

항균성분의 지속력에 대한 인체적용 시험 평가

최 서 희[†] · 김 현 주 · 이 범 천 · 문 태 기 · 김 남 수

(주)엘리드

(2012년 11월 12일 접수, 2013년 1월 13일 수정, 2013년 1월 21일 채택)

Clinical Evaluation of Residual Effectiveness of Antibacterial Agents

Suh Hee Choi[†], Hyun Ju Kim, Bum Chun Lee, Tae Kee Moon, and Nam Soo Kim

Ellead Co., Ltd., 272-1, Seohyeon-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do 464-824, Korea

(Received November 12, 2012; Revised January 13, 2013; Accepted January 21, 2013)

요약: 항균비누에 흔히 사용되는 항균성분인 PCMX와 IPMP에 대하여 ASTM E2752-10 (Standard Guide for Evaluation of Residual Effectiveness of Anti-bacterial Personal Cleansing Products)에 기술된 cup scrub method에 따라 항균 지속력을 평가하였다. 건강한 남녀 총 80명의 피험자를 대상으로 한 실험에서 5% PCMX와 0.1% IPMP를 함유한 액체비누는 대조군에 비해서 *E. coli*와 *S. aureus*의 수를 통계학적으로 유의하게 감소시켰으며 27시간 동안 항균효과가 지속되는 것을 확인하였다. 항균성분의 지속력에 대한 인체적용 시험은 국내에서는 처음 시행된 것으로 결과와 함께 보고하는 바이다.

Abstract: This *in vivo* study via ASTM E2752-10, cup scrub method, was performed to evaluate the residual effectiveness of PCMX and IPMP commonly used in antibacterial soap. The liquid soap having 5% of PCMX and 0.1% of IPMP showed statistically significant reduction of *E. coli* and *S. aureus* as compared with control in a trial of 80 healthy volunteers. And its efficacy was maintained for 27 h at least. We report the result of residual effectiveness of antibacterial agents for the first time in Korea.

Keywords: residual effectiveness, antibacterial, cup scrub, soap, clinical trial

1. 서 론

피부에는 다양한 종류의 병원성, 비병원성 세균이 존재한다[1]. 피부는 이들 세균에 대해 일차적인 장벽(barrier)으로 작용하지만, 피부에 상처가 있거나 피부 장벽에 기능상 이상이 있을 경우, 이들 세균에 의한 국소적인 감염이 발생할 수 있다[2]. 또한 비위생적인 환경하에서 피부에 존재하는 균들은 소화기나 호흡기를 통해 체내로 침투하여 수인성 전염병이나 호흡기 질환들을 유발하기도 한다[3,4]. 가장 심각한 경우는 면역기능이 저하되어 있는 상태에서의 감염으로 신속

하고도 적절한 치료가 이루어지지 않을 경우, 자칫 생명에 지장을 줄 수도 있다[5-7].

일반적으로 포도상 구균(*Staphylococcus aureus*)은 모낭염, 절종 및 웅종, 농가진 등의 피부 감염을 일으키는 것으로 알려져 있다[8,9]. 이와는 대조적으로 대장균(*Escherichia coli*)은 직접적으로 피부에 병변을 일으키는 경우는 드물지만, 대장균이 검출되었다는 것은 식품위생에서 중요한 오염의 지표가 될 수 있다[10]. 세균에 의한 감염이 일어나기 전 단계, 즉, 일상 생활에서의 비누, 혹은 세정제의 사용은 피부감염을 유발할 수 있는 포도상 구균 같은 병원성 세균을 제거하고, 음식물 오염이나 수인성 전염병의 지표인 대장균을 차단하기 위한 기본적이고 효과적인 방법이다

[†] 주 저자 (e-mail: ellead@ellead.com)

