



가정용살충제 효력평가법 가이드라인

- 모기향, 전자모기향, 에어로솔 -

2013. 12.



식품의약품안전평가원
NATIONAL INSTITUTE OF FOOD AND DRUG SAFETY EVALUATION

이 가이드라인은 WHO 가이드라인(WHO/HTM/NTD/WHOPES/2009.3)에 기초하여 식품의약품안전처에서 수행한 연구사업 결과와 관련 업계의 이해관계자 및 산·학·연 전문가의 의견을 반영하여 가정용살충제 효력평가법에 대한 일반적인 원칙과 방법을 제시하고자 작성되었습니다. 의약외품에 대한 심사 경험과 전문가의 의견에 근거하여 식품의약품안전처의 견해를 기술하였으며, 향후 과학기술의 발전에 따라 내용이 추가적으로 수정될 수 있습니다.

또한 본 가이드라인은 법적 효력이 있는 사항이 아니며, 개별 사항에 따라 다르게 해석할 수 있음을 알려드립니다.

※ 본 가이드라인에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원
미생물약심사부 화장품심사과로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-3610

팩스번호: 043-719-3600

<목 차>

1. 서론	1
2. 실내 시험	2
2.1. 살충제 고유의 살충작용	3
2.2. 혼중 활성	5
2.3. 에어로솔 주성분의 살충력	6
2.4. 다른 살충제 주성분에 대한 교차 저항성	7
2.5. 제제의 생물학적 효능	8
3. 현장 적용 시험	12
3.1. 모기향, 매트 전자모기향 및 액체 전자모기향	12
3.2. 에어로솔	14
4. 참고 문헌	16
[별첨]	17

1. 서론

위생해충의 종류는 모기, 파리, 바퀴, 진드기 등 다양하지만 이 중 특히 모기는 뇌염, 말라리아 등 치명적인 질환을 매개할 수 있어 보다 효과적인 살충제의 개발이 요구되고 있다.

감염병 예방을 위해 국가 및 지방자치단체는 예방 및 방역대책을 수립하여 위생해충을 관리하고 있으며, 가정에서는 코일형 모기향, 액체 전자모기향, 매트 전자모기향, 에어로솔 등 다양한 제형의 살충제를 이용하여 곤충매개성 질병을 예방하고 있다.

가정용 살충제의 목적은 인간과 환경에는 저독성이면서 모기 등 위생해충으로부터 사람을 효과적으로 보호하는데 있다. 그러므로 가정용 살충제의 유효성분은 인체에 안전하면서 모기 등에 대한 충분한 살충력과 유효한 함량을 가지고 있어야 한다. 이에 동 가이드라인에서는 과학적인 방법으로 가정용살충제의 효력을 평가하기 위한 표준화된 절차를 제공하고자 하였다.

이 가이드라인에서는 살충제 유효성분에 대한 적정농도, 저항성, 제제의 생물학적 효능 등의 실내 시험과 현장 적용 시험을 포함하여 업계의 제품 개발에 도움을 주고자 하였다. 또한 동 지침은 실내 시험을 이용하여 위생해충에 대한 살충제 저항성 평가에도 활용할 수 있다.

가정용 살충제의 안전성과 독성 데이터에 대한 분석에 대해서는 이 가이드라인에서 다루지 않았지만, 실내 시험과 현장 적용 시험에서 가정용 살충제 사용과 연관된 부작용이나 바람직하지 못한 특성은 모두 기록하고 보고해야 한다. 또한, 시험 프로토콜은 부작용 보고와 의학적 조치에 대한 사항을 반드시 포함한다.

이 가이드라인에 기술된 모든 생물학적 시험에 사용되는 실험용 곤충은 사육 환경 및 사육자에 의해 특성이 바뀔 수 있다. 또한, 실내 시험과 사람을 대상으로 하는 현장 적용 시험은 시험 결과의 신뢰성 확보와 피험자의 안전 확보를 위해 생물학적 시험에 익숙한 시험자의 지도하에 수행한다.

2. 실내 시험

본 연구의 목적은 살충제 고유의 살충작용 및 살충제 스프레이에 의한 노출 또는 공기흐름을 통한 생물학적 효력을 결정하기 위한 것이다. 또한 특성이 잘 알려진 모기종에 대한 제제의 생물학적 효력을 결정하기 위한 것이다.

실내 시험의 구체적인 목적은 다음과 같다.

- 용량-반응 곡선을 결정하고 감수성 있는 모기 성충에 대한 살충제 주성분의 살충작용을 평가하는 살충제의 50%(LD₅₀)와 90%(LD₉₀) 치사율에 해당하는 치사용량(LD, 주성분량 ng/ 모기체중 mg) 결정
- 가정용 살충제 중 훈증제에 사용되는 주성분의 훈증작용에 대한 평가
- 살충제 스프레이 접촉에 의해 결정되는 에어로솔 주성분의 치사농도(LC, 주성분량 ng/분사량 mL) 평가
- 살충제 주성분의 교차저항성에 대한 평가
- 가정용 살충제 제제에 대한 생물학적 효력 평가

<양성대조군>

시험에 기준이 될 만한 제품, 특성이 잘 알려진 주성분을 함유하고 있는 제품, 과거 시험에 대한 충분한 데이터가 있는 제품 등 효력 시험에 흔히 사용되는 살충제를 권장한다.

<시험모기 선정 및 사육>

시험은 최소한 숲모기속 *Aedes* (예, *Aedes albopictus* 등), 집모기속 *Culex* (예, *Culex pipiens pallens* 등) 모기 중 1종 이상을 포함해야 하며, 총 2종 이상의 모기를 시험에 이용한다(단, 국내서식종을 포함해야 한다). 시험 대상 모기종에 대한 자료는 반드시 기록한다.

신뢰성과 재현성 있는 시험결과를 얻기 위해서는 표준화된 모기 사육과 시험조건은 필수적이다. 모기 사육을 위해 일반적으로 가로, 세로, 높이 한 면당 30 ~ 40 cm 크기의 사육장을 이용하고, 온도 27±2 °C, 상대습도 80±10 % 이상에서 12 시간 광주기(낮

과 밤) 조건을 유지한다. 다만, 사육조건은 모기종 및 시험 목적에 따라 변경될 수 있다. 모기 성충 사육을 위해 탈지면(탈지면을 10 % 설탕물에 적신 것)을 이용하고 혈액은 공급하지 않는다. 시험에 대한 모기의 감수성을 유지하기 위해 사육밀도(500 마리 이하/사육장), 우화일수(2~5일) 및 세대수(5세대 이내) 등을 일정하게 유지한다.

