

농림축산검역본부 공고 제 2016-213호

소독제 효력시험지침을 개정함에 있어 국민에게 미리 알려 의견을 듣고자 그 개정취지 및 주요내용을 행정절차법 제46조의 규정에 의하여 다음과 같이 공고합니다.

2016년 5월 24일

농림축산검역본부장

소독제 효력시험지침 개정(안) 행정예고

1. 개정 이유

- 국내 질병발생 및 방역여건을 고려한 소독제 효력시험을 다양화 하고, 효력시험용 공시제품에 대한 관리를 구체적으로 명시하는 등 소독제 효력시험을 합리적으로 개선하기 위함

2. 주요 내용

가. 국내 방역여건을 고려한 소독제 효력시험 다양화 추진(제3조)

- 기존 현탁액 시험법 이외의 '훈증 등 가스제형 소독제 효력시험(별표 4)' 추가
- 신청업체에서 소독제 효력시험 온도조건 및 접촉시간을 다양화 하여 효력시험 설계서 작성·제출 가능토록 '선택시험 조건' 추가

나. 소독제 효력시험용 공시제품 관리기준 마련(제4조 2)

- 지정 검사기관에서 공시제품에 대한 함량검사를 실시 후 소독제

효력시험기관에서 시험 및 업체에서 공시제품 보관의무 신설

* 효력시험결과제출 관련 공시제품 함량검사 결과 제출 포함(제5조제3항)

○ 기타 소독제 효력시험기관 및 의뢰자의 임무와 신뢰성 조사 실시 등
다. 국내·외 동일한 규정 적용을 위한 바이러스 소독제 효력시험 관련
국의 시험성적 예외 인정 규정 삭제(별표 2. 5.)

라. 소독제 권장희석배수 설정 강화(제4조 및 별표 1~3.)

○ 바이러스 등과의 반응 후의 농도를 최종 희석배수로 정하되, 국내 현장성
등을 감안하여 80%값에 해당하는 희석배수를 권장희석배수로 설정

3. 의견제출

이 고시 개정(안)에 대하여 의견이 있는 개인 또는 단체, 기관은
2016. 6. 15일까지 다음 사항을 기재한 의견서를 농림축산검역본
부장(참조 : 동물약품관리과장)에게 제출하여 주시기 바랍니다. 기타
자세한 사항은 농림축산검역본부 홈페이지(<http://www.qia.go.kr>)
또는 동물약품관리과 카페(<http://cafe.daum.net/nvrqspharm>)를 참
고하시거나 동물약품관리과로 문의하여 주시기 바랍니다.

가. 행정예고 사항에 대한 항목별 의견(찬·반 여부와 그 사유)

개정(안)	수정(안)	사유

나. 성명(단체인 경우에는 단체명과 대표자명), 주소 및 전화번호

다. 제출하는 곳 : 농림축산검역본부 동물약품관리과

- 전화 : 054-912-0532 (FAX : 054-912-0530)

- 주소 : 경상북도 김천시 혁신8로 177(울곡동 960)

- 전자우편(이메일) : sejang@korea.kr

신 · 구조문대비표

현 행	개 정 안
<p>제3조(표준시험법) 표준시험법에 관한 구체적인 사항은 별표1의 「세균 등의 소독제 효력시험」, 별표2의 「바이러스의 소독제 효력시험」, 별표3의 「곰팡이의 소독제 효력시험」 <u>규정에 따른다.</u> 다만, 아포세균, 결핵균, 곰팡이 및 특정 병원체에 관한 <u>세부시험과</u> 기타 이 지침에서 규정하지 않은 세부 사항은 농림축산검역본부장의 승인을 받아 시험을 <u>실시하는 것을 원칙으로 한다.</u></p> <p>① (생 략) <u><신 설></u></p> <p>② (생 략)</p> <p>③ (생 략)</p> <p>④ (생 략)</p> <p>1. 2. (생 략)</p> <p>3. 공시제품에 대한 최종 희석배</p>	<p>제3조(표준시험법) ----- ----- ----- -----, <u>별표4의 「<u>훈증 등 가스제형 소독제 효력시험</u>」 규정-- -- <u>세부시험과 선택시험 조건 등</u> ----- ----- ----- <u>실시하여야 한다.</u></u></p> <p>① (현행과 같음)</p> <p>② “<u>선택시험조건</u>”이라 함은 <u>표준 시험조건외에 제제 특성과 소독대상 등에 따라 반응시간(1분, 5분, 15분 등)과 반응온도(-10℃, -5℃, 10℃ 등)를 추가로 선택하여 처리하는 조건을 의미한다.</u></p> <p>③ (현행 제2항과 같음)</p> <p>④ (현행 제3항과 같음)</p> <p>⑤ (현행 제4항과 같음)</p> <p>1. 2. (현행과 같음)</p> <p>3. -----</p>

수의 결정은 각각의 시험결과를 상용대수로 환산하여 계산하되, 20%의 오차범위내로 들어오는 3반복시험결과 중 중위수(median)로 한다.

⑤ (생 략)

제4조(효력시험결과 활용) 효력시험의 결과를 권장희석배수로 정할 경우에는 제2조제2항의 소독대상 분류에 따라 병원체명(질병명)별로 희석배수를 구분하여 표기한다.

<신 설>

각 실험의 결과값이 평균값의 20%(±10%)-----
-----.

⑥ (현행 제5항과 같음)

제4조(효력시험결과 활용) -----

----- 최종 유효희석배수의 80%값에 해당하는 희석배수를 기준으로 하여 제2조제2항-----
-----.

제4조의2(공시제품의 관리 등) ①

효력시험 실시 전 공시제품은 농림축산식품부장관이 지정한 검사기관(이하 “검사기관”이라 한다)에서 함량검사를 받아야 하며, 함량검사 결과는 유효성분 함량기준(95~105%)에 적합하여야 한다.

② 효력시험 의뢰자(이하 “의뢰자”라 한다)는 동일한 제조단위(롯트)의 공시제품 최소 3개 이상을 검사기관에 제공하여야 한다.

