

콘택트렌즈 관리용품의 살균력 효능 검사법 비교

성형경, 변현영, 김소라, 박미정*

서울과학기술대학 안경광학과

투고일(2014년 2월 3일), 수정일(2014년 3월 3일), 게재확정일(2014년 3월 15일)

목적: 콘택트렌즈 관리용품의 살균력 효능 검사법 기준 개발을 위하여 막여과법(Membrane filtration method)과 희석중화법(Dilution-neutralization method)의 살균력 검사 결과를 비교하고 시판되고 있는 콘택트렌즈 관리용품의 살균력을 제시하고자 하였다. **방법:** 포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 세라티아균(*Serratia marcescens*), 칸디다균(*Candida albicans*)을 대상으로 하여 FDA(Food and Drug Administration)기준인 막여과법과 식품의약품안전처에서 새롭게 가이드라인으로 제시할 희석중화법의 살균력 효능 결과를 비교하였으며 총 20종 다목적 용액의 살균력을 측정하였다. **결과:** 살균효과가 강한 살균 성분 및 관리용품의 효능은 막여과법과 희석중화법 모두 동일한 결과를 나타냈다. 살균효과가 약한 관리용품의 경우는 막여과법 검사시에는 균이 묻혀있어 정확한 균 수 측정이 불가능하였으나 희석중화법 검사시는 정확한 균 수 측정이 가능해짐을 확인하였다. 또한 시판되고 있는 관리용품 중에는 살균력 기준을 통과하지 못한 제품이 존재하였으며 특히 세라티아균과 칸디다균에 대한 살균력이 약한 경우가 많았다. **결론:** 막여과법에 비해 희석중화법이 소량의 샘플로 더 정확하게 균수를 측정하는 것이 가능하며 결과 확인이 빨라 살균력 효능 검사시 유용하게 사용될 수 있음을 알 수 있었다.

주제어: 막여과법, 희석중화법, 살균력, 포도상구균, 녹농균, 세라티아균, 칸디다균

서 론

정상적인 눈꺼풀테 및 결막낭에는 포도상구균, 녹농균, 세라티아균과 칸디다를 포함한 그람음성균이 상존하고 있다.^[1] 황색포도상구균은 호기성 혹은 통성혐기성 그람양성 세균으로 사람의 피부나 점막에 집락을 형성하고 높은 보균율로 인하여 인체에 매우 흔한 감염증을 일으키며^[2] 각막 상피세포의 염증반응을 촉진한다는 연구 결과에 따라 염증질환에 중요한 병원인자로 추정되었다.^[3,4] 균 중에 특히 문제가 되고 있는 녹농균은 소프트콘택트렌즈 착용자에서 잘 감염되며 점안약을 통해서도 감염되는 균주로 감염되면 급속히 각막을 천공시켜 여러 합병증을 일으킨다.^[5] 또한 세균인 녹농균도 각막케양이나 각막염과 같은 안과질환을 일으킨다. 콘택트렌즈의 사용으로 인해 균들로부터 감염에 의한 안과질환의 위험이 커지면서 콘택트렌즈의 사용에 있어서 관리가 중요시 되고 있다.

콘택트렌즈관리에는 관리 단계별로 세척, 행균, 소독 및 보존액 등이 사용되며 단백질분해 효소제, 계면활성제 등이 필요에 따라 사용되는데 최근에는 세척과 행균, 소독 및 보존을 한 가지 용액으로 동시에 실시 할 수 있는 다

목적 용액의 사용이 현저히 증가하고 있는 추세이다.^[6] 이러한 콘택트렌즈 다목적 관리용액은 살균을 위해 주로 PHMB(polyhexamethylen biguanide)를 사용하며 그 외에도 과산화수소(Hydrogen peroxide), 포비돈(Povidone), Aldox, 폴리쿼테리움(Polyquaternium-1) 등이 사용되고 있다. 가장 많이 사용 되고 있는 PHMB는 강한 양전하를 띤 긴 사슬분자구조로 음전하를 띤 세포벽의 인지질과 선택적으로 결합하여 세포벽에 손상을 주는 항균제로 낮은 농도에서도 효과적인 살균효과를 보이는 물질이다.^[7]

살균효력이 있는 콘택트렌즈 관리용품은 정한 기준에 따라 살균효력을 검사하게 된다. 현재 미국은 FDA 자체 콘택트렌즈 관리용품 가이드라인(Premarket notification (510(k) guidance document for contact lens care products)을 가지고 있으며, 이 가이드라인에는 일반제조정보와 제품 용도별로 세부가이드라인을 제시하여 화학, 미생물, 독성, 임상 실험방법의 다양한 기준이 제시되어 있다. 대부분의 유럽 국가(오스트리아, 벨기에, 체코공화국, 덴마크, 핀란드, 프랑스, 독일, 그리스, 아이슬란드, 이탈리아, 룩셈부르크, 네덜란드, 노르웨이, 포르투갈, 스페인, 스웨덴, 스위스, 영국)에서는 FDA의 콘택트렌즈 관리용품 가이드라

*Corresponding author: Mijung Park, TEL: +82-2-970-6228, E-mail: mjpark@seoultech.ac.kr

