

Chlorhexidine Gluconate Solution의 殺菌效果에 關한 實驗的 研究

鄭文植 · 鄭圭寬 · 金泰植 · 金貞沃

서울대학교 保健大學院

An Experimental Study on the Bactericidal Activity of Chlorhexidine Gluconate Solution

Moon Shik Zong · Kyu Kwan Chong ·
Tae Shik Kim · Chung Ock Kim

*Dept. of Environmental Health, School of Public Health,
Seoul National University*

Abstract

Owing to the modification of testing methods of disinfectants or antiseptics, variations of bacteria according to characteristics of regions and resistance changes of bacteria, it is necessary that the bactericidal activities of disinfectants or antiseptics should be reevaluated nowadays.

This study was carried out to reevaluate in the vitro bactericidal activity of Chlorhexidine gluconate solution.

The results of experiment were summarized as follows.

1. For Chlorhexidine gluconate solution, minimal inhibitory concentrations of total bacteria taken from sewage water and *Legionella bozemanii* were $2.0 \times 10^{-3}\%$, $1.0 \times 10^{-2}\%$, respectively and were comparatively high. Minimal inhibitory concentration of *Shigella flexneri* was $1.6 \times 10^{-4}\%$, and was comparatively low.
2. For total bacteria taken from sewage water, it was killed within 15 minute in 0.1% Chlorhexidine gluconate solution when number of cells was 1.6×10^7 /ml.
3. For 0.0125% Chlorhexidine gluconate solution, decimal reduction times of *Ps. aeruginosa*, *S. typhi*, *E. Coli* were 45 sec, 25 sec, 18 sec respectively. For 1%, 0.125% Chlorhexidine gluconate solution, decimal reduction times of *Legionella bozemanii* were 10 sec, 45 sec respectively.
4. There was significant difference in the bactericidal activity of Chlorhexidine gluconate solution

according to temperature.

5. Phenol coefficient of Chlorhexidine gluconate solution as using *Staph. aureus* was 100 and comparatively higher than that of other disinfectants.
6. In comparison with other disinfectants, *Legionella bozemanii* was killed within 5 minutes in 0.02% KMnO_4 and 0.125% Chlorhexidine gluconate solution but was not killed within 3 minutes in 1% O-cresol, 1% Phenol.

I. 緒 論

疾病의 豫防을 目的으로 使用되어온 消毒劑는 微生物의 發見歷史와 더불어 많은 發展이 있어 왔다. 새로운 微生物이 發見될때마다 그것을 效果的으로 殺菌할 수 있는 消毒劑가 많이 開發되어 왔으며 現在에 이르러서는 使用目的에 따라 種類나 特性 또한 多樣해졌다. 따라서 消毒劑를 보다 安全하고 效果的으로 使用하기 위해서는 適用範圍, 使用濃度, 安全性 등에 대한 많은 資料가 確保되어 있어야하며 特히 使用濃度 設定을 위한 消毒劑의 殺菌力에 있어서는 보다 正確한 評價가 이루어져야 한다. 그동안 消毒劑의 殺菌力評價에 대해서는 많은 研究가 進行되어 왔으며 그 發展過程을 보면 1881年 Koch^{1,2)}는 *Bacillus anthracis*를 使用해 絹絲法에 依해 消毒劑에 대한 殺菌力을 評價했으며 1897年 Kronig와 Paul은 이 方法을 修正해서 絹絲대신 石榴石(garnets)을 使用했다. 그러나 이 두 方法은 實驗條件이나 方法의 正確성에 있어서 信賴度를 缺如하고 있으며 이에 대한 補完法으로 1903年 Rideal과 Walker¹⁻³⁾가 새로운 檢査法을 開發하게 되었는데 이 方法이 消毒劑를 檢査하는데 있어서 最初로 標準화된 方法이며 現在 使用되고 있는 消毒劑 評價方法의 根幹이 되고 있다.

1911年 Anderson과 McClintic^{2,4)}은 Rideal - Walker法을 修正補完한 Hygienic Laboratory Method 發表했고 1927년에는 Reddish가 L.P. Shippen의 도움을 받아 Rideal - Walker法과

