

식품 유래 병원균 제어를 위한 파아지의 이용

Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods.

홍제일, 장현주*

Jeil Hong, Hyun-Joo Chang*

한국식품연구원 식품안전연구단

Food Safety Research Group, Korea Food Research Institute

1. 서론

식품 시장은 점차 대형화 및 세계화되고, 새로운 가공 방법과 최소한의 가공, 신선 및 즉석 식품 등의 요구가 증대되는 추세이다. 이에 따라 푸드 체인은 점점 더 길어지고 복잡해져 병원성 세균 및 바이러스의 위해 가능성은 점점 더 커지고 있다. 세균은 도살, 착유, 발효, 가공, 저장 및 포장 등 푸드 체인의 각 단계에서 식품에 오염될 수 있으므로 지난 몇 년 동안 미생물학적 피해를 최소화하는 많은 전략들이 있었지만 항생제의 사용은 부정적인 영향으로 인해 사용이 제한되어왔고, 열, 자외선 등과 같은 물리적 처리는 관능 특성의 변화 등의 문제가 생기기도 한다. 게다가, 광범위한 소독제의 이용이 저항성 세균의 발달을 유도할 수 있다. 즉, '농장에서 식탁까지' 미생물학적 위해로부터 안전하게 식품을 보존할 수 있는 더 새롭고 대체할만한 기술 개발이 절실히 요구되고 있다(1). 최근 파아지(phage, 박테리오파아지)를 이용하여 식품이나 사료 중 병원균을 제어하는데 관심이 커지고 활발한 연구개발 및 제품화가 이루어지고 있다. 이미 일부 파아지 기반 제품이 식품에 사용될 수 있도록 승인되어 상업적으로 이용가능한 파아지 제품 수가 증

가하고 있다(예, LISTEXT™ P100 등). 현재 *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, 3 가지 병원균에 대해 개발 중에 있으며 앞으로 새롭게 떠오르는 병원균에 대한 파아지도 관심을 갖고 있다. 본 고찰에서는 식품과 식품 생산 환경에서 식품 유래 병원성 세균을 감소시킬 수 있는 파아지 기반 전략에 대한 최신 문헌과 현황에 대해 살펴보고자 한다.

2. 생물학적 제어제(biocontrol agent)로서의 파아지

2.1 파아지의 생활사

Ernest Hankin(1896년)과 Frederik Twort(1915년)가 처음으로 파아지를 발견하여 이것이 세균 세포에 침입하여 증식하고, 대사를 방해하여 세균이 분해 되도록 하는 바이러스임을 설명하였다. 그 후 Felix d'Herelle(1919년)가 이질 치료 요법으로 박테리오파아지를 최초로 사용하여 이것이 생물학적 제어의 첫 번째 예라고 할 수 있다. 그 당시에 임상 목적으로 다양한 병원성 세균에 대한 파아지를 상업적으로 생산하기 시작하였으나, 서구에서는 항생제의 발견으로 인해 러시아 및 동유럽에서만 꾸준히 연구가 진행되

*Corresponding author: Hyun-Joo Chang
Food Safety Research Group, Korea Food Research Institute
516, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Sungnam, Kyunggi-do, 463-746, Korea
TEL: +82-31-780-9326
FAX: +82-31-709-9876
E-mail: hjchang@kfri.re.kr

고 있었다. 최근 항생제 내성 등으로 인한 항생제 승인 기준의 엄격화, 새로운 생물학적 제어제 개발 요구 등의 이유로 인해 서구에서도 임상에서 뿐만 아니라 가축, 식품 및 식품 산업에 이용할 목적으로 활발한 연구가 진행되어 현재에 이르고 있다(1).