③ ①항에 따른 함량검사 결과가 적합할 경우 검사기관은 공시제품 2개 이상을 봉인하여 의뢰자에게

송부하여야 하며, 이 경우 의뢰자는 1개 이상은 효력시험기관에 제공하여야 하며, 1개는 유효기간에 1년을 더하여 보관하여야 한다.

④ 효력시험기관은 제공받은 공시 제품의 봉인 상태 및 함량시험 결과를 확인하여 이상이 없는 경우 시험을 실시하여야 한다.

⑤ 기타 소독제 효력시험기관 및 의뢰자의 임무와 신뢰성 조사 등 관리사항은 농림축산검역본장이 정한 “동물용의약품등 임상시험 관리지침”의 제12조, 제15조, 제18조 및 제19조를 준용한다.

제5조(효력시험결과제출) (생략)

② 세균, 바이러스 또는 곰팡이의 특정 병원체를 소독대상으로 할 경우에는 별표1부터 별표3까지 제시된 해당 시험방법에 따라 실시한 성적을 제출한다. 다만, 소독제 효능·효과 및 용법·용량 등을 고려할 때 이 규정에 의한 표준시험법으로 소독제 효력시험의 목적을 달성할 수 없다고 판단되는 경우에는 해당 세균, 바이러스 및 곰

제5조(효력시험결과제출) (현행과 같음)

② -----

----- 별표4 -----

팡이의 생물학적 특성에 따라 소독제 효능을 검사할 있는 과학적인 공인방법으로 제3조에 의거하여 시험방법을 변경할 수 있다.

③ 안전성 유효성 심사를 위해 실시하는 소독제의 효력시험결과 보고서는 다음 각 호의 사항을 포함하여야 한다.

1. ~ 10. (생략)

<신설>

[별표1]

세균 등의 소독제 효력시험(제3조관련)

3. 세균 소독제 효력시험

① ~ ② (생략)

③(소독제의 희석법) 소독제의 유효 희석배수의 대강의 범위를 알고 있는 경우는 제품해당 농도의 123%를 경수로 100ml가 되도록 용해한 다음, 이를 10%씩의 농도차이를 두어 5개의 시험관에 2.5ml씩 단계희석한 것을 넣는다. 이때 원하는 희석농도가 5개의 시험관 중 가운데가 되도록 배치하고, 이렇게 소독제 희석액 처리가 완성된 시험관을 4℃가 되도록 한다.

*예시(200배의 소독액의 효력을 측정할 경우): 200배로 희석할 해당제품 0.5g을 100으로 볼 때 123%로 해당되는 양에 해당되는 0.615g을 취하여 경수로 100ml가 되도록 용해한 다음

-----.

③ -----

-----.

1. ~ 10. (현행과 같음)

11. 농림축산식품부 지정 검사기관에서 실시한 공시제품 함량검사 결과(검사기관에서 발행한 결과서 첨부)

[별표1]

세균 등의 소독제 효력시험(제3조관련)

3. 세균 소독제 효력시험

① ~ ② (현행과 같음)

③(소독제 시험용액 준비) 시험에 사용하는 소독제는 최종 시험균액과의 반응액중에서 희석되는 농도를 고려하여 소독제 희석액을 준비한다.

*예시(최종 200배 희석된 소독액의 효력을 측정할 경우) 경수 또는 유기물에 혼합된 시험균액 2.5ml에 소독제 2.5ml을 넣어 반응시키는 경우 소독제 희석액은 2배 희석이 이루어지므로 최종 희석배수의 50%인 100배 희석된 소독액을 준비한다.

④(소독제의 희석법) 소독제의 유효 예상 희석배수가 500배 이하일 경우는 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 등으로 희석하되, 그 이상의 예상 희석

잘 혼합한 후 10ml를 꺼내어, 이중 2.5ml는 시험관-1에 넣고 나머지 7.5ml는 버린다. 남은 90ml의 소독액에 경수 10ml를 넣어 잘 혼합한 후 10ml를 꺼내어 2.5ml를 시험관-2에 넣고 나머지 7.5ml는 버린다. 이와 동일한 방법으로 시험관-3, -4, -5를 계속하며, 이의 결과 시험관내의 유효성분은 시험관 순서대로 123, 111, 100, 90, 80%가 되어 이들의 시험관의 희석농도는 차례로 10%의 차이가 있게되므로 이 결과는 순서대로 약 1/160, 1/180, 1/200, 1/220, 1/240의 희석농도가 되며, 이렇게 만든 소독액 시험관을 4℃에 보관한다.

[별표2]

바이러스의 소독제 효력시험(제3조관련)

4. 바이러스 소독제 효력시험
① ~ ② (생략)

<신 설>

③(소독제의 희석법) 소독제의 유효 예상 희석배수가500배 이하일 경우는 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 등으로 희석하되, 그 이상의 예상 희석배수 농도에서는 달리할 수 있다. 단, 정밀한 희석배수가 요구되는 경우는

배수 농도 및 더 정밀한 희석배수 산정을 위해서는 희석배수 농도를 달리할 수 있다.

[별표2]

바이러스의 소독제 효력시험(제3조관련)

4. 바이러스 소독제 효력시험
① ~ ② (현행과 같음)

③(소독제 시험용액 준비) 시험에 사용하는 소독제는 최종 시험균액과의 반응액중에서 희석되는 농도를 고려하여 소독제 희석액을 준비한다.

*예시(최종 200배 희석된 소독액의 효력을 측정할 경우) 경수 또는 유기물에 혼합된 시험균액 2.5ml에 소독제 2.5ml을 넣어 반응시키는 경우 소독제 희석액은 2배 희석이 이루어지므로 최종 희석배수의 50%인 100배 희석된 소독액을 준비한다.

④(소독제의 희석법) 소독제의 유효 예상 희석배수가500배 이하일 경우는 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 등으로 희석하되, 그 이상의 예상 희석배수 농도 및 더 정밀한 희석배수 산정을 위해서는 희석배수 농도를 달리할 수

「세균 등의 소독제 효력시험」 3의③
항의 방법에 따른다.