<시험장 및 도구>

시험장(chamber) 및 모든 도구들은 시험을 완료한 후 적절히 세척하며, 시험장과 그 내벽은 세제와 물로 깨끗이 세척한다. 불용성의 잔류물질을 제거하기 위해서 특수 세척이 필요할 수 있다. 시험을 수행하기 전 시험장이 살충제에 오염되었는지 확인한다. 또한, 시험장에 시험 대상 모기를 1 시간 동안 유지하고 관찰 시 모기의 10 % 이상이 녹다운¹⁾(knock-down)을 보인다면, 그 시험장은 적합하지 않은 것으로 판정한다.

2.1 살충제 고유의 살충작용

이 시험의 목적은 시험대상 곤충 종에 대한 살충제 고유의 살충작용을 알아보는 것이다.

<시험준비>

국소 점적 용액(Topical solution)은 살충 주성분을 아세톤²⁾(휘발성이 강하여 곤충의 외피에 머무는 시간이 짧다)에 녹여 준비한다. 국소에 적용되는 용량은 살아 있는 모기 체중 mg 당 주성분의 ng으로 표현한다. 일반적으로 살아 있는 모기의 평균 체중을 측정하기 위하여 흡혈하지 않고 감수성 있는 암컷 모기 50 마리의 체중을 측정한다.

손으로 사용하기에 적합한 도구나 피펫팅 기구(별첨 그림 1. d 및 e 참고), 자동국소 처리기 등을 사용하여 0.1 ~ 0.35 μL ³⁾ 정도 일정량을 취하여 곤충의 전흉 배판(별첨 그림 1. 참고)에 바른다. 양이 많으면 용매(용제)의 독성 때문에 치사율이 높아질 수 있으니 주의한다.

1) 살충제에 의해 곤충이 마비되는 것으로 곤충들이 쓰러져 원래의 움직임이 불가능한 상태로 있는 것.

2) 주성분이 아세톤에 녹지 않을 경우, 에탄올 등 적당한 용매를 선택할 수 있다.

3) 처리량이 소량일 경우 처리여부를 육안으로 확인할 수 없을 때는 농도는 유지하면서 총 처리량을 늘린다.

<시험방법>

시험 농도별로 모기 50 마리를 사용하며, 치사율이 10 ~ 90 % 범위가 되도록 최소 5개 농도를 설정한다. 한 번에 모기 여러 마리를 15 ~ 30 초간 CO₂ 가스로 가볍게 마취시키고 4 °C를 유지하는 플레이트⁴⁾에 놓고 마취상태를 유지하면서 준비된 농도 국소 점적 용액 0.1 μL를 모기 전흉 배판에 처리한다. 대조군은 한 무리에 25 마리의 암컷 모기, 두 무리를 순수 아세톤 0.1 μL로 처리한다. 투여 후 암컷을 깨끗한 유지통(Holding cup, 별첨 그림 1. c 참고)에 옮겨 담은 다음 탈지면에 10 % 설탕물을 적셔 공급하고 온도 27±2 °C, 상대습도 80±10 % 이상 조건하에 24 시간 둔다. 국소 점적 24 시간 후에 죽은 모기 수를 기록한다. 따로 사육된 무리에서 3회 반복 시험하고, 시험결과를 합쳐서 통계 분석한다. 새로 반복 시험검증을 할 때마다 새로운 용액을 준비한다.

<결과판정>

로그-용량 프로빗 회귀분석(Log-dose probit regression)을 이용하여 투여량과 치사율 사이의 관계를 분석한다. 이 분석에서는 10 ~ 90 % 사이 치사율을 보이는 용량이 사용되며, 50 % 이하에서 2 ~ 3 개 용량, 50 % 이상에서 2 ~ 3 개 용량이 사용된다. LD₅₀과 다른 LD 값, 그리고 95 % 신뢰구간을 계산할 수 있는 상업용 소프트웨어를 이용할 수 있다. 대조군 치사율이 20 %를 넘으면 그 시험의 결과는 사용하지 않으며, 대조군 치사율이 5 ~ 20 % 사이라면 시험군의 결과를 애버트 공식(Abbott's formula)을 이용하여 교정한다.

$$\text{애버트 공식 : 치사율(\%)} = \frac{X - Y}{100 - Y} \times 100$$

X : 시험군에서의 치사율

Y : 대조군에서의 치사율

시험 살충제 성분과 대조군 살충제 성분에 대해서 로그-프로빗 분석을 실시하고 카이 제곱 유사성 검정(chi-squared parallelism test)을 이용하여 그 기울기를 비교한다. 로그-프로빗 선의 기울기가 같고, LD₅₀(또는 LC₅₀)의 신뢰구간이 겹친다면 두 분석 결과는 유의하게 다르지 않은 것으로 간주한다(유사성 검정의 귀무가설이 거부되지 않는다).

4) 얼음 위에 은박지를 깔아 플레이트 대신 사용할 수 있다. 상온에서 모기의 마취 상태가 깨지 않도록 주의한다.

2.2 혼중 활성

<시험준비>

- 살충 주성분(원제) 20 mg을 취하여 아세톤 4 mL를 가해 녹인 용액
- 왓트만지 1 번(WHATMAN filter paper No.1) 또는 이와 동등한 여과지
- 잔류하는 살충성분이 없는 것이 확인된 피트-그래디 체임버(Peet-Grady chamber)
- 팬(fan, 날의 지름 30 cm, 풍속 4.5 ~ 5.0 m/초, 공기흐름이 여과지에 직접 닿는 것을 막기 위해 팬 레일 가드의 윗부분에 지름 30 cm의 납작한 접시를 붙인 것)
- 나일론이나 폴리에스테르 재질의 그물망 케이지(구멍크기 0.5 mm, 20 cm³)

<시험방법>

살충 주성분을 녹인 용액을 200 cm² 왓트만지 1 번 또는 이와 동등한 여과지에 피펫을 이용하여 고르게 도포한다. 여과지를 피트-그래디 체임버(별첨 그림 2~3. 참고)의 천장에서 50 cm 떨어진 중앙에 매단다. 팬은 체임버의 중앙 바닥에 놓혀 바닥에서 위를 향하도록 하고 가동하여 체임버 안의 공기를 순환시킨다. 그물망 케이지 4개에 10 % 설탕물을 먹인 2 ~ 5 일 된 암컷 모기 25 마리를 각각 넣은 다음 케이지를 체임버 네 모퉁이에 매달아 놓고(천장에서 80 cm 떨어지고 측벽에서 10 cm 떨어진 지점) 관찰창으로 60 분간 관찰한다. 녹다운된 모기의 수는 규칙적인 시간 간격(예, 매 10 분마다 60 분간)을 두고 센다. 60 분 후 시험을 종료하고 체임버를 최대한 빨리 환기시킨다(대조군 시험은 결과판정 항 참고).

