



식품의약품안전처



# 외용소독제(의약외품) 효력평가법 가이드라인 (민원인 안내서)

2025. 7.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 화장품심사과

## 지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

외용소독제(의약외품) 효력평가법 가이드라인 (민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : )	
	<input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
지침서·안내서 구분	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
기타 확인 사항	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.		
2025 년 7 월 일		
담당자 확 인(부서장)		박현호 강인호

이 안내서는 의약품 외용소독제 효력평가법에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2025년 7월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 화장품심사과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-3603~3627

팩스번호: 043-719-3600



#### 공익신고자 보호제도란?

-공익신고자등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고등으로 인하여 피해를 받지 않도록 **비밀보장**, **불이익보호조치**, **신변보호조치** 등을 통하여 보호하는 제도

♣보호조치 요구 방법

전화 02-360-3761 /우편 (120-705) 서울시 서대문구 통일로 81 국민권익위원회 공익보호지원과/팩스 02-360-3567

## 제 · 개정 이력

# 외용소독제(의약외품) 효력평가법 가이드라인(민원인 안내서)

[illegible]

## ■    목    차    ■

I. 서론 .....	2
II. 외용소독제 효능평가 시험 .....	3
1. <i>In vitro</i> 시험 .....	3
1) 일반사항 .....	3
2) 시험방법 .....	3
2. 인체적용 시험(손 전체) .....	10
1) 일반사항 .....	10
2) 시험방법 .....	10
3. 인체적용 시험(손가락 끝부분) .....	15
1) 일반사항 .....	15
2) 시험방법 .....	15
III. 참고문헌 .....	21

## I. 서 론

외용소독제는 약사법 제2조제7호나목의 의약외품으로 관리되고 있는 품목으로서 주성분으로 에탄올, 이소프로필알코올, 과산화수소수, 염화벤잘코늄, 크레졸 등을 함유하며 인체에 직접 사용하고 손 및 피부의 살균 소독 효능·효과를 가진 소독제를 말한다.

식중독 및 감염방지를 위하여 손소독 등 개인위생에 대한 국민의 관심이 높아지면서 외용소독제 수요가 증가하고 관련 업계의 제품 개발 필요성이 증가되고 있다.

사람의 피부에서 가장 많이 분리되는 균주 중 하나인 *Staphylococcus* 속 균 및 위생 지표균인 *Escherichia* 속 균 등에 대한 외용소독제 효력평가법을 해외 규정 및 시험법을 반영하여 최신화하고 정확한 효력평가를 위해 표준화시킨 가이드라인을 마련하였다.

본 가이드라인을 통하여 관련 업계에서 새로이 개발되는 외용소독제의 유효성 평가에 적용하여 제품 개발에 도움을 주고, 심사에 있어서 과학적 타당성 및 객관성을 확보하고자 하였다. 또한, 소비자로 하여금 유효성이 입증된 외용소독제를 신뢰하고 사용할 수 있도록 하는데 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

## II. 외용소독제 효능평가 시험

### 1. *In vitro* 시험

#### 1) 일반 사항

- (1) 시험물질에 대한 통계적 비교가 가능도록 충분한 수의 유효데이터를 확보하여야 한다.
- (2) '2) 시험방법 (1)시험대상 균주'에 명시된 시험대상 균주 5종에 대해 시험물질의 살균 효과가 입증되어야 하며, 시험자의 목적 및 필요에 따라 다른 균주를 대체하여 사용할 수 있다.
- (3) 시험 세부 사항에 대해서는 국제 표준 시험법(EN 1276, EN1650, ASTM E2315 등)을 참고하여 적용할 수 있다.
- (4) 본 가이드라인에서 규정된 시험법 외에 과학적·합리적으로 타당성이 인정되는 시험법 및 평가기준을 적용할 수 있다.

#### 2) 시험 방법

##### (1) 시험대상 균주

시험대상 균주		
그람 양성균	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83, NRRC 13276 또는 KCTC 3881
	<i>Enterococcus hirae</i>	KCTC 2012, KCCM 11768, ATCC 10541, CIP 5855 또는 DSM 3320
그람 음성균	<i>Escherichia coli</i> K12	NCTC 10538, NBRC103273, DSM 11250, 또는 KCCM 41957
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442, CIP 103467, DSM 939 또는 KCCM 11321
진균(효모)	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231, NCPF 3179, CIP 59.70, NBRC 1594 또는 KCTC 7965

시험대상 균주는 시험 목적에 맞게 선택할 수 있으며, 본 시험법은 국제 시험법에서

손소독제 등의 효력평가를 위해 권장하는 5종 균주를 대상으로 한다.

상기 표에 명시된 균주 외 대한민국약전 일반시험법 중 미생물한도시험법에 제시된 균주, 타 표준 시험법에 명시된 균주 등을 대체하여 사용할 수 있다.

