

가열 햄 및 소시지류 제조공장에서 식중독 세균에 대한 오염 분석

박현정 · 고은경 · 위성환 · 윤하정¹ · 허은정 · 김영조 · 이희수 · 문진산*

농림수산물검역검사본부 축산물기준과, ¹농림수산물검역검사본부 역학조사과

Analysis of Foodborne Pathogenic Contamination of Cooked Hams and Sausages in Korean Processing Facilities

Hyun-Jung Park, Eun Kyung Go, Sung-Hwan Wee, Hachung Yoon¹, Eun-Jeong Heo, Young-Jo Kim, Hee Soo Lee, and Jin San Moon*

Livestock Product Standard, Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency, Anyang 430-757, Korea

¹Veterinary Epidemiology Division, Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency,

Anyang 430-757, Korea

Abstract

This study was carried out to examine foodborne pathogenic contamination from 1,080 samples of cooked hams and sausages at 10 Korean processing facilities in 2010. The samples were collected from the six primary and additional sterilization products in same lot. To detect *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* in those products (n=1,080), the domestic standard method for Processing and Ingredients Specification of Livestock Products was used. As a result, *Salmonella* spp. was not detected in all 636 ham and 444 sausage samples. However, *L. monocytogenes* was detected in four (0.6%) ham and eight (1.8%) sausage samples from five manufactures. *S. aureus* was also only detected in 4 (0.6%) ham samples from two manufacturers, and *C. perfringens* was detected in 3 (0.5%) ham samples from three manufacturers, the contamination levels of these pathogens were less than 100 CFU/g. In conclusion, the results of this study indicate that the additional sterilization step of processing manufacturers could not assist to control the foodborne pathogenic bacteria.

Key words: ham, sausage, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, sterilization

서 론

축산식품의 소비형태가 다변화되면서 육가공품 제조업체에서는 새로운 제품 개발이 시도되고 있으나, 식중독 세균에 대한 안전성은 고려해야 할 가장 중요한 요소 중 하나이며, 축산물에서 식중독을 일으키는 주요 미생물에는 *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157, *Yersinia enterocolitica* 등이 있다(Borch and Arinder, 2002).

이러한 식중독 세균 중 *L. monocytogenes*는 자연계에 널리 분포되어 있으며, 냉장온도에서도 증식이 가능하며, 먼

역력이 약한 사람에게는 생명에 위협을 일으킬 수 있는 것으로 보고되고 있으며(Farber and Peterkin, 1991; Gandhi and Chikindas, 2007; Ryser and Marth, 2007; Pesavento *et al.*, 2010), 치즈, 우유 등의 유제품과 햄, 소시지 등과 같은 육제품, 두부, 훈제연어, 기타 즉석섭취 편의식품 (ready-to-eat food) 등에 오염되어 식중독 사건을 발생하여 대량 회수된 보고가 있다(Carminati *et al.*, 2004; Conly and Johnston, 2008; Farber and Peterkin, 1991; Sofos *et al.*, 2003).

*S. aureus*는 공기, 토양 등의 환경과 사람, 동물의 피부 등에, *C. perfringens*는 사람과 동물의 장과 분변 등에 존재하여 분변으로 오염된 토양이나 오물에 지속적으로 존재하여 자연계에 가장 널리 분포하고 있는 세균 중 하나로써 식품으로의 오염경로가 다양하기 때문에 식품제조과정에서 완벽한 제어가 어려워 축산식품을 포함하여 다양한 식품에 쉽게 오염된 후 균이 증식하면서 생성하는 독소에 의해 식중독을 일으키며, 식품에서 발생빈도가 높은

*Corresponding author: Jin San Moon, Livestock Product Standard Division, Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency, Anyang 430-824, Korea. Tel: 82-31-467-1991, Fax: 82-31-467-1989, E-mail: moonjs727@korea.kr

원인체이다(Atanassova *et al.*, 2001; Borch and Arinder 2002; Sofos *et al.*, 2003).

육제품은 고단백 영양소의 공급원인 반면 다른 식품보다 부패 및 변질이 쉬워 식중독 발생의 원인이 될 수 있어 일반 가열 소시지류 제품 개발시 훈연 및 열처리 프로그램에 의하여 미생물을 살균시키고, 효소를 불활성화시켜 보존성을 증진시키고 있으며, 포장지내에 산소흡착제를 첨가하여 포장하거나 기체조질 포장을 하는 비엔나 소시지 제품의 경우에는 제품 특성상 포장 후 2차 가열이 곤란하여 가열처리가 완료된 제품을 무균포장실로 이송시켜 포장작업자의 손에 의해 오염되는 것을 차단하기 위해 자동포장하고 있다(Gormley *et al.*, 2010; Jung, 2011).

하지만, 국내 가열 햄 및 소시지류 일부 제조공장에서 대장균 및 식중독균에 대한 제어방안으로서 훈연에 의한 가열 살균을 한 다음 포장 후 85-90°C 열탕에서 15-20분 정도 2차 가열살균을 실시하고 있으며 가열처리 온도들은 각 회사의 제품 특성에 맞도록 설정하여 제품을 제조하고 있다. 가열 햄 및 소시지류 제조과정에서의 이러한 2차 가열살균은 제품의 맛과 식감이 저하되는 주요 원인이 되기도 한다(Jung, 2011).

그리하여 본 연구에서는 더 이상의 가열 조리 없이 즉석으로 섭취할 수 있는 식품군인 햄류 및 소시지류에 대하여 2차 가열살균을 추가적으로 실시하는 제조공장에서 1차 가열살균만을 했을 때와 1차와 2차 가열살균 과정을 모두 했을 때의 *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes* 및 *C. perfringens*의 4종 식중독 세균 오염 여부를 조사하였다.