<결과판정>

환기 후 4 개 케이지의 모기를 깨끗한 유지통으로 옮겨 담고 10 % 설탕물을 적신 탈지면을 공급하여 온도 27±2 °C, 상대습도 80±10 % 이상에서 12 시간 광주기 조건에서 24 시간 사육한다. 살충제 노출 24 시간 후에 치사율을 기록한다. 따로 사육한 모기 집단들에서 최소 3 번 반복 시험하고 결과를 합산한다. 본 시험조건 중 온도가 중요하므로 시험 공간 및 사육장의 온도가 일정하게 유지되도록 한다. 따로 대조군은 시험 전, 시험용 케이지와 같은 곳에 매달고 60 분간 관찰 후 모기를 유지통에 옮겨 10 % 설탕물을 적신 탈지면을 공급하여 시험군 모기와 같이 사육하고 24 시간 후에 치사율을 기록한다.

반복 시험으로 얻은 24 시간 치사율의 평균(\pm SD)을 기록한다. 수집한 데이터를 프로빗 분석을 이용하여 모기 50 %와 95 %가 녹다운된 시간(Knock-down time, KT_{50} 및 KT_{95})과 95 % 신뢰한계를 구한다.

2.3 에어로솔 주성분의 살충력

<시험준비>

- 최소 5 개 농도의 살충제 주성분 조제(농도당 3 개씩)
- 혈액을 공급하지 않은 2 ~ 5 일 된 감수성 있는 암컷 모기
- 윈드 터널 장치 및 원통 그물형 케이지(지름 15.2 cm, 그물 구멍 1.22 x 1.60 mm, 와이어 지름 0.28 mm, 별첨 그림 4. 참고)

[윈드 터널 조건]

본 시험에 사용되는 윈드 터널 장치는 원통형 관(안지름 15.2 cm)으로 되어 있으며, 그 속으로 공기가 1.8 m/초의 속도로 이동한다. 윈드 터널 안지름과 같은 크기로 만들어진 원통 그물형 케이지를 윈드 터널 입구로부터 91.4 cm 위치에 놓는다. 케이지를 관찰하기 쉽게 하기 위하여 투명하고, 탄력성이 있는 플라스틱 재질 판을 이용하여 여닫이가 가능하도록 설치한다.

<시험방법>

농도별로 모기 50 마리를 사용하며, 치사율이 10 ~ 90 % 범위가 되도록 최소 5개 농도를 설정한다. 각 시험에서 한 케이지 당 모기 25 마리씩 두 개 케이지를 준비하고 윈드 터널에 케이지를 삽입한 다음 분무형 살충제의 시험 용액 중 한 농도를 터널 입구에 분사한다. 아세톤에 녹인 살충제 주성분(총량 0.5 mL)을 $Dv_{0.5}$ 입자⁵⁾로 분사시키기 위해 노즐을 이용하여 약 3 초간 분사시킨다. 케이지 안의 모기는 살충제 노출 후 5 초 동안 더 방치한다. 각 시험을 마친 후 모기를 CO_2 로 15 ~ 30 초 동안 마취시키고 즉시 깨끗한 유지통에 옮겨 담고 10 % 설탕물을 탈지면에 적셔 공급한다. 온도 27 ± 2 °C, 상대습도 80 ± 10 %에서 24 시간 후 치사율을 기록한다.

5) 분무입자의 부피가 절반이 되는 지점을 의미하는데, 케이지에서 부피 중간값의 직경인 15 ± 2 μ m를 위치를 말한다.

각 살충제 주성분 시험을 시작할 때 희석액인 아세톤으로 먼저 대조군 시험을 실시한다. 시험은 낮은 농도에서부터 높은 농도로 진행한다. 시험 농도가 바뀔 때마다 아세톤 0.5 mL를 분사하여 윈드 터널 장치를 세척한다(대조군 시험은 결과판정 항목 참고).

<결과판정>

별도로 사육한 모기 집단에서 3 번의 반복검증 시험(한 농도 당 3 회 반복)을 하고 통계 분석에 적절하도록 결과를 합산한다. 위에서 설명한 것처럼 로그-용량 프로빗 회귀분석을 이용하여 농도와 치사율 사이의 관계를 분석하고 LC₅₀과 LC₉₀ 값을 기록한다. 이 분석에서는 10 ~ 90 % 사이의 치사율을 보이는 5개 농도를 사용하는데, 이상적으로 50 % 이하에서 2 ~ 3개, 50 % 이상에서 2 ~ 3개 농도를 사용한다. 대조군 치사율이 20 %를 초과하면 그 시험은 적절하지 않은 시험으로 판정한다. 대조군 치사율이 5 ~ 20 % 사이라면, 시험군의 결과는 애버트 공식(2.1 항목 참조)을 이용하여 교정한다.

2.4 다른 살충제 주성분에 대한 교차 저항성

저항성 기전이 밝혀진 살충제 주성분의 교차 저항성⁶⁾은 감수성과 저항성에 대한 정보가 충분한 모기 계통으로 시험한다. 저항성 있는 계통은 선택한 저항성 기전에 대해 되도록 호모 유전 형질로 한다. 호모 유전 형질을 얻지 못하면, 감수성에 대한 대립형질에 대한 자연선택으로 저항성 감소가 나타나는 것을 피하기 위해 보통 주기적 선택이 필요하다. 대조(또는 표준)계통은 최소한 1 년에 두 번의 생물학적 시험, 생화학 또는 분자생물학적 시험 등의 계통 모니터링으로 저항성에 대한 변화를 관찰 및 평가하고, 선택·보정 할 수 있다.

감수성있는 모기 계통에서 얻은 값과 특정한 저항성을 보이는 계통(예, LD₅₀)에서 얻은 값을 비교하면 새로운 후보 살충제의 교차 저항성 유무 및 수준을 평가할 수 있다 (Resistance Ratio, RR₅₀, RR₉₅)⁷⁾. 특정 저항성 기전을 가지는 계통의 LD₅₀ 또는 LD₉₅가 감수성 있는 계통의 값보다 유의하게 더 크면 교차 저항성을 보이는 것이다.

6) 보통 새로운 살충제 주성분에 대해 필요하다.

7) 예) 살충제 저항성 비 = 야외 채집 폴리니의 LD₅₀ / 감수성 계통의 LD₅₀

2.5 제제의 생물학적 효능

2.5.1 모기향(Mosquito coils), 매트 전자모기향(Vaporizing mats) 및 액체 전자모기향(Liquid vaporizers)

위의 가정용 살충제의 효능 평가는 아래 사항에 따라 모기가 든 케이지를 가지고 피트-그래디 체임버에서 수행한다.

