한국환경보건학회지, 제42권 제4호(2016)
J Environ Health Sci. 2016; 42(4): 266-273
pISSN: 1738-4087 eISSN: 2233-8616
http://dx.doi.org/10.5668/JEHS.2016.42.4.266

사례연구 | Case report

자몽종자추출물, 구연산, 사과산 그리고 염화벤잘코늄을 주성분으로 하는 스프레이형 소독제의 조류인플루엔자바이러스에 대한 살바이러스 효과

차춘남 · 박은기* · 정지윤** · 유창열*** · 김석**** · 이후장****,†

경상대학교 산업시스템공학과·공학연구원
*고신대학교 인문사회의학교실
**공주대학교 특수동물학과
***경남도립남해대학 스마트융합정보학과
****경상대학교 수의과대학·동물의학연구소

Virucidal Efficacy against Avian Influenza Virus of a Disinfectant Spray Containing Grapefruit Seed Extracts, Citric Acid, Malic Acid and Benzalkonium Chloride

Chun-Nam Cha, Eun-Kee Park*, Ji-Youn Jung, Chang-Yeol Yoo***, Suk Kim****, and Hu-Jang Lee****,†**

Engineering Research Institute and Department of Industrial Systems Engineering, Gyeongsang National University, Chinju, Korea
**Department of Medical Humanities and Social Medicine, College of Medicine, Kosin University, Busan, Korea*
***Department of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Yesan, Korea*
****Department of Smart Information Convergence, Gyeongnam Provincial Namhae College, Namhae, Korea*
*****Institute of Animal Medicine and College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, Korea*

ABSTRACT

Objectives: This study evaluated the virucidal efficacy against avian influenza virus (AIV) of a disinfectant spray containing 0.25% grapefruit seed extract, 0.2% citric acid, 0.0625% malic acid and 0.0125% benzalkonium chloride.

Methods: The disinfectant spray was diluted several times with hard water (HW) and organic matter (OM). Two point five mL of each diluent was added into each test tube, and 2.5 mL of AIV suspension was inserted into each test tube. After 30 minutes of virus-disinfectant contact reaction at 4°C, 2.5 mL of 10% inactivated fetal bovine serum was added into each test tube to neutralize the sanitizer efficacy. The neutralized solutions were serial 10-fold dilutions with phosphate buffer solution, and 0.2 mL of the diluents was injected into the allantoic cavity of five ten-day-old-chickens per dilution time. After incubation of the embryos for five days, the viability of the AIV was examined by hemagglutination titer. The valid dilution of the disinfectant spray was estimated according to the dilution time that the virus titer was inactivated more than 10^4 50% egg-infective dose (EID50)/mL compared with pathogen control.

Results: In HW and OM conditions, the valid dilutions of the disinfectant spray against AIV were seven- and

†**Corresponding author:** College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea, Tel: +82-55-772-2352, Fax: +82-55-772-2308, E-mail: hujang@gnu.ac.kr
Received: 18 April 2016, Revised: 22 June 2016, Accepted: 27 June 2016

three-fold dilutions, respectively. The AIV titer of the pathogen control was more than 6.1 log10EID50/mL, and there was no embryonic toxicity.

Conclusion: The present study showed that this disinfectant spray has effective virucidal activity against AIV.

Key words: Avian influenza virus, benzalkonium chloride, citric acid, disinfectant spray, grapefruit seed extracts

I. 서 론

인플루엔자 바이러스는 인류와 가까운 생태환경에서 주기적으로 항원의 변이를 일으키며, 매년 크고 작은 유행을 일으키고 있다.[1] 세계보건기구의 고병원성 조류인플루엔자 바이러스 A (H5N1) 인체감염 축적통계에 따르면, 2016년 4월 현재까지 전 세계 16개국에서 850명의 고병원성 조류인플루엔자 A 인체감염자가 발생되었고 이중 449명이 사망하여 치사율이 약 53%에 달하고 있다고 발표하였다.[2] 특히, 대부분의 사람들은 고병원성 조류인플루엔자 바이러스 A (H5N1)에 대한 면역력이 없기 때문에 인플루엔자 A (H7N9)와 마찬가지로 대유행을 일으킬 가능성이 가장 높은 바이러스로 알려져 있다.[3]

우리나라에서 고병원성 조류인플루엔자는 2003년에 충청북도에서 처음으로 발생하여, 2006년, 2008년, 2010년, 2011년, 2014년, 2015년 그리고 2016년 4월에 발생하였다.[4] 고병원성 조류인플루엔자 발생에 따른 경제적 피해 예측에 따르면,[5] 생산단계에서 약 3,124억 원, 육가공~유통단계에서 약 58억 원, 그리고 판매단계에서 약 3,142억 원의 피해가 발생해서 총 6,300여억 원의 직·간접적인 경제적 피해가 발생하는 것으로 추정하였다.