재료 및 방법

검사시료와 표준균주

2010년 2월부터 11월까지 햄 및 소시지 제조과정에서 1차 및 2차 가열을 실시하고 있는 10개의 육가공장에서 햄류 53개 품목과 소시지류 37개 품목의 동일 롯데에서 1차 가열 시료와 2차 가열까지 실시한 제품을 선택하여 한 품목당 6개씩 채취하였다(Fig. 1). 채취된 햄류는 육함량 85%인 프레스햄과 육함량 75% 이상이고 전분 8% 이하인 혼합프레스햄이었으며, 소시지는 육함량이 70% 이상이며 전분이 10% 이하인 가열소시지였다.

채취된 시료는 “축산물의 가공기준 및 성분규격”에 따라 *S. aureus*, *C. perfringens*, *L. monocytogenes* 및 *Salmonella* spp.에 대한 정성검사를 실시하고 양성시료에 대해서는 추가적으로 정량검사를 실시하였다(Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency Notification, 2011). 미생물 검사시 대조로 사용한 표준균주로는 *S. aureus* ATCC 25923, *C. perfringens* KCTC 3269, *L. monocytogenes* ATCC 19113, *Salmonella enteritidis* ATCC 4931 균주를 각각 사용하였다.

식중독 세균 정성 및 정량 시험

S. aureus

시료 25 g을 225 mL의 10% NaCl을 첨가한 Bacto™ tryptic soy broth(BD, USA)에 접종하여 35-37°C에서 18시간 증균 배양하고, 이를 Baird-Parker(BD, USA) 배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양하였다. 의심 집락을 선택하

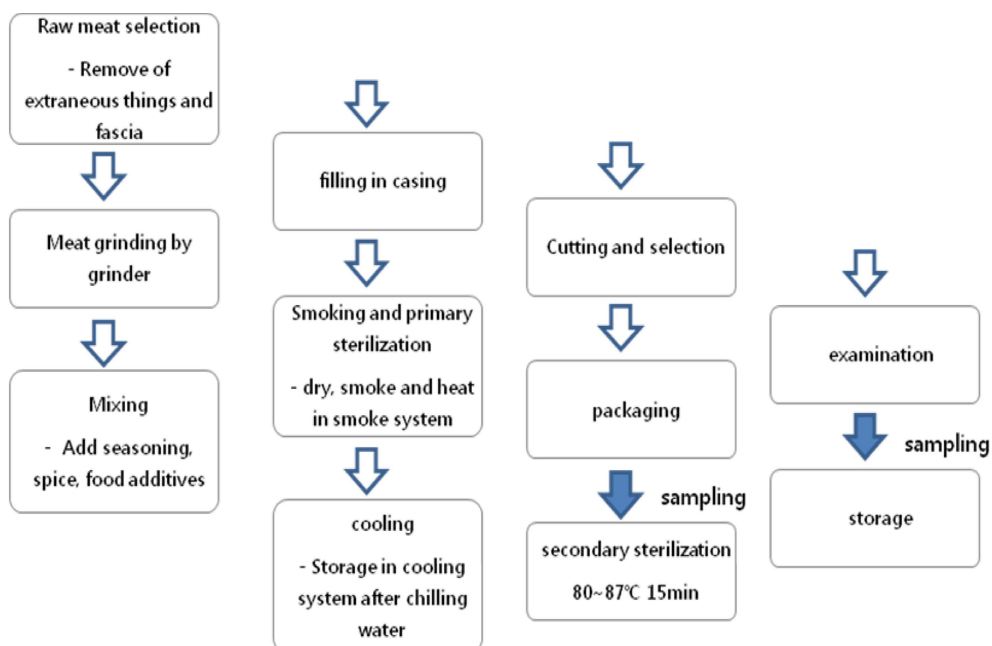


Fig. 1. General manufacturing procedure of cooked hams and sausages in Korea.

여 그람염색을 실시하여 포도상의 배열을 갖는 그람양성 구균을 확인하고, 혈액배지에서 용혈성을 검사하였다. 포도상의 배열을 갖는 그람양성구균이 확인된 것은 coagulase test(BD, USA)를 실시하였다. 또한 순수 분리된 배양균을 영양배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양하고, 배양균의 희석액을 Gram Positive 카드에 주입하여 자동미생물 동정장치(VitekII Compact system, BioMerieux, France)로 최종 동정하였다. 정성 검사결과 양성이 확인된 시료에 대해서는 Egg yolk tallurite가 함유된 Baird parker agar(BD, USA) 3개에 10⁻¹에서 10⁻³까지 단계 희석한 희석액을 각각 0.3, 0.4, 0.3 mL씩 도말하였다. 배양 후 전형적인 집락에 대한 확인검사를 실시하고 희석배수를 곱하여 집락을 계수하여 균수를 측정하였다.

C. perfringens

시료 25 g를 225 mL의 Cooked Meat Medium(Oxoid, England)에 접종한 다음, 이것을 혐기성 균배양조(BBL GasPak® System, USA)에 넣고, 혐기용 가스팩(GasPak™ EZ Anaerobe Container System, BD, USA)을 넣어 혐기 조건을 조성하여 35°C에서 18-24시간 배양하였다. 증균액을 TSC Agar(Merck, Germany)에 도말하여 37°C에서 18-24시간 동일하게 배양하였다. 의심 집락에 대해 그람염색, Lecithinase test, Lactose 이용능 등을 검사하고 VitekII Compact system(BioMerieux, France)으로 최종 동정하였다. 정성검사결과 양성으로 확인된 시료를 0.1% 멸균 peptone water 용액을 사용하여 10⁻¹에서 10⁻⁴까지 단계 희석하여 균질화한 후 각 단계별로 희석액 1 mL을 선택배지인 TSC Agar(Merck, Germany)에 도말하였다. 한 희석배수에 대해 2개의 평판을 사용하며, 도말 한 후 다시 15 mL 가량의 배지를 중층하였다. 배지가 굳으면 35±1°C에서 48±2시간 배양한 후 colony를 계수하여 CFU/g로 나타내었다.