Table 1. The Characteristics of the Subject

Variable	PCMX group (N = 40)	IPMP group (N = 40)
Age		
Average - y	34.9 ± 7.1	31.2 ± 8.0
Range - y	21 - 51	21 - 49
Age group - no. (%)		
20 - 30 y	10 (25.0)	21 (52.5)
31 - 40 y	23 (57.5)	13 (32.5)
> 40 y	7 (17.5)	6 (15.0)
Sex - no. (%)		
Male	13 (32.5)	8 (20.0)
Female	27 (67.5)	32 (80.0)

[11]. 콜레라 같은 수인성 전염병의 예방뿐 아니라, 신종 플루, 조류 인플루엔자 같은 최근 문제가 되고 있는 질환의 예방 및 확산방지를 위해서도 비누로 자주 손을 씻는 것의 중요성이 강조되고 있고, 이러한 맥락에서 보다 강력한 항균효과를 나타내는 세정제에 대한 관심이 커지고 있다. 따라서 항균 효과를 높이기 위해 다양한 항균 물질을 첨가한 항균 비누들이 최근 다양하게 출시되고 있는 것은 자연스러운 현상이라고 할 수 있다[12-21].

일반적으로 세정제의 항균효과를 측정하는 위해서는 피부에 특정 세균을 도포하고 세정제로 세척하여 세균이 얼마나 감소되는가를 측정, 비교하는 방법을 사용한다[22-26]. 그러나 이러한 방법의 가장 큰 한계는 측정하고자 하는 세정제의 항균력이 실제로 피부에서 얼마나 지속되는지, 즉, 얼마나 오랫동안 항균성분이 피부에 남아서 세균이 성장하는 것을 지속적으로 억제할 수 있는지를 측정하지는 못한다는 것이다. 항균비누의 효능을 평가하는 보다 객관적이고 실질적인 방법은 단순히 피부에 있는 균수를 얼마나 감소시키는가 보다는 이 제품을 사용함으로써 세균의 성장을 얼마나 오랫동안 억제할 수 있는지를 측정하는 것이라고 할 때, 항균 지속력에 대한 비교 평가는 필수적인 평가법이라고 할 수 있다[27-29]. 그러나 문헌고찰 결과, 국내의 경우에는 항균 세정제, 혹은 항균비누의 항균효과 지속력에 대한 연구가 보고된 바 없다.

이에 본 연구자들은 항균물질이 함유된 액체비누의 사용이 포도상구균과 대장균의 성장을 얼마나 효과적으로 억제할 수 있는지를 항균 지속력 실험을 통해 살

펴보고자 하였다.

2. 재료 및 실험

2.1 시험재료

항균지속력 시험에 사용된 항균제는 국내 항균비누에 흔히 사용되는 parachloroxylenol (PCMX, Tokyo Chemical Industry Co. LTD., Japan), 3-methyl-4-isopropyl phenol (IPMP, Tokyo Chemical Industry Co. LTD., Japan)를 사용하였다. 이들 항균제가 함유된 액체비누를 시험군으로 하고, 항균성분이 들어가지 않은 액체비누를 대조군(control)으로 하여 실험을 진행하였다.

2.2 대상

본 연구는 건강하고 병력이 없는 한국인 남녀 80명을 대상으로 무작위 배정, 이중맹검 법으로 실시되었다. 피험자는 시험 시작 1주일 전에 시험의 목적과 개요, 시험방법, 그리고 시험 참가에 따른 위험성과 이상반응에 대하여 설명을 들은 후 증례기록서를 작성하였다. 실험에 참가한 피험자의 나이 분포는 20대가 31명, 30대가 36명, 40대 이상이 13명이었다(Table 1). 전체 80명의 피험자 중 40명은 PCMX가 함유된 제품을, 나머지 40명은 IPMP가 함유된 제품을 사용하게 하였다. 각 피험자의 한쪽 전완부에는 항균 성분이 포함된 제품을, 나머지 전완부에는 항균성분이 포함되지 않은 제품을 사용하였다.