#### 추가 가능 균주 예시

그람 음성균	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739, ATCC 11229, ATCC 10536, CIP 54127, DSM 682, NCTC 10418 또는 NCIMB 8879
--------	-------------------------	---

### (2) 시험물질

약사법 제2조제7호나목에 따른 의약외품 외용소독제

### (3) 평가

#### ① 시험 전 주의사항

- 모든 시험과정에서 대상 균주를 제외한 미생물 오염을 방지해야 한다.
- 무균 조작을 위하여 클린벤치를 사용한다.
- 시험에 사용되는 기구들은 멸균상태이어야 한다.
- 실험자와 외부환경으로부터의 미생물 교차오염에 주의한다.
- 시험물질 채취 시 정량을 취해야 한다.
- 일부 점도가 높은 겔제 제품의 경우, 시험물질 처리 및 중화 과정에서 정확한 양을 취하기 위하여 바늘을 제거한 1회용 멸균 주사기, 피펫 에이드 등이 사용될 수 있다 (단, 주사기 또는 팁 재사용 금지).
- 정확한 양을 채취하기 위하여 주사기 사용 시 주사기 내 기포가 생기지 않도록 주의해야 한다.

#### ② 배지 및 시약

이 시험법에서 제시하고 있는 모든 화학 물질의 중량은 무수염 기준이다. 수화물로 대체하여 사용할 수 있으나 필요한 중량은 결과적인 분자량 차이를 허용하도록 조정되어야 한다. 시약들은 분석 등급이거나 이에 준하는 수준이어야 하며 미생물학적 목적에 적합해야 한다. 이들은 실험 생물에 독성이 있거나 억제성이 있는 물질이 없어야 한다. 재현성을 향상하기 위해, 배양 배지의 제조시 시판되는 탈수된 물질의 사용이 권장된다.



이러한 제품의 제조와 관련된 제조업체의 지침을 철저히 따라야 한다. 그리고 각 배양용 배지와 시약에 대해 고정적으로 사용 시간을 제한해야 한다. 배지 및 희석 용액은 오토클레이브(고압증기멸균기)에서 멸균한다.

#### 가. 배지

##### 가) 대두카제인소화배지 (Tryptone Soya Broth (TSB))

트립톤, 카제인의 채장 소화물	15.0 g
대두 펩톤, 콩가루의 파파인 소화물	5.0 g
염화소듐(염화나트륨) (NaCl)	5.0 g
증류수	1 000.0 mL 까지

멸균 후 배지의 pH는 (20±1)℃에서 측정했을 때 7.2±0.2에 해당해야 한다.

##### 나) 대두카제인소화한천배지(Tryptone soya agar, TSA)

트립톤, 카제인의 채장 소화물	15.0 g
대두 펩톤, 콩가루의 파파인 소화물	5.0 g
염화소듐(염화나트륨) (NaCl)	5.0 g
한천	15.0 g
증류수	1 000.0 mL 까지

멸균 후 배지의 pH는 (20±1)℃에서 측정했을 때 7.2±0.2에 해당해야 한다.

##### 다) 사부로포도당액체배지(SDB, Sabouraud's Dextrose Broth)

포도당	20.0 g
펩톤(육제 및 카제인제 1 : 1)	10.0 g
증류수	1 000.0 mL 까지

멸균 후 배지의 pH는 25℃에서 측정했을 때 5.6±0.2에 해당해야 한다.

##### 라) 사부로포도당한천배지(SDA, Sabouraud's Dextrose Agar)

포도당	40.0 g
펩톤(육제 및 카제인제 1 : 1)	10.0 g
한천	15.0 g
증류수	1 000.0 mL 까지

멸균 후 배지의 pH는 25℃에서 측정했을 때 5.6±0.2에 해당해야 한다.

#### 나. 희석용액

##### 가) 펩톤염화나트륨완충액(pH 7.0)

인산이수소칼륨	3.6 g
인산수소이나트륨이수화물 (인산염 0.067 mol/L에 상당한다)	7.2 g
염화소듐(염화나트륨) (NaCl)	4.3 g
펩톤 (육제 또는 카제인제)	1.0 g
증류수	1 000.0 mL 까지
검증된 주기로 고압증기멸균한다.	

#### 나) 트립톤염화나트륨수용액

트립톤, 카제인의 채장 소화물	1.0 g
염화소듐(염화나트륨) (NaCl)	8.5 g
증류수	1 000.0 mL 까지
멸균 후 희석액의 pH는 (20±1)℃에서 측정했을 때 7.0±0.2에 해당해야 한다.	

#### 다. 중화제

살균소독제 효력평가 시 사용 가능한 중화제 목록은 다음과 같다. 제품별 특성이 다양하기에 효력평가 전 시험 물질에 대한 중화제의 적합성이 검증되어야 하며 무균 상태여야 한다.

표. 화학적 소독제 및 생물체 소독제의 잔류 항균 활성 및 행균액과 중화제 예

살균 물질	중화 물질	적합한 중화제 예시 <sup>a</sup>
4급 암모늄 화합물과 지방산, 양쪽성 화합물	레시틴, 사포닌, 폴리소르베이트 80, 나트륨 도데실 황산염, 지방 알코올의 에틸렌 옥사이드 축합물(비이온성 계면활성제) <sup>b</sup>	- 폴리소르베이트 80, 30 g/L + 사포닌, 30 g/L + 레시틴, 3 g/L - 폴리소르베이트 80, 30g/L + 나트륨 도데실 황산염, 4 g/L + 레시틴, 3 g/L - 지방 에틸렌옥사이드 축합물 알코올, 3 g/L + 레시틴, 20 g/L + 폴리소르베이트 80, 5 g/L.
	산화성 화합물 (염소, 티오황산나트륨 <sup>c</sup> , 요오드, 수소, 과산화물, 카탈라아제 또는 과산화수소를 방출하는 제품용]	- 티오황산나트륨, 3 g/L ~ 20 g/L + 폴리소르베이트 80, 30 g/L + 레시틴, 3 g/L - 폴리소르베이트 80, 50 g/L + 카탈레이스 0.25 g/L + 레시틴 10 g/L.
	페놀성 및 관련 화합물 (오르토펜올, 80, 레시틴, 지방 알코올의	- 폴리소르베이트 80, 30 g/L + 레시틴, 3 g/L - 지방 알코올의 에틸렌 옥사이드 축합물, 7 g/L +