<시험준비>

10 % 설탕물을 먹인 2 ~ 5 일 된 암컷 모기 25 마리를 나일론 또는 폴리에스테르 그물망(0.5 mm 구멍크기)으로 된 케이지(20 cm³) 4 개에 각각 넣고 피트-그래디 체임버 천장에서 80 cm 아래, 측벽에서 10 cm 떨어진 지점 네 모퉁이 창 앞에 관찰이 가능하도록 매달아 놓는다. 지름 30 cm 팬으로 체임버 안의 공기를 순환시키고(풍속, 4.5 m/s에서 5.0 m/s) 팬 레일 가드 위에 지름 30 cm의 납작한 접시를 붙이고 시험 제제를 가운데 둔다. 이 팬은 체임버 가운데 지점 바닥에서 위로 향하게 둔다(대조군 시험은 결과판정 항 참고).

<결과판정>

규칙적인 시간 간격을 두고 녹다운 된 모기의 수를 센다(예, 10 분간 매분, 그 이후 10 분 간격으로 총 60 분간). 60 분 후에는 체임버를 최대한 빨리 환기시키고 녹다운된 모기의 관찰을 끝내고 케이지를 꺼낸다. 케이지에 있는 모기를 깨끗한 유지통으로 옮겨 담고 10 % 설탕물을 탈지면에 적셔 공급하고 온도 27 ± 2 °C, 상대습도 80 ± 10 % 이상에서 12 시간 광주기 조건에서 24 시간 사육한다. 24 시간 후 치사율을 기록한다.

최소 3회 반복시험하고 각 시험은 다른 배치의 모기를 사용하고 이 결과들을 합하여 제제의 효능을 평가한다.

시험하기 전에 대조군 케이지를 체임버 안에 두고 60 분 후 모기들을 유지통에 옮겨 담고 10 % 설탕물을 탈지면에 적셔 공급하고 온도 27 ± 2 °C, 상대습도 80 ± 10 % 이상, 12 시간 광주기 조건에서 24 시간 사육 후 치사율을 기록한다. 대조군 치사율이 20 %를

초과하면 그 시험은 적절하지 않은 시험으로 판정하고, 대조군 치사율이 5 ~ 20 % 사이라면, 살충제를 처리한 시험결과는 애버트 공식(2.1 항 참조)을 이용하여 교정한다.

표준 제제나 양성 대조군과의 비교는 바람직하다. 비교를 위해서는 $p=0.05$ 의 유의성 수준에서 통계 분석(예, 프로빗 분석)한다. 분석된 시험결과로부터 KT_{50} 과 KT_{95} 로 결과를 표현해야 하고 모기향에 대해서는 60 분 노출에 대한 24 시간 후의 치사율을 근거로 한다. 매트 전자모기향 및 액체 전자모기향에 대해서는 위에서 설명한 것처럼 시험 조작 시간의 처음, 중간 그리고 마지막 구간의 반복 관찰⁸⁾한다.

<제제별 시험방법>

[모기향, Mosquito coils]

금속 재질의 받침대에 한 개의 코일을 잘 끼운다. 코일에 불을 붙이고 끝부분이 타기 시작하면 불꽃을 끈다. 5 분 후, 체임버 안 팬 위의 납작한 접시에 두고 60 분간 관찰한다(별첨 그림 5. 참고).

[매트 전자모기향, Vaporizing mats]

제조업체의 용법·용량에 따라 훈증기에 매트를 끼우고 시험 체임버로부터 떨어진 곳에서 2 시간 가열한다. 매트가 끼워진 훈증기를 체임버의 팬 접시위에 놓고 60 분간 관찰한다. 용법용량에 기재되어 있는 효능 지속시간을 평가하기 위하여, 추가적 시간 간격(예, 2 시간 마다)에서 앞과 동일한 생물학적 시험 과정을 수행 할 수 있다. 시험사이마다 훈증기는 시험 체임버 밖에서 계속 작동시킨다(별첨 그림 5. 참고).

[액체 전자모기향, Liquid vaporizers]

액체 전자모기향을 시험 체임버의 팬 접시위에 놓고 60 분간 계속 작동시키며 관찰한다. 시험 사이마다 훈증기를 시험 체임버 밖에서 계속 작동시킨다. 작동 중인 훈증기가 시험에 영향을 주는 것을 피하기 위해 시험 체임버로부터 떨어진 곳에서 가열시킨다(별첨 그림 5. 참고).

액체 전자모기향의 생물학적 효능은 일정한 간격을 두고 평가하여야 한다(즉, 표시 기재된 작동 일의 최초 작동, 50 % 작동 및 100 % 작동 시). 최초 시험(영점 시간)은

8) 살충제 작동 : 최초작동, 최대가용시간 50 %, 최대가용시간 100 % 3 곳의 시간 구간을 설정함

제제의 표시 기재사항에 따라 시험 체임버 밖에서 특정한 훈증기를 이용하여 예열시킨 후에 시작한다.

2.5.2 에어로솔

에어로솔 제품의 효능 평가는 아래 자세한 설명에 따라 자유롭게 날아다니는 모기를 이용하여 피트-그래디 체임버 안에서 수행한다.

<시험준비>

체임버의 바닥에 흡수력이 있는 흰색 종이를 깔고 테이프로 고정시킨 다음 녹다운된 모기를 관찰과 기록이 쉽도록 사분면을 나누어 그린다. 10 % 설탕물을 먹인 2 ~ 5 일 된 암컷 모기 50 마리를 피트-그래디 체임버에 넣는다.

<시험방법>

시험 직전 시험 체임버에서 멀리 떨어져 자동 분사기에 끼워진 에어로솔을 흔들고 흡 후드가 있는 곳에서 3 ~ 5 초 동안 에어로솔을 분사한다. 그 후, 자동 에어로솔 분사기를 이용하여 체임버의 중앙(체임버의 위쪽에 설치된 문을 통해)을 향해 1 회, 0.65 ± 0.10 g 양을 분사한다⁹⁾(별첨 그림 5. e 참고). 녹다운된 모기의 수는 10 분간 매분 기록한 후 10 분 간격으로 총 60 분간 계수기(hand-counter)를 이용하여 기록한다(별첨 그림 5. 참고).

녹다운 된 모기의 수를 정확하게 기록할 수 있도록 각각 다른 관찰자에게 각각 다른 사분면을 할당한다. 60 분간 제품에 노출시킨 후 최대한 빨리 체임버를 환기시킨다. 녹다운 된 모기와 남아 있는 모기를 모두 흡충기¹⁰⁾로 조심스럽게 모아서 서로 다른 깨끗한 유지통에 옮겨 담는다. 탈지면에 10 % 설탕물을 적셔서 공급하고 온도 27 ± 2 °C, 상대습도 80 ± 10 % 이상에서 12 시간 광주기 조건에서 24 시간 후 치사율을 기록한다.