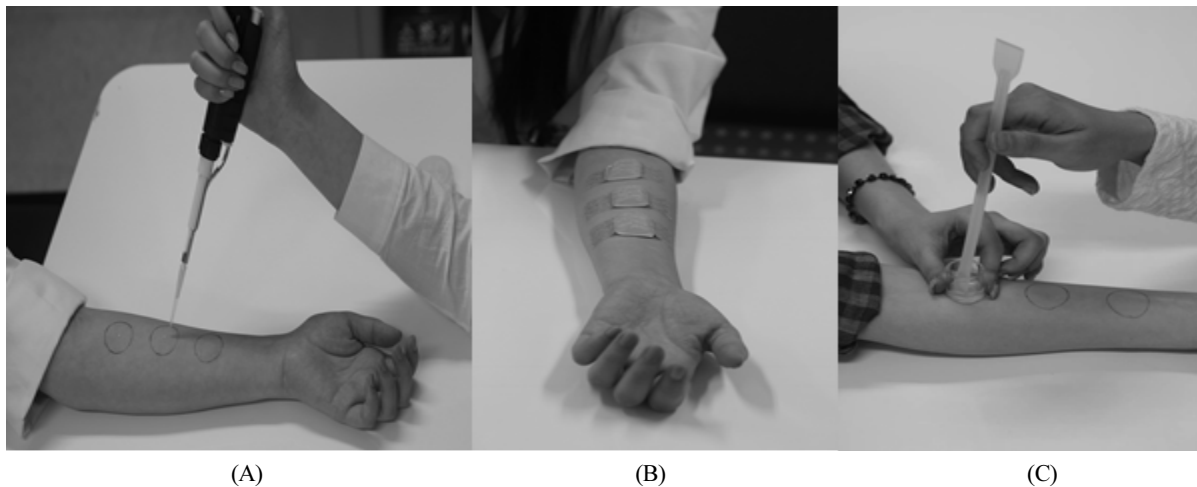


Figure 1. ASTM E2752-10 procedure. (A) Test sites on anterior side of forearm (3 cm diameter). For inoculation, 10 μ l of the bacterial culture was applied to each test site. (B) Protection of the test sites. Each inoculate test site was immediately occluded with plastic chamber. The chambers were secured to the skin with an adhesive dressing (3M, USA). (C) Harvesting of surviving organisms. The specimens were collected by cup scrub technique from each test site using sterilized glass cylinder with an inside diameter of 2.1 cm. The sampling solution was poured into the glass cylinder and scrubbed skin surface with a sterilized plastic cell lifter.

2.3 방법

2.3.1. 사용균주

균주는 American Type Culture Collection (ATCC)에서 분양 받은 호기성 그람 음성 균주인 *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 11229와 호기성 그람 양성 균주인 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 6538을 사용하였다.

2.3.2. 배지 및 배양조건

*E. coli*와 *S. aureus*의 배양에 사용된 배지는 Tryptic Soy Broth (TSB) (BD-Difco, USA)와 Trypticase Soy Agar (TSA) (BD-Difco, USA)로 균을 접종한 후 37 $^{\circ}$ C에서 24 h 배양 후 실험에 사용하였다.

2.3.3. Wash-out

시험시작 일주일 전부터 시험을 시작하기 전날까지 (wash-out 기간) 모든 피험자는 항균성분이 있는 세정제의 사용을 금하였고 대신 항균성분이 없는 비항균 비누를 지급하여 일상생활에서 사용하도록 하였다.