페녹시에탄올, 트리클로산, 페닐에탄올 에틸렌 옥사이드 축합물 <sup>b</sup> (등), 아닐리드 류	레시틴, 20 g/L + 폴리소르베이트 80, 4 g/L
알코올류	레시틴, 사포닌, - 폴리소르베이트 80, 30 g/L + 사포닌, 30 g/L + 폴리소르베이트 80 <sup>d</sup> 레시틴, 3 g/L

- a 시험품의 pH에 따라 중화제의 pH를 적절한 값으로 조절하거나 인산완충액[예: 인산완충액 0.25 mol/L: 인산이수소칼륨( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 34 g; 증류수(500 mL); 수산화나트륨( $\text{NaOH}$ ) 1 mol/L로 pH 7.2  $\pm$  0.2로 조절; 증류수(1,000 mL)]에서 제조할 수 있다.
- b 탄소 사슬 길이는  $\text{C}_{12}$ 에서  $\text{C}_{18}$  탄소 원자까지 다양하다.
- c 티오황산나트륨의 독성 효과는 시험 생물마다 다르다.
- d 단쇄 알코올( $\text{C}_5$  미만)의 중화를 위해서는 단순 희석이 적절할 수 있다. 알코올계 제품이 추가적인 항균제를 포함하는 경우 주의가 필요하다.

## 라. 간섭물질

살균소독제 간섭 물질은 멸균하고 시험 최종 농도의 10배로 준비한다. Bovine albumin fraction V 0.3 g(미생물학적 목적에 적합한 제품)을 증류수 100 mL에 녹인다. 막 여과로 멸균하고 냉장고에 보관한 후 1개월 이내에 사용한다. 시험 절차에서 bovine albumin의 최종 농도는 0.3 g/L이다.

## ③ 시험법

### 가. 균액 배양 및 조제

가) 세균은 대두카제인소화액체배지(TSB, Tryptic Soy Broth) 또는 대두카제인소화한천배지(TSA, Tryptic Soy Agar)에 30-37°C에서 18-24시간 배양, 효모는 사부로포도당액체배지(SDB, Sabouraud's Dextrose Broth) 또는 사부로포도당한천배지(SDA, Sabouraud's Dextrose Agar)에 30-37°C에서 48시간 이상 배양한다.

나) 배양된 균은 원심분리 후 펩톤염화나트륨완충액(pH 7.0) 또는 트립톤염화나트륨수용액에 현탁 및 희석하여 균액 내 균 농도가 약  $10^9$  CFU/mL (세균) 및  $10^8$  CFU/mL(효모)가 되도록 한다.

※ 최종 처리 용액에서의 균 농도가 약  $10^8$  CFU/mL (세균) 및  $10^7$  CFU/mL (효모)가 되도록 제조되어야 하며, 준비된 균액은 2시간 내에 사용한다.

#### 나. 시험물질의 준비

##### 가) 액제, 겔제 등

제품 원액 자체를 시험물질로 사용하거나 필요에 따라 경수 또는 증류수로 희석하여 사용할 수 있다.

##### 나) 스왑제(원액이 지지체에 침적된 형태 등)

제품 제조 시 사용하는 원액을 시험물질로 사용하거나, 완제품 내 시트(부직포, 탈지면, 면봉 등)를 짜서 나온 용액을 시험물질로 사용할 수 있다. 필요에 따라 경수 또는 증류수로 희석하여 사용할 수 있다.

#### 다. 대조군 및 시험군 준비

##### 가) 음성 대조군(무처리 대조군)

멸균된 시험관에 균액 1 mL와 간섭물질 1 mL를 넣고 잘 혼합한다. 항온수조를 시험 온도인  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$  로 맞추고 멸균 증류수 8 mL를 넣고 잘 혼합하여 음성 대조군으로 한다. 항온수조에서 진탕(shaking)과 함께 30초(최소)~60초(최대) 또는 제조사의 권장사용시간 동안 처리한다.

##### 나) 시험군

멸균된 시험관에 균액 1 mL와 간섭물질 1 mL를 넣고 잘 혼합한다. 항온수조를 시험 온도인  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$  로 맞추고 시험물질 8 mL를 넣고 잘 혼합하여 시험군으로 한다. 항온수조에서 진탕(shaking)과 함께 30초(최소)~60초(최대) 또는 제조사의 권장사용시간 동안 처리한다.

#### 라. 중화 및 균수 측정

가) 처리 후 즉시 시험군 또는 음성 대조군(무처리 대조군) 1 mL를 취하여 중화제 9 mL가 담긴 시험관에 넣고 잘 혼합한다.

나) 5분간 중화 후 시험군은 1 mL를 취하여 세균은 대두카제인소화한천배지, 효모는 사부로포도당한천배지에 분주 및 도말한다.

다) 음성 대조군(무처리 대조군)은 십진희석하여 유효평판이 30-300 CFU/mL 가 되도록 하며, 희석 단계 당 2장 이상의 배지에 분주 및 도말한다.