L. monocytogenes

시료 25 g에 Listeria Enrichment Broth(BD, USA) 225 mL를 첨가하여 균질화한 다음, 35±1°C에서 24-48시간 동안 증균 배양하였다. 1차 증균 배양액 0.1 mL를 취하여 Fraser Broth(Difco, USA) 9.9 mL에 접종하여 35°C±1에서 24시간 동안 2차 증균 배양을 실시하였다. 2차 증균 배지로부터 선택배지인 Oxford agar(Oxoid, England)에 희석 접종하여 35±1°C에서 48±2시간 배양하였다. 배양 후 전형적인 집락을 선택하여 확인검사를 실시하였다. 분리된 균주를 그람 염색하여 현미경으로 관찰하여 그람 양성 간균임을 확인하였다. 또한 Catalase test(BD, USA)를 실시하기 위하여 슬라이드 글라스위에서 hydrogen peroxide 한 방울과 순수 분리된 균을 반응시켜 산소방울이 관찰되는지 확인하였다. 순수 분리된 균주를 혈액배지에 도말하여 전형적인 β-용혈성을 확인하였으며, 또한 motility test

medium(BD BBL™, USA)에 균을 천자하여 35°C±1에서 18-24시간 동안 배양한 뒤, 균의 운동성 여부를 관찰하였다. CAMP test를 실시하기 위하여 분리 균주가 면양혈 액한천배지에서 β-hemolytic *S. aureus*와의 교차부분에서 화살표 모양의 양성 결과를 보이는지 확인하였으며, 자동 미생물동정장치(VitekII Compact system, BioMerieux, France)로 최종 동정하였다. 정성분석에서 양성으로 최종 확인된 시료를 0.85% 멸균 NaCl용액을 사용하여 10⁻¹에서 10⁻⁴까지 단계 희석하여 균질화한 후 각 단계별로 희석액 1 mL을 선택배지인 Palcam agar(Oxoid, England)에 2장씩 도말하여 35-37°C에서 18-24시간 배양한 후 colony를 계수하여 CFU/g로 나타내었다.

Salmonella spp.

시료 25 g에 225 mL의 BPW(Merck, Germany)를 첨가하여 36±1°C에서 18-24시간 배양한 후 이 배양액을 10 mL의 TT broth(BD, USA)에 1 mL를 첨가함과 동시에 10 mL의 RV broth(Merck, Germany)에 0.1 mL를 첨가하여 각각 36±1°C 및 42±0.5°C에서 20-24시간 동안 증균배양하였다. 각 증균액을 Rambach Agar(Merck, Germany) 및 XLD Agar(BD, USA)에 도말한 후 36±1°C에서 20-24시간 배양하였다. 의심 집락을 TSI Agar(BD, USA) 또는 LIA (Biolife, Italia) 사면배지에 천자하여 37±1°C에서 20-24시간 배양하여 성상을 확인하였다. TSI 또는 LIA 검사결과 살모넬라균으로 추정되는 경우에 그람염색을 실시하여 그람 음성의 간균임을 확인하고, 자동미생물동정장치(VitekII Compact system, BioMerieux, France)으로 생화학적 검사를 실시하여 *Salmonella* spp. 임을 확인 하였다.

분리주의 특성 조사

*S. aureus*와 *C. perfringens*의 toxin 생성여부

*S. aureus*가 검출된 시료에 대하여 toxin 생성능을 검사하기 위하여 VIDAS®(BioMerieux, France) Staphylococcal enterotoxins kit를 이용하여 A, B, C, D, E toxin에 대한 스크리닝 검사를 실시하였다.

*C. perfringens*가 검출된 시료에서 toxin 생성능을 검사하기 위하여 α, β, ε, ι toxin에 대한 multiplex PCR를 실시하였다(Yoo, 1997). 즉, tryptic soy agar(BD, USA)에서 배양한 분리주를 멸균증류수 0.5 mL에 넣고 부유액을 만들어 이를 100°C에서 15분간 끓인 후, 4°C 8,000 g (Beckman coulter, USA)로 5분간 원심분리하여 그 상층액을 template DNA로 사용하였다. PCR premix(Bioneer, Korea)에 100 ng의 DNA template를 넣고, 100 pmol의 primer 1 μL를 첨가하여 최종 20 μL가 되도록 증류수를 분주하였다. Thermal cycler(Bio-rad, USA) 상에서 94°C 5분간 변성시킨 후, 94°C에서 1분, 55°C에서 1분, 72°C에

서 1분으로 30회 반복하였다. 증폭한 반응산물은 1.5 % agarose gel(Cambrex, USA)에서 전기영동하여 증폭유무를 관찰하였다.

PFGE에 의한 *L. monocytogenes*의 유전적 특성

L. monocytogenes 분리균주간의 상관성을 알아보기 위하여 Graves and Swaminathan(2001)의 방법을 사용하여 PFGE를 실시하였다. 즉, 분리된 균주를 농도[Biomerix Vitek Colorimeter, 10%(O.D.₆₁₀=1.4)]에 맞게 준비하여 agarose plug(1.2% Seakem Gold Agarose)를 제작하였다. Lysozyme 10 mg/mL을 첨가하여 진탕항온수조를 사용하여 35°C에서 100 rpm으로 반응시켜 cell lysis를 실시하였다. 단백질을 제거를 위해 Proteinase K(20 mg/mL)를 처리한 후 54°C 진탕항온수조에서 5회 15분 동안 세척하였다. 제한효소 반응조건은 *ApaI*(200 unit, Takara, Japan)으로 37°C에서 overnight 하였다. 처리된 시료는 CHEF MAPPER™ (Bio-rad, USA)를 사용하여 6 V/cm에서 1% agarose gel 0.5×TBE로 전기영동을 실시하였다. 14°C에서 4초에서 40초까지 pulse time을 가진 linear ramping factor는 19시간으로 적용하였다. PFGE profile은 Bio Numerics software version 6.6(Applied Maths, USA)을 사용하여, maximum optimization 1%로 각 균주마다 상동성을 비교하여 알고리즘을 작성하여 분석하였다(Hunter and Gaston, 1988).