2.3.4. 항균지속력 시험

항균지속력 평가는 ASTM (American Society for

Testing Materials) E2752-10 (Standard Guide for Evaluation of Residual Effectiveness of Antibacterial Personal Cleansing Products)에 규정된 방법을 이용하였다. Wash-out 기간이 끝난 피험자는 자신의 전완부 내측을 최소한 1 h의 간격을 두고 하루에 3번씩 총 9번을 3일간 세척하도록 하였다. 구체적인 세척방법은 다음과 같다. 흐르는 물에 양팔을 적시고 그 중 한쪽 팔에 항균성분이 포함된 액체비누 1.8 mL를 집중하여 45 s 동안 손목에서 팔꿈치까지 문지른 후 15 s 동안 흐르는 물에서 세척하였다. 그리고 남은 한쪽 팔은 항균성분이 포함되지 않은 1.8 mL의 액체비누로 세척하도록 하였다. 이 때 사용한 물은 항상 동일한 온도(37 ± 2 $^{\circ}$ C)와 유속이(4 L/min) 되도록 하였다. 세척이 끝난 후 종이타월로 가볍게 물기를 닦아냈다. 마지막 세척(3일째 9회차 세척) 후 24 h이 지난 다음, 지름 3 cm의 원을 피험자 전완부 안쪽에 3군데씩 표시하고, $10^9 \sim 10^{10}$ colony forming units (CFU)/mL의 균(*E. coli* 혹은 *S. aureus*) 10 μ L를 표시된 원형 중간에 접종하였다 (Figure 1A). 접종한 부위의 균액이 흘러내리거나 흘러나가지 않도록 그 위를 덮을 수 있는 플라스틱 챔버로 막은 후 마이크로포 의료용 반창고(3M, USA)로 고정시켰다(Figure 1B). 접종 후 30 min, 2 h, 5 h에 플라스틱 챔버를 제거하고 지름 2.2 cm의 유리 실린더를 접

Table 2. Residual Antibacterial Activity of Products versus Control in *E. coli*

Test product	Sample size	Bacterial occlusion time ¹	Mean surviving CFUs (Log ₁₀) ± S.D.	Difference (Log ₁₀)
Control	20	30 min	6.35 ± 0.58	0.19
5% PCMX			6.16 ± 0.74	<i>p</i> -value = 0.005*
Control	20	2 h	5.01 ± 0.94	0.74
5% PCMX			4.27 ± 1.24	<i>p</i> -value < 0.001*
Control	20	5 h	2.27 ± 1.18	0.88
5% PCMX			1.39 ± 1.35	<i>p</i> -value < 0.001*
Control	20	30 min	6.20 ± 0.60	0.24
0.1% IPMP			5.96 ± 0.55	<i>p</i> -value = 0.013*
Control	20	2 h	4.82 ± 0.68	0.70
0.1% IPMP			4.12 ± 0.73	<i>p</i> -value < 0.001*
Control	20	5 h	2.22 ± 0.92	1.10
0.1% IPMP			1.12 ± 0.90	<i>p</i> -value < 0.001*

¹ Occlusion time for inoculated treatment sites

* Statistically significant difference between treatments (paired *t*-test)

중 부위에 올려두고 멸균된 Butterfiled's buffer (USBiological, USA)를 유리 실린더 안에 넣고 Cell lifter (SPL, Korea)를 이용하여 균을 용출하였다(Figure 1C). 정해진 시차를 두고 용출된 액은 희석 후 plate에 도말하고, 이때 나오는 CFU를 Quebec Colony Counter (KT0074A, Kastech, Korea) 이용하여 수를 세고, 그 값을 log₁₀으로 환산하였다.

2.4. 통계분석방법

결과는 means ± S.D.로 나타냈고, 통계처리는 paired *t*-test와 independent *t*-test를 사용하였으며 통계 분석 프로그램은 PASW statistics 18 (SPSS Inc., USA)를 이용하였다. 모든 통계 결과는 *p* < 0.05일 때 유의한 차이가 있는 것으로 하였다.