5. 구제역바이러스 소독제 효력시험(국외)
세계구제역표준연구소 등 농림축산검역
본부장이 인정하는 기관에서 소독제
효력시험을 실시하는 경우에는 본 지
침에 부합하는 것으로 본다.

[별표3]

곰팡이의 소독제 효력시험(제3조관련)

3. 곰팡이균 소독제 효력시험

① ~ ② (생략)

③(소독제 희석액) 제2조의 경수 및 유기
물희석액을 이용하며, 경수구는 경수
로, 유기물처리구는 유기물희석액으로
실시함을 원칙하되, 제3조의 규정에 따
라야 한다.

④(소독제의 희석법의 예시) 정밀한 희석
배수가 요구되는 경우는 별표 1의 세
균 등의 소독제 효력시험 3.③항의 시
험방법에 따른다.

< 신 설 >

있다.

<삭 제>

[별표3]

곰팡이의 소독제 효력시험(제3조관련)

3. 곰팡이균 소독제 효력시험

① ~ ② (현행과 같음)

④(소독제 시험용액 준비) 시험에 사용하
는 소독제는 최종 시험균액과의 반응
액중에서 희석되는 농도를 고려하여
소독제 희석액을 준비한다.

*예시(최종 200배 희석된 소독액의 효
력을 측정할 경우) 경수 또는 유기물에
혼합된 시험균액 2.5ml에 소독제 2.5
ml을 넣어 반응시키는 경우 소독제 희
석액은 2배 희석이 이루어지므로 최종
희석배수의 50%인 100배 희석된 소독
액을 준비한다.

⑤(소독제의 희석법) 소독제의 유효 예상
희석배수가 500배 이하일 경우는 50, 1
00, 150, 200, 250, 300, 400, 500 등
으로 희석하되, 그 이상의 예상 희석배
수 농도 및 더 정밀한 희석배수 산정을
위해서는 희석배수 농도를 달리할 수
있다.

[별표4]

훈증 등 가스제형 소독제 효력시험(제3조관련)

[고시 개정 전문]

농림축산검역본부 고시 제2016- 호

동물용의약품등 취급규칙 제7조제1항 및 제2항, “동물용의약품등 안전성·유효성심사에 관한 규정” 제7조제1항제6호다목의 규정에 의하여 “소독제 효력 시험지침”을 다음과 같이 개정합니다.

2016년 월 일

농림축산검역본부장

소독제 효력시험지침

- 제정 2007.1.22. 국립수의과학검역원 고시 제2007-10호
- 개정 2008.9.8. 국립수의과학검역원 고시 제2008-14호
- 개정 2011.6.15. 농림수산물검역검사본부 고시 제2011-26호
- 개정 2012.10. 4. 농림수산물검역검사본부 고시 제2012-156호
- 개정 2013.3.23. 농림축산검역본부 고시 제2013-34호
- 개정 2016.3.9. 농림축산검역본부 고시 제2016-29호
- 개정 2016. 0. 0, 농림축산검역본부 고시 제2016-00호

제1조(목적) 이 지침은 「약사법」 제31조, 제42조, 제85조제1항, 「동물용의약품등 취급규칙」 제7조제1항·제2항, “동물용의약품등 안전성·유효성 심사

에 관한 규정” 제7조제1항제6호다목에 따라 제출되는 동물용의약외품인 소독약품의 효력시험에 관한 세부사항을 정함을 목적으로 한다.

제2조(용어의 정의) 이 지침에서 사용하는 용어의 정의는 다음과 같다.

① “소독제”라 함은 동물질병 방역의 목적으로 축사, 양어장 등 소독대상에 적용하여 병원미생물을 사멸 또는 증식억제 작용하는 제제를 말한다.

② “소독대상”이라 함은 병원체에 오염되었거나 오염되었을 우려가 있는 축체(사체 포함), 축사바닥, 축사공간, 차량 및 운반용구, 동물용 음수, 오물, 양어장, 어류, 기구 등을 말하며, “소독대상의 분류”는 소독대상의 유기물 함량에 따라서 분류하되, 일반적으로 축사바닥, 오물, 사체, 농장차량 및 운반용구 등은 유기물이 많이 함유된 대상으로, 축사공간, 동물용 음수, 축체표면, 기구, 양어장, 어류, 일반차량 등은 유기물이 적게 함유된 대상으로 분류한다.

③ “유기물”이라 함은 소독의 효력에 영향을 주는 것으로 탄수화물, 지방 또는 단백질 등과 이를 함유한 동물의 분비물, 배설물, 장내용물, 혈액, 동물의 조직, 사료찌꺼기 등을 말한다.

④ “소독대상 병원체”라 함은 동물의 건강한 사육을 위하여 사멸 또는 증식억제의 대상이 되는 병력을 갖고 있는 병원체들을 의미하며, 다음 각 호와 같이 구분한다.

1. “특정 병원체”라 함은 허가항목의 소독대상 병원체에 특정 병원체명(또는 특정 질병명)을 기재하는 경우를 의미하고,

2. “일반 병원체”라 함은 허가항목의 소독대상 병원체에 대표균주에 대한 시험의 결과에 따라 포괄적으로 사용되는 것으로 특정 병원체명이 아닌 ‘세균, 아포 또는 곰팡이’ 등의 용어로 기재하는 경우를 말한다.

⑤ “경수”라 함은 증류수 1 리터(liter)에 CaCl_2 0.305g과 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

0.139g(w/v)을 함유한 것을 의미한다.