<결과판정>

최소 3 반복 시험하고 각 시험은 다른 사육장의 모기를 사용하고 이 결과들을 모아

9) 분사량은 제품에 따라 다르므로 분무시간에 따른 분사량을 미리 계산하여 0.65 ± 0.10 g에 해당하는 시간을 기록한다.

10) 흡충기(aspirator)는 사람이 입으로 빨아 당기거나 흡입력을 이용한 장치를 이용한다.

제제의 효능을 평가한다. 표준 제제나 적절한 양성 대조군 제제와 비교하는 것이 바람직하다. 비교를 위해 $p=0.05$ 의 유의성 수준에서 통계 분석(예, 프로빗 분석)한다.

각각의 제제를 시험하기 전에, 자유롭게 날아다니는 암컷 모기를 60 분간 체임버에 풀어 놓았다가 흡충기로 모아서 유지통에 옮겨 담고 10 % 설탕물을 탈지면에 적셔서 공급하고 온도 27 ± 2 °C, 상대습도 80 ± 10 % 이상에서 12 시간 광주기 조건에서 24 시간 후 치사율을 기록한다. 대조군 치사율이 20 %를 초과하면 그 시험은 적절하지 않은 시험으로 판정한다. 만약 대조군의 치사율이 5 ~ 20 % 사이라면, 살충제를 처리한 표본의 결과는 애버트 공식(2.1 항 참조)을 이용하여 교정한다. 반복 시험으로부터 얻어진 결과로 각 제제의 사용량에 대한 KT_{50} , KT_{95} 및 24 시간 치사율을 기록한다.

3. 현장 적용 시험

현장 적용 시험의 목적은 자연 상태에서 날아다니는 실내 모기에 대한 가정용 살충제의 효능을 평가하기 위함이다. 모기향, 매트 전자모기향 및 액체 전자모기향에 대한 시험 목적은 물림 방지 측면에서 제품의 사람보호 기능을 측정하는 것이다. 에어로솔에 대한 시험 목적은 퇴치 대상 종의 녹다운과 치사율로 측정되는 효능을 알아보기 위한 것이다.

시험에 사용되는 살충제에 대한 시험 지역 대상 모기의 민감성은 WHO 표준절차¹¹⁾와 기준에 따라 미리 검증한다.

현장 적용 시험은 사람이 노출되는 시험 대상 모기 종에 적합한 실내 환경에서 실시한다. 표준 제제나 적절한 양성 대조군 제제와 비교하는 것이 바람직하다.

3.1 모기향, 매트 전자모기향 및 액체 전자모기향

<시험준비>

시험에 사용되는 살충제 효능 평가는 실내 환경에서 실험군(살충제가 처리된 방)과 대조군(살충제가 처리되지 않은 방) 간에 사람에게 의해 잡힌 모기를 비교하는 것이다. 시험 공간 안에 모기의 적당한 밀도 측정, 종 및 병원성 등을 알아보기 위해 예비평가를 수행하고 시험을 위해 훈련된 현장 시험 전문가가 필요하다. 시험 공간은 시험 전 6개월간 잔류 살충제가 없어야 하고 48시간 동안 다른 가정용 살충제가 사용되지 않은 공간이어야 한다. 과도한 공기 흐름을 예방하기 위해 창문과 문을 닫을 필요가 있지만 최소한 한 개는 열어 둔다. 현장 적용 시험을 위한 가정집을 선택할 때 그 공간의 크기와 환기(창의 수)를 고려한다.

<시험방법>

제제의 효능은 인체 BLC방법(Bare-leg catch technique)을 이용하여 시험 지원자에

11) Guidelines for efficacy testing of household insecticide products. **annex 5, annex 6**, WHO, 2009(WHO/HTM/NTD/WHOPES/2009.3.)

얇은 모기의 비율 변화를 측정하여 평가한다. 감염성 질병 매개충에 대한 위해가 있는 상황에서는 시험 지원자에게 모기로부터의 예방법 또는 신체적 보호장비를 제공한다.

수집자와 시험 공간 간 끌림(Attractiveness)의 변화를 최소화하기 위하여 라틴 정방 설계(Latin square design)에 따라 시험공간들마다 수집자와 살충제 처리를 교대하면서 한다.

다음은 변화에 대한 라틴 정방 설계의 예이다.

[표] 세 가지 지정된 처리(시험용 살충제, 양성 대조군 및 음성 대조군), 세 개 시험공간 또는 환경 그리고 세 명의 수집자

주(week)	일(day)	공간 1	공간 2	공간 3
1	1	A _{T1}	C _{T3}	B _{T2}
	3	B _{T2}	A _{T1}	C _{T3}
	5	C _{T3}	B _{T2}	A _{T1}
2	7	A _{T2}	C _{T1}	B _{T3}
	9	B _{T3}	A _{T2}	C _{T1}
	11	C _{T1}	B _{T3}	A _{T2}
3	13	A _{T3}	C _{T2}	B _{T1}
	15	B _{T1}	A _{T3}	C _{T2}
	17	C _{T2}	B _{T1}	A _{T3}

A, B, C 지정된 수집자

T1, T2, T3 지정된 처리

시험용 제제는 용법용량에 따라 사용한다. 지원자에 얇은 모기잡기는 지원자의 무릎 아래쪽 다리를 노출하고 제품에서 1.5 m 떨어진 곳에서 실시한다. 모기잡기는 시험 대상 모기 종의 무는 시간이 최고인 4 시간동안 한다. 연속적인 모기 수집을 권장하지만 실험 계획에 지원자의 휴식시간이 포함되어 있다면 휴식으로 인한 시험의 방해를 최소화 하도록 한다. 다음 시험을 위한 시험 공간은 한 번 사용 후 48 시간 경과 후 재사용한다.

모기는 흡충기 또는 시험 튜브를 이용해 시간별로 모으고 미리 라벨을 붙여 놓은 유지통에 담는다. 모기가 담겨진 유지통은 실험실에서 모기의 종과 수를 확인할 때까지 냉장 보관한다. 시험하는 동안 그 공간의 실내 온도와 상대 습도를 기록한다.

<결과판정>

살충제를 처리한 공간에서 지원자 다리에 앉은 모기(수집된 모기) 비율은 적절한 통계 분석방법(예, ANOVA $p = 0.05$ 의 유의성)을 이용하여 대조군 공간의 결과와 비교한다.