Hygienic Laboratory Method의 長點만을 取한 檢査法을 開發했는데 이것은 1931年 U.S Food and Drug Administration Method²⁾로 指定되었으며 1950년에는 The Association of Official Agricultural Chemists⁵⁾에서 公式의인 消毒劑 檢査法으로 採擇함으로써 現在에도 消毒劑의 殺菌力評價를 위한 一般의인 方法으로 通用되고 있다. 따라서 本稿에서 實驗하고자하는 消毒劑는 Chlorhexidine 溶液으로서 그 化學名은 1,6-di(4-Chlorophenyl diguanido) hexane⁶⁾이며 이것은 1950年 英國의 ICI社에서 合成에 成功했으며 現在 우리나라에서도 導入使用段階에 이르고 있다. Chlorhexidine의 殺菌메카니즘^{7,8)}은 몇몇 表面活性劑와 마찬가지로 分子內 親水性기와 疏水性기의 作用으로 因한 細胞內 透過法調節機能을 阻害함으로써 殺菌作用을 나타내며 그 使用範圍⁹⁻¹²⁾는 皮膚, 手術部位, 粘膜, 化膿性創傷, 醫療器具 등의 洗滌 및 消毒으로 상당히 광범위하다 그러나 消毒劑에 대한 殺菌力檢査法의 發展, 菌의 耐性增加, 地域의인 特性에 따른 菌種의 差異¹³⁻¹⁷⁾ 등으로 인해 過去 消毒劑의 評價資料에 많은 修正補完이 이루어져야 할것으로 思料된다. 本 實驗에서는 殺菌消毒劑인 Chlorhexidine 溶液을 對象으로 殺菌力評價를 하기 위해서 消毒劑의 一般의인 檢査法에서 보다 深層的으로 多樣的 菌에 대해 濃度, 溫度, 作用時間 등에 대한 生存曲線을 圖示하여 그 殺菌效果를 究明함으로써 消毒劑의 濃도와 溫度, 作用時間에 따른 定量的인 使用方法을 提示함으로써 消毒劑의 올바른 使用을 위한 基礎資料를 마련하고자 하였다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 菌株 : 6 개의 標準菌株와 臨床에서 分離한 *Salmonella typhi* 1 株는 國立保健院에서 分讓 받았으며 下水에서 採取한 菌株를 包含해서 모두 8 개의 菌株를 使用하였다.

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 14207
- *Shigella flexneri* ATCC 9199
- *Salmonella typhi* ty 2 #3 Mass
- *Legionella bozemanii* ATCC 33297
- *Legionella gormanii* ATCC 33217
- 下水에서 採取한 細菌

2) 培地 : Brain Heart Infusion broth

(Difco)

Brain Heart Infusion agar

(Difco)

Nutrient broth (Difco)

Nutrient agar (Difco)

Buffered Charcoal Yeast Extract agar (Difco)를 使用하였다.

3) 試藥 : 20% Chlorhexidine, 5% Phenol 1% Sodium hypochlorite, 1% Boric acid, 1% O-cresol, 1% Povidine iodide, 0.02% KMnO_4 , 70% Ethanol.

2. 方法

1) 最低發育抑制濃度(MIC) 및 最低殺菌濃度(MBC)^{18,19)}

最低發育抑制濃度(MIC)는 液體培地稀釋法에 依하였다. 즉 BHI broth가 9m/씩 分注된 各 試驗管에 一練으로 稀釋된 Chlorhexidine 溶液 1m/씩을 無菌的으로 添加한 후 直徑이 4mm 인 白金耳로 1白金耳씩 菌을 接種하고 37°C 에서 24時間 培養후 肉眼으로 그 發育與否를 確認하여 最低發育抑制濃度を 決定했으며 最低殺菌濃度(MBC)는 이미 決定된 最低發育濃度를 中

心으로 4 개의 濃度範圍에 걸쳐 그 各各에 대해서 다시 BHI agar plate에 白金耳로 2~3 白金耳씩 接種하여 37°C에서 24時間 培養한 후 菌의 發育與否를 觀察하여 最低殺菌 濃度を 決定하였다. 이때 使用된 菌의 濃도는 1×10^7 / m/ 정도로 調整하였으며 菌은 24時間 간격으로 最小限 4日 以上 繼代培養한 후 實驗菌株로 使用하였고 培地の pH는 7 ± 0.5 로 調整하였다.

2) 作用時間이 一定할 경우 濃度別 殺菌效果. 一練으로 稀釋된 Chlorhexidine 溶液이 9m/씩 든 試驗管에 菌의 濃도가 1.6×10^8 / m/인 菌浮遊液 1m/씩을 15分間 作用시킨 다음 pipet으로 1m/씩을 取해 標準平板培養法²⁰⁾에 依해 37°C에서 48時間 培養한 후 나타나는 菌의 集落數를 測定하여 殺菌效果를 比較하였다.

3) 濃도가 一定할 경우 作用時間別 殺菌效果^{13,21-25)}.

實驗目的에 알맞는 濃도로 稀釋된 Chlorhexidine 溶液을 9m/씩 넣은 試驗管에 濃도가 調整된 菌浮遊液 1m/를 接種시킨 후 時間別로 1m/씩 無菌的으로 取한 다음 標準平板培養法에 依해 37°C에서 48時間 培養시킨 후 나타나는 菌의 集落數를 測定하여 時間에 따른 殺菌效果를 比較하였다.