⑥ “유기물희석액” 이라 함은 소독제의 희석을 위해 사용되는 유기물을 함유한 경수를 의미하며, 세균용 및 곰팡이용의 유기물희석액은 5%(w/v) 효모추출물(yeast extract)을, 바이러스용의 유기물희석액은 5% 소태아혈청(fetal bovine serum)을 함유한 액체를 의미한다. 이 중 세균용 및 곰팡이용의 유기물희석액의 조제방법은 효모추출물 20%(w/v)가 함유되도록 경수에 용해한 다음 고압멸균(121℃ 15분)하여 4℃에 보관하면서, 사용 시에는 경수로 4배 희석하여 5% 함량의 유기물희석액으로 만들되, 1N 수산화나트륨액으로 pH7.0이 되도록 조정하는 것이다. 이때 소독제의 성분이 요오드포류(iodophors)인 경우는 6주 이상 보관 후 사용한다.

제3조(표준시험법) 표준시험법에 관한 구체적인 사항은 별표1의 「세균 등의 소독제 효력시험」, 별표2의 「바이러스의 소독제 효력시험」, 별표3의 「곰팡이의 소독제 효력시험」, 별표4의 「훈증 등 가스제형 소독제 효력시험」 규정에 따른다. 다만, 아포세균, 결핵균, 곰팡이 및 특정 병원체에 관한 세부시험과 선택시험조건 등 기타 이 지침에서 규정하지 않은 세부사항은 농림축산검역본부장의 승인을 받아 시험을 실시하여야 한다.

① “표준시험조건” 이라 함은 소독대상 병원체를 함유한 증류수희석액, 경수희석액 또는 유기물희석액을 각각 소독제를 함유한 증류수, 경수 및 유기물 희석액과 동량 혼합 후 4℃에서 30분간(결핵균 또는 아포는 60분) 처리하는 조건을 의미한다.

② “선택시험조건” 이라 함은 표준시험조건외에 제제 특성과 소독대상 등에 따라 반응시간(1분, 5분, 15분 등)과 반응온도(-10℃, -5℃, 10℃ 등)를 추가로 선택하여 처리하는 조건을 의미한다.

③ “소독제의 효력시험 설계시의 처리구” 라 함은 다음 표의 내용과 같다

(독성대조 처리구는 바이러스의 소독제 효력시험에 한한다) 이때 표시 + 와 -는 각 처리구의 성분구성 여부를 의미하며, 유기물의 저·고는 결과활용시 소독대상의 유기물 함유정도를 의미한다.

처리구	경수	유기물	소독제	비고
1(유기물 저)	+	-	+	경수조건
2(유기물 고)	+	+	+	유기물/경수조건
3(병원체 대조)	+	-	-	처리구 1, 2의 대조
4(독성 대조)	+	-	+	처리구 3의 대조

④ “유효희석배수”라 함은 유기물 저 또는 고 시험조건에서 효력이 인정되는 최소량의 소독제 유효성분에 대한 희석액의 배수로 표기한다.

⑤ “유효희석배수의 판정”은 경수희석액, 유기물희석액의 2가지 조건에서 실시한 각각의 시험결과에 대한 것이며, 제3조제2항의 시험설계에 따른 처리구-1과-2는 처리구-3을 대조로 하여 다음과 같이 판정한다.

1. 세균의 경우는 별표1과 같이 시험하여, 5개의 동일 소독제 희석배수의 영양배지에서 4개 이상 증식되지 않는 최종 소독희석 단계를 유효농도로 한다.
2. 바이러스의 경우는 원칙적으로 표준시험조건에서 병원체 대조군과 비교하여 병원체가 ml당 10⁴배(또는 TCID₅₀, EID₅₀, LD₅₀ 등, 이하 “PFU”라 한다)(상용대수로 환산한 값 4) 이상의 사멸 또는 불활화가 확인된 희석배수를 유효농도로 한다.
3. 공시제품에 대한 최종 희석배수의 결정은 각각의 시험결과를 상용대수로 환산하여 계산하되, 각 실험의 결과값이 평균값의 20%(±10%)의 오차 범위내로 들어오는 3반복시험결과 중 중위수(median)로 한다.

⑥ 제1항부터 제4항까지의 규정에도 불구하고 고풍이용 소독제에 대한 시

험조건, 처리구, 유효희석 배수의 판정 등은 별표 3. 곰팡이의 소독제 효력시험 기준에 따른다.

제4조(효력시험결과 활용) 효력시험의 결과를 권장희석배수로 정할 경우에는 최종 유효희석배수의 80%값에 해당하는 희석배수를 기준으로 하여 제2조제2항의 소독대상 분류에 따라 병원체명(질병명)별로 희석배수를 구분하여 표기한다.

제4조의2(공시제품의 관리 등) ① 효력시험 실시 전 공시제품은 농림축산식품부장관이 지정한 검사기관(이하 “검사기관”이라 한다)에서 함량검사를 받아야 하며, 함량검사 결과는 유효성분 함량기준(95~105%)에 적합하여야 한다.

② 효력시험 의뢰자(이하 “의뢰자”라 한다)는 동일한 제조단위(롯트)의 공시제품 최소 3개 이상을 검사기관에 제공하여야 한다.

③ ①항에 따른 함량검사 결과가 적합할 경우 검사기관은 공시제품 2개 이상을 봉인하여 의뢰자에게 송부하여야 하며, 이 경우 의뢰자는 1개 이상은 효력시험기관에 제공하여야 하며, 1개는 유효기간에 1년을 더하여 보관하여야 한다.

④ 효력시험기관은 제공받은 공시제품의 봉인 상태 및 함량시험 결과를 확인하여 이상이 없는 경우 시험을 실시하여야 한다.

⑤ 기타 소독제 효력시험기관 및 의뢰자의 임무와 신뢰성 조사 등 관리사항은 농림축산검역본부장이 정한 “동물용의약품등 임상시험 관리지침”의 제12조, 제15조, 제18조 및 제19조를 준용한다.

제5조(효력시험결과제출) 효력시험결과 제출에 적용하는 시험방법 및 보고서 내용은 다음 각 항과 같다.

① 세균 등의 제2조제4항제2호의 일반병원체를 소독대상으로 할 경우에는

별표1의 대표균주에 대한 성적을 제출하여야 한다.

