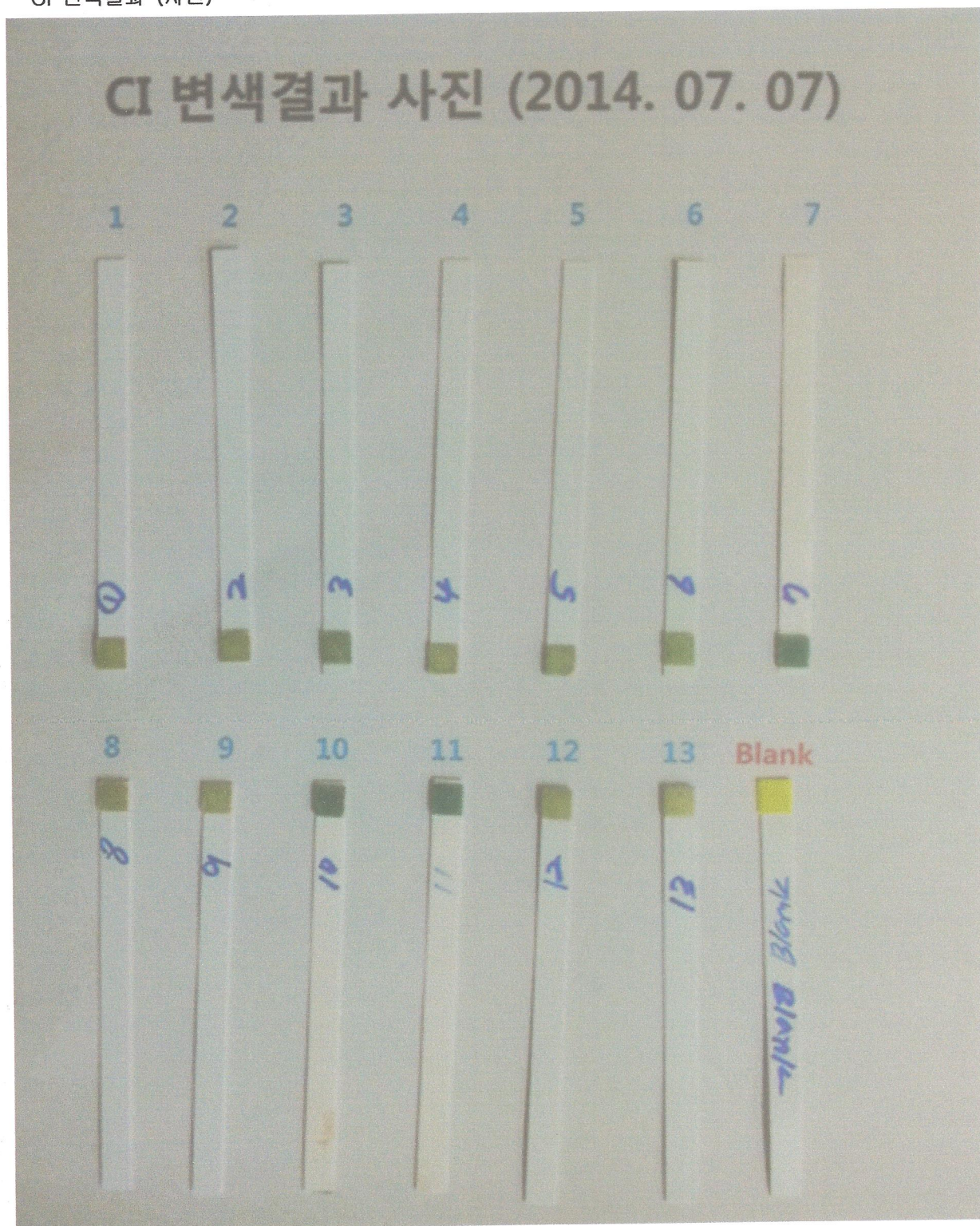
NO.	CI 위치	점검항목	Chemical Indicator 변색 유무	판정		Initials/Date
				적합	부적합	
1	①	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
2	②	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
3	③	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
4	④	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
5	⑤	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
6	⑥	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
7	⑦	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
8	⑧	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
9	⑨	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
10	⑩	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
11	⑪	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
12	⑫	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	
13	⑬	CI 변색	초록색으로 변색	☒	☐	