3.2 에어로솔

시험에 사용되는 살충제의 효능 평가는 제제의 용량용법에 따라 서로 다른 실내에 적용하여 실시한다.

<시험준비>

시험 공간은 최소한 30 m^3 크기에 벽과 천장은 모기를 찾기 쉽고 수집하기에 적합해야 한다. 가능하다면, 모기 수집이 용이하도록 가구는 최소한으로 있어야 한다. 방의 크기, 가구, 벽, 천장의 특징 그리고 배치 등에 적절히 기록한다. 시험 공간은 시험 전 6 개월간 잔류 살충제가 없어야 하고 48 시간 동안 다른 가정용 살충제를 사용하지 않은 공간이어야 한다. 적합한 통계 분석과 비교가 가능하도록 충분한 시험 공간(침실 또는 거실) 수를 확인하고 시험 공간은 시험을 위해 살충제가 적용된 군과 적용되지 않은 군(대조군)에 무작위로 배정한다. 만약 시험에 적합한 공간을 구하지 못하면 이런 기준을 충족하는 실험실 공간 등을 사용할 수 있다.

시험을 위해 살충제를 사용하는 동안에 바닥과 모든 수평한 면은 흰 천이 주름지지 않게 주의하여 덮는다. 문과 창문은 닫고 팬의 전원은 끈다. 실내 휴식기에 있는 모기들의 수가 충분하지 않은 경우 충혈하지 않은 암컷 모기 50 ~ 100 마리를 현장에서 수집 또는 피로 사육되지 않은 F1의 새끼 또는 야생 지역의 모기를 시험 공간에 넣는다.

<시험방법>

살충제를 스프레이 분무할 때는 용법·용량을 엄격히 준수한다. 현장 시험을 하는 동안 그 공간의 온도 및 상대습도를 기록한다. 분무 후 즉시, 시험자는 시험 공간을 나가고 문을 닫는다. 60 분 후, 시험자는 시험공간으로 돌아와 녹다운 된 모기와 남아 있는 모기를 모두 유지통에 수집하여 기록하고 24 시간 치사율을 관찰한다. 수집된 모기에 10 % 설탕물을 적신 탈지면을 공급하고 온도 27 ± 2 °C, 상대습도 80 ± 10 % 이상에서 12 시간 광주기 조건에서 24 시간 사육한다.

<결과판정>

서로 다른 시험공간에서 수행된 시험 결과를 바탕으로 하여, 60 분 후 녹다운 된 암컷 모기의 평균 비율(%)과 24 시간 후 평균 치사율(%)을 기록한다. 각각의 시험 공간에서의 비율 계산을 할 때 살아있는 모기와 녹다운 된 모기의 총 수를 분모로 한다.

4. 참고문헌

1. Guidelines for efficacy testing of household insecticide products. World Health Organization, 2009 (WHO/HTM/NTD/WHOPES/2009.3).
2. 안용준, 채성천. 가정용 살충제 효력평가법 가이드라인 검증 연구. 식품의약품안전처, 살충제 규격 등 안전관리 연구(II), 2013.
3. 모기기피제 효력 평가 방법 가이드라인. 식품의약품안전처, 2012.

[별첨]



그림 1. 국소용액을 이용한 살충작용 시험

Universiti Sains Malaysia Vector Control Research Unit의 실험실

<피트-그래디 체임버 사양>

가정용살충제의 효능 시험을 위하여 피트-그래디 체임버를 사용한다. 시험을 효율적으로 수행할 수 있는 충분한 공간에 체임버를 넣어둘 수 있는 공간을 선택한다.

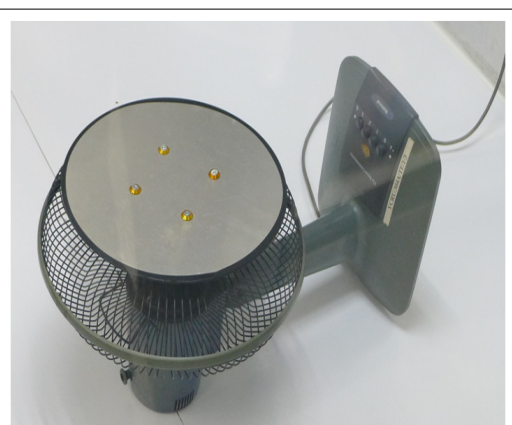
피트-그래디 체임버는 180 cm x 180 cm x 180 cm의 크기로 설계한다. 체임버는 살충제나 유기용매 잔류물을 쉽게 닦아낼 수 있도록 스테인레스 스틸, 알루미늄, 유리 또는 다른 적당한 재질의 재료를 사용하여 만든다.

체임버의 한쪽 벽에 출입구(약 165 x 90 cm)를 고정한다. 체임버에는 천장에는 형광등과 시험 후 잔류한 살충제 증기 등을 제거하기 위한 환기팬이 있다. 시험용 케이지를 매달 수 있도록 옆벽에서 약 20 cm 간격을 두고 각 네 개 천장 모서리에 고리를 부착한다. 체임버 안의 공기 순환을 위해 30 cm 지름의 팬에 팬 레일 가드 위에 30 cm 지름의 납작한 접시를 붙이고 바닥에서 천장을 향하도록 놓아둔다.

체임버는 각 측벽에 2 개의 관찰 유리창과 모기를 넣거나 다용도로 활용되는 창 4 개(위 2 개, 아래 2 개)가 달려 있어 시험이 진행되는 동안 녹다운 된 모기의 수를 확인이 가능하다.