② 세균, 바이러스 또는 곰팡이의 특정 병원체를 소독대상으로 할 경우에는 별표1부터 별표4까지 제시된 해당 시험방법에 따라 실시한 성적을 제출한다. 다만, 소독제 효능·효과 및 용법·용량 등을 고려할 때 이 규정에 의한 표준시험법으로 소독제 효력시험의 목적을 달성할 수 없다고 판단되는 경우에는 해당 세균, 바이러스 및 곰팡이의 생물학적 특성에 따라 소독제 효능을 검사할 있는 과학적인 공인방법으로 제3조에 의거하여 시험방법을 변경할 수 있다.

③ 안전성 유효성 심사를 위해 실시하는 소독제의 효력시험결과 보고서는 다음 각 호의 사항을 포함하여야 한다.

1. 시험제목, 시험목적 및 시험성적요약
2. 시험의뢰자 성명 및 소속기관
3. 시험기관의 명칭, 소재지, 시험기관장 성명
4. 시험책임자 및 담당자의 성명, 소속 및 직책
5. 공시품의 제품명, 제조번호, 제조일자 및 원료약품분량
6. 시험기간, 시험방법, 시험성적 및 평가기준
7. 공시세균, 바이러스 및 곰팡이의 성상, 수 및 출처
8. 시험에 사용한 세포의 생물학적 특성, 중화배지 중화능력, 공시품의 세포독성(공시품의 세포독성은 바이러스의 소독제 효력시험에 한한다.)
9. 공시품의 동물, 취급자, 사물, 기구 및 환경 등에 미치는 영향 및 주의 사항
10. 시험결과에 대한 시험책임자의 종합의견
11. 농림축산식품부 지정 검사기관에서 실시한 공시제품 합량검사 결과
(검사기관에서 발행한 결과서 첨부)

제6조(시험제한) 구제역 등 해외악성전염병의 소독제 시험은 국내시험을 제한하며, 가축전염병 병원체로써 전염성의 우려가 있거나 공중위생상 특별한 주의를 요하는 시험은 농림축산검역본부장의 사전허가를 받아야 한다.

제7조(보칙) 이 지침에서 규정하지 아니한 소독제의 효력에 관한 사항은 외국의 사례 및 과학적 근거 등을 제시하여 농림축산검역본부장의 승인을 받아 시험을 실시할 수 있다.

부 칙(제2016-00호, 2016.0.0.)

제1조(시행일) 이 지침은 고시한 날부터 시행한다.

제2조(소독제 효력시험 설계서에 대한 경과조치) 종전 규정에 따라 소독제 효력시험 설계서(변경을 포함한다)의 승인을 받은 것은 이 고시에 적합한 것으로 보며, 이 고시 시행당시 종전의 규정에 따라 농림축산검역본부장에 접수된 소독제 효력시험 설계서(변경을 포함한다)는 종전의 규정에 따라 처리한다.

제3조(재검토 기한) 농림축산검역본부장은 이 고시에 대하여 2016년 7월 1일 기준으로 매3년이 되는 시점(매 3년째의 6월 30일까지를 말한다)마다 그 타당성을 검토하여 개선 등의 조치를 하여야 한다.

[별표1]

세균 등의 소독제 효력시험(제3조관련)

1. 공시 세균

효력시험에 사용하는 일반 병원체의 공시 균주는 다음 각 호의 대표균주를 사용함을 원칙으로 하고, 특정균주를 포함하여 시험에 사용된 균주의 성상 및 출처를 입증할 수 있어야 한다.

- ①(세균의 대표균주) *Salmonella typhimurium*으로 한다.
- ②(아포세균의 대표균주) *Clostridium perfringens*로 한다.
- ③(항산성세균의 대표균주) *Mycobacterium fortuitum*으로 한다.

2.배지시약 등

- ①(일반세균배지) 고압 멸균된 영양배지(nutrient broth)를 사용한다.
- ②(아포세균배지) 아포세균배지(cooked meat medium 또는 thioglycollate medium)를 사용한다.
- ③(항산성세균배지) 항산성배지(middlebrook 7H9 broth 또는 middlebrook 7H11 agar)를 사용하며 배지에 0.05%(v/v) Tween80을 추가한다.
- ④(약품성분 중화배지) 영양배지에 비동화(56℃에 30분처리)한 말혈청 5%를 함유한 배지를 의미한다.
- ⑤(기타재료) 시험관(5 X 150mm), 교반기, 항온수조(4℃), 항온기(37℃), 배양기 및 스톱워치 등
- ⑥(보관용 유기물희석액) 20%(w/v)가 되도록 효모추출물(yeast extract)을 증류수에 녹인 다음 고압멸균한다.

3. 세균 소독제 효력시험

①(세균 배양) 계대 중의 세균을 배지에 심어 활력이 인정되는 22~26시간(결핵균은 7일) 동안 배양한 세균을 사용하되 사용당일까지 37℃를 유지시켜야 하며, 사용 세균의 농도는 ml당 10^8 이상이어야 한다.

②(세균 시험균주 및 소독제 희석액) 제2조의 경수나 유기물희석액을 이용하며, 경수처리구는 경수로, 유기물처리구는 유기물희석액으로 실시함을 원칙하되, 제3조제1항의 규정에 따라야 한다.

③(소독제 시험용액 준비) 시험에 사용하는 소독제는 최종 시험균액과의 반응액중에서 희석되는 농도를 고려하여 소독제 희석액을 준비한다.

*예시(최종 200배 희석된 소독액의 효력을 측정할 경우) 경수 또는 유기물에 혼합된 시험균액 2.5ml에 소독제 2.5ml을 넣어 반응시키는 경우 소독제 희석액은 2배 희석이 이루어지므로 최종 희석배수의 50%인 100배 희석된 소독액을 준비한다.

④(소독제의 희석법) 소독제의 유효 예상 희석배수가 500배 이하일 경우는 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 등으로 희석하되, 그 이상의 예상 희석배수 농도 및 더 정밀한 희석배수 산정을 위해서는 희석배수 농도를 달리할 수 있다.