※본 논문의 일부내용은 2013년도 한국안광 동계학술대회에서 구연으로 발표되었음

인과 동일한 ISO(International Organization for Standardization) 14729의 살균소독력에 대한 기준만을 따르고 있다. 미국과 유럽의 살균소독력의 시험기준은 거의 동일하며 효능 검사를 위해 막여과법(Membrane filtration method)이 사용되고 있다. 막여과법은 막 필터에 희석된 균을 여과시켜 균을 배양하는 방법이다. 우리나라의 식품의약품안전처에서는 미국의 FDA와 유럽연합의 ISO 기준인 막여과법과 함께 희석중화법(Dilution-neutralization method)을 시험법으로 한 새로운 가이드라인을 제시할 예정이다. 이에 본 연구에서는 막여과법과 희석중화법의 살균력 검사 결과를 비교하고 시판되고 있는 콘택트렌즈 관리용품의 살균력을 제시하고자 한다.

실험방법

1. 균주

포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 세라티아균(*Serratia marcescens*), 칸디다균(*Candida albicans*)등 4가지 균주를 실험대상으로 하였다.

균 배양시 포도상구균, 녹농균, 세라티아균은 Tryptone Soya Agar(TSA)배지, 칸디다균의 경우 Yeast Malt Agar(YMA)배지를 사용하였고 계대배양은 5번을 초과하지 않았다. 살균력 검사를 위해서 35~37°C의 온도에서 18~24시간동안 배양하였으며 적절한 균 수로 배양한 후 살균력검사에 사용하였다.

2. 시험대상 관리용품 및 소독제

콘택트렌즈 관리용품의 살균성분으로 사용되고 있으며 시중에서 원료구입이 가능한 포비돈(Povidone)과 과산화수소(Hydrogen peroxide)를 관리용품 구성 농도인 각각 0.4%와 3%의 용액을 만들어 사용하였다. 콘택트렌즈 관리용품은 구성성분의 종류와 성분농도에 따라 20종을 선정하여 실험 대상으로 하였다(Table 1).

3. 막여과법

FDA 및 ISO 기준과 동일한 방법을 사용하였다. 소독성분 원료 용액과 콘택트렌즈 관리용액을 10 ml에 각각 1.0×10^5 cfu/ml로 희석된 1.0 ml의 균을 넣어 잘 섞은 후 제조사의 살균 시간으로 권장하고 있는 시간의 25%, 50%, 75%, 100% 동안 균주를 관리용품에 노출시켰다. 정해진 시간동안 놓아둔 용액 1.0 ml를 막 여과지에 여과 후 배지를 부어 균한 플레이트에 밀착시킨 후 35~37°C의 온도에 3일 동안 배양하였다.

4. 희석중화법

1.5 ml 에펜도르프 튜브에 1.0×10^4 cfu/ml의 희석균 1 ml를 넣고 13,500 rpm으로 1분간 원심분리한 후 상층액을 제거하였다. 침전물 상태의 균에 1 ml의 콘택트렌즈 다목적용액과 원액을 넣어 잘 섞어 주어 제조사의 살균시간으로 권장하고 있는 시간의 25%, 50%, 75%, 100% 시간 동안 관리용품에 노출시킨 후 다시 13,500 rpm으로 원심

Table 1. The disinfecting properties of contact lens care products

Care Product							
Soft Contact lens				Hard contact lens			
	Ingredient	Concentration	Product		Ingredient	Concentration	Product
Multi-purpose solution	20% Polyhexamethylene biguanide hydrochloride	0.00005%	S, H	Multi-purpose solution	20% Polyhexamethylene biguanide hydrochloride	0.00005%	M
		0.0001%	A, D, F			0.0006%	P
		0.00015% (0.0001498-0.0001558%)	Hi, B			0.0002%	Rg
	0.01%	N	0.0001%			Dh	
	30% Polyquaternium-1	0.001% (0.00099%)	Aldox 0.0006%: O Aldox 0.0005%: R	Unknown		DI	
	Hydrogen peroxide	3% (2.9165-3.1115%)	Ap	Soaking solution	20% Polyhexamethylene biguanide hydrochloride	0.0005% (0.0005-0.000572%)	V, C
	Unknown		G		20% Chlorhexidine Gluconate	0.01%	W

분리 하였다. 다시 상층액을 제거하고 침전물 상태의 균에 PBS 희석액 1 ml을 넣어 잘 섞어 배지에 100 µl를 뿌려 도말한 후 약 35~37°C에서 18~24시간동안 뒤집어서 배양 하였다(Table 2).

결과 및 고찰

1. 막여과법과 희석중화법의 비교

콘택트렌즈 관리용품에서 살균제로 사용되는 과산화수

Table 2. Culture conditions of bacteria and fungi strains

Micro-organisms	Recovery media	Incubation (°C)	Incubation time	
			Membrane filtration	Dilution-neutralization method
<i>P. aeruginosa</i>	TSA ^a	35~37	3 days	18~24 hrs
<i>S. aureus</i>	TSA	35~37	3 days	18~24 hrs
<i>S. marcescens</i>	TSA	35~37	3 days	18~24 hrs
<i>C. albicans</i>	YMA ^b	35~37	3 days	18~24 hrs

^aTSA (Tryptone Soya Agar)

^bYMA (Yeast Malt Agar)

Table 3. Disinfection efficacy of disinfectants and lens care products against *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans* evaluated by membrane filtration method and dilution-neutralization method