※ 각 과정에서 한천평판도말법 외 한천평판혼합법도 사용 가능하다.

라) 배지들은 각각 세균은 30-37°C에서 18-24시간, 효모는 30-37°C에서 48시간 이상 배양한다.

※ 각 과정에서 본 가이드라인 제시 균주 외 시험균주를 대체 사용할 경우, 각 시험 균주에 적합한 배양 조건으로 배양한다.

마) 배양 후 각 배지의 집락(colony) 수가 30-300 CFU인 희석 배수의 평판을 유효 평판으로 하여 집락 수를 측정한다.

마. 효능 계산 및 평가

가) 시험물질의 효능(저해율)은 다음과 같이 계산한다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{[\text{음성 대조군(무처리 대조군) 균수(CFU)} - \text{시험군 균수(CFU)}]}{\text{음성 대조군(무처리 대조군) 균수(CFU)} \times 100}$$

나) 계산 결과 세균은 99.999% 이상, 효모는 99.99% 이상 저감이 되면 효능 기준을 충족하는 것으로 한다.

## 2. 인체적용 시험(손 전체)

### 1) 일반 사항

- (1) 인체적용시험은 피험자의 권리·안전·복지를 보호할 수 있도록 IRB 심의를 거친 후 실시되어야 한다.
- (2) 피험자 수는 통계적으로 비교 가능하도록 충분한 수를 확보하여야 한다.
- (3) 필요시 피험자에 대한 의학적 처치나 결정은 의사의 책임하에 이루어져야 한다.

### 2) 시험 방법

#### (1) 피험자의 선정

만 20세 이상의 성인 남녀 중에서 다음 ①항의 기준에 만족하며 ②항에 해당되지 않는 사람을 선정한다. 시험책임자 또는 시험책임자의 위임을 받은 사람은 시험과 관련된 모든 정보를 피험자에게 충분히 알려야 하고, 피험자는 자발적으로 시험 참여 '동의서'를 작성한 후 인체적용시험에 참가해야 한다.

##### ① 선정기준

- 가. 피부 질환을 포함하는 급·만성 신체 질환이 없는 건강한 자
- 나. 시험 종료 후 유해사례 발생 추적이 가능한 자

##### ② 제외기준

지원자와의 면담에 의하여 다음 사항에 해당되는 자

- 가. 임신 또는 수유중인 여성과 임신 가능성이 있는 여성
- 나. 피부질환 치료를 위해 스테로이드가 함유된 피부 외형제를 1개월 이상 사용하는 사람
- 다. 민감성, 과민성 피부를 가진 사람
- 라. 시험부위에 상처, 여드름, 홍반, 모세혈관확장 등의 피부 이상 소견이 있는 사람
- 마. 인체적용 시험 시작 전 6개월 내에 시험 부위에 시술을 받은 사람
- 바. 그 외 시험책임자의 판단으로 시험에 부적합하다고 생각되는 사람

#### (2) 시험부위

손 전체

### (3) 시험대상 균주

시험대상 균주		
그람 양성균	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83, NRRC 13276 또는 KCTC 3881
	<i>Enterococcus hirae</i>	KCTC 2012, KCCM 11768, ATCC 10541, CIP 5855 또는 DSM 3320
그람 음성균	<i>Escherichia coli K12</i>	NCTC 10538, NBRC103273, DSM 11250, 또는 KCCM 41957
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442, CIP 103467, DSM 939 또는 KCCM 11321
진균(효모)	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231, NCPF 3179, CIP59.70, NBRC 1594 또는 KCTC 7965

시험대상 균주는 시험 목적에 맞게 선택할 수 있으며, 본 시험법은 국제 시험법에서 손소독제 등의 효력평가를 위해 권장하는 5종 균주를 대상으로 한다.

상기 표에 명시된 균주 외 대한민국약전 일반시험법 중 미생물한도시험법에 제시된 균주, 타 표준 시험법에 명시된 균주 등을 대체하여 사용할 수 있다.

추가 가능 균주 예시		
그람 음성균	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739, ATCC 11229, ATCC 10536, CIP 54127, DSM 682, NCTC 10418 또는 NCIMB 8879

### (4) 시험물질

- ① 약사법 제2조제7호나목에 따른 의약외품 외용소독제
- ② 양성 대조균(처리 대조균)으로서 이소프로필알코올 60% 용액을 사용한다.

### (5) 시험 및 평가

#### ① 시험 전 주의사항

- 모든 시험과정에서 대상 균주를 제외한 미생물 오염을 방지해야 한다.
- 무균 조작을 위하여 클린벤치를 사용하는 것을 권장하나, 피험자 참여 시 공간 확보를 위해 70% 에탄올로 살균한 실험대도 활용 가능하다.