조류인플루엔자 바이러스 (avian influenza virus, AIV)는 지질-피막을 갖고 있는 *Orthomyxoviridae* family에 속하며, A형 인플루엔자 바이러스에 속한다.[6] A형 인플루엔자 바이러스는 두 가지 표면 당단백인 hemagglutinin (HA)과 neuraminidase (NA)의 항원성 차이에 따라 16가지 HA 아형 (H1～H16), 9가지 NA 아형 (N1~N9)으로 분류된다.[7] H5N1 아형의 고병원성 조류인플루엔자는 조류와 사람을 포함한 포유동물에 이르기까지 광범위한 종에 감염되며, 치명적인 결과를 초래하기도 한다.[8]

AIV의 지질 피막은 탈수, 세제 그리고 계면활성제 등에 민감하기 때문에 AIV는 상대적으로 쉽게 소독이 된다.[9] 구연산은 산에 민감한 바이러스들을 불활성화 시키는데 효과적이므로, 세제와 혼합하여 조류인플루엔자 바이러스를 안전하게 소독할 수 있다.[10] 또한, 양이온계면활성제인 염화벤잘코늄은 그람 음성균, 그람 양성균, 곰팡이, 바이러스 등에 효과를 갖고 있어서 농·축산, 식품 그리고 의료분야 등에서 사용되고 있으며, 염화벤잘코늄을 함유한 소독제들이 병원, 식당 그리고 쇼핑센터 등에서 광범위하게 이용되고 있다.[11,12] 최근, 천연물질에 대한 선호도가 증가하면서, AIV에 대한 살바이러스 효과를 갖는 녹차추출물, 자몽종자추출물 그리고 크랜베리 추출물 등과 같은 천연물질을 소독제 성분으로 사용하고 있다.[13-15]

현재, 많은 종류의 살바이러스성 소독제들이 상품화되어 이용되고 있으며, 각각의 소독제들은 바이러스를 불활성화 시키는데 있어서 서로 다른 기전을 갖고 있는 것으로 알려져 있다.[16] 소독제에 의한 일반적인 바이러스의 불활성화 기전은 단백질 변성으로, 바이러스의 부착을 방해하고 바이러스의 핵산에 손상을 입혀 바이러스의 증식을 억제시킨다.[17] 페놀, 4급 암모늄화합물, 알코올 등은 바이러스의 지질구조 및 표면단백에 변성을 일으켜, 바이러스의 숙주세포 부착과 침입을 방지하는 것으로 알려져 있으며,[18] 구연산과 사과산과 같은 유기산은 바이러스의 핵산, 핵막 그리고 지질막에 변형을 일으키는 것으로 알려져 있다.[19]

기존에 많은 연구들에서,[10,15,16] 소독제 및 살바이러스 물질을 이용한 AIV에 대한 항바이러스 혹은 살바이러스 효과시험을 수행하였으나, 자몽종자추출물, 구연산, 사과산 그리고 염화벤잘코늄 등의 합제를 이용한 AIV에 대한 살바이러스 효과시험은 수행된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 자몽종자추출물, 구연산, 사과산 그리고 염화벤잘코늄을 주성분으로 한 스프레이형 소독제의 AIV에 대한 살바이러스 효과를 확인하기 위하여 수행되었다.