파아지는 약 10^{31} 개로서 지구상에서 가장 풍부한 미생물 중의 하나로서 식품 뿐 아니라 자연계에 널리 퍼져있다. 파아지는 모양, 크기, 핵산의 형태, 외피 또는 지질의 존재 여부에 따라 크게 13개 과(family)로 구분된다. 대부분은 20면체 머리와 꼬리를 가진 이중 나선 DNA인 *Caudovirales* 목(5568개 중에서 5360개)이다(그림 1a). 꼬리의 형태에 따라 *Myoviridae*(contractile tail), *Siphoviridae*(long non contractile tail) 및 *Podoviridae*(extremely short tail)로 구분되며. 나머지는 dsDNA, ssDNA, dsRNA 또는 ssRNA를 가진 정방형, 삼형 및 다형 파아지이다(2).

파아지는 생활사에 따라 virulent 파아지와 temperate 파아지로 구분된다(그림 1b). Virulent 파아지는 용균성 주기(lytic cycle)를 따르므로 세균 내에서 증식하고 결국 세균을 분해하여 파아지 자손을 방출한다. 반면에 temperate 파아지는 용원성 주기(lysogenic cycle)를 거치므로 세균의 염색체로 파아지 DNA가 삽입되고 용균성 주기로 들어가기 전까지 숙주 유전체의 일부로서 복제된다. 그래서 용원성 세균은 그 파아지와 같거나 유사한 파아지로 감염되면 면역성을 가지게

된다(3). 용균성 주기에서 숙주 인지와 흡착은 세균의 특정한 리셉터를 식별하는 파아지 꼬리 관련 단백질에 의해 부분적으로 매개된다. 비가역적인 흡착 하에서 파아지는 숙주세포 RNA 중합효소에 의해 전사되는 핵산을 주입하고 파아지 유전체가 다수 복제되어 파아지 구조 단백질 생산 방향으로 진행되어 새로운 완전한 바이러스로 조합하여 결국 숙주세균을 분해시킨다(2).

2.2 파아지 제품의 특성

파아지가 생물학적 제어제(biocontrol agent)로 식품에서 사용되기 위해 가져야 하는 바람직한 특성들을 Hagens 등은 다음과 같이 제시하였다(4): (1)타겟으로 하는 미생물 종 또는 속을 감염시킬 있도록 광범위한 숙주범위를 가져야 한다. (2)숙주를 분해시킬 수 있어야 한다(병원성). (3)비병원성 숙주에도 전파되어야 한다. (4)상업적으로 사용되는 모든 파아지의 유전체 염기서열이 알려져 있어야 한다. (5)세균 DNA와 같이 파아지 유래 DNA가 아닌 다른 DNA로 형질도입이 되지 않아야 한다. (6)파아지에는 잠재적인 알러지 유발 단백질이나 병원성 관련유전자가 없어야 한다. (7)경구투여 부작용을 나타내지 않아야 한다. (8)파아지 기반 제품이 식품에 사용되기 위해서는 GRAS(또는 Goodridge LD과 같은 식품첨가물 규제승인)가 되어야 하며 오랜 기간 저장하며 사용 시에 충분히 안정적이어야 한다. (9)파아지 제품의 대량생산이 가능해야 한다. 이와 유사하게, 식품의 수확 전후 생물학적 위생 처리를 위해 특정 파아지를 선정할 때의 의사결정도를 그림 2에 제시하였다(5).

아직 식품에서 파아지 제품이 가져야 하는 정확한 특성에 대해 논의 중이며, 파아지 제품의 산업표준화 절차가 확립되지 않았다. 식품에서 파아지를 생물학적 제어제로 사용하는 문제는 더욱 신중하게 다루어져야 한다. 또한 단일 파아지를 사용할 것인지 파아지 혼합물(phage cocktail)을 사용할 것인지, 파아지 혼합물에는 무엇을 포함할 것인지에 대한 기준이 설정되어야 하며, 점차 이러한 문제들이 해결되어야 할 것이다.