통계분석

세균 균주별로 햄류와 소시지류에서 각각 전체 채취시료 대비 양성 시료수를 나타내어, 전체 시료수(N)에 대비한 양성 시료수(n)의 비율인 검출률(n/N, prevalence)을 산출하였다. 각각의 검출률에 대한 95% 신뢰구간(confidence interval, C.I.)을 함께 추정하였다. 양성 시료수가 있는 경우에는 이항 분포에 의하여 산출한 기대치에 근거하여 신뢰구간을 산출하였으며, 양성 시료수가 없는 경우에는 최대우도법(maximum likelihood estimates)에 의하여 신뢰구간의 상한 값을 추정하였다(Algresti, 2007). 햄류와 소시지류에 대한 전체 검출률은 전체 시료수(N)에 대한 각 제조공장에서 채취한 시료수(n_i)의 비율(n_i/N)을 산출하여 이를 가중치로 고려하여 각 제조공장의 검출률(p_i)과 곱하여 합한(Sp_i*n_i/N) 가중 검출률(weighted prevalence)로 산출하였다. 햄류 및 소시지류의 검출률과 1차 가열살균만 처리한 제품과 1차와 2차 가열 살균 과정을 모두 처리했을 때의 각 식중독균의 검출률을 비교하기 위하여, 검출률에 대한 95% 신뢰구간을 산출한 후 신뢰구간이 겹칠 경우에는 두 제품군의 가중 검출률 사이에 유의한 차이가 없는 것으로 간주하였다.

결 과

햄 및 소시지 제조공장에서 식중독 4종 세균의 검출률 조사

햄 및 소시지 10개의 제조공장에서 채취한 시료 총 1,080건에 대하여 식중독균 4종 검사를 실시하였다. 그 결과 7개 회사에서 제조된 햄류 제품에서 7건, 소시지류 제품에서 10건의 식중독균이 각각 검출되었다(Table 1). *S. aureus*는 2개 제조회사에서 생산한 햄 4건(0.6%, 95% C.I. 0.01-1.2%)의 시료에서 검출되었으며, 그 중 3건은 1차 가열살균만을 처리한 제품에서(0.6%, 95% C.I. 0-1.2%), 나머지 1건은 2차 가열살균까지 처리한 제품에서(0.2%, 95% C.I. 0-0.5%) 각각 검출되었다. 반면 소시지류 제품에서는 *S. aureus*균이 검출되지 않았으나 최대우도법에 의한 95% 신뢰구간의 상한값이 0.4%로서 햄류의 신뢰구간과 중복되어 햄류와 소시지류의 검출률에는 유의한 차이가 없었다. *C. perfringens*는 3개 제조회사의 햄류 3건에서 검출되었고(검출률 0.5%, 95% C.I. 0-1.0%), 소시지류에서는 검출되지 않았다. 이중 1차 가열살균만을 처리한 제품에서 1건(0.2%, 95% C.I. 0-0.5%), 2차 가열살균까지 한 제품에서 2건이(0.4%, 95% C.I. 신뢰구간 0-0.9%) 검출되었다. *L. monocytogenes*는 5개 제조회사에서 햄류 4건(검출률 0.6%, 95% C.I. 0.01-1.2%), 소시지류 8건(검출률 1.8%, 95% C.I. 0.6-3.0%)을 포함하여 총 12건이 검출되었다. 그 중 7건은 1차 가열살균 처리한 제품에서(1.3%, 95% C.I. 0.3-2.2%) 나머지 5건은 2차 가열살균까지 처리한 제품에서(0.9%, 95% C.I. 0.1-1.7%) 각각 검출되었다. 이에 반하여 *Salmonella*는 모든 시료에서 단 한 건도 검출되지 않았다.

햄과 소시지 제조과정 중 1차 가열살균 후에 채취한 시료와 2차 가열살균 후에 채취한 시료에서 검출된 3가지 식중독 세균에 대해 통계적으로 유의성 있는지를 분석한 결과, Table 2에서와 같이 검사한 모든 세균 항목에 대하여 1차 가열만 처리한 제품이나 2차 가열까지 처리한 제품에서 균 검출률에는 차이가 없는 것으로 분석되었다($p > 0.05$). 햄과 소시지로부터 식중독 균이 검출된 제조회사의 균종별 검출농도는 총 19개의 시료 중 15개 시료(78.9%)가 10 CFU/g 미만이었으며, 나머지 4개 시료는 10-100 CFU/g의 농도를 나타내었다(Table 3).

분리균주의 특성 조사

2개 제조회사의 햄으로부터 분리된 *S. aureus* 4주에 대하여 toxin 생성여부를 검사한 결과, 모든 분리주에서 toxin은 검출되지 않았다. 또한, 3개 제조회사의 햄으로부터 분리된 *C. perfringens* 3주에 대하여 PCR에 의한 toxin 생성 여부를 조사한 바 모든 균주에서 toxin은 검출되지 않았다.