Table 1. Experimental design for the determination of the virucidal efficacy of a hand sanitizer spray

Treatment	Treatment condition[1)]	Contents according to treatment condition[2)]			
		HW	OM	Disinfectant	AIV
Treatment-1	HW condition	+	-	+	+
Treatment-2	OM condition	+	+	+	+
Treatment-3	Pathogen control	+	-	-	+
Treatment-4	Toxicity control	+	-	+	-

[1)] HW, standard hard water; OM, organic matter; AIV, avian influenza virus.
[2)] +, presence; -, absence

II. 재료 및 방법

1. 실험물질

본 시험에 사용된 실험물질은 한국썸벧(주) (익산)에서 공급받은 스프레이형 소독제 (300 mL 중, 구연산 600 mg, 사과산 187.5 mg, 염화벤잘코늄 75 mg, 자몽종자추출물 750 mg)를 사용하였다. 실험물질은 무색의 투명한 액체로서 사용기간 동안 실온에 보관하여 실험에 사용하였다. 스프레이형 소독제의 살바이러스 효력시험은 농림축산검역본부 고시 제 2013-34호의 소독제 효력시험지침[20)]에 따라 수행하였다.

2. 바이러스의 배양

AIV H9N2 (MS96 strain)를 농림축산검역본부 (안양)에서 분양받아 시험에 사용하였다. 공시 바이러스주를 10일령의 AIV 항체가 없는 specific pathogen free (SPF) 발육란의 요막강 내에 접종한 후, 37°C, 상대습도 85%에서 3일 동안 배양하였다. 요막액 중 바이러스 역가가 3.0×10^9 50% egg-infectious dose (EID_{50})/mL 이상으로 증식하였을 때, 요막액을 수거하여 스프레이형 소독제의 살바이러스 활성 시험에 사용하였다. 수거한 요막액은 단시간 동안 얼음물에서 보관하면서 시험에 사용하였다.

3. 소독제 희석 및 처리조건

소독제의 희석은 각각 경수 (1L 중, $CaCl_2$ 0.305 g, $MgCl_2{\cdot}6H_2O$ 0.139 g, w/v)와 유기물 (경수 중 5% 소태아혈청 (Sigma-Aldrich Korea, Seoul) 함유)로 하였으며, 각각의 희석액을 경수 처리구 (처리구-1)와 유기물 처리구 (처리구-2)로 하였다. 또한, 병원체 대조군과 독성 대조군을 별도로 두고 실험을 실시하였다. Table 1은 각 처리구 및 처리 조건을 나타낸 것이다.

4. 바이러스-소독제 접촉 반응

스프레이형 소독제를 경수 및 유기물을 이용하여 처리구 별로 희석하였다. 처리구-1은 경수를 이용하여, 5, 6, 7, 8, 9, 10배로 희석하였고, 처리구-2는 유기물을 이용하여, 1, 2, 3, 4, 5, 6배로 희석하였다. 소독제를 희석한 후, 각각의 소독제 희석액 2.5 mL을 취하여 각각의 시험관에 넣고, 이어서 수거한 요막액을 경수와 유기물로 각각 20배 희석한 바이러스 희석액 2.5 mL을 넣고, 4°C에서 30분 동안 반응을 시켰다.

5. 바이러스의 감염력 상실정도 측정

소독제와 바이러스의 반응이 종료된 후, 소독제의 효능을 중화시키기 위해 즉시 각 시험관에서 1.0 mL을 취하여 37°C의 중화배지 (10% 비동화 소태아혈청 함유 배지) 1.0 mL에 넣고 혼합한 다음, 중화를 시켰다. 이후에, 중화된 용액을 생리식염수를 이용하여 각각 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6배로 희석하였다. 각각의 희석액 0.2 mL을 취하여 희석배수 당 5개의 10일령된 부화란의 요막강에 접종하였다. 접종 후, 37°C, 상대습도 85%의 조건에서 5일 동안 배양하였다. 배양기간 동안, 매일 계태아의 생존여부를 확인하였다. 배양 후, 요막강으로부터 요막액을 채취하여 바이러스의 생존여부를 1%의 닭 적혈구를 이용한 혈구응집반응법[8)]으로 확인하였다. 또한, 바이러스의 역가를 Kärber method[21)]로 계산하였다.