4) Chlorhexidine 溶液의 殺菌作用에 미치는 溫度效果^{1,13,26,27)}.

2)~3)의 實驗方法과 同一하나 溫度만 變化시켜 주었다. 즉 彼檢消毒劑의 作用溫度를 0°C, 15°C, 37°C로 變化시키면서 溫度가 殺菌作用에 미치는 效果를 測定하였다.

5) 石炭酸係數(phenol coefficient)의 決定^{13,28,29,30)}.

The Association of Official Agricultural Chemists method에¹³⁾ 依해 實施되었으며 各各 一練으로 稀釋된 phenol과 Chlorhexidine 溶液에 菌을 處理시킨다음 5分, 10分, 15分 간격으로 1白金耳씩 取해 Nutrient broth에 接種한 후 37°C에서 48時間 培養한 후 5分間 處理時에는 發育이 되지만 10分間 處理時는 發育이 되지 않는 Chlorhexidine의 最低濃度를 phenol

의 最低濃度로 나눈 값을 石炭酸係數로 決定하였다.

6) *Legionella bozemdnii*^{19,31,32}에 대한 여러 가지 消毒劑의 殺菌力 比較

여러가지 消毒劑를 使用目的에 따라 稀釋한 후 각각에서 9ml를 取해 試驗管에 分注한 후 Distilled Water를 使用해 5.0×10^6 /ml로 調整된 菌浮遊液을 各各의 被檢消毒劑에 作用시킨 후 時間別로 1白金耳씩 取한 후 BCYE 平板培地에 接種시킨 후 37°C에서 72時間동안 培養시킨 후 나타나는 菌의 發育與否를 觀察하여 被檢消毒劑에 대한 殺菌劑를 測定하였다.

III. 實驗成績 및 考察

1. 菌株의 選定背景

*Escherichia coli*는 그람陰性菌으로서 염소계 消毒劑의 檢査法²⁾에서 指標菌으로 使用되고 있으며 *Staphylococcus aureus*는 그람陽性菌으로 傷處感染의 主 原因菌이고 *Pseudomonas aeruginosa*는 그람陰性菌으로서 代表的인 化膿性細菌이고 *Salmonella typhi*와 *Shigella flexneri*는 그람陰性菌으로서 腸內 病原性細菌의 代表的이라 할 수 있으며 *Legionella*는 여름철 生活과 밀접한 關係가 있는 冷房機의 冷却水나 冷却塔 등에서 번번히 發見되는 菌으로서 *Legionellasis*를 일으키는 原因菌으로 알려져 있다. 그리고 자

然的인 側面에서 下水에서 採取한 菌을 分離하지 않은채로 實驗菌株로 使用하였다. 이러한 消毒劑의 殺菌力評價에 使用되는 菌株의 選定에 있어서 Reddish²⁾는 石炭酸係數測定에 있어서 지금까지 주로 使用되어온 *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* 만으로는 精確하게 消毒劑의 殺菌力을 評價하기에는 不足하며 이외에도 여러가지 特性을 代表하는 菌들로서 *Micrococcus pyogene* Var. *aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Diplococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogene* 등을 提示한바 있다.

2. 最低發育抑制濃度(MIC) 및 最低殺菌濃度(MBC)

最低發育抑制濃度 및 最低殺菌濃度를 實驗한 結果는 Table 1과 같다. 下水에 採取한 細菌과 *Legionella* 菌에 대해서 最低發育抑制濃度 및 最低殺菌濃度가 特히 높게 나타난 것을 볼 수 있는데 下水에서 採取한 細菌은 菌을 分離하지 않은채로 實驗菌株로 使用했기 때문에 混合된 여러 菌들 중에서 가장 強한것에 影響을 받은 것으로 思料되며 *Legionella*는 菌 自體의 抵抗性이 強하기 때문인 것으로 思料된다. 田林³³⁾ 등은 *Salmonella typhi*의 경우 最低發育抑制濃度를 1.6×10^{-4} %로 報告한 바 있으나 本 實驗에서는 2.5×10^{-4} %로 다소 높게 나타났다. 이는 使

Table 1. Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC).