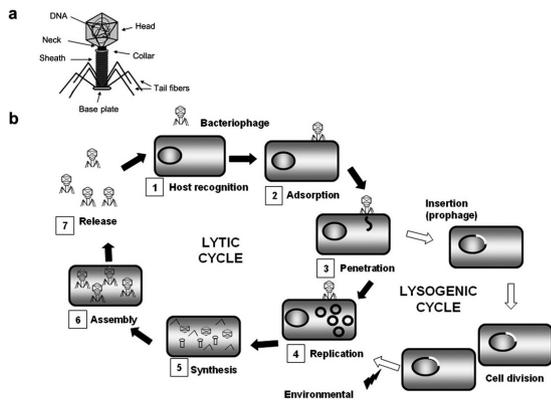


그림 1. 파아지의 구조 및 생활사
a: 전형적인 꼬리 달린 파아지의 구조;
b: 파아지의 용균성 주기와 용원성 주기

3. 수확 전(pre-harvest) 식품 유래 병원균 제어

파아지 요법은 식품처리공정에 들어가기 전인 수확 전 처리 과정에서 살모넬라, 캄필로박터, 리스테리아, 대장균 속과 같은 식품 유래 병원균을 제어하는 효과 및 소, 양, 돼지, 가금류에서의 효능이 연구되고 있다. 일반적으로 단독 파아지의 사용은 저항성을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있는 반면 파아지 혼합물 내의 여러 파아지의 동시 사용은 저항성 유발 가능성이 감소하는 것으로 알려졌다(6).

3.1 반추동물

소 등의 반추동물에서 *E.coli* O157:H7은 장이나 배설물에서 증식하기 때문에 가축을 도축하는 과정에서 병원균에 오염될 수 있다. 이 병원균을 가지고 있는 가축의 도축은 먹이사슬을 오염시킬 위험이 높기 때문에 소의 소화관에 있는 *E.coli* O157:H7의 수와 확산을 줄이기 위해 파아지 기반의 접근방식이 설계되

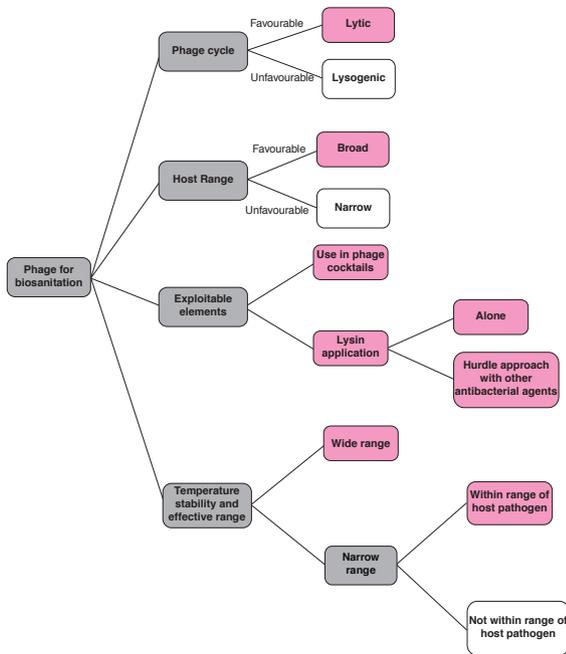


그림 2. 수확 전 또는 후 생물학적 위생 처리를 위한 특정 파아지 선택 결정도 (녹색 : 바람직함, 흰색: 바람직하지 않음)

었다. 예를 들어, 양에게 *E. coli* O157:H7 특이적 파아지(DC22)를 접종했을 때 소화관에서 *E. coli* O157:H7 수를 감소시켰으나 통계적으로 유의적이지 않았고, Bach 등은 *E. coli* O157:H7 특이적 파아지를 양에 접종했으나 *E. coli* O157:H7이 변으로 배설되는 현상을 관찰할 수는 없었다. 아마도 파아지가 식품입자에 비 특이적으로 결합했거나, 반추위나 소화관내 다른 물질로 인해 그 효과가 방해되는 것으로 사료되었다(7, 8). 파아지 혼합물을 사용한 연구들에서, 가축 분뇨샘플에서 분리한 21개의 파아지 혼합물을 *E. coli* O157:H7에 감염된 양에게 접종했을 때, 맹장과 직장 내의 *E. coli* O157:H7 수의 감소를 관찰하였다(9). 또한 양에 파아지 CEV1을 경구투여 했을 때 반추위의 *E. coli* O157:H7 수준에 변화가 없었지만 파아지 CEV2를 혼합하여 사용했을 때 *E. coli* O157:H7 감소에 매우 높은 효율을 보였다(6).