6. 병원체 대조군 및 독성 대조군의 검정

병원체 대조군 검정을 위해, 5개의 10일령 부화란

Table 2. The validation of a hand sanitizer spray against avian influenza virus: the first examination

Tratment[1)]	Dilution time	Dilution time of the neutralized solution (positive/inoculation numbers)						EID_{50}[2)]	Log reduction
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}		
Treatment-1 (HW)	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	≤0.5	≥5.6
	1/6	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1.1	5.0
	1/7	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5	1.7	4.4
	1/8	4/5	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5	2.5	3.6
	1/9	5/5	4/5	3/5	2/5	1/5	0/5	3.5	2.7
	1/10	5/5	5/5	5/5	3/5	2/5	1/5	4.7	1.4
Treatment-2 (OM)	1/1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	≤0.5	≥5.6
	1/2	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0.7	5.4
	1/3	3/5	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1.5	4.6
	1/4	4/5	3/5	1/5	0/5	0/5	0/5	2.3	3.8
	1/5	5/5	5/5	4/5	2/5	1/5	0/5	3.9	2.2
	1/6	5/5	5/5	5/5	4/5	2/5	1/5	4.9	1.2
Pathogen control		5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5	6.1	
Toxicity control		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		

[1)] DW, distilled water; HW, hard water; OM, organic matter.
[2)] EID_{50}=-L1–[L×{S/100–0.5}]
(L_1, Log of lowest dilution tested; L, log interval between dilutions; S, sum of % mortality at each dilution).

에 바이러스 배양 시 수거한 요막액을 경수를 이용하여 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6배로 희석한 각각의 희석액을 준비하였다. 준비한 각각의 희석액 0.2 mL을 취하여 희석배수 당 5개의 10일령된 부화란의 요막강에 접종하였다. 접종 후, 37°C, 상대습도 85%의 조건에서 5일 동안 배양하였다. 배양기간 동안, 매일 계태아의 생존여부를 확인하였다. 배양 후, 요막강으로부터 요막액을 채취하여 바이러스의 생존여부를 1%의 닭 적혈구를 이용한 혈구응집반응법[8)]으로 확인하였다. 또한, 바이러스의 역가를 Kärber method[21)]로 계산하였다. 병원체 대조군의 바이러스 역가는 농림축산검역본부 고시 제2013-34호의 소독제 효력시험지침[20)]의 기준에 따라 2.0×10^5 EID_{50}/mL 이상이어야 한다.

독성 대조 검정을 위해, 소독제 유효배수 (처리구-2가 병원체 대조와 비교하여 10^4 EID_{50}/mL 이상 감소한 최초의 희석배수)를 경수를 이용하여 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6배로 희석한 각각의 희석액을 준비하였다. 각각의 희석액 0.2 mL을 희석배수 당 5개의 10일령된 부화란의 요막강에 접종하였다. 접종 후, 37°C, 상대습도 85%의 조건에서 5일 동안 배양하였다. 배양기간 동안, 매일 계태아의 생존여부를 확인하여 종란독성의 발생여부를 기록하였다.

7. 소독제 유효희석배수의 평가

처리구-1과 처리구-2의 유효희석배수는 농림축산검역본부 고시 제2013-34호의 소독제 효력시험지침[20)]의 기준에 따라 병원체 대조군과 비교하여 바이러스 역가가 10^4 EID_{50}/mL 이상 불활화가 확인된 희석배수를 유효희석배수로 하였다.

III. 결과 및 고찰

Table 2-4는 자몽종자추출물, 구연산, 사과산, 염화벤잘코늄 등을 주성분으로 하는 스프레이형 소독제의 AIV에 대한 소독제 효력시험 결과를 나타낸 것이다. Table 5는 스프레이형 소독제의 AIV에 대한 유효희석배수를 요약하여 나타낸 것이다. 스프레이형 소독제의 AIV에 대한 살바이러스 효과를 3차에 걸쳐 시험한 결과, 병원체 대조군의 AIV 역가는 각

Table 3. The validation of a hand sanitizer spray against avian influenza virus: the second examination

Tratment[1)]	Dilution time	Dilution time of the neutralized solution (positive/tinoculation numbers)						EID_{50}[2)]	Log reduction
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}		
Treatment-1 (HW)	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	≤0.5	≥5.8
	1/6	3/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1.3	5.0
	1/7	4/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5	1.9	4.4
	1/8	5/5	4/5	2/5	1/5	0/5	0/5	2.9	3.4
	1/9	5/5	5/5	3/5	2/5	0/5	0/5	3.5	2.8
	1/10	5/5	5/5	4/5	3/5	1/5	0/5	4.1	2.2
Treatment-2 (OM)	1/1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	≤0.5	≥5.8
	1/2	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1.1	5.2
	1/3	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5	1.7	4.6
	1/4	4/5	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5	2.5	3.8
	1/5	5/5	5/5	3/5	2/5	1/5	0/5	3.7	2.6
	1/6	5/5	5/5	5/5	4/5	2/5	1/5	4.9	1.4
Pathogen control		5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	6.3	
Toxicity control		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		

1) DW, distilled water; HW, hard water; OM, organic matter.
2) EID_{50}=-L1–[L×{S/100–0.5}]
(L_1, Log of lowest dilution tested; L, log interval between dilutions; S, sum of % mortality at each dilution).