a. 피트-그래디 체임버



b. 지름 30 cm의 팬의 예

그림 2. 피트-그래디 체임버 및 팬

Universiti Sains Malaysia Vector Control Research Unit의 실험실

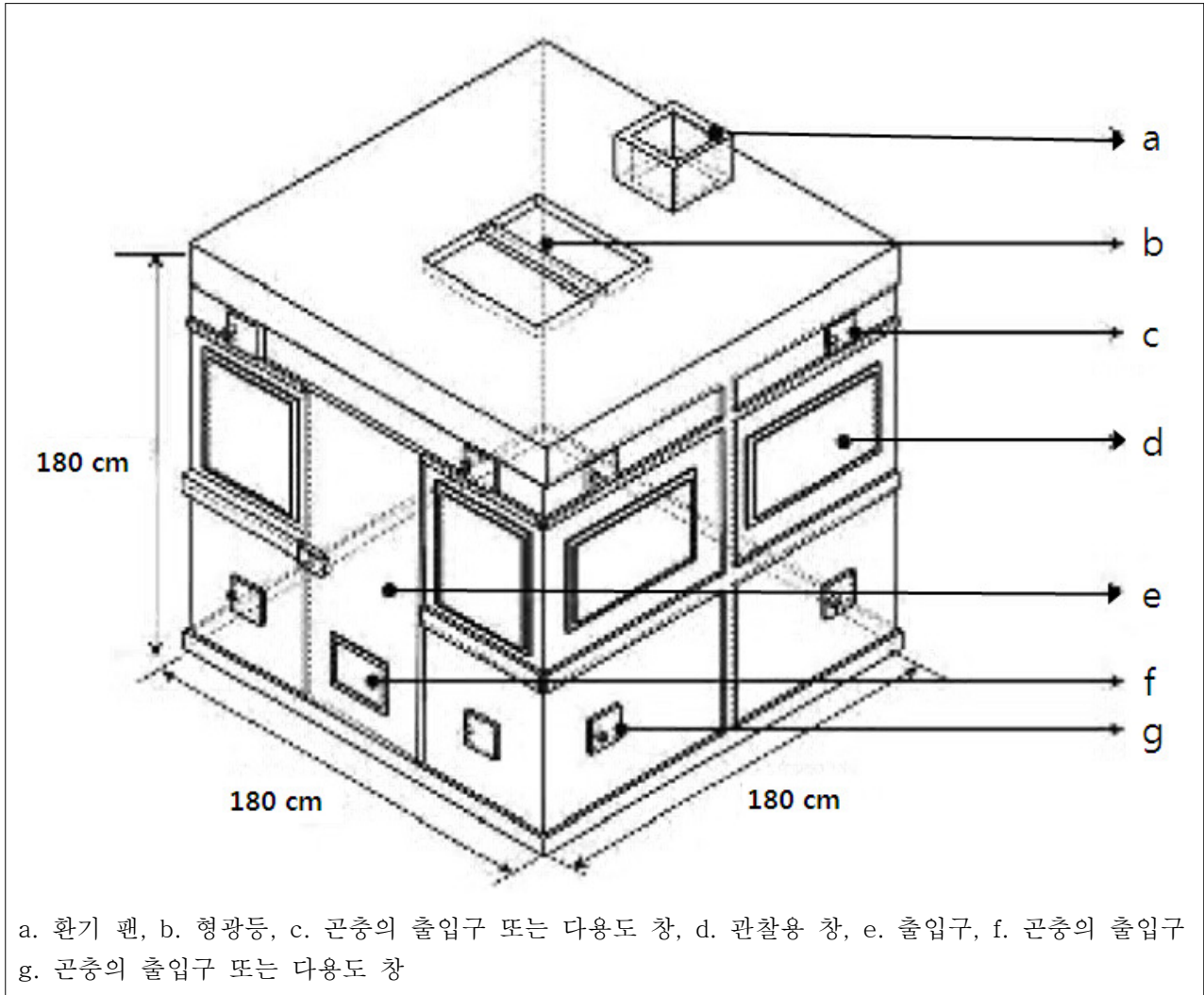
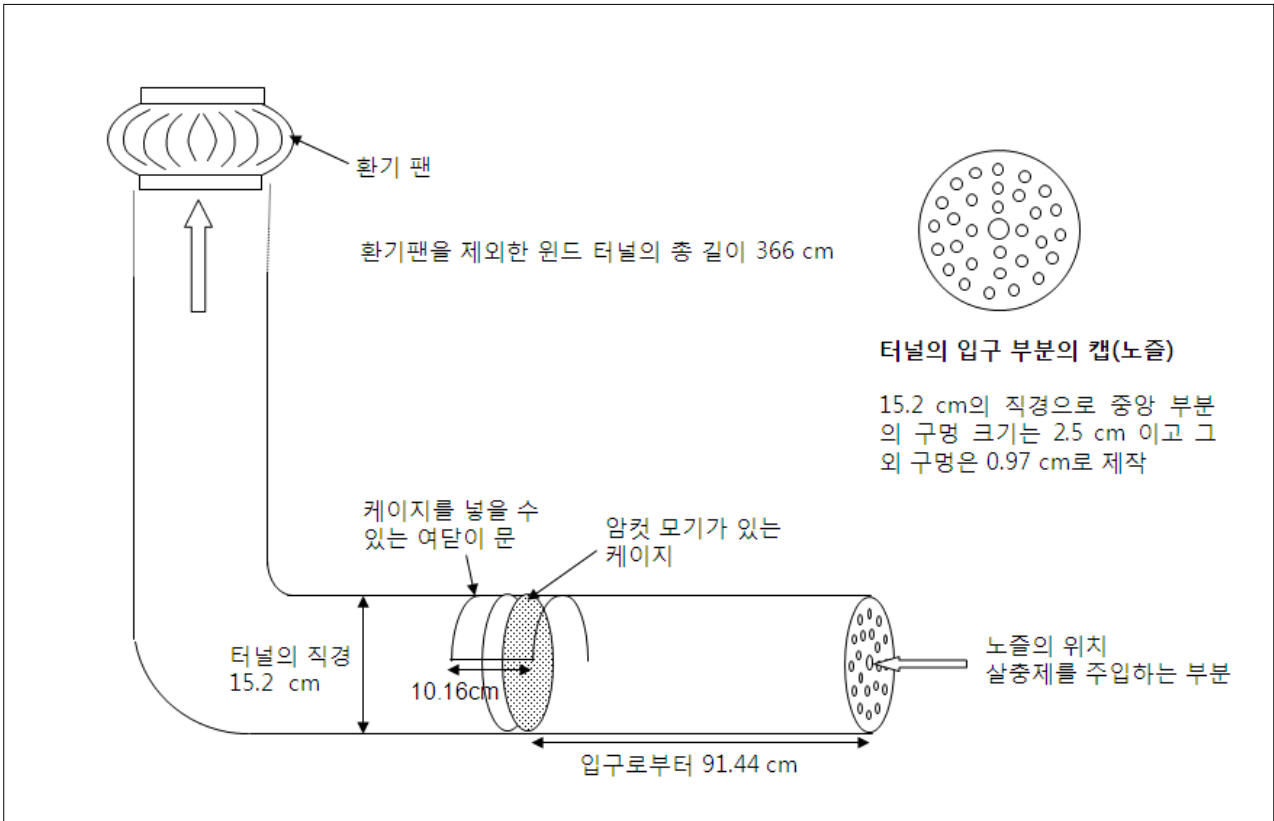
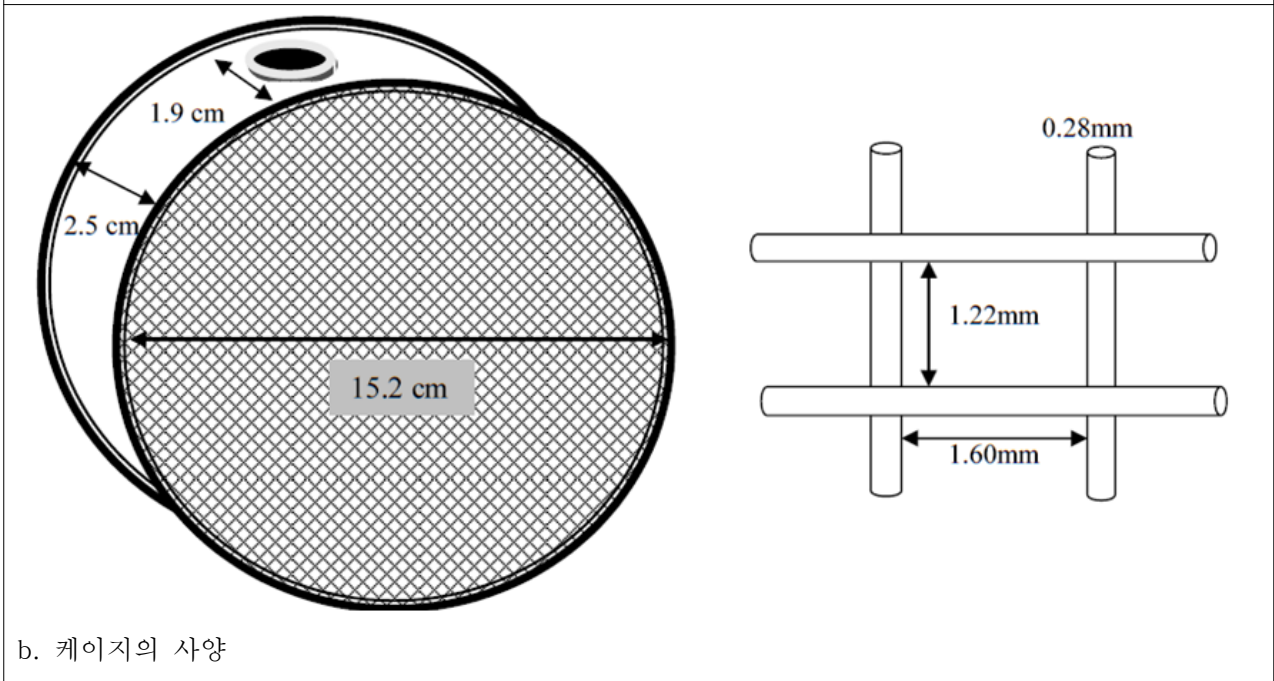