- 시험에 사용되는 기구들은 멸균상태이어야 한다.
  - 실험자와 외부환경으로부터의 미생물 교차오염에 주의해야 하며, 반대로 손 세척 등의 과정에서 시험대상 미생물이 외부로 유출되지 않도록 주의해야 한다.
  - 시험물질 채취 시 정량을 취해야 한다.
  - 일부 점도가 높은 겔제 제품의 경우, 시험물질 처리 및 중화 과정에서 정확한 양을 취하기 위하여 바늘을 제거한 1회용 멸균 주사기, 피펫 에이드 등이 사용될 수 있다 (단, 주사기 또는 팁 재사용 금지).
  - 정확한 양을 채취하기 위하여 주사기 사용 시 주사기 내 기포가 생기지 않도록 주의해야 한다.
  - 액제 또는 겔제 제품이 아닌 스왑제에 대한 효능평가를 수행할 경우, 각 피험자는 10~15 kg의 쥐는 힘과 0.5~1 kg (여성) 또는 2~2.5 kg (남성)의 미는 힘을 학습해야 한다.
- ※ 쥐는 힘은 일반적인 악력계를 이용하여 학습하고 미는 힘은 일반적인 전자저울을 이용하여 학습한다.

## (6) 시험법

### 가. 균액 배양 및 조제

가) 세균은 대두카제인소화액체배지(TSB, Tryptic Soy Broth) 또는 대두카제인소화한천배지(TSA, Tryptic Soy Agar)에 30-37°C에서 18-24시간 배양, 효모는 사부로포도당액체배지(SDB, Sabouraud's Dextrose Broth) 또는 사부로포도당한천배지(SDA, Sabouraud's Dextrose Agar)에 30-37°C에서 48시간 이상 배양한다.

나) 배양된 균은 원심분리 후 펩톤염화나트륨완충액(pH 7.0)에 현탁 및 희석하여 균액 내 균 농도가 약  $10^9$  CFU/mL (세균) 및  $10^8$  CFU/mL(효모)가 되도록 한다.

※ 최종 피험자 손에 접종 후 회수 시의 균 농도가 약  $10^7$  CFU/mL 또는  $10^8 \sim 10^9$  CFU/손 (세균) 및  $10^6$  CFU/mL 또는  $10^7 \sim 10^8$  CFU/손 (효모)가 되도록 제조되어야 하며, 준비된 균액은 2시간 내에 사용한다. 바로 접종이 어려울 경우, 균액을 멸균 시험관에 담아 4°C 하 냉장보관하여 8시간 내 사용 가능하다. 단, 보관 전후 균수가  $\pm 0.5 \log$  CFU/mL 이내의 차이로 확인되어야 한다.

※ 배지 및 시약은 *In vitro* 시험을 참고한다.



#### 나. 시험균 및 대조균의 처리

- 가) 선정 기준 및 제외 기준에 적합한 피험자를 선정 후, 피험자 손에 수돗물을 묻힌 후 양손을 모은 후 액체 비누 5 mL를 분주하여, 거품이 충분히 나도록 양손을 30초간 문지르도록 한다. 양손을 흐르는 수돗물로 30초간 행구도록 한 후 종이 타올로 물기를 제거하게 하여 완전히 건조되도록 한다.
- 나) 피험자의 양손을 모은 후 균액 0.5 mL를 분주하여 30초간 문지르는 과정(부록 참조)을 2회 반복한다(총 1 mL). 이후 5분 동안 건조하여 물기가 없도록 한다(음성 대조균(무처리 대조균), 양성 대조균(처리 대조균), 시험균에 해당하는 피험자는 무작위로 선정한다).
- 다) 피험자의 양손을 모은 후 양성 대조균(처리 대조균)은 이소프로필알코올 60% 용액, 시험균은 시험물질을 1.5 mL 또는 3 mL를 분주(액체 또는 겔제) 또는 시트 한 장을 건넌(스왑제) 후 30-60초 간 문지른다(부록 참조). 이때, 제품의 권장 사용 방법(처리 용량, 처리 시간 등)이 있는 경우, 그를 따른다(단, 이소프로필알코올 60% 용액 또는 시험물질이 완전히 건조되어야 한다).

#### 다. 처리 후 중화 및 균수 측정

- 가) 75 mL 중화제가 담긴 비닐장갑에 손을 넣고, 밀봉하여 2분간 마사지하여 미생물을 회수한다.
- 나) 5분간 중화 후 십진희석하여 유효평판이 30-300 CFU/mL 가 되도록 하며, 희석 단계 당 2장 이상의 시험 미생물별 선별배지에 분주 및 도말한다.

시험 미생물	선별배지	성상
<i>Staphylococcus aureus</i>	BP (Baird Parker Agar)	검은색 집락
<i>Enterococcus hirae</i>	SBA (Slanetz and Bartley Agar)	자주색 집락
<i>Escherichia coli</i> K12	EMB (Eosine Methylene Blue Agar)	금속성 녹색 광택 집락
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CA (Cetrimide Agar)	청녹색 집락
<i>Candida albicans</i>	SDA (Sabourauds Dextrose Agar)	광택이 있는 흰색 집락

\* 표에 명시된 배지 외 각 미생물을 선별할 수 있는 다른 배지도 사용 가능함

다) 배지들은 각각 세균은 30-37°C에서 18-24시간, 효모는 30-37°C에서 48시간 이상 배양한다. 배양 후 각 배지의 집락(colony) 수가 30-300 CFU인 희석 배수의 평판을 유효 평판으로 하여 집락 수를 측정한다.

※ 각 과정에서 본 가이드라인 제시 균주 외 시험균주를 대체 사용할 경우, 각 시험 균주에 적합한 선별배지 및 배양 조건으로 배양한다.

라) 실험이 끝난 피험자는 손을 70% 에탄올에 담가 1분간 세척 후 건조한 후 항균비누로 손 세척 후 건조한다.