Table 4. The validation of a hand sanitizer spray against avian influenza virus: the third examination

Tratment[1)]	Dilution time	Dilution time of the neutralized solution (positive/tinoculation numbers)						EID_{50}[2)]	Log reduction
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}		
Treatment-1 (HW)	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	≤0.5	≥5.8
	1/6	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0.7	5.6
	1/7	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1.1	5.2
	1/8	4/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5	1.9	4.4
	1/9	5/5	4/5	2/5	1/5	0/5	0/5	2.9	3.4
	1/10	5/5	5/5	3/5	2/5	1/5	0/5	3.7	2.6
Treatment-2 (OM)	1/1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	≤0.5	≥5.8
	1/2	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0.7	5.6
	1/3	3/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1.3	5.0
	1/4	4/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5	1.9	4.4
	1/5	5/5	4/5	3/5	1/5	0/5	0/5	3.1	3.2
	1/6	5/5	5/5	4/5	3/5	2/5	1/5	4.5	1.8
Pathogen control		5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	6.3	
Toxicity control		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0	

1) DW, distilled water; HW, hard water; OM, organic matter.
2) EID_{50}=-L1–[L×{S/100–0.5}]
(L_1, Log of lowest dilution tested; L, log interval between dilutions; S, sum of % mortality at each dilution).

Table 5. The summary of the valid dilution time for a hand sanitizer spray against avian influenza virus

Tretment[1)]	Experiment			Median
	first	second	third	
Treatment-1 (HW)	1/7	1/7	1/8	1/7
Treatment-2 (OM)	1/3	1/3	1/4	1/3
Positive control	+[2)]	+	+	
Negative control	-	-	-	

[1)] HW, hard water; OM, organic matter.
[2)] Viral activity was identified more than 2.0×10^5 EID_{50}/ml.

각 6.1, 6.3, 6.3으로 나타나, 농림축산검역본부 고시 제2013-34호의 소독제 효력시험지침[20)]의 기준 (2.0×10^5 EID_{50}/mL ≒ 5.3 $\log_{10}EID_{50}$/mL)을 모두 만족하여 본 소독제 효력시험은 유효한 것으로 확인되었다. AIV에 대한 소독제의 효력을 경수조건에서 시험한 결과, 1, 2, 3차 시험에서 소독제의 AIV에 대한 유효희석배수는 각각 7, 7, 8배로 나타났다. 또한, 스프레이형 소독제의 AIV에 대한 유기물 조건에서 1, 2, 3차의 유효희석배수는 각각 3, 3, 4배로 나타났다. 경수 조건에 비해 유기물 조건에서 소독제의 AIV에 대한 유효희석배수가 감소한 것은, 유기물질이 소독제의 살바이러스 활성을 저해하거나 소독제의 바이러스와의 접촉을 방해함[22)]으로서 기인된 것으로 사료된다.

앞선 연구에서,[10)] 구연산 (30% w/v)과 4급 염화암모늄 (10%, v/v)을 주성분으로 하는 소독제를 이용하여 AIV에 대한 살바이러스 효과를 시험한 결과, 경수조건과 유기물 조건에서 유효희석배수가 각각 1,500배와 500배이었다고 보고하였다. 또한, 구연산 (20% w/v)과 4급 암모늄화합물 (10%, v/v)을 주성분으로 하는 소독제를 이용한 AIV에 대한 살바이러스 시험 연구에서,[23)] 경수와 유기물 조건 모두에서 200배의 유효희석배수를 보였다고 보고하였다. 한편, 개미산 (55%, w/w)과 글리옥실산 (7%, w/w)을 주성분으로 하는 소독제를 이용한 살바이러스 시험에서, 소독제와 AIV를 20°C에서 30분 동안 반응시킨 결과, 경수 조건과 유기물 조건에서 유효희석배수가 모두 1,000배 이상이었다고 보고하였다.[24)]