그림 3. 피트-그래디 체임버 사양

사진출처 WHO "Guideline for efficacy testing of household insecticide products", 2009



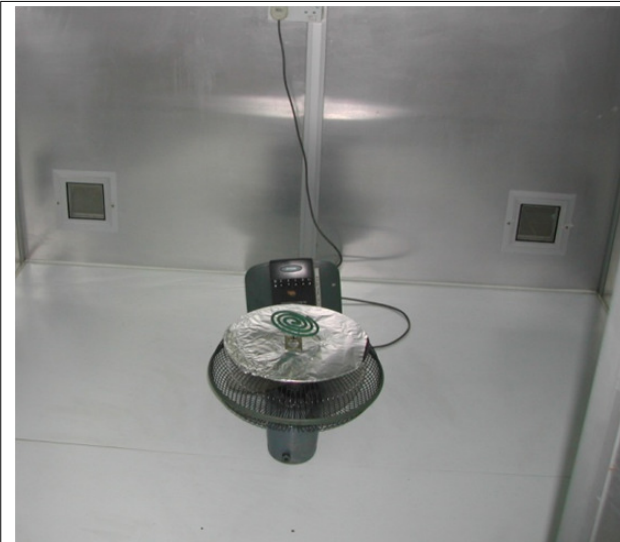
a. 윈드 터널의 사양



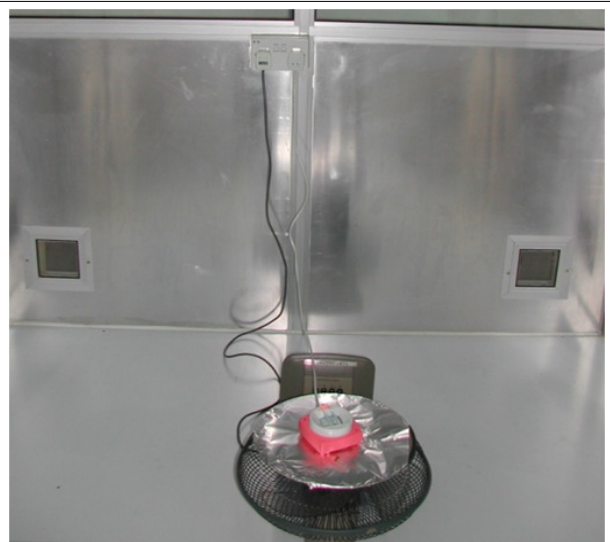
b. 케이지의 사양

그림 4. 윈드 터널

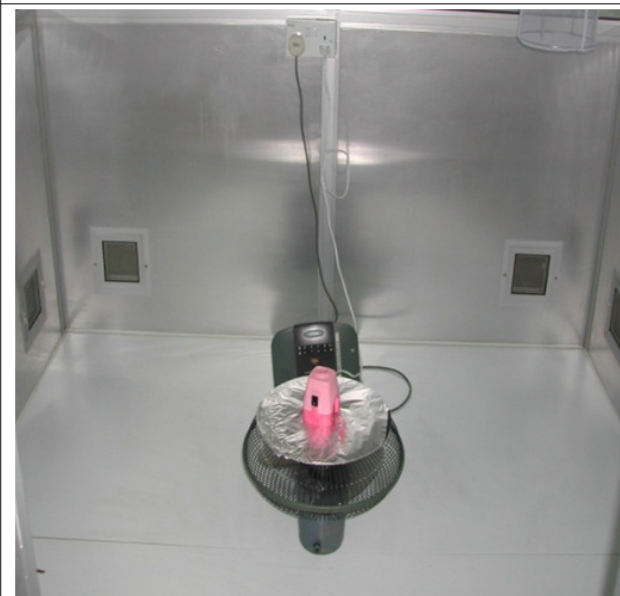
사진출처 WHO "Guideline for efficacy testing of household insecticide products", 2009



a. 모기향 효능 시험



b. 매트 전자모기향 효능 시험



c. 액체 전자모기향 효능 시험



d. 에어로솔 효능 시험



e. 자동 에어로솔 분사기

그림 5. 제제별 효능 시험의 예
Universiti Sains Malaysia Vector Control Research Unit의 실험실