Disinfection time Sample	Membrane filtration method				Dilution-neutralization method			
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>								
Hydrogen peroxide	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Povidone	—*	—*	—*	—*	2.0±1.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
R solution	3.3±1.5	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
F solution	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
W solution	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
<i>Staphylococcus aureus</i>								
Hydrogen peroxide	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Povidone	—*	—*	—*	—*	147.0±22.6	54.3±11.0	33.0±12.8	14.5±0.7
R solution	0.5±0.7	0.6±0.5	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
F solution	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
W solution	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	8.3±3.5	11.0±0.0	3.5±2.1	0.0±0.0
<i>Serratia marcescens</i>								
Hydrogen peroxide	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Povidone	—*	—*	—*	—*	75.33±34.5	33.5±3.5	23.5±2.1	22.5±17.7
R solution	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
F solution	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
W solution	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
<i>Candida albicans</i>								
Hydrogen peroxide	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Povidone	—*	—*	—*	—*	227.5±13.4	152.7±16.6	200.0±2.8	158.0±52.3
R solution	—*	—*	—*	—*	106.0±2.8	152.7±23.7	116.5±20.5	56.5±2.1
F solution	—*	—*	339.0±175.4	142.0±42.4	255.5±37.5	100.0±67.9	99.5±55.9	102.7±9.1
W solution	6.3±3.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	6.5±0.7	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

—* : The number of micro-organisms could not be counted.

소와 포비돈을 대상으로 막여과법과 희석중화법의 살균력 평가를 하였다. 3% 과산화수소 및 포비돈이 함유된 관리용품의 적용시간이 모두 4시간이었기에 FDA 및 ISO 기준과 동일하게 1시간(25%), 2시간(50%), 3시간(75%), 4시간(100%)동안 균에 살균제를 적용시킨 후 균 수를 측정하였다.

막여과법을 이용하여 살균력을 평가하여 보았을 때 살균력이 강한 3% 과산화수소를 각 시간 동안 녹농균, 포도상구균, 세라티아균, 칸디다균에 적용시켰을 때 모든 시간대에 균들이 사멸되는 것이 관찰되었으나 살균력이 약한 0.4% 포비돈의 경우는 100% 시간 동안 적용 시에도 모든 종의 균들에 대해 살균효과가 적어 콜로니 수를 셀 수 없을 정도로 균이 몽쳐있고 수가 많아 살균효과 값의 제시가 불가능하였다(Table 3, Fig. 1).

희석중화법과 마찬가지로 살균력이 강한 3% 과산화수소를 적용하였을 때는 모든 시간대에서 녹농균, 포도상구균, 세라티아균, 칸디다균이 모두 사멸되었다. 살균력이 약한 포비돈의 경우 살균력 값의 제시가 어려웠던 막여과법과는 달리 희석중화법을 이용하여 살균력을 측정하였을 때는 가장 반응시간이 적은 25% 시간 동안 노출하였을 때조차도 균수의 측정이 가능해 적절한 살균력 값의 제시가 가능하였다. 녹농균의 경우 25% 시간 동안 포비돈을 적용시켰을 때 콜로니수가 평균 2.0 ± 1.0 cfu/plate였으며 반응시간이 50% 시간 이상이었을 때는 콜로니가 관찰되지 않아 완벽한 살균력을 보임을 알 수 있었다. 포도상구균은 포비돈을 25%시간 동안 적용시켰을 때 콜로니 수가 147.0 ± 22.6 cfu/plate였으며 반응시간이 50% 시간에서는 54.3 ± 11.0 cfu/plate, 100% 시간이 지나도 14.5 ± 0.7 cfu/plate

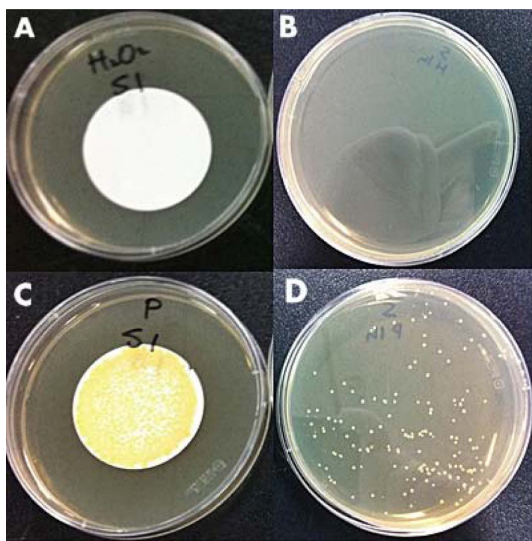


Fig. 1. Disinfection efficacy of disinfectants and lens care products against *Staphylococcus aureus* evaluated by membrane filtration and dilution-neutralization method.

로 일정한 수 이상의 콜로니가 관찰되어 완벽한 살균력을 보이지는 않음을 확인할 수 있었다. 포비돈의 적용시간이 증가할수록 세라티아균의 콜로니 수가 감소하였으나 100% 시간 동안 적용 시에도 콜로니 수가 평균 22.5 ± 17.7 cfu/plate로 완전한 살균력을 보이지는 않았다. 칸디다균의 경우 100% 시간 동안 반응시켰을 때에도 콜로니 수가 평균 158.0 ± 52.3 cfu/plate로 역시 완전한 살균력을 보이지 않았다(Table 3).

