병원성 미생물에 대한 약산성 차아염소산수 네오록스의 살균소독력 평가

방해인, 최태윤

순천향대학교 서울병원 진단검사의학과

Biocidal Effect of Hypochlorous Acid Solution, Neolox against Pathogenic Microorganisms

Hae In Bang, Tae Youn Choi

Department of Laboratory Medicine, Soonchunhyang University Seoul Hospital, Seoul, Korea

Objective: Disinfection/sterilization of hospital devices prevents the occurrence of several infections; therefore, disinfectants are essential for public health. The purpose of this study was to evaluate the biocidal effect of a hypochlorous acid solution.

Methods: Hypochlorous acid solution, Neolox (Neo Chemical, Paju, Korea) obtained from Purester (Morinaga Engineering, Tokyo, Japan) was used. Antimicrobial activity of the solution against bacteria, yeasts, and mycobacteria at different exposure times (0.5, 1, 2, 5, 10, 15, and 30 minutes) was evaluated.

Results: All strains of bacteria and yeasts showed a 5-log₁₀ reduction within 30 seconds of exposure to the solution, and mycobacteria showed the same reduction within 2 minutes.

Conclusion: Hypochlorous acid solution has been widely used as a disinfectant in recent years. Neolox can be used as an effective intermediate- to high-level disinfectant for hospital infection control.

Keywords: Hypochlorous acid; Disinfectants; Infection

서 론

침습적인 내과적 시술이나 외과 수술을 시행할 때 환자의 무균 조직이나 점막에 의료기구가 접촉하게 된다. 의료기구 접촉에 가장 문제가 되는 것은 감염을 일으킬 수 있는 병원성 미생물에 노출되는 것일 것이다. 따라서 멸균, 소독과정을 통하여 멸균 및 소독을 완벽히 시행하는 것이 감염예방을 위해 필수적이다. 그러나 모든 환자 및 관련된 기기나 물품들을 모두 멸균시킬 필요는 없다. 각 기관마다 사용목적에 따른 세정, 소독, 멸균이 필요한 물품들을 분류하고 방침을 제시하기 위해서는 살균소독제에 대한 이해가 필요하다[1].

멸균은 세균의 아포를 포함한 모든 미생물을 파괴하는 것이고 증기나 열, 에틸렌옥사이드(ethylene oxide) 가스, 과산화수소 가스, 화학적 멸균제 등을 사용할 수 있다. 높은 수준의 소독은 세균 아포를 제외한 모든 미생물을 죽이는 것으로 열이나 화학적 멸균제나 고수준 소독제를 사용할 수 있다. 중간 수준의 소독은 영양형 세균, 마이코박테리아, 대부분의 바이러스, 진균을 죽이는 것으로 염소계, 페놀계와 같은 소독제가 있다. 낮은 수준의 소독은 영양형 세균과 약간의 진균 및 바이러스를 죽일 수 있는 수준으로 마이코박테리아와 아포는 파괴하지 못하며 4급 암모늄 등이 있다[2].

식품의약품안전처에서 2016년 4월에 고시한 '식품 등의 한시적

Correspondence to: Tae Youn Choi

Department of Laboratory Medicine, Soonchunhyang University Seoul Hospital, 59 Daesagwan-ro, Yongsan-gu, Seoul 04401, Korea

Tel: +82-2-709-9425, Fax: +82-2-709-9083, E-mail: choity@schmc.ac.kr

Received: Nov. 29, 2016 / Accepted after revision: Dec. 7, 2016

© 2016 Soonchunhyang Medical Research Institute

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

기준 및 규격 인정기준 일부 개정고시'에 의하면 살균소독제 성분 규격에는 성상, 순도시험, 살균소독력 시험이 있으며 그 중에서 살균소독력 시험에서는 $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 5 ± 10 초 동안 처리했을 때, 영양형 세균을 5분 이내 99.999% ($5 \log_{10}$ cfu/mL) 이상 감소시켜야 살균소독제로 인정한다[3].

본 연구에서는 급식설비나 손세정, 복지기구 세정 및 제균을 목적으로 개발된 약산성 차아염소산수(hypochlorous acid water)인 퓨어스터수(Morinaga Engineering, Tokyo, Japan)에 대한 소독력을 평가하여 살균소독제로서의 수준을 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 균종 및 균주

순천향대학교 서울병원에 입원한 환자의 검체로부터 분리한 총 18개의 균주를 사용하였다. Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA, 1주), methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA, 1주), methicillin-susceptible *Staphylococcus epidermidis* (MSSE, 1주), methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE, 1주), vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VRE, 1주)의 그람양성알균 총 5주, *Bacillus species* (1주)로 그람양성간균 총 1주, *Escherichia coli* (1주), *Klebsiella pneumoniae* (1주), *Enterobacter cloacae* (1주), *Serratia marcescens* (1주), *Salmonella typhi* (1주), *Proteus mirabilis* (1주), *Pseudomonas aeruginosa* (1주), *Acinetobacter baumannii* (1주)의 그람음성간균 총 8주, *Candida albicans* (1주), *Candida tropicalis* (1주) 진균 총 2주, *Mycobacterium tuberculosis* (1주), 비결핵항산균인 *Mycobacterium ab-*

scensus (1주)를 대상으로 하였다.