2개 제조회사의 햄과 소시지류에서 분리한 *L. monocytogenes* 12주의 유전적 다양성을 조사하기 위하여 PFGE를

Table 1. Prevalence of foodborne pathogens from cooked hams and sausages in ten manufacturers

Manufacturer	Ham (n=636)		Sausages (n=444)		
	No. samples	No. positive	No. samples	No. positive	
<i>Staphylococcus aureus</i>	A	36	-	12	-
	B	72	-	108	-
	C	60	1	24	-
	D	72	-	60	-
	E	84	-	12	-
	F	96	3	48	-
	G	108	-	12	-
	H	12	-	48	-
	I	12	-	96	-
	J	84	-	24	-
Total		4		0	
W.Prevalence		0.6%		0%	
95% C.I.		(0.01-1.2)%		(0-0.4)%	
<i>Clostridium perfringens</i>	A	36	-	12	-
	B	72	-	108	-
	C	60	1	24	-
	D	72	-	60	-
	E	84	-	12	-
	F	96	1	48	-
	G	108	1	12	-
	H	12	-	48	-
	I	12	-	96	-
	J	84	-	24	-
Total		3		0	
W.Prevalence		0.5%		0%	
95% C.I.		(0-1.0)%		(0-0.4)%	
<i>Listeria monocytogenes</i>	A	36	-	12	-
	B	72	-	108	2
	C	60	-	24	-
	D	72	1	60	-
	E	84	-	12	-
	F	96	-	48	-
	G	108	1	12	-
	H	12	-	48	-
	I	12	-	96	5
	J	84	2	24	1
Total		4		8	
W.Prevalence		0.6%		1.8%	
95% C.I.		(0.01-1.2)%		(0.6-3.0)%	
<i>Salmonella</i> spp.	A	36	-	12	-
	B	72	-	108	-
	C	60	-	24	-
	D	72	-	60	-
	E	84	-	12	-
	F	96	-	48	-
	G	108	-	12	-
	H	12	-	48	-
	I	12	-	96	-
	J	84	-	24	-
Total		0		0	
W.Prevalence		0%		0%	
95% C.I.		(0-0.3)%		(0-0.4)%	

W.Prevalence: weighted prevalence (%)
95% C.I.: 95% confidence interval

Table 2. Prevalence of positive samples after 1st and 2nd sterilizations

Pathogen	After 1 st sterilization (n=540)		After 2 nd sterilization (n=540)	
	No. of positive samples	Prevalence (95% C.I.)	No. of positive samples	Prevalence (95% C.I.)
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	0.6% (0-1.2)	1	0.2% (0-0.5)
<i>Clostridium perfringens</i>	1	0.2% (0-0.5)	2	0.4% (0-0.9)
<i>Listeria monocytogenes</i>	7	1.3% (0.3-2.2)	5	0.9% (0.1-1.7)
Total	11	2.0% (0.8-3.2)	8	1.5% (0.4-2.5)

Table 3. The contamination levels of food borne pathogens in cooked hams and sausages (CFU/g)

Manufacturer		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Clostridium perfringens</i>		<i>Listeria monocytogenes</i>	
		<10	10-100	<10	10-100	<10	10-100
B	Hams	-	-	-	-	-	-
	Sausages	-	-	-	-	-	2
C	Hams	1	-	1	-	-	-
	Sausages	-	-	-	-	-	-
D	Hams	-	-	-	-	1	-
	Sausages	-	-	-	-	-	-
F	Hams	2	1	1	-	-	-
	Sausages	-	-	-	-	-	-
G	Hams	-	-	-	1	1	-
	Sausages	-	-	-	-	-	-
I	Hams	-	-	-	-	-	-
	Sausages	-	-	-	-	5	-
J	Hams	-	-	-	-	2	-
	Sausages	-	-	-	-	1	-
Total		3	1	2	1	10	2

실시한 바, Fig. 2에서의와 같이 1주를 제외한 11주에서 분석되었으며, 각 profile들은 12-16개의 단편으로 구성되었고 80 kb에서 1,200 kb 사이에서 분포하였으며, 동일 가공장에서 분리된 J-1, J-2, J-3 균주들과 I-3, I-4, I-5 균주들은 80% 이상의 높은 상동성을 가진 것으로 나타났다.

고 찰

축산식품에서의 *L. monocytogenes* 검출률은 벨기에의 육 가공품중 가열 처리된 제품과 염치처리하되 가열과정을 거치지 않는 제품에서 각각 4.90%와 13.71%로 조사되었다(Uytteendaele *et al.*, 1999). 또한 이탈리아에서의 가열과정을 거치지 않는 신선 및 발효 소시지에서의 *L. mono-*

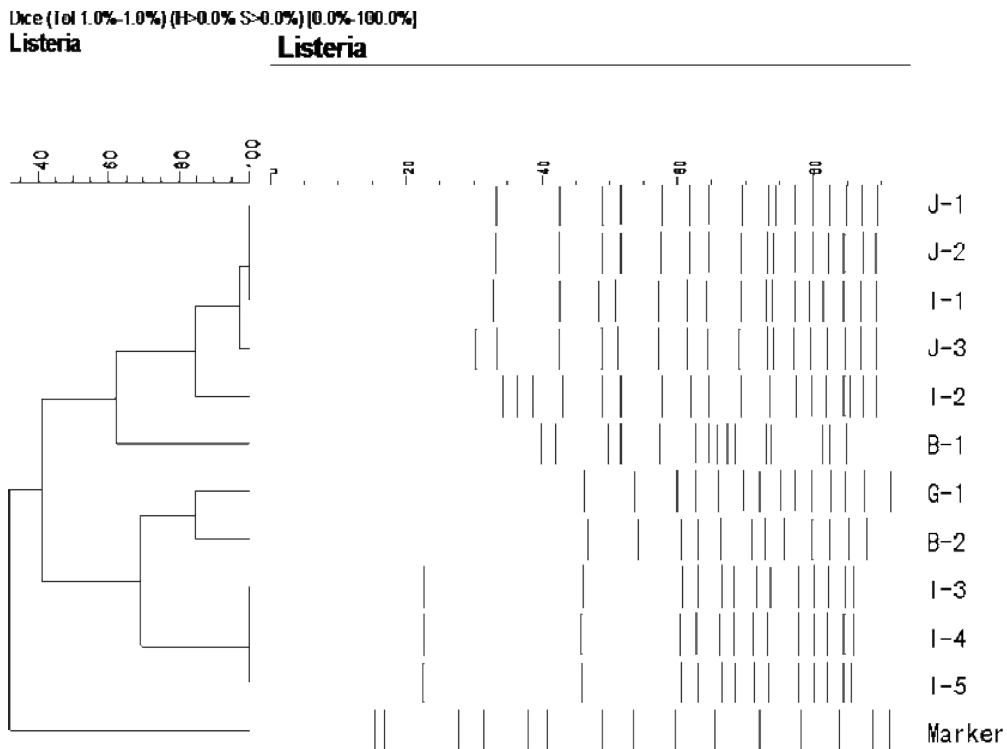


Fig. 2. PFGE dendrogram of *Listeria monocytogenes* isolates from cooked hams and sausages in four manufactures.