Strains of Organisms	% Conc. of Chlorhexidine (W/V)	
	MIC	MBC
Total bacteria taken from sewagewater	2.0×10^{-3}	2.0×10^{-3}
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2.5×10^{-4}	5.0×10^{-4}
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2.5×10^{-4}	1.0×10^{-3}
<i>Salmonella typhi</i> ty 2 #3 Mass	2.5×10^{-4}	5.0×10^{-4}
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 9199	1.6×10^{-4}	2.5×10^{-4}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 14207	2.5×10^{-4}	1.0×10^{-3}
<i>Legionella Gormanii</i> ATCC 33297	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
<i>Legionella Bozemanii</i> ATCC 33217	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}

Table 2. Bactericidal effect of concentration on total bacteria taken from sewage water by varying concentration at constant time (15 minute)

Test organism	No. of cells	Control	Concentration of Chlorohexidine (%)					
			0.1	0.02	0.004	0.002	0.0004	0.0002
Total bacteria taken from sewage water	mean	a)	b)					
	no. of cells	1.6×10^7	0	64	1.5×10^3	1.3×10^4	1.4×10^5	2.1×10^6

a) All numbers indicate plate counts per ml.

b) indicates death of cell

用菌株의 差異인 것으로 생각되며 이와같이 同一한 菌種內에서도 菌株에 따라 抵抗性의 差異를 보인것에 대하여 조동¹³⁾의 研究에 依하면 *aeruginosa*의 경우 75% ethanol에서 2株는 30초이내 殺菌되었지만 1株는 4분에도 殺菌되지 않았으며 *S. aureus*는 75%의 ethanol에서 1株는 30초이내 殺菌되었지만 2株는 1분내지 2분에도 殺菌되지 않았으며 이 現象은 消毒劑의 稀釋培數가 增加할수록 더욱 현저하였다고 報告한바 있다.

3. 作用時間이 一定한 경우 濃度에 따른 殺菌效果

下水에서 採取한 細菌에 대해서 處理時間을 15分으로 固定시키고 濃度別로 殺菌效果를 본 結果는 Table 2, Fig. 1과 같다. 菌의 濃度가 $1.6 \times 10^7/ml$ 로 存在時 0.1%에서 完全殺菌됨을 確認할 수 있는데 一般의으로 MIC가 이들보다 낮은 *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri* 등의 細菌의 경우는 이보다 더낮은 濃度에서 殺菌될 수 있으리라 추정된다.

4. 濃度가 一定할 경우 作用時間에 따른 殺菌效果

Table 3과 Fig. 2는 Chlorhexidine溶液의 濃度를 보통 患者의 手의 洗滌이나 泌尿器계통의 洗滌에 주로 사용되는 濃度인 0.0125%에서 *Ps. aeruginosa*, *S. typhi*, *E. coli*를 차례로 作用시킨후 時間別로 殺菌效果를 본 것이다. 그러나

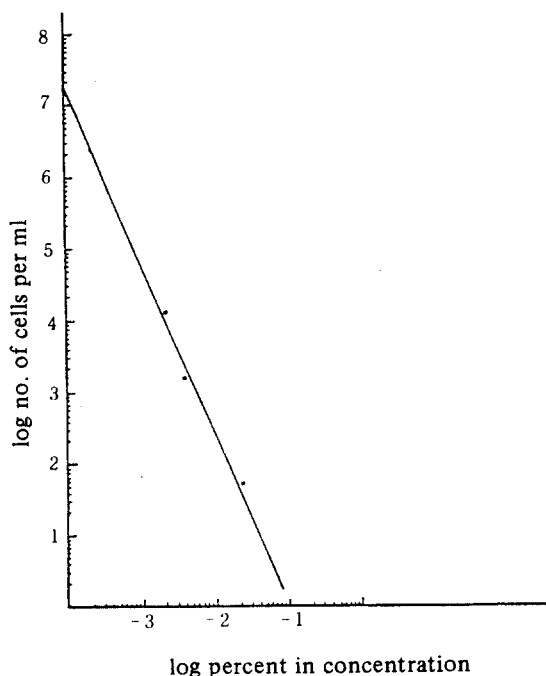


Fig. 1. Survival curve of Total bacteria taken from sewage water on chlorhexidine by varying concentration at constant time (15 minutes).

菌種에 따라 菌의 濃度가 다르기 때문에 同一한 菌濃度에서 殺菌效果를 比較하기 위해 生存分率⁷⁾로 圖示한 결과 初期 菌濃度의 90%를 殺菌하는데 걸리는 時間(T_{10})³⁴⁾이 *Ps. aeruginosa*는 45초, *S. typhi*는 25초, *E. coli*는 18초로 이중에서 *Ps. aeruginosa*가 抵抗性이 가장 큰것

Table 3. Bactericidal effect of 0.0125% Chlorhexidine on *S. typhi*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli*.