파아지 요법을 사용할 때 경구투여하면 위의 산성 조건이나 담즙과 같은 소화효소에 의해 파아지 수가 급격하게 줄어들 수 있다는 연구들이 있었는데, 창자에 KH1과 SH1 2개의 파아지를 단일 또는 파아지 혼합물로 처리했을 때, *E.coli* O157:H7 수를 줄여주었지만 완전하게 제거할 수는 없었다(8). 이상의 결과들로부터 파아지 투여량, 투여 횟수(1회 또는 연속), 투여방법(물, 사료, 직장내), 파아지 요법의 경제성 연구 등이 필요함을 알 수 있다.

3.2 돼지

Harris 등은 돼지에서 *Salmonella* 제어에 효과가 있는 26가지 파아지 혼합물을 개발하고 평가했다. 이전 연구에서는 감염된 돼지에서 파아지 혼합물로 *Salmonella*를 충분히 제어 할 수 없었다. 이 연구에 기초하여, Lee와 Harris는 3주된 돼지에 10^8 CFU의 *Salmonella enterica serovar Typhimurium*과 10^{10} PFU의 *Salmonella* 특이 파아지 Felix 01을 3시간 동안 경구 또는 근육투여 한 결과, 편도와 맹장에서는 대조군에 비해 *S. typhimurium*의 양이 확연히 감소하였다. 파아지 처리는 돼지에서 *S. typhimurium*의 빠른 전염을 막을 수 있는 단기적 방법으로 사용될 수 있을 것이라 사료된다(6).

3.3 가금류

전세계적으로 가금류 및 달걀제품의 식품 매개 질병의 대부분의 원인균이 *Salmonella* spp.와 *Campylobacter*이다. 가금류에서 파아지를 기반으로 *Salmonella*를 제어하기 위해 많은 연구가 시도되고 있다. Berchieri 등은 *Salmonella enterica serovar Typhimurium*에 감염된 갓 깨어난 병아리에 경구 또는 식이로 단일 파아지 투여 후 맹장의 *S. typhimurium* 수가 감소되지 않았고, 오히려 *S. typhimurium*가 높은 파아지 저항성을 가진다고 보고되었다. 그러나 두 번째로 파아지가 처리되었을 때에는 *S. typhimurium*이 완전히 사멸하거나, 21일 동안 56%에서 20%로 감소되었다. 구이용 영계에서 파아지 처리된 영계는 비처리군에 비해 맹장내의 *S. Enteritidis*가 감소되었다고 보고되었고, 다른 연구에서는 파아지 혼합물의 사용이 감염된 병아리의 *S. Enteritidis*를 감소시켰으나 통계적으로 유의적이지 않았다(11, 12). Toro 등은 *Salmonella* 제어를 위해 경쟁적 배제 세균과 *Salmonella* 특이적 파아지 3종류를 혼합하여 인공적으로 감염시킨 닭에 처리하였는데, 비처리군과 비교해서 나머지군 모두 맹장과 소장에서 *Salmonella* 수의 감소를 확인하였다(13).

*Salmonella enterica serotypes Enteritidis, Hadar, Typhimurium*에 대해 넓은 숙주범위를 가지는 3개의 파아지를 새에 처리했을 때, 파아지 투여량이 많을수록 *Salmonella* 저항성 비율이 높아진 결과를 통해 *Salmonellae* 제어를 위한 핵심 요인은 적절한 파아지의 선정, 파아지 투여시기와 방법의 최적화이다(14). 파아지 투여 방법이 미치는 효과를 관찰하기 위해 Borie 등은 닭에 *S. Enteritidis*를 감염시키고 3가지 파아지를 사용했을 때, 스프레이법과 식수 모두 닭의 장에서 *S. Enteritidis*의 증식을 감소시키는 것으로 나타났다(15). 종합해보면, 반추위동물 및 가금류의 식품 유래 병원균 제어에 파아지의 사용이 성공적이었지만 살아있는 동물에 적용하는 것에 대해서는 아직 많은 도전이 직면해 있다. 대규모로 연구되기 전에 먼저 살아있는 동물을 대상으로 한 파아지 기반 제품의 규제 승인이 필요하다.