라. 효능 계산 및 평가

가) 시험물질의 효능은 다음과 같이 계산한다.

$$\text{저해율(\%)} = [\text{음성 대조군(무처리 대조군) 균수(CFU)} - \text{시험군 균수(CFU)}] / [\text{음성 대조군(처리 대조군) 균수(CFU)}] \times 100$$

나) 통계 프로그램을 이용하여 각 피험자에서 얻은 살균효능을 비교 분석한다.

다) 계산 결과 양성 대조군(처리 대조군)과 동등한 수준으로 저감이 되면 효능 기준을 충족하는 것으로 한다.

## (7) 유해사례

- ① 개인별 증례기록서(Case Report Form)에서 다음과 같은 유해사례 발생 여부를 기록한다.
  - 홍반(Erythema), 부종(Edema), 인설생성(Scaling), 가려움(Itching), 자통(Stinging), 작열감(Burning), 뻣뻣함(Tightness), 따끔거림(Prickling) 등
- ② 유해사례 중대성 여부를 파악한다.
- ③ 시험 과정과 인과관계 유무를 판정할 수 있는 방법을 기재한다.
- ④ 유해사례 증상의 정도를 경증(Mild), 중등증(Moderate), 중증(Severe)으로 구분하여 판정한다.

## (8) 주의사항

시험 종료 후 클로르헥시딘 등 소독제를 이용해 피험자의 손에 남은 균이 없도록 살균 처리한다.

### 3. 인체적용 시험(손가락 끝부분 처리)

#### 1) 일반 사항

- (1) 인체적용시험은 피험자의 권리·안전·복지를 보호할 수 있도록 IRB 심의를 거친 후 실시되어야 한다.
- (2) 피험자 수는 통계적으로 비교 가능하도록 충분한 수를 확보하여야 한다.
- (3) 필요시 피험자에 대한 의학적 처치나 결정은 의사의 책임하에 이루어져야 한다.

#### 2) 시험 방법

##### (1) 피험자의 선정

만 20세 이상의 성인 남녀 중에서 다음 ①항의 기준에 만족하며 ②항에 해당되지 않는 사람을 선정한다. 시험책임자 또는 시험책임자의 위임을 받은 사람은 시험과 관련된 모든 정보를 피험자에게 충분히 알려야 하고, 피험자는 자발적으로 시험 참여 '동의서'를 작성한 후 인체적용시험에 참가해야 한다.

##### ① 선정기준

- 가. 피부 질환을 포함하는 급·만성 신체 질환이 없는 건강한 자
- 나. 시험 종료 후 유해사례 발생 추적이 가능한 자

##### ② 제외기준

지원자와의 면담에 의하여 다음 사항에 해당되는 자

- 가. 임신 또는 수유중인 여성과 임신 가능성이 있는 여성
- 나. 피부질환 치료를 위해 스테로이드가 함유된 피부 외형제를 1개월 이상 사용하는 사람
- 다. 민감성, 과민성 피부를 가진 사람
- 라. 시험부위에 상처, 여드름, 홍반, 모세혈관확장 등의 피부 이상 소견이 있는 사람
- 마. 인체적용 시험 시작 전 6개월 내에 시험 부위에 시술을 받은 사람
- 바. 그 외 시험책임자의 판단으로 시험에 부적합하다고 생각되는 사람

##### (2) 시험부위

손가락 끝부분

### (3) 시험대상 균주

시험대상 균주		
그람 양성균	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83, NRRC 13276 또는 KCTC 3881
	<i>Enterococcus hirae</i>	KCTC 2012, KCCM 11768, ATCC 10541, CIP 5855 또는 DSM 3320
그람 음성균	<i>Escherichia coli</i> K12	NCTC 10538, NBRC103273, DSM 11250, 또는 KCCM 41957
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442, CIP 103467, DSM 939 또는 KCCM 11321
진균(효모)	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231, NCPF 3179, CIP59.70, NBRC 1594 또는 KCTC 7965

시험대상 균주는 시험 목적에 맞게 선택할 수 있으며, 본 시험법은 국제 시험법에서 손소독제 등의 효력평가를 위해 권장하는 5종 균주를 대상으로 한다.

상기 표에 명시된 균주 외 대한민국약전 일반시험법 중 미생물한도시험법에 제시된 균주, 타 표준 시험법에 명시된 균주 등을 대체하여 사용할 수 있다.

추가 가능 균주 예시		
그람 음성균	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739, ATCC 11229, ATCC 10536, CIP 54127, DSM 682, NCTC 10418 또는 NCIMB 8879

### (4) 시험물질

- ① 약사법 제2조제7호나목에 따른 의약외품 외용소독제
- ② 양성 대조균(처리 대조균)으로서 이소프로필알코올 60% 용액을 사용한다.

### (5) 시험 및 평가

- ① 시험 전 주의사항
  - 모든 시험과정에서 대상 균주를 제외한 미생물 오염을 방지해야 한다.