Test Organisms	No. of cells Control	Exposure time (minutes)								
		0.5	1	1.5	2	2.5	3	5	10	
<i>Salmonella typhi</i>	mean No. of cells a)	1.0×10^7	1.9×10^5	2.6×10^4	1.3×10^4	1.0×10^3	5.0×10	0 ^{b)}	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	mean No. of cells	1.5×10^6	5.7×10^4	4.1×10^4	1.5×10^4	4.5×10^3	4.0×10^3	2.5×10^2	0	0
<i>Escherichia coli</i>	mean No. of cells	4.0×10^6	2.4×10^4	3.0×10^3	2.5×10^2	5.0×10	0	0	0	0

a) All numbers indicate plate counts per ml.

b) indicates death of cell.

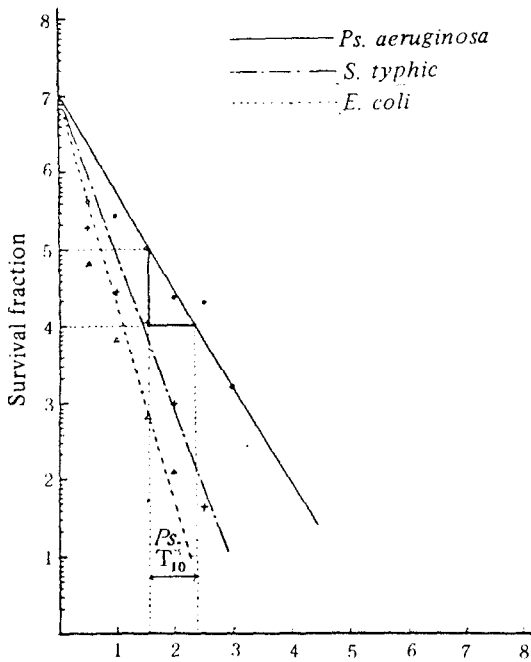


Fig. 2. Survival fraction of *Ps. aeruginosa*, *S. typhi*, *E. coli* on 0.0125% Chlorhexidine.

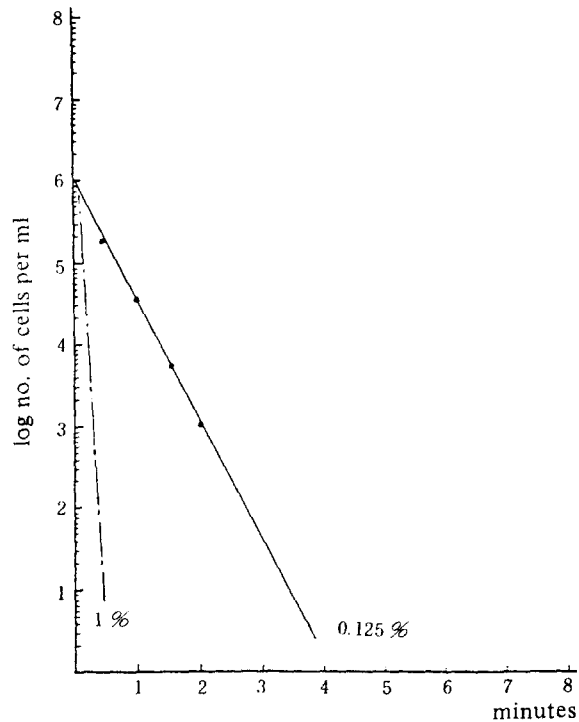


Fig. 3. Survival curves of *Legionella bozemanii* on 1%, 0.125% Chlorhexidine

으로 나타났다. 中谷¹⁴⁾ 등은 위와 同一한 濃度에서 菌濃度가 1×10^7 /ml 일 때 *Ps. aeruginosa*가 8分정도에서 殺菌되며 조¹⁵⁾ 등은 菌의 濃度가 $1 \sim 5 \times 10^6$ /ml에서 2分정도에서 殺菌된다고 報告한바 있는데 여기서 殺菌時間에 약간의

差異가 있는데 이는 菌株나 菌濃度의 差異 때문인 것으로 것으로 생각한다.

Table 4, Fig. 3은 緊急消毒時 사용되는 1% 濃度와 痲醉器具나 器具消毒에 주로 사용되는 0.125% 濃度에서 *Legionella bozemanii*를 作

Table 4. Bactericidal effect of 1%, 0.125% chlorhexidine on *Legionella bozemanii*.

Conc. of Chlorohexidine	No. of cells	Control	Exposure time (minutes)							
			0.5	1	1.5	2	2.5	3	5	10
1 %	mean No. of cells	1.0 × 10 ⁶ a)	0 b)	0	0	0	0	0	0	0
0.125 %	mean No. of cells	1.0 × 10 ⁶	1.8 × 10 ⁵	3.8 × 10 ⁴	6.0 × 10 ³	1.0 × 10 ³	0	0	0	0

a) All numbers indicate plate counts per ml
b) indicates death of cell

用시킨 實驗結果이다. 最低發育抑制濃度에서 比較的 抵抗性이 있는 것으로 나타났던 *Legionella bozemanii* 는 初期菌濃度の 90%를 殺菌하는데 걸리는 時間(T₁₀)이 1%에서는 10초이내였고 0.125%에서는 45초였다.