파아지는 가축의 가축에서 고기로 *E. coli* O157:H7과

Salmonella spp. 등의 병원균이 전이 되지 않도록 세균 수를 감소시키는데 도움이 된다. Omnilytics사(Salt Lake City, 미국)에서 생산한 가족 스프레이는 현재 가축산업에서 사용이 승인된 유일한 파아지 제품이다. Elanco사(Greenfield, 미국)는 Omnilytics사와 협력하여 양 가축에서 *E. coli* O157:H7을, 가금류에서 *Salmonella*를 감소시킬 수 있는 2가지 제품을 생산하였다. 유럽에서 생고기와 낙농제품에서 파아지의 사용을 지지하고 있기 때문에 앞으로는 파아지 기반 제품의 승인이 용이해지리라 사료된다.

4. 수확 후 (post-harvest) 식품 유래 병원균 제어

4.1 육류 (Meat)

식품에서는 동물과 달리 면역체계가, 미세환경에 따른 상호작용과 같은 다양한 변화의 영향을 받지 않기 때문에 파아지 기반 처리가 살아있는 동물보다 더 효과가 우수할 것으로 기대되지만, 여전히 지방, 단백질, 탄수화물 등으로 구성된 식품 매트릭스의 구성 성분, 또는 pH와 같은 식품 고유의 특성들이 파아지의 작용에 영향을 미칠 수 있다.

O'Flynn 등은 *E. coli* O157:H7에 대한 3가지 파아지 각각 또는 혼합물을 사용하여 고기 내에 존재하는 *E. coli* O157:H7 분해능을 관찰하였다. 그 결과, 9개 중 2개의 샘플에서는 *E. coli* O157:H7가 10 CFU/ml 이하로 발견되었으며, 7개의 샘플에서는 전혀 발견되지 않았다(16). 다른 연구에서, 쇠고기 중 *L. monocytogenes*를 제어하기 위해 파아지와 니신(lactic acid bacteria가 내는 항생물질)을 함께 사용하면 육수에서 *L. monocytogenes*에 대한 항균효과를 낸다고 보고되어 두 가지를 함께 사용하는 것이 효과적인 방법임을 알 수 있었다(6).

*C. jejuni*를 줄이기 위해 계육 피부에 많은 수의 파아지(10^7 PFU)를 처리했을 때 모든 샘플에서 두드러진 병원균 감소가 관찰되었고 파아지와 냉동 과정을 함께 처리하는 것이 더 효과적이라고 보고되었다(17). Goode 등의 연구에서도 계육 피부에서 *S. Enteritidis*에 대한 파아지의 제어 효과를 관찰할 수 있었다(18).

4.2 신선 식품 (Fresh produce)

신선한 과일과 채소에서 기인한 식품 유래 질병이 크게 증가하고 있다. 예를 들어 1990년과 2003년 사이에 채소와 관련하여 554건의 식중독 사고가 보고되어 28,000명의 환자가 발생하고 그중 일부는 사망에 이르렀다. 최근 독일의 유기농 농장에서 생산된 콩나물에서 분리된 대장균 속에 의해 발생한 식중독 사고는 날것으로 소비되는 음식에서 식품 유래 병원균을 제어하는 더 나은 방법을 개발해야 함을 시사한다. 게다가 유기농업은 천연항균제를 생산에 사용하도록 되어있는데, 이는 파아지를 생물학적 제어제로 사용하는데 매우 적합한 조건이라 할 수 있다.