3. 결과 및 고찰

세균의 군체 형성(colonization)이나 성장을 막기 위해 비누 등 계면활성제에 항균물질을 첨가한 제품을 일반적으로 항균 비누라고 정의할 때, 이 항균비누의 효과는 비누에 포함된 항균성분이 얼마나 효과적으로

피부의 세균들을 제거할 수 있는가로 평가할 수 있을 것이다. 지금까지 흔히 사용되는 방법들은 피부에 균을 점적 혹은 도포하고 비교적 짧은 시간 내에 항균물질이 포함된 세정제로 세척하여 세균의 감소율을 측정하는 것이었다[22-26]. 이러한 실험 방법들은 세정제에 포함된 항균물질의 항균효과를 즉시 판정할 수 있는 장점이 있으나, 항균물질이 얼마나 오랫동안 피부에 남아서 항균 작용을 유지할 수 있는지에 대한 정보는 제공하지 못하는 단점이 있다. 실제로 피부에 있던 기존의 균들이 세정제에 의해 효과적으로 제거된 후에도 외부의 새로운 균들이 피부에 접촉되어 단시간 내에 다시 증식 할 수 있으므로 단순히 세척 직후 얼마나 세균이 감소되는가 하는 문제보다는 세척 후 항균성분이 얼마나 오랫동안 세균의 증식을 억제할 수 있는가가 항균비누의 효능을 평가하는데 더 중요한 특성이라고 할 수 있다. 항균 세정제의 이러한 특성을 평가하기 적합한 시험법이 ASTM E2752-10 방법으로 그 이론적, 방법론적 근거가 된 연구는 Billhimer *et al.* [29]에 의해 2001년 보고되었다. 본 연구에서는 ASTM E2752-10의 cup scrub 적용 방법을 이용하여 흔히 사용되는 항균 물질인 PCMX, IPMP가 함유된 액체

Table 3. Residual Antibacterial Activity of Products versus Control in *S. aureus*

Test product	Sample size	Bacteiral occlusion time ¹	Mean surviving CFUs (Log ₁₀) ± S.D.	Difference (Log ₁₀)
Control	20	30 min	6.91 ± 0.40	0.24
5% PCMX			6.67 ± 0.38	<i>p</i> -value < 0.001*
Control	20	2 h	6.36 ± 0.58	0.43
5% PCMX			5.93 ± 0.71	<i>p</i> -value < 0.001*
Control	20	5 h	5.35 ± 0.36	0.28
5% PCMX			5.07 ± 0.39	<i>p</i> -value < 0.001*
Control	20	30 min	7.07 ± 0.32	0.31
0.1% IPMP			6.76 ± 0.32	<i>p</i> -value < 0.001*
Control	20	2 h	6.53 ± 0.37	0.50
0.1% IPMP			6.03 ± 0.56	<i>p</i> -value < 0.001*
Control	20	5 h	5.46 ± 0.24	0.37
0.1% IPMP			5.09 ± 0.33	<i>p</i> -value < 0.001*

¹ Occlusion time for inoculated treatment sites

* Statistically significant difference between treatments (paired *t*-test)

비누의 항균 지속력 효과를 평가하였다.

대장균에서의 항균비누에 대한 항균지속력 평가 결과 대조군에 비해 시험군에서 더 많은 균의 감소효과가 나타났다(Table 2). 5% PCMX와 0.1% IPMP의 경우 시험군과 대조군과의 차이, 즉 log difference가 균 도포 후 30 min 경과한 경우에는 각각 0.19 log₁₀ (*p* = 0.005)와 0.24 log₁₀ (*p* = 0.013), 2 h 경과한 경우에는 0.74 log₁₀ (*p* < 0.001)와 0.70 log₁₀ (*p* < 0.001), 5 h 경과한 경우에는 0.88 log₁₀ (*p* < 0.001)와 1.10 log₁₀ (*p* < 0.001)로 나타났다. 대장균에서는 두 항균성분 모두 log difference 값이 균 도포 후 30 min을 시작으로 점차 증가하여 5 h이 지난 시점에서 시험·대조군의 log difference가 가장 최대로 나타났다.