5. Chlorhexidine의 殺菌作用에 미치는 溫度效果

殺菌消毒劑의 殺菌作用에 대한 溫度依存性은 매우 複雜하다. 溫度를 變化시킴으로써 觀察할 수 있는 效果는 盛長の 溫度依存性, 熱的 殺菌의 溫度依存性, 化學物質의 殺菌力의 溫度依存性 등으로 大別할 수 있다. Tilley²⁶⁾, Jordan²⁷⁾ 등 많은 研究者들이 殺菌메카니즘과 溫度依存性에 대한 關係를 糾明하기 위해서 消毒效果에 대한 溫度와 時間간의 關聯性을 研究하려고 시도해 왔었다. 간단한 化學反應에 있어서 活性化 에너지와 反應速度 溫度간에 相互關聯性이 아래와 같은 式³⁵⁾에 依해서 보통 說明된다.

$$\log K = \frac{-Ea}{2.303R} \cdot \frac{1}{T} + \text{constant}$$

여기서 K : 속도상수 R : 기체상수
T : 절대온도 Ea : 활성화에너지

이 式에서 보면 Ea가 크면 클수록 溫度變化에 대한 反應速度는 더 커짐을 볼 수 있는데 여기서 K를 菌의 盛長과 死滅에 대한 1次速度常數로 대치함으로써 菌의 盛長과 死滅速度에 대한 溫度依存性을 위의 간단한 化學反應式에 대

한 式과 類似한 式으로 解釋될 수 있는데, 높은 溫度에서는 消毒劑의 活性化에너지가 增大되기 때문에 殺菌效果가 높아진다는 것을 알 수 있다. 또 比較的 높은 溫度에서 消毒劑를 適用할 때는 比較的 높은 活性化에너지를 가진 消毒劑를 擇하면 效果的으로 殺菌할 수 있으며 반대로 낮은 溫度에서는 낮은 活性化에너지를 가진 消毒劑를 擇하는 것이 바람직하다고 思料된다. Jordan²⁶⁾ 등은 phenol에 있어서, 조¹³⁾ 등은 여러가지 消毒劑에 있어서 消毒劑의 殺菌力에 미치는 溫度效果를 實驗한바 殺菌力은 溫度에 따라 큰 差異가 있는 것으로 報告한바 있다. Table 5, Fig. 4는 *S. typhi*에 대해서 0.02% Chlorhexidine 溶液의 殺菌作用에 미치는 溫度效果를 알아보기 위해서 0°C, 15°C, 37°C의 온도에서 實驗한 結果이다. 0°C에서는 10分 以上이 經過해도 菌이 殺菌되지 않은 반면 37°C에서는 1分이내 殺菌되는 것으로 나타나 Chlorhexidine의 殺菌作用에 미치는 溫度效果는 큰 것으로 나타났다. 그리고 Table 6은 初期의 菌濃도에 있어서 90%를 殺菌할 수 있는 時間(T₁₀)을 溫度에 따라서 實驗한 結果이다. *Salmonella typhi*에 있어서 0°C에서 T₁₀은 110초인 반면 37°C에서 T₁₀은 10초이하로 溫度에 따라 Chlorhexidine의 殺菌作用에는 큰 차이가 있음을 알 수 있다.

6. 石炭酸係數의 決定

石炭酸係數 測定法은 1955년 The U.S. Association of Official Agricultural Chemists⁵⁾에

Table 5. Effect of temperature on the bactericidal action of 0.02% Chlorhexidine *S. typhi*.

Test organism	Temp. (°C)	No. of cells	Control	Exposure time with 0.02% chlorhexidine (minutes)							
				0.5	1	1.5	2	2.5	3	5	10
<i>Salmonella typhi</i>	0	mean No. of cells	2.0×10^6	-	5.6×10^5	3.8×10^5	1.8×10^5	7.1×10^4	4.3×10^4	3.3×10^3	9.0×10^2
	15	mean No. of cells	2.0×10^6	2.9×10^6	5.1×10^4	1.1×10^4	2.0×10^3	1.0×10^2	0 ^b	0	0
	37	mean No. of cells	2.0×10^6	1.0×10^3	0	0	0	0	0	0	0

a) All numbers indicate plate counts per ml.

b) indicates death of cell

Table 6. Decimal reduction values of *S. typhi*, *E. Coli* on 0.02% Chlorhexidine at various temperatures.