Durban 등¹⁸⁾의 콘택트렌즈 관리용품에서의 바실러스균(*Bacillus*) 및 녹농균 오염에 대한 연구에서 3%의 과산화수소가 포함된 용액에서는 생존하고 있는 박테리아가 관찰되지 않아 본 연구 결과에서처럼 과산화수소가 모든 균에 완벽한 살균력을 보였으며, 포비돈 요오드(Povidone-iodine)는 세균, 바이러스, 원충 및 효모균 등 매우 다양하게 살균력을 발휘하는 소독약으로 친수성을 띠며 세포막에 요오드를 유리하여 작용하고, 유리된 요오드는 10초안에 빠르게 세포 독성 및 살균작용을 한다.¹⁹⁻²¹⁾ 하지만 본 실험에 사용된 포비돈의 경우 시험결과 균들이 대부분 죽지 않아 낮은 살균력을 가진 것을 확인하여 포비돈 요오드와 차이가 있음을 알 수 있었다. N제품에 함유 소독성분 역시 포비돈현탁액으로 낮은 살균력의 포비돈이 소독성분으로 사용되어 전반적으로 살균력이 약하게 나타난 것으로 보여진다.

각기 상이한 살균성분을 함유하고 있는 3종의 관리용품의 살균력을 막여과법과 희석중화법으로 평가하여 보았다. 막여과법으로 살균력을 평가할 때 폴리쿼테리움 성분이 포함된 R 용액은 녹농균, 포도상구균, 세라티아균에서는 살균력의 측정이 가능하였지만 칸디다균은 막에 균들이 몽쳐있어 콜로니 수의 측정이 불가능하였다. 반면 희석중화법으로 평가하였을 때는 모든 균의 살균력 평가가 가능하여 칸디다균에 25% 시간 적용시에 106.0 ± 2.8 cfu/plate, 100% 시간 일 때 56.5 ± 2.1 cfu/plate로 적용시간이 증가할수록 콜로니 수가 감소함을 평가할 수 있었다. PHMB가 함유된 F 용액을 막여과법으로 평가하였을 때 녹농균, 포도상구균, 세라티아균의 경우는 살균력의 평가가 가능하였으나 칸디다균에 25% 및 50% 시간동안 적용하였을 때 콜로니 수의 측정이 불가능하였고, 희석중화법으로 평가하였을 때는 모든 균에서 살균력 평가가 가능함을 확인할 수 있었다. 글루코산클로로헥시딘(Chlorhexidine gluconate)이 포함된 W 용액의 경우 살균력이 비교적 우수하여 막여과법과 희석중화법 모두 100%시간일 때 완벽한 살균력을 나타냈으며 살균력의 평가가 쉽게 이루어졌다(Table 3).

본 연구 결과 FDA와 ISO에서 살균력 평가의 기준으로 사용하고 있는 막여과법 외에 희석중화법이 콘택트렌즈 관리용품의 살균력 평가에 사용될 수 있음을 알 수 있었

Table 4. The comparison of dilution-neutralization method and membrane filtration method

		Dilution-neutralization method	Membrane filtration
Common		evaluation of disinfection efficacy	
Difference	Experiment tool	Eppendorf tube	Membrane holder, Membrane filter paper
	Incubation time	18~24 hrs	3 days
	Sample amount	1 ml	more than 10 ml
	colony	The number of colonies is still countable since the colony is not aggregated even when disinfection efficacy is low.	The number of colonies is not countable since bacteria aggregate to grow in a lump when disinfection efficacy is low.

다. 막여과법의 경우 균을 배양한 시간은 3일이지만 희석중화법의 경우 18~24시간으로 빠른 시간 내에 생균수를 측정하여 살균력을 평가 할 수 있으며 샘플의 경우 10 ml 이상 필요로 하는 막여과법과 비교하였을 때 1 ml의 소량의 샘플 양으로 실험이 가능하였다. 또한 살균력이 약한 샘플의 생균 측정 시 막여과법은 균들이 뭉쳐 자라 정확한 결과 확인이 어려웠지만 희석중화법은 정확한 균수를 확인할 수 있었다. 막 필터를 이용하여 균을 필터에 걸러 내야 하는 막여과법은 필터에 균이 오염될 수 있는 문제점 또한 가지고 있다(Table 4).

따라서 본 연구를 통한 콘택트렌즈 관리용품의 인허가 과정 중에 요구되는 살균력 평가 기준시험으로 희석중화법의 적절하다는 평가 결과는 제조사가 살균력 평가에 막

여과법과 함께 좀 더 간편하게 살균력 평가가 가능한 희석중화법을 적용할 수 있는 근거를 제공하였다는 점에서 큰 의의를 가지는 것으로 생각된다.