포도상구균에서의 항균비누에 대한 항균지속력 평가 결과 역시 대조군에 비해 시험군에서 더 많은 균의 감소효과가 나타났다(Table 3). 5% PCMX와 0.1% IPMP의 경우 시험군과 대조군의 log difference가 균 도포 후 30 min 경과한 경우에는 각각 0.24 log₁₀ (*p* < 0.001)와 0.31 log₁₀ (*p* < 0.001), 2 h 경과한 경우에는 0.43 log₁₀ (*p* < 0.001)와 0.53 log₁₀ (*p* < 0.001), 5 h 경과한 경우에는 0.28 log₁₀ (*p* < 0.001)와 0.37 log₁₀ (*p* <

0.001)로 나타났다. 포도상구균에서는 두 항균성분 모두 log difference 값이 균 도포 후 2 h이 지난 시점에서 시험·대조군의 log difference가 가장 최대로 나타났다.

시험군만큼은 아니지만, 항균성분이 포함되지 않은 세정제로 씻은 대조군에서도 시간 경과에 따른 균의 감소현상을 관찰할 수 있었는데, 이는 항균성분이 없는 비누로 세척한 것이 전혀 세척을 하지 않은 경우에 비해 약 5배 정도의 균 감소효과를 보인다는 Burton 등[30]의 보고에 부합하는 것으로 보인다. 항균성분이 없는 경우라 하더라도 균을 도포한 후, 대기 중에서 건조 과정을 거치며, 피부의 약산성 조건에 노출되어 있는 점 등이 균의 감소현상에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 그러나 이에 대한 정확한 원인은 보다 많은 연구가 진행되어야 할 것이다.

측정 시점인 30 min, 2 h, 5 h에서 각 군별로 두 항균성분의 log difference을 비교한 결과 *p*-value 값이 모두 0.05 이상으로 유의적인 차이를 나타내지 못하였다 (data not shown). 그리고 각 측정 시점에서 각 항균성분 별로 두 군에 대한 log difference를 비교한 결과 30 min과 2 h에서는 모두 *p*-value가 모두 0.05 이상으로 유의적인 차이를 나타내지 못하였으나, 5 h에서는 0.1%

Table 4. Residual Antibacterial Activity of 5% PCMX and 0.1% IPMP in *E. coli* versus *S. aureus*

Test product	Bacterial occlusion time ¹	5% PCMX		0.1% IPMP	
		Difference (Log ₁₀)	<i>p</i> -value	Difference (Log ₁₀)	<i>p</i> -value
<i>E. coli</i>	30 min	0.19	<i>p</i> -value = 0.571	0.24	<i>p</i> -value = 0.530
<i>S. aureus</i>		0.24		0.31	
<i>E. coli</i>	2 h	0.74	<i>p</i> -value = 0.112	0.70	<i>p</i> -value = 0.154
<i>S. aureus</i>		0.44		0.50	
<i>E. coli</i>	5 h	0.88	<i>p</i> -value < 0.001*	1.10	<i>p</i> -value = 0.003*
<i>S. aureus</i>		0.28		0.37	

¹ Occlusion time for inoculated treatment sites

* Statistically significant difference between treatments (independent *t*-test)

IPMP의 경우 $p = 0.003$, 5% PCMX의 경우 $p < 0.001$ 으로 포도상구균에 비해서 대장균의 감소효과가 더 좋은 것으로 나타났다(Table 4). 이는 두 성분이 동일한 항균력을 가지며, 시간이 지남에 따라 포도상구균에 비해 대장균에 더 효과적이라 판단된다.

ASTM E2752-10에 규정된 대로 3일간 총 9회 세척하고 마지막 세척 후 24 h 경과된 시점에서 균을 도포하여 항균 효과를 평가하는 cup scrub method 시험결과, PCMX와 IPMP이 포함된 액체비누는 포도상구균과 대장균이 도포된 피부에서 최소 5 h 동안 균의 숫자를 지속적으로 감소시키고 성장을 억제시키는 항균 효과를 나타내었다.