Conc. of Chlorhexidine	Test organisms	Temp. (°C)	T ₁₀ ^a (seconds)
0.02 %	<i>Salmonella typhi</i> ty 2 #3 Mass	0	110
		15	40
		37	10
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0	107
		15	25
		37	10

a values indicate time taken 90% death of cells

서 確立되어 現在까지 消毒力評價의 基準으로서 使用되고 있다. 그러나 이 方法은 對象菌이 *Salmonella typhi* 와 *Stap. aureus* 로 限定되어 있어 실제로 그밖의 菌種에 대해서는 殺菌力에 대한 代表性을 缺如하고 있으며 또 새로운 消毒劑가 계속 개발되고 그에 따라 作用機轉이나 性質이 서로 다른 消毒劑를 比較하기 위해서는 많은 菌種에 대한 實驗成績이 없으면 正確한 評價를 할 수 없다는 것이 論議되고 있는 실정이다²⁾ Table 7은 AOAC method에 依據 St. aureus 를 使用해서 石炭酸係數를 決定한 實驗結果이며 그 결과 100 을 얻었다. Table 8은 여러 消毒劑에 대해서 石炭酸係數를 比較한 結果인데 여기서 얻어진 Chlorhexidine의 石炭酸係數는 다른 消毒劑에 비해 比較的 높은 것으로 나타났다.

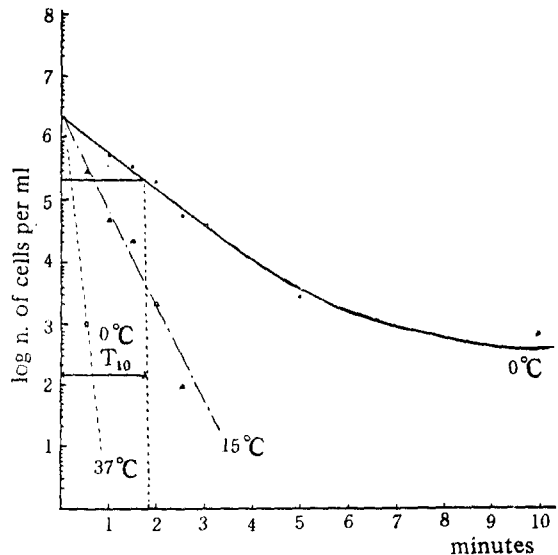


Fig. 4. Survival curves of *S. typhi* on 0.02% Chlorhexidine at various temperature.

Table 7. Phenol coefficient *Staph. aureus*, 48 hr's broth culture at 37°C.

(+growth/–inhibition)

Disinfectants	Dilutions	Exposure time of suspension to disinfectants (minutes)		
		5	10	15
Phenol	1-50	-	-	-
	1-60	+	-	-
	1-70	+	-	-
	1-80	+	-	-
	1-90	+	+	+
	1-100	+	+	+
	1-110	+	+	+
	1-120	+	+	+
	1-130	+	+	+
	Control			+
Chlorhexidine	1-5 × 10 ³	-	-	-
	1-8 × 10 ³	+	-	-
	1-1 × 10 ⁴	+	+	-
	1-1.5 × 10 ⁴	+	+	-
	1-2 × 10 ⁴	+	+	+
	1-2.5 × 10 ⁴	+	+	+
	1-3 × 10 ⁴	+	+	+
	1-3.5 × 10 ⁴	+	+	+
	1-4 × 10 ⁴	+	+	+
	Control	+	+	+

$$\text{Phenol coefficient} = \frac{8000}{80} = 100$$

Table 8. Phenol coefficients in various disinfectants.

Disinfectants	Method	Values obtained with following test organisms	
		<i>Staph. aureus</i>	<i>S. typhi</i>
Chloramine	Rideal Walker	133	100
Lysol	F.D.A. (Reddish)	3.2	.
n-Propyl phenol	Rideal Walker	16.5	21.6
n-Butyl phenol	Rideal Walker	50	68
n-Amyl Phenol	Rideal Walker	139	177
Tinet. of Iodine USP	Reddish (Mod.)	38	.
Formalin	Rideal Walker	0.3	0.7
Mercurochrome	Reddish (Mod.)	1.7	.
n-Hexyl phenol	Rideal Walker	375	500
Chlorhexidine	Reddish (Mod.)	100	.

Table 9. Comparative bactericidal effect of various disinfectants on *Legionella bozemanii*.