*cytogenes*의 검출률은 각각 38.9%와 15.2%로 보고하였다 (Cesare *et al.*, 2007). 독일의 가열처리과정을 거친 육제품의 *L. monocytogenes* 검출률은 3.7%로 나타났으며, 그 중에서도 특히 10 CFU/g 이상의 높은 농도의 검출은 0.5%로 조사되었으며, 특히 절단하는 경우와 절단하지 않는 경우에 1.56%와 6.65%의 검출률을 나타내어 상당한 차이를 보였는데, 이는 가공과정 후 오염에 의한 것으로서 절단 이후에 추가적인 오염을 막는 것을 주요 관리요소로 제시하였다(Noack and Joeckel, 1993). 본 연구에서 열처리 과정을 거치는 국내산 햄류와 소시지류의 *L. monocytogenes*의 오염율이 각각 0.6%, 1.8%로 조사되어 외국에서 보고한 검출률보다는 낮은 결과를 나타내었다.

한편, 영국에서 Nichols and Louvois(1995)는 조리되지 않은 신선 및 냉동소시지 786개의 시료에 대하여 *Salmonella* spp. 오염여부를 조사한 바 136개(17%)가 오염된 것으로 보고하였다. 또한, 아일랜드의 cooked meat 시료에서 0.1%, raw meat 시료에서 *Salmonella* spp.의 검출률이 0.9-1.2%로 보고되었다(Jordan *et al.* 2006). 독일의 훈연과정을 거친 햄에서 *S. aureus*의 검출률은 11.1% 수준으로 보고하였다(Atanassova *et al.*, 2001). 본 연구에서 *S. aureus*와 *Salmonella* spp. 검출률이 각각 1.1%와 0%로 조사됨으로써 국내산 햄 및 소시지류의 오염률은 외국에 비하여 낮은 것으로 나타났다.

위와 같이 국가별 햄과 소시지류 제품에 있어서 이러한 식중독균 오염률의 차이는 제품별, 그리고 미생물 종류별

국가간 관리기준의 차이에 의한 것으로 사료된다. 즉, 국내의 경우에는 즉석제조(Ready-to-eat; 이하 RTE) 제품을 포함한 육제품에서 *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus* 및 *C. perfringens* 등 6종 식중독균은 음성으로 규정되어 있다(Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency Notification, 2011). 이와 비교하여 유럽에서는 즉석섭취제품에 대하여 *Salmonella*는 n=5, c=0, m=0 CFU/25 g으로 관리하고 있다. 또한 *L. monocytogenes*에 대한 기준은, 육제품의 특성과 유통온도 등을 감안하여 *L. monocytogenes*가 성장할 수 있는 즉석섭취식품은 가공장에서 n=5, c=0, m=0 CFU/25 g, 판매장에서 n=5, c=0, m=100 CFU/g 이고, *L. monocytogenes*가 성장할 수 없는 즉석섭취식품은 n=5, c=0, m=100 CFU/g로서 2군법으로 정량화시켜 규제하고 있는 실정이다(Commission Regulation, 2005). 호주와 뉴질랜드에서는 Coagulase positive Staphylococci는 3군법으로서 n=5, c=1, m=100 CFU/g, M=1000 CFU/g, *Salmonella*(n=5, c=0, m=0 CFU/25 g), *L. monocytogenes* (n=5, c=0, m=0/25 g)와 비가열제품에 대하여 *E. coli*(n=5, c=1, m=3.6, M=9.2 CFU/g), *S. aureus*(n=5, c=1, m=1,000 CFU/g, M=10,000 CFU/g), *Salmonella*(n=5, c=0, m=0 CFU/25 g)에 대한 관리기준이 각각 설정되어 있다(Food Standards Australia New Zealand, 2001).

미국에서는 육제품에 대하여 공통적으로 적용되는 미생물의 기준 규격은 없으나 각 제품에 따라 가열처리기준

(온도/유지시간)을 정해 놓고 일정한 열처리 기준에 의거 해당 미생물을 제어하고 있다. 주요 위해 요소(critical control point)와 HACCP 프로그램이 제품 형태와 상황에 따라 각 해당 제품에 적용하고 이에 따른 위해성 평가(risk assessment)를 수행하여 육제품을 가열 및 비가열 제품으로 구분하고 있다. 가열제품의 경우에는 *Salmonella*, *L. monocytogenes* 음성으로, 비가열제품의 경우에는 *Salmonella*, *S. aureus* enterotoxin, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* 균이 검사시료 25 g중 2개의 colony 이하이며, RTE 제품에 대해서는 zero tolerance 기준으로 설정하고 있다(Food Safety and Inspection Service, 2003). 일본에서는 육의 중심부 온도가 63°C/30분 또는 동등이상의 효력이 있는 방법으로 처리한 본레스햄, 로스햄, 비엔나소시지, 후랑크후르트소시지, 베이컨 등의 가열식육제품의 경우 포장후 가열제품과 가열후 포장제품으로 분류하여 포장후 가열제품에 있어서는 Coliforms 음성/g, *Clostridium* spp. g당 1000 CFU 이하로, 가열후 포장제품은 *E. coli* 음성/0.1 g, *Salmonella* spp. 음성/25 g, *S. aureus* g당 1000 CFU 이하로 관리기준이 제시되고 있다(Japan Ministry of Health, Labour and Welfare, 2012).