2. 시판되고 있는 관리용품들의 희석중화법을 이용한 살균력 평가

시판되고 있는 관리용품들의 희석중화법을 이용한 살균력 평가에서 녹농균은 관리용품의 살균력 시험에서 20% PHMB를 주성분으로 한 제품들은 제조사 최소권장시간의 25%에 해당하는 시간부터 콜로니수가 0.0±0.0 cfu/plate 이었다. 최소 권장 살균시간이 5분인 A제품의 경우는 막여과법에서 용액에 노출된 균을 막 필터에 걸러 배지에 밀착시키는 과정과 희석중화법에서 균을 도달하는 과정에

Table 5. Disinfection efficacy of lens care products containing PHMB against bacteria evaluated by dilution-neutralization method

Bacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Serratia marcescens</i>			
	Disinfection time				Disinfection time				Disinfection time			
Product	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
S	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
H	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
HI	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
D	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Rg	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Ds	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
B	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
F	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
M	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
C	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	1.5±0.7	1.0±1.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Dh	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
P	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
V	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
A*	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	-	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	-	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	-

A* : Disinfection time was 100%, 200% and 300% as of the suggested time.

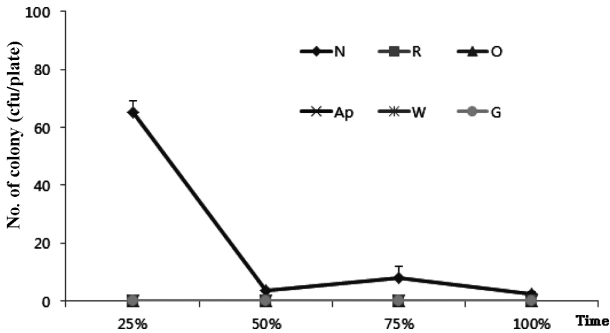


Fig. 2. Disinfection efficacy of lens care products containing disinfectants besides PHMB against *Pseudomonas aeruginosa* evaluated by dilution-neutralization method.

일정 시간이 소요되기 때문에 100% 이하에 해당하는 시간의 적용은 불가능하여 제조사 최소권장기준 시간의 100%, 200%, 400%에서 실험을 실시하였고 100%에 해당하는 시간부터 콜로니수가 0.0 ± 0.0 cfu/plate이었다 (Table 5). 포비돈을 주 살균성분으로 포함한 N제품의 경우 제조사 최소권장기준 시간의 25% 시간에서 녹농균 콜로니수가 65.0 ± 4.2 cfu/plate로 다른 관리용품의 0.0 ± 0.0 cfu/plate에 비해 살균력이 크게 떨어졌으며 적용시간이 증가할수록 생존 콜로니수가 감소하여 살균력이 증가가 확인되었으나 FDA와 ISO의 살균력 기준인 99.9% 보다 낮은 감소율로 살균력 평가 기준을 통과하지 못하였다(Fig. 2).

포도상구균의 경우 20% PHMB를 주성분으로 한 제품들에서 모두 제조사 최소권장시간의 25%에 해당하는 시간부터 콜로니수가 0.0 ± 0.0 cfu/plate이었으며 A제품 경우 100%에 해당하는 시간부터 콜로니수가 0.0 ± 0.0 cfu/plate이었다(Table 5). N제품의 경우 제조사 최소권장기준 시간의 25% 시간에서 콜로니수가 156.0 ± 9.9 cfu/plate로 다른 관리용품에 비해 포도상구균에 대한 살균력이 크게 떨어졌으며 적용시간이 증가할수록 살균력이 증가하였으나

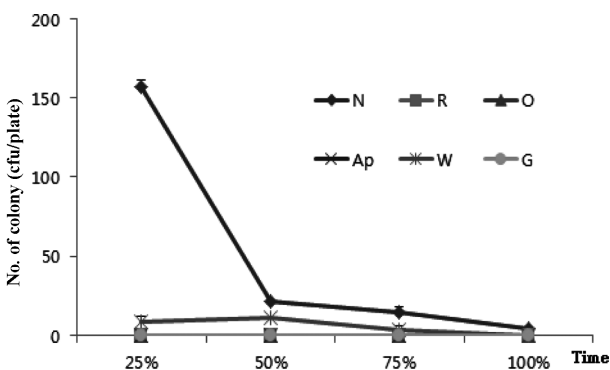


Fig. 3. Disinfection efficacy of lens care products containing disinfectants besides PHMB against *Staphylococcus aureus* evaluated by dilution-neutralization method.

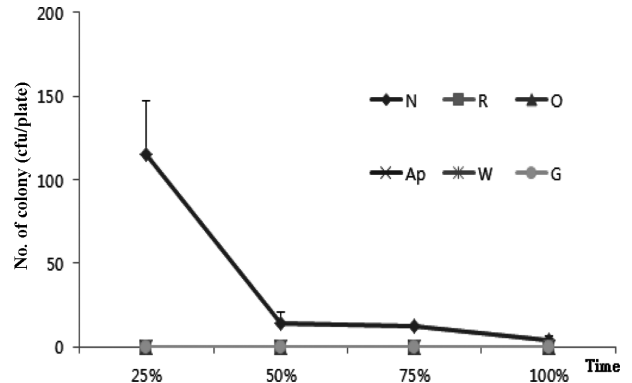


Fig. 4. Disinfection efficacy of lens care products containing disinfectants besides PHMB against *Serratia marcescens* evaluated by dilution-neutralization method.