4. 결 론

세정제를 일정기간 사용한 후 균을 도포하여, 시간별로 균의 수 변화를 측정함으로써 세정제의 항균력이 얼마나 지속되는지를 항균물질인 PCMX와 IPMP가 포함된 액체비누를 대상으로 살펴보았다. 두 항균 물질이 포함된 액체비누는 대조 액체비누에 비해 측정 시점인 30 min, 2 h, 5 h 모두에서 통계적으로 유의하게 항균 지속 효과가 우수함을 나타내었다.

5% PCMX와 0.1% IPMP 모두 대장균에서는 균 도포 후 5 h이 지난 후에 가장 많은 균의 감소효과가 나타났고, 포도상구균의 경우 2 h이 지난 후에 가장 많은 균의 감소효과가 나타났다. 본 연구를 통해 소개된 ASTM E2752-10 방법은 세정제의 항균 효과가 얼마나 오래 지속될 수 있는지를 객관적이고 실질적으로 평

가할 수 있는 평가법으로서 단순히 세정제를 통한 세균 감소를 측정하는 기존 방법의 한계점을 보완, 대체할 수 있을 것으로 생각된다.

Reference

1. L. C. Hadaway, Skin Flora and Infection, *J. Infus. Nurs.*, **26**(1), 44 (2003).
2. C. Bangert, P. M. Brunner, and G. Stingl, Immune functions of the skin, *Clin. Dermatol.*, **29**(4), 360 (2011).
3. F. P. Downes, Compendium of methods for the microbiological examination of food, ed. K. Ito, American Public Health Association Press, Washington, D. C. (2001).
4. J. G. Holt, N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley, and S. T. Williams, *Bergey's manual of determinative bacteriology*, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, M. D. (1994).
5. K. A. N. Messingham, D. E. Faunce, and E. J. Kovacs, Alcohol, injury, and cellular immunity, *Alcohol.*, **28**(3), 137 (2002).
6. G. Germann, U. Barthold, R. Lefering, T. Raff, and B. Gartmann, The impact of risk factors and pre-existing conditions on the mortality of burn patients and the precision of predictive admission scoring system, *Burns.*, **23**(3), 195 (1997).
7. D. E. Faunce, M. S. Gregory, and E. J. Kovacs,