국내에서도 일본과 유사하게 햄이나 소시지류 대부분의 제품이 열처리 과정을 거쳐서 생산되고 있지만 식중독균의 관리 규정을 준수하기 위하여 1차 가열공정 및 포장 이후에 2차적인 가열살균처리를 하고 있는 실정이다(Jung, 2011). 가열과정을 거친 햄이나 소시지류에서는 1차 가열 시 중심부 온도가 63°C에서 30분 이상 열처리되므로 대부분의 세균은 사멸된다. 하지만 본 연구에서 일부 제조회사의 햄과 소시지류 제품에서 2차 가열 살균 후 식중독 세균이 오염된 것은 1차 가열 시 완전히 사멸되지 않은 병원성 세균이 잔존하거나, 1차 가열 후 이동과정에서 세균 노출 및 포장과정에서의 이차오염에 의한 것으로 사료된다(Beumer *et al.*, 1996; Cesare *et al.*, 2007; Gormley *et al.*, 2010; Kathariou, 2002; Tompkin, 2002). 한편, 본 연구에서 소시지류가 햄류보다 식중독 세균 검출률이 더 높게 나타났는데 이러한 결과는 제품 원료의 구성 차이로서 햄보다는 소시지류가 상대적으로 육 함량이 낮고, 전분 등 다른 원료가 고기대신에 첨가되기 때문에 오염 가능성이 높아졌을 것으로 판단된다.

Rivoal 등(2010)은 축산물의 가공장에서 동일한 균주가 지속적으로 몇 주 간격으로 중복 검출되었음을 설명하였으며, Thevenot 등(2006)은 원료육으로부터 *L. monocytogenes* 균이 가공장으로 오염되어 비슷한 pulsotype의 균들이 검출되는 것을 지적하며, 이러한 세균의 관리를 위해서는 원료 단계에서의 관리와 더불어 제조과정에서의 철저한 소독과 세척을 강조하고 있다. 본 연구에서 동일한 육가공장에서 생산된 제품들에서 상동성이 높은 *L. monocytogenes*의 검출결과가 이러한 사실을 뒷받침 해주는 것으로 사료

된다. 국내에서도 일부 소시지와 같은 제품에 있어서는 포장단계의 오염을 막기 위해 이 과정을 진공으로 처리된 구획에서 실시하거나, 포장단계에서 표면에 오염될 가능성이 있는 제품을 염두에 두고, 포장이 끝난 이후 85±3°C의 온탕에서 표면 가열로 2차 살균을 실시하고 있다(Jung, 2011).

본 연구에서 국내에서 햄류 및 소시지류 제조공장에서 2차 가열을 추가적으로 실시해도 일부 식중독 세균을 완전히 제어하는데 있어서 문제점이 있는 것으로 나타났다. 식중독균의 완전한 제어를 위해서는 무엇보다도 돈육, 양념류 등의 원료를 포함하여 작업자, 작업 기구 및 도구, 작업환경 등 원료단계에서부터 가공 과정에서의 교차 오염을 예방하기 위한 적절한 위생관리와 철저한 모니터링이 필요할 것으로 사료된다. 특히, *L. monocytogenes*와 같은 세균은 냉장상태에서 성장가능하고, biofilm을 형성함으로써 생산가공장에 지속적으로 생존하여 이차 감염에 대한 가능성이 존재할 수 있으므로 이에 대한 대책을 강구하여야 할 것이다. 이와 더불어 *S. aureus*와 *Cl. perfringens*의 경우에는 자연계에 광범위하게 분포하고 있으며 식품에 쉽게 오염될 수 있는 반면, 균이 증식하면서 생성하는 독소에 의해 식중독이 발생하기 때문에 외국에서와 같이 위해성 평가에 기초하여 정량적 기준 설정이 필요할 것으로 판단된다.

요 약

현재 국내 일부 햄과 소시지류 제조공장에서 식중독 세균에 대한 제어방안으로서 1차 가열살균 이후 제품포장 단계에서 2차 가열살균을 추가적으로 실시하고 있다. 이에 본 연구에서는 2010년 2월부터 11월까지 국내 10개 육가공제조회사에서 햄류 53개 품목과 소시지류 37개 품목의 동일 롯데에서 1차 가열 시료와 2차 가열까지 실시한 시료를 각각 6개씩 채취하여 축산물의 가공기준 및 성분 규격에 따라 *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes* 및 *C. perfringens* 식중독 세균 오염 여부를 조사하였다. 햄과 소시지류 총 1,080건에 대한 검사 결과 *S. aureus*는 2개 제조회사에서 생산한 햄 4개 시료에서 검출되었으며, 그 중 3건은 1차 가열제품에서 나머지 1건은 2차 가열살균까지 처리한 제품에서 검출되었다. *L. monocytogenes*는 5개 제조회사에서 햄류 4건, 소시지류 8건을 포함하여 총 12건이 검출되었으며, 그 중 7건은 1차 가열 처리한 제품에서, 나머지 5건은 2차 가열까지 처리한 제품에서 각각 검출되었다. *C. perfringens*는 3개 제조회사의 햄류 1건과 소시지류 2건에서 검출되었으며, 1차 가열만 한 제품에서 1건, 2차 가열까지 한 제품에서 2건이 각각 검출되었다. 이에 반하여 *Salmonella* spp.는 한 건도 검출되지 않았다. 1차 가열살균 제품과 1차와 2차 가열살균 과정을 모두 처