⑤(소독제 반응조건) 37℃의 세균 4ml를 4℃의 5% 유기물희석액 96ml에 섞은 후에, 혼합액 2.5ml를 꺼내어 4℃ 항온수조에 보관된 위의 [④(소독제의 희석법)] 5개 시험관에 넣고 혼합한 다음, 4℃에서 정확히 30분간(아포세균과 결핵균은 60분간) 반응을 시킨다. 이 때 각 시험관 처리는 차례대로 1분의 간격으로 실시하며, 도중에 10분마다 혼합하여 준다.

⑥(중화반응 및 증식) 정확히 30분간의 반응이 끝나면 소독제의 효능을 중화하기 위하여 즉시 1.0ml를 꺼내어 37℃의 9.0 ml의 중화배지에 넣고 혼합한 다음, 각 소독제 희석별로 0.1ml씩 5개의 시험관의 영양배지가 들어있는 시험관에 넣어 혼합한 후에 37℃ 항온실에서 48시간(결핵균은 5~7일) 증식한다.

⑦(세균증식여부의 판정) 세균증식의 여부는 제3조제4항제1호에 따른다.

⑧(대조군의 검정 등) 병원체 대조군은 경수 조건에서 소독제 없이 실험하고 위의[⑥(중화반응 및 증식)] 단계에서 병원체의 역가가 ml당 2×10^5 이상이 확인되어야 한다.

[별표2]

바이러스의 소독제 효력시험(제3조관련)

1.공시 바이러스

효력시험에 사용하는 공시 바이러스주는 정상 및 출처를 입증할 수 있어야 한다.

2.세포주 등

바이러스 종류의 생물학적 특성에 따라 적합한 세포, 발육란 또는 실험동물 등을 시험에 사용한다.

3.배지시약 등

- ①(희석액)선정된 세포증식에 적합한 배지와 관련시약을 사용하며, 경수희석액 및 유기물 희석액은 세균의 시험법에 준한다. 단, 유기물 희석액에는 효모추출액 대신에 5% 소태아혈청을 사용한다.
- ②(중화배지)소독제의약품성분 중화배지는 사용세포에 적합한 배지에 비동화된 10% 소태아혈청을 함유한 배지를 사용한다.

4.바이러스 소독제 효력시험

- ①(바이러스 배양) 계대배양 중의 활력있는 바이러스를 사용하되 바이러스의 증식이 최대인 시점에서 채득하여 사용직전까지 단시간 동안 얼음물에서 보관한다.
- ②(바이러스 시험균주 및 소독제 희석액) 제2조의 경수 및 유기물희석액을 이용하여 경수처리구는 경수로, 유기물처리구는 유기물희석액으로 실시함을 원칙하되, 제3조제1항의 단서규정에 따라야 한다.
- ③(소독제 시험용액 준비) 시험에 사용하는 소독제는 최종 시험균액과의 반응

액중에서 희석되는 농도를 고려하여 소독제 희석액을 준비한다.

*예시(최종 200배 희석된 소독액의 효력을 측정할 경우) 경수 또는 유기물에 혼합된 시험균액 2.5ml에 소독제 2.5ml을 넣어 반응시키는 경우 소독제 희석액은 2배 희석이 이루어지므로 최종 희석배수의 50%인 100배 희석된 소독액을 준비한다.

④(소독제의 희석법) 소독제의 유효 예상 희석배수가 500배 이하일 경우는 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 등으로 희석하되, 그 이상의 예상 희석배수 농도 및 더 정밀한 희석배수 산정을 위해서는 희석배수 농도를 달리할 수 있다.

⑤(소독제 반응) 위의 ①항에서 증식된 4°C의 바이러스액 1.0 ml를 위의 ②항의 4°C 희석액 19.0 ml에 각각 섞은 후에, 1분 간격으로 혼합액 2.5ml를 꺼내어 4°C에 있는 동량의 소독제 희석액이 들어 있는 시험관에 넣고 혼합한 다음, 4°C에서 정확히 30분간 반응을 시키며 도중에 10분마다 혼합하여 준다. 이 경우 대조구(처리구-3)를 반드시 포함시켜 처리한다.

⑥(중화반응) 소독제와 병원체의 반응이 끝나면 소독제의 효능을 중화하기 위하여 즉시 1.0ml를 꺼내어 37°C의 동량의 중화배지에 넣고 혼합한 다음 적합한 양을 세포 또는 발육란에 접종하여 바이러스 함량을 측정한다.

⑦(바이러스 감염력 상실 정도 측정) 바이러스의 감염력이 상실된 정도는 일반적으로 microplate titration이나 plaque assay 방법을 사용한다. 발육란을 이용한 시험에서는 희석배수당 5개 이상의 발육란을 사용하여 0.2ml를 요막강(allantoic cavity)에 접종하고 37°C 배양기에서 5일간 배양하고 매일 검란하며 바이러스의 증식유무를 검사한다.

⑧(바이러스 함유량 계산) Kaerber method로 한다.

⑨(대조군의 검정 등) 병원체 대조군은 경수조건에서 소독제 없이 실험하고 위의 [⑥(중화반응)] 단계에서 병원체의 역가가 ml당 2×10^5 TCID₅₀ 이상이

확인되어야 하며, 독성대조군에서는 소독제에 의한 세포독성(종란을 사용하는 경우 종란독성)이 일어나지 않았음을 확인하여야 한다.

⑩(유효배수 평가) 유효배수의 평가는 제3조제4항제2호에 따른다.

⑪(세균 대표균주의 시험결과 동시제출) 바이러스의 소독제시험은 [별표1]에서 정의한 「세균의 대표균주」의 시험결과를 동시에 제출하여야 한다.

⑫(결과활용) 경수 또는 유기물처리구의 시험결과는 각각 바이러스와 세균의 소독제 시험결과 희석배수와 비교하여 높은 소독제 농도를 최대 권장희석배수로 정한다.