- Effects of acute ethanol exposure on cellular immune responses in a murine model of thermal injury, *J. Leukoc. Biol.*, **62**(6), 733 (1997).
8. S. N. Cohen, *Skin Microbiology: Relevance to Clinical Infection*, eds. H. I. Maibach and R. Aly, 329, Springer-Vetlag, New York (1981).
 9. W. C. Noble, *The Skin Microflora and Microbial Skin Disease*, ed. W. C. Noble, 153, Cambridge University Press, Cambridge, U. K. (1992).
 10. Y. K. Park, G. Y. Jeong, M. H. Kim, J. A. Kim, and H. S. Kim, Characterization of coliform group isolates from drinking water, *Rep. Busan Inst. Health & Environ.*, **14**(1), 5 (2004).
 11. C. S. Park, G. S. Park, and M. L. Kim, Effect of Oregano (*Origanum vulgare L.*) on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *staphylococcus aureus* 196E during cold storage, *Korean J. Soc. Food.*, **13**, 440 (1997).
 12. G. Kampf and A. Kramer, Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs, *Clin. Microbiol. Rev.*, **17**(4), 863 (2004).
 13. A. E. Aiello and E. Larson, Antibacterial cleansing and hygiene products as an emerging risk factor for antibiotic resistance in the community, *Lancet Infect. Dis.*, **3**(8), 501 (2003).
 14. S. B. Levy, Antibacterial household products: cause for concern, *Emerg. Infect. Dis.*, **7**(3), 512 (2001).
 15. A. D. Russell, Mechanisms of bacterial insusceptibility to biocides, *Am. J. Infect. Control.*, **29**(4), 259 (2001).
 16. C. A. Bartzokas, J. E. Corkill, and T. Makin, Evaluation of the skin disinfecting activity and cumulative effect of chlohexidine and triclosan hand-wash preparations on hands artificially contaminated with *Serratia marcescens*, *Infect. Control.*, **8**(4), 163 (1987).
 17. S. Luby, M. Agboatwalla, B. M. Schnell, R. M. Hoekstra, M. H. Rahbar, and B. M. Keswick, The effect of antibacterial soap on impetigo incidence, Karachi, Pakistan, *Am. J. Top Med. Hyg.*, **67**(4), 430 (2002).
 18. E. E. Sickbert-Bennett, D. J. Weber, M. F. Gergen-Teague, M. D. Sobsey, G. P. Samsa, and W. A. Rutala, Comparative efficacy of hand hygiene agents in the reduction of bacteria and virus, *Am. J. Infect. Control.*, **33**(2), 67 (2005).
 19. M. Braoudaki and A. C. Hilton, Low level of cross-resistance between triclosan and antibiotics in *Escherichia coli* K-12 and *E. coli* O55 compared to *E. coli* O157, *FEMS Microbiol. Lett.*, **235**(2), 305 (2004).
 20. M. Braoudaki and A. C. Hilton, Adaptive resistance to biocides in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157 and cross-resistance to antimicrobial agents, *J. Clin. Microbiol.*, **42**(1), 73 (2004).
 21. M. T. Suller and A. D. Russell, Triclosan and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **46**(1), 11 (2000).
 22. J. J. Leyden and A. M. Kligman, *Safety and Efficacy of Topical Drugs and Cosmetics*, eds. J. J. Leyden and A. M. Kligman, 289, Grune & Stratton, New York (1982).
 23. R. N. Michaud, M. B. McGrath, and W. A. Goss, Application of a gloved hand model for multi-parameter measurements of skin-degerming activity, *J. Clin. Microbiol.*, **3**(4), 406 (1976).
 24. M. Roter, W. Kobler, and G. Wewalka, Providone-iodine and chlorhexidine gluconate containing detergents for disinfection of hands, *J. Hosp. Infect.*, **2**(3), 273 (1981).
 25. J. L. Fuls, N. D. Rodgers, G. E. Fischler, J. M. Howard, M. Patel, P. L. Weidner, and M. H. Duran, Alternative hand contamination technique to compare the activities of antimicrobial and nonantimicrobial soaps under different test conditions, *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**(12), 3739 (2008).
 26. M. Rotter, S. Sattar, S. Dharan, B. Allegranzi, E. Mathai, and D. Pittet, Method to evaluate the microbicidal activities of hand-rub and hand-wash agents, *J. Hosp. Infect.*, **73**(3), 191 (2009).
 27. R. Aly and H. I. Maibach, *In vivo* methods for test-

- ing topical antimicrobial agents, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **32**, 317 (1981).
28. M. B. Finkey, N. C. Corbin, J. B. Aust, R. Aly, and H. I. Maibach, *In vivo* effect antimicrobial soap bars containing 1.5% and 0.8% trichlorocarbanilide against two strains of pathogenic bacteria, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **35**, 351 (1984).
29. W. L. Billhimer, C. A. Berge, J. S. Englehart, G. Y. Rains, and B. H. Keswick, A modified cup scrub method for assessing the antibacterial substantivity of personal cleansing products, *J. Cosmet. Sic.*, **53**(6), 369 (2001).
30. M. Burton, E. Cobb, P. Donachie, G. Judah, V. Curtis, and W.P. Schmidt, The effect of handwashing with water or soap on bacterial contamination of hands, *Int. J. Environ. Res. Public. Health.*, **8**(1), 97 (2011).