100% 시간에서도 콜로니수가 0.0 ± 0.0 cfu/plate이 되지 않는 살균력을 나타냈다. 또한 20% 글루콘산클로르헥시딘을 주성분으로 한 W 제품의 경우 제조사 최소권장기준 시간의 25% 시간에서 포도상구균 콜로니수가 8.3 ± 3.5 cfu/plate였지만 적용시간이 증가할수록 살균력이 증가하여 100%에 해당하는 시간에서 콜로니수가 0.0 ± 0.0 cfu/plate이었다(Fig. 3).

20% PHMB를 주성분으로 한 제품들은 모두 세라티아균에서 최소권장시간의 25%에 해당하는 시간부터 콜로니수가 0.0 ± 0.0 cfu/plate이었다(Table 5). 포비돈을 주성분으로 한 N제품의 경우 25%에서는 115.0 ± 32.5 cfu/plate이었고 100%시간에서는 4.0 ± 2.8 cfu/plate으로 시간이 지남에 따라 세라티아균의 콜로니 수가 줄어든 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

Yeast인 칸디다의 경우 주성분이 20% PHMB인 제품 중 S제품, H제품, Hi제품, D제품, Rg 제품, Ds제품, B제품의 경우 50%에 해당하는 시간부터 완전한 살균력을 보였으며 주성분이 20% PHMB인 제품 중 F제품과 C제품은 25%에 해당하는 시간부터 50%에 해당하는 시간 사이에 콜로니수가 감소하는걸 보였으나 50% 시간대 이후로는 적용시간이 증가하더라도 살균력의 증가가 나타나지 않았다. M제품의 경우 시간이 증가함에 따라 칸디다 콜로니수가 꾸준히 감소하였고 A 제품, W 제품, Ap 제품은 25%에 해당하는 시간부터 완벽한 살균력을 보였으나(Table 6) N제품의 경우는 100%에 해당하는 시간에도 칸디다 콜로니수가 319.3 ± 52.2 cfu/plate로 칸디다 균에 대한 살균력이 약함을 알 수 있었다(Fig. 5). 20% PHMB가 함유되어 있는 R제품의 경우 100% 적용시에도 칸디다 콜로니수가 56.5 ± 2.1 cfu/plate였으며 O제품, Ap제품, W제품, G제품의 경우는 50%에 해당하는 시간부터 완벽한 살균력을 보임을 확인할 수 있었다.

Table 6. Disinfection efficacy of lens care products containing PHMB against *Candida albicans* evaluated by dilution-neutralization method

Product	Disinfection time			
	25%	50%	75%	100%
S	9.0±3.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
H	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
HI	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
D	31.0±4.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Rg	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Ds	23.5±9.2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
B	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
F	255.5±37.5	100.0±67.9	99.5±55.9	102.7±9.1
M	357.3±7.4	126.7±30.0	44.0±32.1	6.7±1.5
C	357.0±41.0	297.7±34.6	315.3±16.8	318.0±26.6
Dh	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
P	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
V	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
A*	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

A* : Disinfection time was 100%, 200% and 300% as of the suggested time.

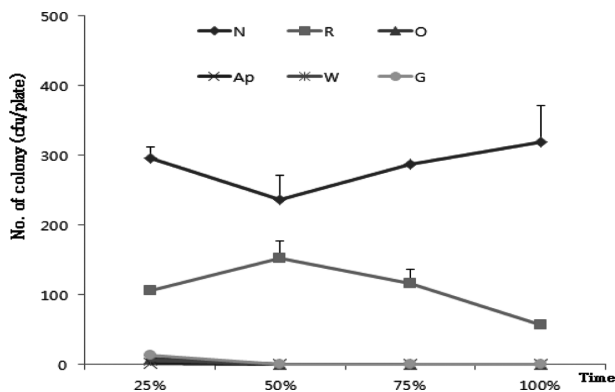


Fig. 5. Disinfection efficacy of lens care products containing disinfectants besides PHMB against *Candida albicans* evaluated by dilution-neutralization method.

본 연구결과에서 콘택트렌즈 관리용품에 함유되어 성분 에 따라 살균력에 차이가 있음을 알 수 있었다. Hume 등^[12]의 연구에서 세라티아균의 경우 비구아니드계 가 포함된 용액의 살균력이 우수하였다고 하였으며 본 연 구에서도 PHMB가 포함된 용액에서 완벽한 살균력을 보 이지만 폴리쿼테리움이나 알렉시딘(Alexidine) 성분이 함 유되어 있는 관리용품은 PHMB가 포함된 용액보다 살균 력은 다소 떨어지는 것으로 나타났다. 그러나 살균력 평가 는 어떤 제품이 더 우수하냐는 상대적인 관점에서 평가되 는 것이 아니라 눈의 면역체계가 감당할 수 있을 정도의

균 수의 감소가 필요한 절대적인 관점에서 평가된다. 즉, 현재 FDA와 ISO는 일정 수 이상의 균수의 감소가 나타 나는 살균력을 가지면 콘택트렌즈 관리용품으로서 충분한 활용 가치가 있다고 정하고 있다.

박테리아의 경우 FDA와 ISO의 기준에서는 평균 3.0 log의 감소를 보여야 한다. 본 연구에서 박테리아인 녹농 균은 포비돈을 주성분으로 한 A제품을 제외한 모든 용액 에서 99.9% 이상의 감소를 보여 살균력 평가 기준을 통과 하여 시판되고 있는 콘택트렌즈 관리용품은 녹농균에 대 해서는 대부분 우수한 살균력을 가지고 있음을 알 수 있 었다. 포도상구균, 세라티아균 역시 포비돈을 주 살균 성 분으로 한 N제품을 제외한 모든 용액에서 99.9%이상의 감소를 보여 살균력 평가 기준을 통과하였다.