2. 세정제 제조

약산성 차아염소산수의 살균소독력을 평가하였으며, 이는 퓨어스터 약산성전해수 제조장치(Morinaga Engineering)로부터 생성되었다. 염소는 10 ppm, pH는 6.2이며 생성과정은 아래와 같다.

3. 살균력 평가

순수 배양한 대상 균주를 tryptic soy broth (TSB)에서 20시간 배양하였다. 결핵균과 비결핵항산균은 Ogawa 배지에서 6주간 배양하였다. 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액은 버리고 침전된 균에 인산완충액(pH 7.2)을 넣고 혼합기로 균등하게 부유시켜 혼탁도를 McFarland 3에 맞추어 농도가 10^8 – 10^9 cfu/mL가 되도록 하였다. 각각의 소독제 9.9 mL에 균액 0.1 mL를 첨가하여 최종 균수가 대략 10^7 – 10^8 cfu/mL가 되도록 하고 실온에서 노출시간을 0.5, 1, 2, 5, 10, 15, 30분에 맞추어 0.01 mL 표준백금으로 균액을 TSB에 접종하였다. 대조균은 멸균증류수 9.9 mL에 균액 0.1 mL를 첨가하였다. 37°C 에서 48시간 배양한 후 일반세균은 혈액천배지와 MacConkey배지에, 진균은 Sabouraud dextrose agar에 0.01 mL 표준백금으로 접종하여 배양한 후 균의 발육 유무 및 생균수를 산출하였다. 결핵균과 비결핵항산균의 경우는 0.01 mL 표준백금으로 균액을 10 μL 따서 Ogawa 배지에 접종하고 추가로 액체배지인 Mycobacterium growth indicator tube (MGIT)에 균액 500 μL , supplement 800 μL 접종하고 MGIT 960 System (Becton Dick-

Table 1. Biocidal effect of hypochlorous acid solution, Neolox against pathogenic bacteria according to exposure times

Test microorganism	Initial count (cfu/mL)	Colonies remaining (cfu/mL)						
		0.5 min	1 min	2 min	5 min	10 min	15 min	30 min
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i>	1.0×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	3.2×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.0×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.3×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
Vancomycin-susceptible <i>Enterococcus faecium</i>	3.0×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
Vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecium</i>	1.0×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
<i>Bacillus species</i>	1.3×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
<i>Escherichia coli</i>	1.2×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
<i>Serratia marcescens</i>	1.0×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
<i>Enterobacter cloacae</i>	2.7×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
<i>Salmonella typhi</i>	1.3×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
<i>Proteus mirabilis</i>	3.0×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.2×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1.4×10^8	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$

Table 2. Biocidal effect of hypochlorous acid solution, Neolox against *Candida* species according to exposure times

Test microorganism	Initial count (cfu/mL)	Colonies remaining (cfu/mL)						
		0.5 min	1 min	2 min	5 min	10 min	15 min	30 min
<i>Candida tropicalis</i>	1.0×10^7	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
<i>Candida albicans</i>	1.2×10^7	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$

Table 3. Biocidal effect of hypochlorous acid solution, Neolox against mycobacteria according to exposure times

Test microorganism	Culture method	Control	Results of biocidal effect						
			0.5 min	1 min	2 min	5 min	10 min	15 min	30 min
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Ogawa ^{a)}	2.4×10^7	$> 10^3$	$> 10^3$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
	MGIT ^{b)}	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Mycobacterium abscessus</i>	Ogawa	3.2×10^7	$> 10^3$	$> 10^3$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
	MGIT	+	+	+	+	-	-	-	-

MGIT, Mycobacterium growth indicator tube.

^{a)}Values are remaining colony counts of Ogawa media (cfu/mL). ^{b)}Results of MGIT culture: '+' as growth and '-' as no growth.

inson, Mountainview, CA, USA)에서 배양하였다. 살균효과를 판정하는 기준은 세정제로 처리한 후 5분에 생균수가 $5 \log_{10}$ 배 이하로 감소하는 것으로 정의하였다.

결 과

1. 세균에 대한 살균효과

MSSA, MRSA, MSSE, MRSE, VRE의 그람양성알균 총 5주, *Bacillus species* 1주, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*의 그람음성간균 총 8주 모두 노출시간 30초 이내에 $5 \log_{10}$ 이하로 감소하였다(Table 1).