- 무균 조작을 위하여 클린벤치를 사용하는 것을 권장하나, 피험자 참여 시 공간 확보를 위해 70% 에탄올로 살균한 실험대도 활용 가능하다.
- 시험에 사용되는 기구들은 멸균상태이어야 한다.
- 실험자와 외부환경으로부터의 미생물 교차오염에 주의해야 하며, 반대로, 손 세척 등의 과정에서 시험대상 미생물이 외부로 유출되지 않도록 주의해야 한다.
- 시험물질 채취 시 정량을 취해야 한다.
- 일부 점도가 높은 겔제 제품의 경우, 시험물질 처리 및 중화 과정에서 정확한 양을 취하기 위하여 바늘을 제거한 1회용 멸균 주사기, 피펫 에이드 등이 사용될 수 있다 (단, 주사기 또는 팁 재사용 금지).
- 정확한 양을 채취하기 위하여 주사기 사용 시 주사기 내 기포가 생기지 않도록 주의해야 한다.

## (6) 시험법

### 가. 균액 배양 및 조제

가) 세균은 대두카제인소화액체배지(TSB, Tryptic Soy Broth) 또는 대두카제인소화한천배지(TSA, Tryptic Soy Agar)에 30-37°C에서 18-24시간 배양, 효모는 사부로포도당액체배지(SDB, Sabouraud's Dextrose Broth) 또는 사부로포도당한천배지(SDA, Sabouraud's Dextrose Agar)에 30-37°C에서 48시간 이상 배양한다.

나) 배양된 균은 원심분리 후 펩톤염화나트륨완충액(pH 7.0)에 현탁 및 희석하여 균액 내 균 농도가 약  $10^9$  CFU/mL (세균) 및  $10^8$  CFU/mL(효모)가 되도록 한다.

※ 최종 피험자 손가락에 접종 후 회수 시의 균 농도가 약  $10^7$  CFU/mL (세균) 및  $10^6$  CFU/mL (효모)가 되도록 제조되어야 하며, 준비된 균액은 2시간 내에 사용한다. 바로 접종이 어려울 경우, 균액을 멸균 시험관에 담아 4°C 하 냉장보관하여 8시간 내 사용 가능하다. 단, 보관 전후 균수가  $\pm 0.5 \log$  CFU/mL 이내의 차이로 확인되어야 한다.

※ 배지 및 시약은 *In vitro* 시험을 참고한다.

#### 나. 시험균 및 대조균의 처리

- 가) 선정 기준 및 제외 기준에 적합한 피험자를 선정 후, 피험자 손에 수돗물을 묻힌 후 양손을 모은 후 액체 비누 5 mL를 분주하여, 거품이 충분히 나도록 양손을 30초간 문지르도록 한다. 양손을 흐르는 수돗물로 30초간 행구도록 한 후 종이 타올로 물기를 제거하게 하여 완전히 건조되도록 한다.
- 나) 바이알(내부 직경 8 mm) 입구로 손가락에 압력을 가해서 실험 구간 구분 후 준비된 균액을 10 uL 분주 후 20분 건조한다(음성 대조균(무처리 대조균), 양성 대조균(처리 대조균), 시험균 각각 무작위로 손가락 2개씩 선정하여 실험을 진행한다: 한 명의 피험자 당 총 6개의 손가락 사용).
- 다) 양성 대조균(처리 대조균)은 이소프로필알코올 60% 용액, 시험균은 시험물질이 1 mL 담긴 바이알을 접종 부위에 놓고 다른 손가락으로 바이알을 고정하여 뒤집은 후 30-60초간 접촉한다. 이때, 제품의 권장 사용 방법(처리 시간 등)이 있는 경우, 그를 따른다.

#### 다. 처리 후 중화 및 균수 측정

- 가) 바이알에 1 mL 중화제를 넣고 접종 부위와 10초간 접촉한 후, 다른 손가락으로 바이알을 고정하여 20번 뒤집기를 2회 반복한 다음, 바이알을 바로 세운 후 내부에 접종 부위를 긁어서 잔여 미생물을 회수한다.
- 나) 5분간 중화 후 추가적으로 십진희석하여 균 농도가 30-300 CFU/mL가 되도록 하여 시험 미생물별 선별배지에 분주하여 도말한다.

시험 미생물	선별배지	성상
<i>Staphylococcus aureus</i>	BP (Baird Parker Agar)	검은색 집락
<i>Enterococcus hirae</i>	SBA (Slanetz and Bartley Agar)	자주색 집락
<i>Escherichia coli</i> K12	EMB (Eosine Methylene Blue Agar)	금속성 녹색 광택 집락
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CA (Cetrimide Agar)	청녹색 집락
<i>Candida albicans</i>	SDA (Sabourauds Dextrose Agar)	광택이 있는 흰색 집락

\* 표에 명시된 배지 외 각 미생물을 선별할 수 있는 다른 배지도 사용 가능함

다) 배지들은 각각 세균은 30-37°C에서 18-24시간, 효모는 30-37°C에서 48시간 이상 배양한다. 배양 후 각 배지의 집락(colony) 수가 30-300 CFU인 희석 배수의 평판을 유효 평판으로 하여 집락 수를 측정한다.

※ 각 과정에서 본 가이드라인 제시 균주 외 시험균주를 대체 사용할 경우, 각 시험균주에 적합한 선별배지 및 배양 조건으로 배양한다.

라) 실험이 끝난 피험자는 손을 70% 에탄올에 담가 1분간 세척 후 건조한 후 항균비누로 손 세척 후 건조한다.

라. 효능 계산 및 평가

가) 시험물질의 효능(저해율)은 다음과 같이 계산한다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{\text{음성 대조군(무처리 대조군) 균수(CFU)} - \text{시험군 균수(CFU) 또는 양성 대조군(처리 대조군) 균수(CFU)}}{\text{음성 대조군(무처리 대조군) 균수(CFU)}} \times 100$$

나) 통계 프로그램을 이용하여 각 피험자에서 얻은 살균효능을 비교 분석한다.