ClO₂ Gas
Decontamination

제대혈줄기세포응용사업단
실험실 (726 호)
멸균 평가 보고서

Report No	RDC - OTI - 1407-001
Date	2014. 07. 17.
Page	10/ 13 Page

6.3 CI 변색결과 (사진)



CIO₂ Gas
Decontamination

제대혈줄기세포응용사업단
실험실 (726 호)
멸균 평가 보고서

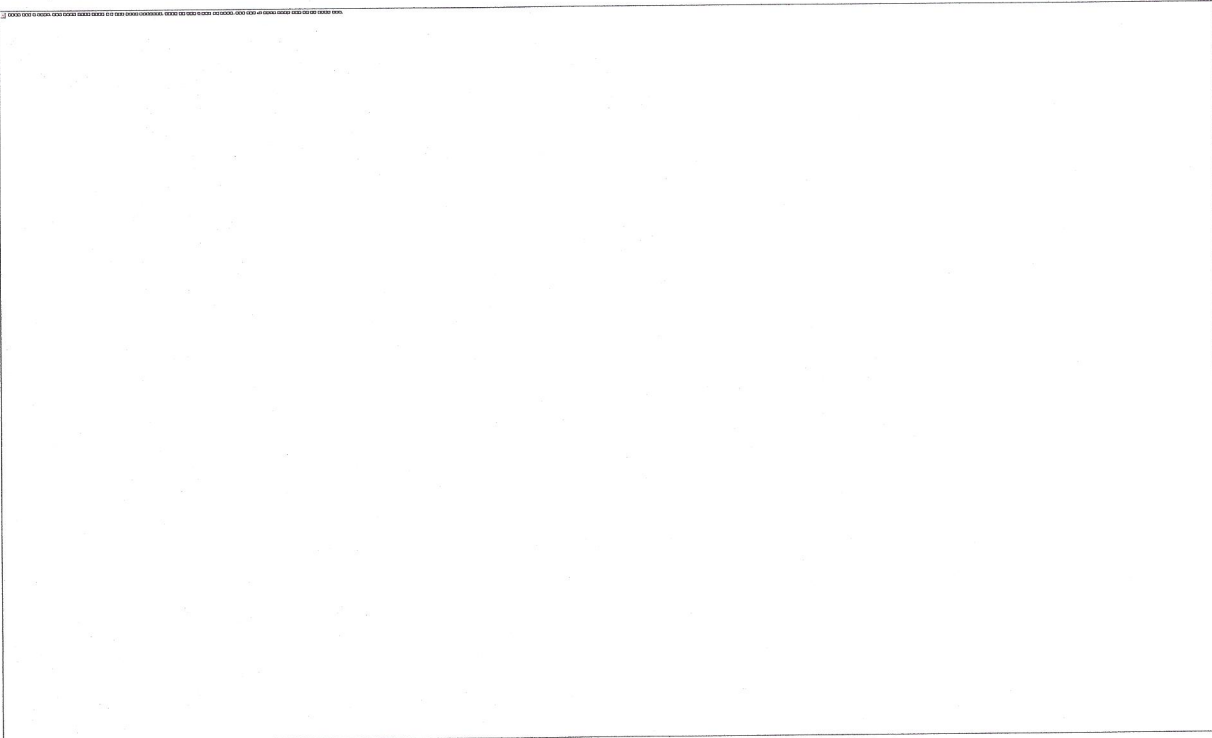
Report No	RDC - OTI - 1407-001
Date	2014. 07. 17.
Page	11/ 13 Page

6.4 BI 결과

NO.	BI 위치	점검항목	Biological Indicator 변색 유무	판정		Initials/Date
				적합	부적합	
1	①	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
2	②	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
3	③	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
4	④	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
5	⑤	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
6	⑥	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
7	⑦	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
8	⑧	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
9	⑨	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
10	⑩	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
11	⑪	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
12	⑫	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
13	⑬	미생물증식 BI 변색	미생물증식 없음 변색없음 , (오렌지색)	☒	☐	
14	대조군	미생물증식 BI 변색	미생물증식 있음 변색 , (노란색)			

ClO_2 Gas Decontamination	제대혈줄기세포응용사업단 실험실 (726 호) 멸균 평가 보고서	Report No	RDC - OTI - 1407-001
		Date	2014. 07. 17.
		Page	12/ 13 Page

6.5 BI 변색결과 (사진)



CIO₂ Gas Decontamination	제대혈줄기세포응용사업단 실험실 (726 호) 멸균 평가 보고서	Report No	RDC - OTI - 1407-001
		Date	2014. 07. 17.
		Page	13/ 13 Page

7 결론 (Result)

- 7.1 본 보고서는 *Mycoplasma* 에 오염된 서울대학교 수의과대학 수의공중보건학교실 제대혈 줄기세포 응용사업단 실험실(726 호)실에 대한 이산화염소가스를 이용한 멸균공정 효과를 검증함에 있다.
- 7.2 본 보고서는 멸균공정의 최적화의 개발을 목적으로 하지는 않는다.
- 7.3 본 보고서는 서울대학교 수의과대학 수의공중보건학교실 제대혈줄기세포 응용사업단 실험실(726 호)실에서 이산화염소가스로 멸균공정을 수행했을 때, 실험실의 적합한 무균환경과 연구원들에 대한 안전한 환경이 조성하는지를 확인하고 평가하는데 목적이 있다.
- 7.4 이산화염소가스멸균공정 시작 전에 실험실 내부에 설치한 CI (Chemical Indicator)와 BI (Biological Indicator)를 대상으로 멸균공정 후의 결과는 CI 는 13 point 에서 원래의 노란색에서 초록색으로 모두 변색이 되었는데 이는 이산화염소가스가 실험실 내부에 골고루 분포(Good Distribution)되어 최적의 멸균효과가 기대됨을 알 수 있었고, CI 와 동일한 13 point 에 설치한 BI 는 멸균시험 종료 후 BI 를 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 48 시간 배양하여 확인한 결과 색상의 변화 없이 오렌지색을 유지하기에 *Bacillus atrophaeus* spore 가 전부 사멸되었음을 보여주고 있다.
- 7.5 모든 결과를 종합한 결과 서울대학교 수의과대학 수의공중보건학교실 제대혈줄기세포 응용사업단 실험실(726 호)실에 대한 이산화염소가스멸균은 인체에 안전하면서도 본래의 실험연구에 적합한 환경을 제공할 수 있는 무균실험실임을 확인할 수 있다.