2. 진균(효모균)에 대한 살균효과

Candida albicans, *Candida tropicalis* 진균 2주 모두 노출시간 30초 이내에 $5 \log_{10}$ 이하로 감소하였다(Table 2).

3. 결핵균과 비결핵항산균에 대한 살균효과

Mycobacterium tuberculosis 및 비결핵항산균인 *Mycobacterium abscessus*에 대하여 고체배지(Ogawa)에서는 노출시간 2분 이내에 $5 \log_{10}$ 이하로 감소하였다. 액체배지(MGIT)에서는 노출시간 2분에는 균이 배양되었고 5분에서는 배양되지 않았다(Table 3).

고 찰

가장 널리 사용되는 염소계 소독제는 유기화합물과 무기화합물로 나눌 수 있다. 유기염소 화합물에는 이염화이소시아눌산나트륨

(sodium dichloroisocyanuric acid), 삼염화이소시아눌산나트륨(sodium trichloroisocyanuric acid) 등이 있고 무기염소 화합물에는 차아염소산 나트륨(sodium hypochlorite), 차아염소산 칼슘(calcium hypochlorite), 차아염소산수 등이 있다. 차아염소산 나트륨은 유효염소 함유량이 6%~10%로 살균소독을 위해서는 고농도로 사용해야 하므로 환경오염을 일으켜 문제가 되고 있다. 이 문제를 해결하기 위하여 물과 염소를 전기분해하여 생성한 전해산화수, 차아염소산수가 개발되어 사용되고 있다[4,5]. 본 논문에서 평가한 퓨어스터수가 이에 해당한다.

전해산화수는 염소가 함유된 전해질을 중성 부근에서 전기분해할 때 생성되는 차아염소산과 발생기의 활성화 산소를 함유한 살균수이다. 활성화 산소가 미생물 세포 내에서 산화작용을 하여 효소반응을 저해하고 차아염소산이 미생물 세포막과 세포 내에서 질소-염소 결합을 만들어 단백질을 변성시키고 핵산을 불활성화시키며, 높은 pH와 산화환원전위로 미생물에 순간적인 전기적 쇼크를 일으켜 살균작용을 하는 것으로 알려져 있다[5,6].

국내에서 아포를 형성하는 *Bacillus subtilis*균에 대한 차아염소산수의 소독력 평가연구가 보고된 바 있다. 한 연구는 Medilox (Soosan Co. Ltd., Seongnam, Korea)라는 전해산화수를 평가하였으며 이는 *Bacillus subtilis*, ATCC 6051, 6633 균주를 염소 30 ppm 농도에서 4분 이내에, 50 ppm 농도에서는 30초 이내에 살균되었다[5]. 또 다른 연구에서는 *Bacillus subtilis* O-1317 아포를 형성하는 균주에 대하여 Biospot (HydraChem Ltd., London, UK)이라는 전해산화수를 평가하였고 50 ppm, 4분 이내, 100 ppm, 2분 이내에 살균하였다고 보고한 바 있다[5]. 본 연구에서는 아포를 형성하는 세균에 대해서는 평가하지 못하여 살균소독제의 수준을 정확히 정의하기 어려웠다. 그러나 차아염소산수에 대한 다른 연구들을 고찰하여 보았을 때 노출시간을 충분히 길게 하면 아포를 사멸시킬 수

있으리라 생각된다.

네오록스는 영양형 세균, 진균에 대하여 처리한 후 30초 이내에 그리고 마이코박테리아에 대하여 처리한 후 2분 이내에 $5 \log_{10}$ cfu/mL 이상 감소하였기 때문에 적어도 중간 수준의 살균소독제로서의 역할을 할 수 있으리라 생각된다.

REFERENCES

1. Rutala WA, Weber DJ. Disinfection and sterilization in health care facilities: what clinicians need to know. *Clin Infect Dis* 2004;39:702-9.
2. Rutala WA, Weber DJ. Disinfection and sterilization: an overview. *Am J Infect Control* 2013;41(5 Suppl):S2-5.
3. Korean Food and Drug Administration. A report on the revised standards for Food and Drug Administration [Internet]. Cheongju: Korean Food and Drug Administration; c2016 [cited 2016 Nov 8]. Available from: <http://www.mfds.go.kr>.
4. Kim SI, Shin JH, Kim YS, Lee JY, Wie SH, Choi SM, et al. Bactericidal effect of disinfectant Biospot(R) against clinical isolates. *Korean J Nosocomial Infect Control* 2001;6:103-10.
5. Choi TY, Kim WB. Bactericidal effect of disinfectant HICLO-S(R). *Korean J Nosocomial Infect Control* 1998;3:33-9.
6. Kim EC, Oh HB, Suk JS. Bactericidal activities of electrolyzed-oxidizing water against clinical isolates. *Expans Recent Med Front* 1995;38:21-7.