다) 계산 결과 양성 대조군(처리 대조군)과 동등한 수준으로 저감이 되면 효능 기준을 충족하는 것으로 한다.

## (7) 유해사례

- ① 개인별 증례기록서(Case Report Form)에서 다음과 같은 유해사례 발생 여부를 기록한다.
  - 홍반(Erythema), 부종(Edema), 인설생성(Scaling), 가려움(Itching), 자통(Stinging), 작열감(Burning), 뻣뻣함(Tightness), 따끔거림(Prickling) 등
- ② 유해사례 중대성 여부를 파악한다.
- ③ 시험 과정과 인과관계 유무를 판정할 수 있는 방법을 기재한다.
- ④ 유해사례 증상의 정도를 경증(Mild), 중등증(Moderate), 중증(Severe)으로 구분하여 판정한다.

## (8) 주의사항

시험 종료 후 클로르헥시딘 등 소독제를 이용해 피험자의 손에 남은 균이 없도록 살균 처리한다.

## 부록 : 표준 손 소독 문지르기 절차

1에서 6단계의 과정에 따르시오. (참조: 손소독제 사용 시 3 mL를 손에 적용하되, 제품 테스트의 경우 제조사의 지시에 따른 부피를 적용한다)



1단계

손바닥을 손바닥으로 맞댄다



2단계

오른손 손바닥을 왼손 등 위로 올리고, 왼손 손바닥을 오른손 등 위로 올리며 5회 반복한다



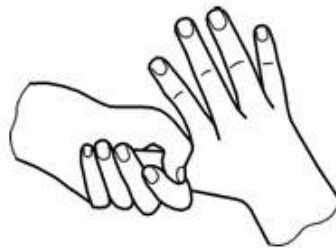
3단계

손바닥을 맞대고 손가락을 엮은 채로 마주보며 5회 반복한다



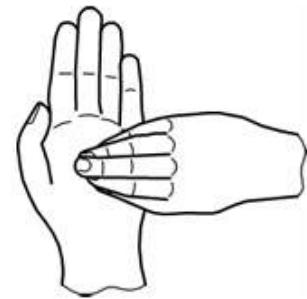
4단계

손가락을 엮은 채로 오른손 손바닥에 왼손을 올리고, 왼손 손바닥에 오른손을 올려 5회 반복한다



5단계

오른손 엄지를 왼손 손바닥에 짚 쥐고 회전하고, 반대편도 동일하게 5회 반복한다



6단계

손바닥을 엮은 채로 오른손 엄지를 왼손 손바닥에 짚 쥐고 회전하고, 반대편도 동일하게 5회 반복한다

참조 : 손소독제의 경우 접촉 시간 30초 동안 손을 계속 문지르고 전체 과정을 다시 30초 동안 반복한다. 제품 테스트의 경우 제조사의 안내에 따라 접촉 시간 및 추가 반복을 수행한다.



### Ⅲ. 참고문헌

1. ASTM E1838-17. (2017). Standard test method for determining the virus-eliminating effectiveness of hygienic handwash and handrub agents using the fingerpads of adults. ASTM International.
2. ASTM E2011-21. (2021). Standard test method for evaluation of hygienic handwash and handrub formulations for virus-eliminating activity using the entire hand. ASTM International.
3. ASTM E2276-10. (2019). Standard test method for determining the bacteria-eliminating effectiveness of hygienic handwash and handrub agents using the fingerpads of adults. ASTM International.
4. ASTM E2613-14. (2016). Standard test method for determining fungus-eliminating effectiveness of hygienic handwash and handrub agents using fingerpads of adults. ASTM International.
5. ASTM E2755-22. (2022). Standard test method for determining the bacteria-eliminating effectiveness of healthcare personnel hand rub formulations using hands of adults. ASTM International.
6. ASTM E2897-12. (2022). Standard guide for evaluation of the effectiveness of hand hygiene topical antimicrobial products using ex vivo porcine skin. ASTM International.
7. EN 1276. (2019). Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic and institutional areas - Test method and requirements (Phase 2,/Step 1). CEN.
8. EN 13624. (2022). Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal or yeasticidal activity in the medical area - Test method and requirements (phase 2, step 1). CEN
9. EN 13727. (2015). Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical area - Test method

and requirements (phase 2, step 1). CEN.

10. EN 14476. (2019). Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/Step 1). CEN.
11. EN 1500. (2013). Chemical disinfectants and antiseptics. Hygienic handrub. Test method and requirements (phase 2/step 2). CEN.
12. EN 1650. (2019). Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal or yeasticidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic and institutional areas - Test method and requirements (Phase 2,/Step 1). CEN.
13. 의약외품 외용소독제 효력평가법 선진화 연구, 식품의약품안전처, 2024
14. 대한민국약전 일반시험법

## “의약품 외용소독제(의약품) 효력평가법 가이드라인(민원인 안내서)”

---

발 행 일 2025년 7월

발 행 인 강 석 연

편 집 위 원 장 최 영 주

편 집 위 원 (바이오생약심사부 화장품심사과)

강인호, 윤소미, 박현호, 황정분, 이남경, 지정은,  
윤수정, 박장미, 이미영

발 행 처 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 화장품심사과

---