Mold와 yeast는 FDA와 ISO의 기준에서 평균 1.0 log의 감소를 보여야 하므로 yeast인 칸디다균의 경우는 박테리 아에 비해 비교적 약한 살균력 기준을 가지고 있다. 본 연 구의 칸디다균에 대한 살균력 평가에서 16개의 시판되고 있는 콘택트렌즈 관리용품은 90% 이상의 감소를 보여 살 균력 평가 기준을 통과하였으나 F제품, C제품, R제품, A 제품, N제품 5개 제품은 기준을 통과하지 못하여 시판되 고 있는 관리용품 중에는 살균력 기준을 통과하지 못한 제품이 상당 수 존재함을 확인할 수 있었다.

현재 시판 중인 관리용품의 살균력이 평가 기준을 통과 하지 못한다는 것은 큰 문제가 있다고 보인다. 실제로

Bullock 등의 연구에서는 지속적인 고온에 의해 콘택트렌즈 용액의 진균에 대한 살균력의 감소가 2006년에 발생한 푸사리움(*Fusarium*)에 의한 유행성 각막염의 원인이라고 하였으며,^[13] Ide 등은 ISO의 stand-alone 시험법의 살균력 기준에 적합하거나 기준보다 우수한 살균력을 보이더라도 다목적용액의 진균에 대한 살균력이 불충분하다고 하였다.^[14] FDA나 ISO 살균력 기준을 통과하였다 하더라도 소독용 관리용품의 사용목적이나 살균력 평가 기준이 존재하는 모든 균을 100% 살균하는 것이 아니기 때문에 온도나 습도와 같은 주변 환경에 의해 균 개체 수의 증가로 인해 관리용품의 살균력이 충분하지 못한 경우들이 있기 때문에 본 연구에서와 같이 시판 중인 관리용품들이 평가 기준을 통과하지 못할 정도의 살균력을 가지고 있다는 것은 콘택트렌즈 관리의 안전성에 심각한 문제가 초래될 수 있을 것으로 보인다.

본 연구에서 살균력 기준을 통과하지 못한 것으로 나타난 제품들이라 하더라도 국내 사용 인허가를 받기 위한 식품의약품안전처에 제출한 시험 자료에서는 살균력이 인정되었기에 시중에 유통될 수 있었을 것으로 보인다. 그러나 살균력이 있는 관리용품이라 하더라도 관리용품의 특성상 제조과정 중에 사용되는 물이나 제조 공정 중에서 균의 오염이 있을 수 있어 본 연구 결과처럼 살균력이 떨어지는 경우가 발생할 수 있다. 즉, 바이러스나 세균은 도양을 통과하는 과정에서 잘 제거되지 않기 때문에 지하수 환경에서 이동성이 뛰어나므로 관리용품의 제조에 있어서 지하수를 사용할 경우 바이러스나 세균에 의한 오염을 유발할 수 있다.^[15-16] 또한, 특정 다목적용액의 경우 보관 온도가 60°C에서 소독력이 크게 감소한다는 연구결과가 보고된 바 있는 것처럼^[17] 살균력 평가에서 이러한 결과가 나타났을 가능성이 있다. 그러나 관리용품의 불충분한 살균력은 콘택트렌즈 착용자에 있어서 심각한 부작용을 유발할 수 있으므로 주기적인 살균력에 대한 점검과 대책이 필요하다고 생각된다.

결 론

본 연구에서는 FDA와 ISO의 콘택트렌즈 살균력 검사 방법인 막여과법과 식품의약품안전처에서 살균력검사법으로 새롭게 가이드라인을 제시하려고 하는 희석중화법의 살균력을 비교해보고 시판되고 있는 콘택트렌즈 관리용품의 살균력을 알아보고자 하였다.

막여과법의 경우 살균력이 강한 살균성분 및 콘택트렌즈 관리용품의 경우는 균 수의 측정이 용이하였으나 살균력이 약한 경우는 생존 콜로니 수가 많아 콜로니가 뭉쳐 있어 정확한 균 수의 측정이 어려웠으며 시험을 위한 균

배양 시간이 3일로 희석중화법에 비해 오랜 시간이 필요하였다. 반면 희석중화법은 살균력이 약한 경우에도 균이 뭉쳐 자라는 정도가 적어 정확한 균수 측정이 가능하였고 균을 배양하는 시간 또한 1일로 짧은 시간 안에 결과를 확인 할 수 있었으며 막여과법에 사용되는 샘플 양 보다 소량의 샘플로 실험이 가능하였다. 따라서 막여과법과 더불어 희석중화법 또한 콘택트렌즈 관리용품에 대한 살균력 측정 시험법으로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 보인다.

시판되고 있는 소독기능을 가진 콘택트렌즈 관리용품의 살균력 검사에서 시험대상 총 20제품 중 녹농균, 포도상구균, 세라티아균에 대한 FDA 및 ISO 기준을 통과하지 못하는 살균력을 가진 제품은 1종 이었으며, 칸디다균에 대한 기준을 통과하지 못한 제품은 5종으로 관리용품의 제조공정 및 관리 대책이 필요한 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 2013년 식품의약품안전처 용역연구개발과제(과제번호: 13172화장품462) 연구비로 수행되었습니다.