소독제의 조성성분, 함량 그리고 AIV와의 접촉시간 등을 고려할 경우, 본 연구의 결과는 구연산 (30% w/v)과 4급 염화암모늄 (10%, v/v)을 주성분으로 하는 소독제[10)]에 비해, 경수 조건에서는 살바이러스 효과가 다소 낮으나, 유기물 조건에서는 살바이러스 효과가 높은 것으로 사료되며, 구연산 (20% w/v)과 4급 암모늄화합물 (10%, v/v)을 주성분으로 하는 소독제[23)]와 개미산 (55%, w/w)과 글리옥실산 (7%, w/w)을 주성분으로 하는 소독제[24)]에 비해서는 경수 및 유기물 조건 모두에서 살바이러스 효과가 높은 것으로 사료된다.

본 연구에서 사용한 스프레이형 소독제의 주요성분인 자몽종자추출물은 앞선 연구[25)]에서 세포독성이 없는 무독성물질이라고 보고되었다. 구연산은 피부자극, 안 점막 손상 그리고 호흡기 자극 등을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있으며,[26)] 사과산 또한 피부자극과 안점막 손상을 일으킬 수 있는 것으로 보고되고 있다.[27)] 한편, 염화벤잘코늄의 경우, 0.1-0.2% 농도를 사람의 피부소독제로 사용하고 있으며, 0.01% 농도를 점안액의 보존제로 사용하고 있어, 안전한 물질로 보고되고 있다.[28)]

이상의 연구 결과로부터, 자몽종자추출물, 구연산, 사과산 그리고 염화벤자코늄을 주성분으로 하는 스프레이형 소독제는 AIV에 대해 살바이러스 효과를 나타내어, AIV의 감염예방을 목적으로 사용할 수 있는 효과적인 소독제로 사료된다. 다만, 본 시험에 사용된 소독제의 일부 성분들이 피부자극, 안점막 손상 그리고 호흡기 자극 등을 일으킬 수 있으므로, 보호장비를 착용하고 사용할 필요가 있는 것으로 사료된다.

본 연구를 통해, 스프레이형 소독제의 AIV에 대한 살바이러스 효과를 처음으로 실험실 수준에서 규명하였으며, 향후, AIV에 오염된 생활환경에 대한 적용시험을 통해 그 효과를 규명할 필요가 있을 것으로 사료된다.

IV. 결 론

본 연구는 AIV를 대상으로 자몽종자추출물, 구연산, 사과산 그리고 염화벤잘코늄을 주성분으로 하는 스프레이형 소독제의 살바이러스 효과를 평가하기 위해 수행되었다. 병원체 대조군은 5.3 $\log_{10}EID_{50}$/mL 이상을 보여, 소독제 효력시험 기준을 만족하였으며, 유기물 조건의 소독제 유효희석배수에서 종란독성을 보이지 않았다. 또한, 경수 및 유기물 조건