발아종자에서 *Salmonella*를 제어하기 위해 숙주 범위가 다른 2가지 파아지를 분리하고 파아지 혼합액을 처리한 결과, 수침된 브로콜리 씨앗 중 *Salmonella*를 1.5 log 감소시켰다(19). 허니듀 멜론 실험에서는 파아지 혼합물이 *L. monocytogenes*를 2.0-4.6 log까지 감소시켰으나 절단한 사과에서는 산도로 인한 파아지 농도 저하로 파아지 혼합물의 효과가 감소되었다. 파아지가 니신과 함께 사용할 때 파아지의 감소가 줄어든다고 보고되었다. 후속 연구에서, 허니듀 멜론에 고농도의 6가지 파아지 혼합물을 사용한 결과, *L. monocytogenes*을 크게 감소시켜, 파아지 투여량 또한 중요하다는 것을 다시금 확인할 수 있었다(20). 절단한 아이스버그 양배추와 칸달루프에서도 *E. coli* O157:H7 특이적 3가지 파아지의 효과를 관찰할 수 있었으며, Guenther 등은 양배추와 상추의 잎에서 *L. monocytogenes*를 제어하는데 넓은 숙주 범위를 가지는 2가지 파아지, A511과 P100 효과를 입증하였다(6).

파아지 혼합물과 다른 항균제를 함께 사용하는 시도로, *E. coli* O157:H7 및 O26 strain을 고효율로 분해시키는 8가지 파아지 혼합물을 생산하여 4가지 *E. coli* O157:H7 strain 10^6 CFU/ml에 개별적으로 처리했을 때 세균 농도가 감소하였으며 정유인 trans-cinnamaldehyde(TC)가 함께 사용되었을 때 상추와 시금치에서 모든 온도와 농도에서도 10분 안에 사멸되었다(6).

4.3 가공식품 (Processed foods)

가공식품은 식품 유래 식중독사고 발생의 중요한 급원이 된다. 예를 들어 리스테리아증(listeriosis), 살모넬라증(salmonellosis), *E. coli* O157:H7에 의한 출혈성대장염(hemorrhagic colitis)과 용혈성 요독증후군(hemolytic uremic syndrome)은 소시지, 포장육, 치즈, 분유와 같은 식품과 관계가 있다. 이들 식품에서 파아지를 통한 식품 유래 병원균의 제어는 파아지가 다양한 식품에 처리될 수 있다는 것 뿐 아니라 생물학적 제어제로서 유연하게 사용될 수 있다는 것을 시사한다.

*L. monocytogenes*에 특이적인 파아지 P100가 표면 숙성된 소프트 치즈의 숙성단계에서 *L. monocytogenes*가 저농도로 오염되었을 때 항균제로써 사용될 수 있음을 보여주었고, 체다치즈를 생산하는데 사용되는 가공되지 않은 우유나 저온살균된 우유에 파아지를 처리하여 *S. Enteritidis*를 감소시킬 수 있다고 보고하였다. 까망베르 치즈와 림버거 형태의 치즈에서 파아지 A511을 단일 또는 반복 투여한 결과, 파아지 투여량과 치즈 종류에 상관없이 숙성이 완료되는 기간(21일 후)에 *L. monocytogenes*가 2.5 log 이상으로 감소하였다(6). 같은 연구그룹이 파아지 A511과 P100을 이용하여 핫도그, 살균초콜릿우유(3.5% fat), 모짜렐라치즈의 염수, 아이스버그 상추와 양배추에 대해 2 log 이상 세균 수가 감소되는 것을 관찰하였다.