The study was supported by the research fund of Ministry of Food and Drug Safety(No: 13172cosmetic462).

REFERENCES

- [1] McClellan KA. Mucosal defense of the outer eye. *Surv Ophthalmol.* 1997;42:233-46.
- [2] Dryden MS. Complicated skin and soft tissue infection. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(3):35-44.
- [3] Kumar A, Tassopoulos AM, Li Q, Yu FS. Staphylococcus aureus protein A induced inflammatory response in human corneal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;354(4):955-961.
- [4] Terada, M, Tsutsui H, Imai Y, Yasuda K, Mizutani H, Yamanishi K *et al.* Contribution of IL-18 to atopic-dermatitis-like skin inflammation induced by staphylococcus aureus product in mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103(23):8816-8821.
- [5] Lee JH, Lee HB, Heo O, Hong YJ. *Ophthalmology.* 8th Ed. Seoul: Ilchokak. 2008;170-171.
- [6] Kim SM. Microbial contamination of contact lens cases in multi-purpose solution care systems. *J Korean Ophthalmol Soc.* 2000;5(1):95-99.
- [7] Lee JY, Chung SG, David G. Hwang. Evaluation of efficacy of polyhexamethylene biguanide in experimental *Pseudomonas aeruginosa* keratitis. *J Korean Ophthalmol Soc.* 1998;39(11):2506-2513.
- [8] Durbn JJ, Villaverde EH, Monteoliva-Sanchez M, Ramos-Cormenzana A. Bacterial contamination of hydrophilic contact lens solutions marketed in Spain. *Optom Vis Sci.*

- 1996;73(8):529-532.
- [9] Shim HM, Park KJ, Cho NC. The stability of polyvinylpyrrolidone iodine in diluted variable solution and variable condition. *J Korea Soc Hosp Pharm.* 1999;16(1):87-92.
- [10] Zamora JL. Chemical and microbiologic characteristics and toxicity of povidone-iodine solutions. *Am J Surg.* 1986;151:400-406.
- [11] Lacey RW, Catto A. Action of povidone-iodine against methicillinsensitive and-resistant cultures of *Staphylococcus aureus*. *Postgrad Med J.* 1993;69:78-83.
- [12] Hume EBH, Zhu H, Cole N, Hu C. Efficacy of contact lens multipurpose solutions against *Serratia marcescens*. *Optom Vis Sci.* 2007;84(4):316-320.
- [13] Bullock JD, Warwar RE, Elder BL, Northern WI. Temperature instability of ReNu with MoistureLoc: a new theory to explain the worldwide *Fusarium keratitis* epidemic of 2004-2006. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2008;106:117-126.
- [14] Ide T, Miller D, Alfonso EC, O'Brien TP. Impact of contact lens group on antifungal efficacy of multipurpose disinfecting contact lens solutions. *Eye Contact Lens.* 2008;34(3):151-159.
- [15] Prince HN, Nonemaker WS, Norgard RC, et al. Drug resistance studies with topical antiseptics. *J Pharm Sci* 1978;67:1629-31.
- [16] Schijiven JF, Hassanizadeh SM. Removal of viruses by soil passage: overview of modeling, processes, and parameters. *Crit Rev Environ Sci Technol.* 2000;30(1):49-127.
- [17] Azadpour-Keeley A, Ward CH. Transport and survival of viruses in the subsurface processes, experiments, and simulation models. *Remed J.* 2005;15(3):23-49.

Comparison of Evaluation Methods for Disinfection Efficacy of Contact Lens Care Products

Hyung Kyung Sung, Hyun Young Byun, So Ra Kim, and Mijung Park*

Dept. of Optometry, Seoul National University of Science & Technology, Korea
(Received February 3, 2014; Revised March 3, 2014; Accepted March 15, 2014)

Purpose: The present study was aimed to compare the results of disinfection efficacy tested by membrane filtration method with dilution-neutralization method to develop the standard methods for evaluating disinfection efficacy of contact lens care products and to provide the result of disinfection efficacy of commercially available contact lens care products in domestic market. **Methods:** The results of disinfection efficacy against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans* evaluated by membrane filtration method as a FDA standard and dilution-neutralization method as newly being a KFDA standard were compared and the disinfection efficacy of 16 multi-purpose solutions was further evaluated. **Results:** The disinfectants and contact lens care products having strong disinfection efficacy showed same results in both membrane filtration method and dilution-neutralization method. In case of contact lens care products having weak disinfection efficacy, the number of micro-organisms was not able to count since the colony was aggregated when evaluated by membrane filtration method. However, the number of micro-organisms was able to exactly count when evaluated by dilution-neutralization method. In addition, some commercially available contact lens care products did not meet disinfection standard and especially, their disinfection effect was often weak against *Serratia marcescens* and *Candida albicans*. **Conclusions:** It is concluded that dilution-neutralization method will be useful to evaluate disinfection efficacy since it is possible to count micro-organisms more precisely even with small amount of sample and check the results faster compared with membrane filtration method.

Key words: Membrane filtration method, Dilution-neutralization method, Disinfection efficacy, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*