리했을 때를 비교하면 3가지 식중독 세균의 검출률에 있어서 차이가 없는 것으로 분석되었다($p < 0.05$). 또한, 제조회사의 햄과 소시지류에서 분리된 *L. monocytogenes* 균주를 대상으로 유전적 다양성을 조사하기 위하여 PFGE를 실시한 바, 동일 가공장에서 분리된 균주들간 80% 이상의 높은 상동성을 가진 것으로 조사되었다. 이러한 결과에 비추어 볼 때 햄 및 소시지류 제조회사에서 식중독 세균의 제어를 위해서는 원료 및 제조단계에서부터 가공 과정에서 교차 오염을 예방하기 위한 적절한 위생관리와 철저한 모니터링을 통하여 체계적인 식중독 세균에 대한 위생관리를 완성하여야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산검역검사본부 수의과학기술개발 연구사업의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

- Algestri, A. (2007) An introduction to categorical data analysis. John Wiley & Sons, Inc., NJ. pp. 6-10.
- Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency Notification (2011) Standards for Processing and Ingredients Specifications of Livestock Products. pp. 203-213.
- Atanassova, V., Meindl, A., and Ring, C. (2001) Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham—a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. *Int. J. Food Microbiol.* **68**, 105-113.
- Beumer, R. R., de Giffel, M. C., Boer, E. and de Rombouts, F. M. (1996) Growth of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked meat products. *Food Microbiol.* **13**, 333-340.
- Borch, E. and Arinder, P. (2002) Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures. *Meat Sci.* **62**, 381-390.
- Carminati, D., Perrone, A., Giraffa, G., Neviani, E., and Mucchetti, G. (2004) Characterization of *Listeria monocytogenes* strains isolated from Gorgonzola cheese rinds. *Food Microbiol.* **21**, 801-807
- Commission Regulation (2005) No 2073/2005 on microbiological criteria for food stuffs, Official Journal of the European Union 22.12. Available from: http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/salmonella/microbio_en.htm Accessed Feb. 9, 2012.
- Conly, J. M. and Johnston, B. L. (2008) Listeria: A persistent food-borne pathogen. *Can. J. Infect. Dis. Med.* **19**, 327-328.
- de Cesare, A., Mioni, R., and Manfreda, G. (2007) Prevalence of *Listeria monocytogenes* in fresh and fermented Italian sausages and ribotyping of contaminating strains. *Int. J. Food Microbiol.* **120**, 124-130.
- Farber, J. M., Peterkin, P. I. (1991) *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.* **55**, 476-511.
- Food Safety and Inspection Service. (2003) Control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat and poultry products; final rule, Federal Register **68**, 34208-34254.
- Food Standards Australia New Zealand. (2001) STANDARD 1.6.1 Microbiological limits for food.
- Gandhi, M. and Chikindas, M. L. (2007) Listeria: A food-borne pathogen that knows how to survive. *Int. J. Food Microbiol.* **113**, 1-15.
- Gormley, F. J., Little C. L., Grant, K. A., de Pinna, E., and McLauchlin, J. (2010) The microbiological safety of ready-to-eat specialty meats from markets and specialty food shops: A UK wide study with a focus on *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiol.* **27**, 243-249.
- Graves, L. M. and Swaminathan, B. (2001) Pulse Net standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and pulsed-field gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol.* **65**, 55-62.
- Hunter, P. R. and Gaston, M. A. (1988) Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of simpson's index of diversity. *J. Clin. Microbiol.* **26**, 2465-2466.
- Japan Ministry of Health, labour and Welfare. Specifications and Standards for Food, Food Additives, Available from: http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/jigyousya/shokuhin_kikaku. Accessed Feb. 9, 2012.
- Jordan, E., Egan, J., Dullea, C., Ward, J., McGillicuddy, K., Murray, G., and Murphy, A. (2006) Salmonella surveillance in raw and cooked meat and meat products in the Republic of Ireland from 2002 to 2004. *Int. J. Food Microbiol.* **112**, 66-70.
- Jung, S. H. (2011) Manufacturing technology of ham and sausage. Korea Meat Industries Association. pp.147-197.
- Kathariou, S. (2002) *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *J. Food Prot.* **65**, 1811-1829.
- Nichols, G. and de Louvois, J. (1995) The microbiological quality of raw sausages sold in the UK. *PHLS Microbiol. Digest* **12**, 236-242.
- Noack, D. J. and Joeckel, J. (1993) *Listeria monocytogenes*, occurrence and significance in meat and meat products and experience with recommendations for its detection and assessment. *Fleischwirtschaft* **73**, 581-584.
- Pesavento, G. B., Ducci, D., Nieri, N., Comodo, A., and Nostro, L. (2010) Prevalence and antibiotic susceptibility of *Listeria* spp. Isolated from raw meat and retail foods. *Food Control* **21**, 708-713.
- Rivoal, K., Queguiner, S., Boscher, E., and Bougeard. S. (2010) Detection of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurized liquid whole eggs and characterization by PFGE. *Int. J. Food Microbiol.* **138**, 56-62.
- Ryser, E. T. and Marth, E. H. (2007) Listeria, listeriosis and food safety (3rd ed), CRC Press, Boca Raton, USA.
- Sofos, J. N., Skandamis, P., Stopforth J. D., and Bacon, T. (2003) Current issues related to meatborne pathogenic bacteria. Proceedings of the 56th Reciprocal Meat Conference. pp.

- 33-37.
27. Thevenot, D., Delignette-Muller M. L., Christieans, S., Leroy, S., Kodjo, A., and Vernozy-Rozand, C. (2006) Serological and molecular ecology of *Listeria monocytogenes* isolates collected from 13 French pork meat salting-curing plants and their products. *Int. J. Food Microbiol.* **112**, 153-161.
28. Tompkin, R. B. (2002) Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. *J. Food Prot.* **65**, 709-725.
29. Uyttendaele, M., Troy, P. De., and Debevere, J. (1999) Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. *Int. J. Food Microbiol.* **53**, 75-80.
30. Yoo, H. S. (1997) Molecular typing and epidemiological survey of prevalence of *Clostridium perfringens* types by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 228-232.
-
- (Received 2011.12.6/Revised 1st 2012.2.10, 2nd 2012.2.13/
Accepted 2012.2.15)