[별표3]

곰팡이의 소독제 효력시험(제3조관련)

1. 공시 곰팡이균

효력시험에 사용하는 공시 곰팡이균은 다음 대표균주를 사용함을 원칙으로 하고, 특정균주를 포함하여 시험에 사용된 균주의 성상 및 출처를 입증할 수 있어야 한다.

- (곰팡이의 대표균주) *Tricophyton mentagrophytes*로 한다.

2. 배지시약 등

①(곰팡이균배양배지) Saboraud dextrose agar (Glucose 2%, Neopeptone 1%, agar 2%, pH6.1-6.3)의 사면배지 또는 agar를 제외한 액체배지(glucose broth)를 사용한다.

②(기타재료) 시험관(25 X 150mm), 교반기, 항온수조(4℃), 항온기(37℃), 배양기(25~30℃), 스톱워치, 혈구계산판, 도립현미경, 페놀, 생리적 식염수, 4mm loop, 면천 등

3. 곰팡이균 소독제 효력시험

①(곰팡이시험균주 배양) 곰팡이 배양은 3개월 이내의 계대 곰팡이를 사면 배지에 심어 10일 미만 동안 25℃~30℃에서 배양한 곰팡이를 접종균주로 사용하거나 2~5℃에서 보관하여야 한다.

②(곰팡이시험균주 포자부유액준비) 고체평판배지의 중심부에 곰팡이균을 심은 다음 25℃~30℃에서 10일 이상 15일 이하 배양 한다. 배지표면에 배양된 균사체를 모아서 25ml의 0.85% NaCl 용액에 넣은 후 잘 분산시킨다. 균사를 제거하기 위하여 면천으로 부유액을 여과시킨 후에 혈구계산판에 놓고 농도를 측정 후 2℃~10℃에서 보관하며, 4주 이내에 사용한다. 시험에 사용

할 때 부유액의 농도가 5×10^6 conidia/ml이 되도록 희석하여 사용한다.

③(소독제 희석액) 제2조의 경수 및 유기물희석액을 이용하며, 경수구는 경수로, 유기물처리구는 유기물희석액으로 실시함을 원칙하되, 제3조의 규정에 따라야 한다.

④(소독제 시험용액 준비) 시험에 사용하는 소독제는 최종 시험균액과의 반응액중에서 희석되는 농도를 고려하여 소독제 희석액을 준비한다.

*예시(최종 200배 희석된 소독액의 효력을 측정할 경우) 경수 또는 유기물에 혼합된 시험균액 2.5ml에 소독제 2.5ml을 넣어 반응시키는 경우 소독제 희석액은 2배 희석이 이루어지므로 최종 희석배수의 50%인 100배 희석된 소독액을 준비한다.

⑤(소독제의 희석법) 소독제의 유효 예상 희석배수가 500배 이하일 경우는 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 등으로 희석하되, 그 이상의 예상 희석배수 농도 및 더 정밀한 희석배수 산정을 위해서는 희석배수 농도를 달리할 수 있다.

⑥(소독제 반응조건) 2.5ml의 소독제 희석 용액과 phenol 대조군 용액을 단계 희석배열로 시험관에 넣은 다음 4°C의 항온수조에 넣어둔다. 준비된 분생자(conidia) 0.25ml을 소독제 희석 용액의 첫 번째 시험관에 넣은 후 잘 섞어주고 다시 항온수조에 넣는다. 1분마다 0.25ml의 분생자부유액을 다음 소독제 희석액이 들어있는 시험관에 넣어준 후 섞어주고 항온수조에 넣어둔다. 마지막 시험관까지 위를 반복한다.

⑦(중화반응 및 증식) 30분간 반응 후 중화하기 위해 반응액을 4mm loop(10 μ l: 각도 3°)로 채취한 후 10ml의 glucose broth에 접종한다. 이를 다시 동일한 방법으로 채취하여 각 희석 시료당 3개의 특수 glucose broth(0.05% sodium thioglycolate, 1.5% isooctylphenoxy-polyethoxy-ethanol 함유 또는 0.07% lecithin, 0.5% polysorbate 80) 10ml가 들어 있는 시험관에 접종한다. 접종한 시험관은 25-30°C에서 배양한다. 페놀시험의 경우 10분

간 반응 후 20ml glucose broth에 접종하여 배양한다.

⑧(대조군의 검정 등) 병원체 대조군은 위와 동일하게 처리하되, 병원체 대조군은 소독액 대신 희석액을 대체하여 위의[⑦(중화반응 및 증식)] 단계에서 이상없음을 확인하여야 한다. 또한 페놀 처리 병원체(conidia)는 20℃, 10분간의 페놀 노출에서 1/60의 희석액 시험에서는 생존해서는 안된다)

⑨(곰팡이증식여부의 판정) 10일후 곰팡이의 증식여부를 판정한다. 3개의 시험관 중 2개 이상의 시험관에서 곰팡이의 증식이 관찰될 경우 소독제 효력이 없는 것으로 판정한다.

[별표4]

훈증 등 가스제형 소독제 효력시험(제3조관련)

1. 공시 미생물

효력시험에 사용하는 일반 병원체의 공시 균주는 다음 각 호의 대표균주를 사용함을 원칙으로 하고, 특정균주를 포함하여 시험에 사용된 균주의 성상 및 출처를 입증할 수 있어야 한다.

(세균의 대표균주) Salmonella Typhimurium으로 한다.

(아포세균의 대표균주) Clostridium perfringens로 한다.

(곰팡이의 대표균주) Tricophyton mentagrophytes로 한다.

2. 배지시약 및 담체 준비

①(일반세균배지) 고압 멸균된 영양배지(nutrient broth)를 사용한다.

②(아포세균배지) 아포세균배지(cooked meat medium 또는 thioglycolate medium)를 사용한다. 그 외 특정세균을 사용할 경우 생물학적 특성에 따라 적합한 배지를 사용한다.

③(곰팡이배양배지) Saboraud dextrose agar의 사면배지 또는 agar를 제외한 액체 배지(glucose borth)를 사용한다.

④바이러스의 경우 선정된 세포증식에 적합한 배지와 관련시약을 사용한다.