LISTEX™ P100(EBI Food Safety사, 네덜란드)은 *Listeria* 특이적 천연 파아지 제품으로 GRAS로 승인되었다. USDA는 LISTEX™의 GRAS 상태를 식품제조용제(processing aid)로 최근 개정하였다. *E. coli* O157:H7 3가지 strain 혼합액에 오염된 유리나 석고와 같은 식품생산시설의 단단한 표면, 토마토, 시금치, 브로콜리, 쇠고기 분쇄육의 오염 감소를 테스트하기 위해 ECP-100라 명명된 3가지 파아지 혼합물이 사용되었다. 그 결과는 파아지가 다양한 식품의 오염 감소 뿐만 아니라 표면의 오염제거에도 유용할 수 있다는 다른 연구들과도 일치한다. 식품산업에서 식품 접촉표면의 오염은 오염되지 않은 식품에 교차오염 가능성이 있기 때문에 매우 중요하다. 파아지는 이러한 표

면에서 식품 유래 병원균을 제거하는 새로운 방법이 될 수 있다. 최근 ECP-100을 생산하는 Intralytix사는 *E. coli*O157:H7 제어에 효과가 있는 파아지 기반 제품인 EcoShield™로 FDA에서 'Food Contact Notification' (FCN) 승인을 받았다. FCN은 분쇄하기 위한 붉은 육류 부분과 잘라낸 부분에서 사용이 허용된다. 이전에 FDA는 Intralytix사에서 제조한 ready-to-eat 육류제품과 가공육 제품에서 *L. monocytogenes*를 제어하기 위한 항균제로 6개의 파아지가 포함된 파아지 혼합 제품인 ListShield™을 허용하였다.

유아 조제분유에 이용되는 *Enterobacter*(지금은 Chronobacter) *sakazakii* 특이적 파아지는 24°C와 37°C에서 모두 *C. sakazakii*의 성장을 억제시키는 것을 확인하였다. 또한 Whichard 등은 숙주 범위가 넓은 *Salmonella* 파아지 Felix-O1이 소시지에서 *S. typhimurium*를 제어하는 효과를 테스트하였는데, 파아지를 처리한 샘플에서 99%의 항균 효과를 보였다(21). 식품 매트릭스 내에서 파아지를 이용한 주요 병원균 제어 연구 결과를 요약하여 표 1에 제시하였다.

5. 바이오필름 제어에 파아지의 이용

대부분의 식품 및 유가공 산업에서 병원성 및 부패 세균은 공장의 장치 표면에 부착되거나 바이오필름

을 형성하는 경향이 있다. 이는 미생물 오염의 온상이 되어 장비의 손상, 에너지 손실, 최종 제품의 변패 및 식품 병원균의 전이와 질병 유발을 초래한다. 문제는 모서리, 접합부위, 개스킷 등 쉽게 제거되기 힘든 곳에 생성되면 제거나 세척되기 어렵다는 것이며 장비의 부식된 부위가 바이오필름 발달의 가장 이상적인 부위이다. 스테인레스 스틸이나 테프론, 플라스틱, 고무, 유리, 나무 등의 재질에 모두 존재할 수 있다(31).

대부분의 파아지-병원균 관계는 바이오필름에서 보다는 부유된 상태의 연구가 더 많이 되어있다. 파아지-바이오필름의 상호관계에는 복잡한 과정들이 관여되어 있으며 단지 용균성 파아지만 사용된다. 파아지가 타겟으로 하는 병원균 표면의 리셉터에 흡착되는 과정이 가장 중요한데, 이는 파아지가 병원균 표면에 박혀있는 exopolysaccharide(EPS)를 통과해야 가능하다. 일반적으로 파아지는 확산되거나 파아지가 지닌 효소로 인해 EPS matrix를 잘 통과하는 것으로 보고된다. 이 효소가 matrix를 파괴해서 lipopolysaccharide, 외막 단백질 또는 숙주 감염 개시에 필요한 다른 리셉터들과 접촉하도록 해준다.