(-growth/ +death)

Disinfectants	Exposure time with disinfectants in minutes					
	0.5	1	3	5	10	control
Sodium hypochrite 1 %	+	-	-	-	-	+
Boric acid 1 %	+	+	-	-	-	+
O.- cresol 1 %	+	+	+	-	-	+
Povidine Iodide 1 %	+	-	-	-	-	+
Phenol 1 %	+	+	+	-	-	+
KMnO 0.02 %	+	+	+	-	-	+
Ethanol 70 %	-	-	-	-	-	+
Chlorhexidine 0.125 %	+	+	+	-	-	+

7. *Legionella bozemanii*에 대한 여러 소독제의 살균력

最低發育抑制濃度 및 最低殺菌濃도에 있어서 비교적 抵抗性이 있는 것으로 나타났던 *Legionella bozemanii*에 대한 여러 소독제에서 比較實驗한 結果는 Table 9에 보는바와 같다. 1% O.-cresol과 1% phenol에서 3분이 지나도록 殺菌이 되지 않았지만 0.02% KMnO₄와 0.125% Chlorhexidine에서는 5분 以内 殺菌되었다. 그러므로 菌濃도가 5×10⁶/ml인 *Legionella bozemanii*를 殺菌하기 위해서는 0.125% Chlorhexidine으로 5분 以上 處理해야만 한다는 것을 알 수 있다.

IV. 要約 및 結論

Chlorhexidine 溶液의 殺菌效果를 評價하기 위해서 8株의 菌種을 使用하여 여러가지 消毒劑 評價方法에 依해 實驗한 結果는 다음과 같다.

1. Chlorhexidine 溶液에 대한 最低發育抑制濃度 및 最低殺菌濃도는 下水에서 採取한 菌이 2.0×10⁻³%, *Legionella bozemanii*가 1.0×10⁻²%로서 比較的 높은 濃度에서 나타났으며 *Shigella flexneri*의 最低發育抑制濃도는 1.6×10⁻⁴%로서 使用菌株中 가장 낮은 濃度에서 抑制되는 것으로 나타났다.

2. 0.1%의 濃度에서 下水에서 採取한 菌은 菌濃도가 1.6×10⁷/ml에서 15분 以内 殺菌되는 것으로 나타났다.

3. 0.0125%의 濃度에서 初期菌濃도의 90%를 殺菌하는데 걸리는 時間(T₁₀)이 *Ps. aeruginosa*는 45초, *S. typhi*는 25초, *E. coli*는 18초였으며 *Legionella bozemanii*에 있어서도 Chlorhexidine의 濃度 0.125%에서 T₁₀이 45초였고 1%에서는 10초 이내였다.

4. Chlorhexidine 溶液의 殺菌作用은 溫度에 따라 큰 差異가 있었는데 *S. typhi*를 使用했을 경우 初期菌濃도의 90%를 殺菌하는데 걸리는 時間(T₁₀)이 0°C에서 110초 15°C에서 40초 37°C에서는 10초 이내로 큰 差異가 있었다.

5. Chlorhexidine 溶液의 石炭酸係數는 *Staph. aureus*를 使用했을 때 100으로 比較的 높게 나타났다.

6. *Legionella bozemanii*에 있어서 여러 消毒劑와 殺菌效果를 比較해본 結果 1% O.-cresol과 1% phenol에서는 3분이 지나도록 殺菌되지 않았지만 0.02% KMnO₄와 0.125% Chlorhexidine에서는 5분 以内에 殺菌되었다.

참고문헌

1. Lennette, E.H. et al; Aerobic bacteria.

- Manual of clinical microbiology. 4th ed. 143-215, American society for microbiology. 1985.
2. 윤충섭 등 ; 도시 우물의 역학적 조사연구. 현대의학. 9, 351~354, 1968.
 3. W.H.O. ; International standards for drinking water. 3rd Geneva, 1971.
 4. 손동 등 ; 서울근교 등 산지역 음료수에 대한 위생학적 조사연구. 공중보건잡지. 10(2), 207~215, 1973.
 5. 노병선 등 ; 서울 천호동지역 정호의 대장균 오염조사. 한국환경위생학회지. 1 (1), 28 ~31, 1974.
 6. 김영의 등 ; 도시 영세민 정호의 위생학적 조사. 한국환경위생학회지. 1 (1), 36~40, 1974.
 7. 구성희 등 ; 서울 일부지역의 정호수의 망간, 크롬 함량 조사연구. 한국환경위생학회지. 1 (1), 41~45, 1974.
 8. 이성호 등 ; 일부 농촌지역의 정호에 대한 환경 위생학적 조사연구. 한국환경위생학회지. 3 (1), 48~52, 1976.
 9. 정문호 등 ; 일부 농촌지역의 상하수도 위생 실태 조사. 한국환경위생학회지. 4 (1), 41 ~46, 1977.
 10. 임국환 등 ; 농촌 급수 시설에 대한 환경위생학적 조사연구. 한국환경위생학회지. 5(1), 76~85, 1978.
 11. 정문호 등 ; 일부 농촌지역의 간이 상수도와 Pump 수의 계절별 수질에 관한 조사연구. 한국환경위생학회지. 10 (1), 21~31, 1984.