⑤(담체의 규격)담체는 스텐리스 스틸(AISI 304 이상의 규격)을 사용하는 것을 기본으로 하며, 지름 2cm, 두께 1.2~1.5mm의 크기로 조작이 용이한 크기여야 한다.

⑥(담체의 전처리)스텐리스 담체는 중성세제로 세척하고 마지막 헹굼 시에는 증류수를 사용한다. 건조된 담체는 고압멸균기를 이용하여 121℃에서 15분간 멸균한 것을 UV등이 켜진 클린벤치에서 건조시켜 시험에 사용한다.

⑦(중화배지) 세균의 경우 영양배지에 20%(w/v)가 되도록 효모추출물(yeast extract)를 증류수에 녹인 다음 고압멸균하여 사용하며, 바이러스의 경우 20%(w/v)

가 되도록 소알부민(bovine serum albumin)을 증류수에 녹인 다음 0.45 μ m 포아 사이즈 필터로 여과하여 사용한다.

⑧(희석액) 세균, 곰팡이의 경우 0.85% 멸균생리식염수를 사용하고 바이러스의 경우 세포증식에 적합한 배지를 희석액으로 사용한다.

3. 미생물의 배양

①(세균, 곰팡이) 세균과 곰팡이의 배양은 「세균 등의 소독제 효력시험」 및 「곰팡이의 소독제 효력시험」 3의 ①,②항을 따른다.

②(바이러스) 바이러스 종류의 생물학적 특성에 따라 적합한 세포, 발육란 또는 실험동물 등을 시험에 사용한다.

4. 유기물 조건 및 미생물의 농도

유기물은 균액과 1:1로 섞어 최종농도가 각각 10%가 되게 설정하여 사용하며, 시험에 사용할 미생물은 계대배양 중의 활력이 인정되는 미생물을 사용하되 농도는 세균의 경우 1×10^8 CFU/mL, 108 EID₅₀ 또는 TCID₅₀/mL 이상, 곰팡이의 경우 5×10^6 conidia/ml을 사용해야 한다.

①(세균, 곰팡이) 20% 효모추출물 또는 20% 탈지유를 균액과 1:1비율로 희석하여 담체에 100 μ l씩 접종하고 유기물의 농도를 최종농도가 10%가 되게 설정한다.

②(바이러스) 20% 효모추출물, 20% 소알부민을 사용하되 균액과 1:1비율로 희석하여 담체에 100 μ l씩 접종하고 유기물의 농도를 최종농도가 10%가 되게 설정한다.

5. 시험균 및 대조균의 설정

①(시험균 및 대조균 수)최소 3개 이상의 담체를 사용한다.

②(독성대조균)균액을 접종하지 않은 담체를 훈증 및 가스제형의 소독제에 노출시켜 중화과정을 거친 후 세포 및 발육란에 접종하여 잔류 소독제로 인한 독성이 있는지 여부를 판단한다.

6. 균액을 접종한 담체의 건조

담체는 클린벤치 내에서 공기흐름이 있는 상태로 건조하며 건조시간은 60분을 넘지 않도록 하여야 하며, 건조에 대한 회수율을 제시하여야 한다. 건조 후 회수한 균액은 세균, 곰팡이의 경우 10^6 CFU/ml 이상이어야 하며, 바이러스의 경우 6.0 TCID₅₀/ml 이어야 한다.

7. 온도 및 습도

시험을 실시할 공간의 온도는 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 65%~70%로 유지되어야 한다. 제품의 특성에 따라 달리 정할 수 있다.

8. 담체배치 및 위치설정

①(담체 배치)시험을 실시한 공간을 위, 중간, 아래로 나누고 담체를 위치시키며, 가스 또는 훈증제 발생위치로부터 수직과 수평하게 담체를 설치하여 담체의 배치나 위치에 따른 효력변화가 없음을 밝히거나 공간의 위치에 따른 가스농도 차이가 없음을 증명할 수 있는 자료를 제출하여야 한다.

②(가스 및 훈증제 발생 위치로부터 담체 거리)

실험 공간의 부피(m ³)	가스 및 훈증제 발생 위치로부터 담체 거리(m)
30-40	2.6
40-50	3.0
50-60	3.3
60-70	3.6
70-80	3.9
80-90	4.1
90-100	4.4
100-110	4.6
110-120	4.8
120-130	5.0
130-140	5.2
140-150	5.4

9. 가스 농도 및 노출시간의 설정

실험을 실시한 공간에 가스가 채워지는 시간에 대한 자료를 제출하여야 하며 가스농도가 최고점이 되는 순간부터 노출시간을 설정하여야 한다. 가스 및 훈증제의 농도를 20-50ppm/m³ 차이를 두고 5개 군으로 설정하거나 공간의 크기를 달리하여 농도를 조절하여 효력시험을 수행하여야 한다. 다만 훈증제의 경우 제품의 용량 및 특성에 따라 다르게 정할 수 있다.

10. 중화반응

소독제 노출 등의 조작 뒤 담체에 남아있는 균을 회수하기 위해서 세균의 경우 20% 효모추출물, 바이러스의 경우 20% 소알부민 10ml이 들어있는 50ml 튜브에 담체를 무균적으로 넣고 10분 동안 강하게 교반한다.

①(세균) 중화반응이 끝난 액체를 희석액을 이용하여 10진 희석하여 고체배지에 접종하여 세균 함량을 측정한다.

②(바이러스) 중화반응이 끝난 액체를 희석액을 이용하여 10진 희석하여 세포 또는 발육란에 접종하여 바이러스 함량을 측정한다.

11. 결과의 확인

대조군(소독제에 노출되지 않은 그룹)과 비교하여 세균의 경우 10⁵ 감소/담체, 바이러스의 경우 10⁴ 감소/담체, 아포세균의 경우 10³ 감소/담체, 곰팡이의 경우 10⁴ 감소/담체를 소독효과가 있다고 인정하며, 실험을 3회 반복하여 감소치(reduction) 값이 통계적으로 유의하여야 한다.