에서, 본 소독제의 유효희석배수는 각각 7배와 3배로 나타나, AIV에 대해 살바이러스 효과가 있는 것으로 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 한국썸벧(주) (익산)의 지원으로 수행되어 작성된 것으로, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Kim YT. Current situation and elimination plan of influenza. *J Korean Med Assoc*. 2004; 47: 1116-1128.
2. World Health Organization. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003-2016. Available: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/EN_GIP_20160404cumulativenumberH5N1cases.pdf?ua=1 [accessed 18 April 2016].
3. Si Y, Wang T, Skidmore AK, de Boer WF, Li L, Prins HHT. Environmental factors influencing the spread of the highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in wild birds in Europe. *Ecol Soc*. 2010; 15: 26.
4. Korea Animal Health Integrated System. Outbreak of legal communicable diseases: High pathogenic avian influenza. Available: http://www.kahis.go.kr/home/lkntscrinfo/selectLkntsOccrrncList.do?openFlag=Y [accessed 18 April 2016].
5. Woo BJ, Lee HW, Hwang YJ, Kim JN. Estimation of the economic loss by outbreak of highly pathogenic avian influenza, 1st ed. Naju: Korea Rural Economic Institute; 2008. p. 5-14.
6. Swayne DE, Halvorson DA. Influenza. In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. editors. Diseases of poultry, 11th ed. Iowa: Blackwell Science; 2003. p. 135-160.
7. Fouchier RAM, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfest S, Smith D, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol*. 2005; 79: 2814-2822.
8. Hitchner SB, Domermuth CH, Purchase HG, Williams JE. Isolation and identification of avian pathogens, 4th ed. College Station: American Association of Avian Pathologists; 1997. p. 140-145.
9. Peiris JSM, De Jong MD, Guan Y. Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health. *Clin Micorbiol Rev*. 2007; 20: 243-267.
10. Cha CN, Lee YE, Kang IJ, Yoo CY, Park EK, An S, et al. Antiviral efficacy of Citra-kill®, disinfectant solution against avian influenza virus. *J Fd Hyg Safety*. 2012; 27: 18-23.
11. Frier M. Derivatives of 4-Amino-quinaldinium and 8-Hydroxyquinoline. In: Hugo WB. editor. Inhibition and destruction of the microbial cell, 1st ed. London: Academic Press; 1971. p. 107-120.
12. Sadakane K, Ichinose T. Effect of the hand antiseptic agents benzalkonium chloride, povidone-iodine, ethanol, and chlorhexidine gluconate on atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Int J Med Sci*. 2015; 12: 116-125.
13. Hohtola A. Bioactive compounds from northern plants. *Adv Exp Med Biol*. 2010; 698: 99-109.
14. Brandin H, Myrberg O, Rundlöf T, Arvidsson AK, Brenning G. Adverse effects by artificial grapefruit seed extract products in patients on warfarin therapy. *Eur J Clin Pharmacol*. 2007; 63: 565-570.
15. Shin WJ, Kim YK, Lee KH, Seong BL. Evaluation of the antiviral activity of a green tea solution as a hand-wash disinfectant. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2012; 76: 581-584.
16. Suarez DL, Spackman E, Senne DA, Bulaga L, Welsch AC, Froberg K. The effect of various disinfectants on detection of avian influenza virus by real time RT-PCR. *Avian Dis*. 2003; 47(3 Suppl): 1091-1095.
17. Hirneisen KA, Black EP, Cascarino JL, Fino VR, Hoover DG, Kniel KE. Viral inactivation in foods: A review of traditional and novel food-processing technologies. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2010; 9: 3-20.
18. Maris P. Modes of action of disinfectants. *Rev Sci. Tech Off Int Epiz*. 1995; 14: 47-55.
19. Turner RB, Biedermann KA, Morgan JM, Keswick B, Ertel KD, Barker MF. Efficacy of organic acids in hand cleansers for prevention of rhinovirus infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 2595-2598.
20. Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency (APFQIA). The guideline of the efficacy test for disinfectants. APFQIA Regulation No. 2013-34. Anyang: APFQIA; 2013.
21. Kärber G. Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. *Arch Exp Pathol Pharmakol*. 1931; 162: 480-487.
22. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Micro-*

biol Rev. 1999; 12: 147-179.
23. Jang Y, Lee G, Song J, Kim H, Jang B, Choe N. Time dependent efficacy change after dilution of the disinfectants against avian influenza virus. *J Prev Vet Med*. 2015; 39: 44-47.
24. Yilmaz A, Heffels-Redmann U, Redmann T. Evaluation of the virucidal efficacy of two chemical disinfectants against avian influenza virus A at different temperatures. *Arch Geflügelk*. 2004; 68: 50-56.
25. Heggers JP, Cottingham J, Gusman J, Reagor L, McCoy L, Carino E, et al. The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and in vitro toxicity. *J Altern Complement Med*. 2002; 8: 333-340.
26. International Chemical Safety Cards (ICSC). Citric acid. Available: http://www.cdc.gov/niosh/ipcsneng/neng0855.html [accessed 28 April 2016].
27. Fiume Z. Final report on the safety assessment of malic acid and sodium malate. *Int J Toxicol*. 2001; 1 (20 Suppl): 47-55.
28. European Medicines Agency (EMEA). The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines Evaluation Unit, Committee for Veterinary Medicinal Products. Benzalkonium chloride – Summary Report. Available: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500010967.pdf [accessed 28 April 2016].