파아지 스프레이 처리는 예를 들어 시금치의 수확 시 위생처리 규정에 따라 염소 용액에 담그는 방법의 대체법이 될 수 있고, T4 파아지는 *E. coli* 바이오필름

표 1. 식품 안전에서 파아지 응용 예

Pathogen	Food matrix	Reference
<i>Campylobacter jejuni</i>	Fresh cut fruit	27
	Chicken skin	17, 18
<i>Salmonella</i> spp	Cheese	28
	Chicken Frankfurters	22
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Steak meat	16
	Beef	23
<i>Listeria monocytogenes</i>	Fruit	20, 29
	Cheese	26
	Ready-to-eat foods	30
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ultra-high-temperature whole milk	24
	Pasteurized milk	25
<i>Enterobacter sakazakii</i>	Infant formula	21

에 영향을 주며, *P. fluorescens* 바이오필름에 대한 파아지 IBB-PF7A의 영향에 관한 연구에서는 대류 기전이 중요하다고 보고되었다. 즉, 바이오필름 세포 분해는 동적인 상태에서보다 정적인 상태에서 더 효율적이다. 파아지 IBB-PF7A는 빠른 바이오필름 세포 분해능으로 인해 효과적인 생물학적 제어제라 할 수 있으며, *P. fluorescens*와 *Staphylococcus lentus*, 두 가지 모두 제어하는데 이용될 수 있다(32). *Staphylococcus* 특이적 파아지 K의 부유 세포 및 바이오필름 감수성 조사 결과, 파아지 K는 세균의 성장 단계에 의존하여 효율적으로 분해하였고, 바이오필름 복합체에는 침투하여 분해활성을 나타내지 않았다. 파아지와 세균은 바이오필름 내에서 지속적으로 함께 생존할 수 있으므로 파아지, 다당 탈중합효소, 소독제 등의 혼합물이 바이오필름을 제어하는데 더 효과적이라고 제안되었다. 또한 파아지가 바이오필름을 분해시키는 효소를 발현시킬 수 있도록 유전자 조작하는 방법이 좋은 제어 방법 중 하나가 될 수 있다. 조작된 파아지가 바이오필름 내 세균을 99.9% 제어했다고 보고되었다(32).

6. 파아지 엔도라이신 및 식품 안전에의 응용

6.1 엔도라이신 구조와 작용 기작

Small RNA 및 DNA 파아지는 펩티도글리칸(peptidoglycan) 생합성에 관련된 숙주 효소를 저해하는 특정 단백질을 암호화한다. Large DNA 파아지에서 생성되는 엔도라이신(endolysins 또는 lysins)은 용균성 주기에서 유전자 발현의 후반부에 생성되며 펩티도글리칸의 효소적 분해와 관련된다. 엔도라이신은 그람 양성균에서 펩티도글리칸을 분해시키는 능력이 있어 항균제로 사용될 수 있다. 대부분의 엔도라이신은 분비 신호를 가지고 있지 않고 엔도라이신 분자가 세포막을 통과하게 하거나 세포벽에 접근할 수 있게 하는 홀린(holins)이라는 작은 소수성 단백질을 통해 세포 내부에서 펩티도글리칸에 접근한다(그림 3하)(2).

엔도라이신은 효소특이성에 따라서 주로 5가지로 구분된다(그림 3상): 1)N-acetylmuramidases (lysozymes), 2)endo-b-N-acetylglucosaminidases, 3)lytic

transglycosylases(펩티도글리칸의 당 골격 분해), 4)endopeptidases(펩티드 부분 분해), 5) N-acetylmuramoyl-L-alanine amidases(아미드 결합 분해)(33). 펩티도글리칸을 가수분해시키는 muramidases와 amidases는 가장 널리 알려져 있는 효소이다. 펩티도글리칸의 손상은 궁극적으로 숙주의 저삼투압 분해를 일으킨다. 일부 엔도라이신은 C-말단 부위에 세균 세포막을 붕괴시키는 양이온의 항균 펩티드와 유사한 염기서열을 가지고 있다. 그람 양성 엔도라이신은 두 개의 뚜렷한 기능성 도메인으로 구성되어 있는데, N-말단 도메인은 주로 하나의 muralytic 활성을 가진 촉매 활성을 지니지만, C-말단에는 세포벽 결합 도메인(CBD)이 효소의 특이성 정도를 결정한다. 게다가 CBDs는 숙주가 용균되면 엔도라이신을 기질에 고정시킨다. CBDs는 그람 음성 파아지의 엔도라이신에서는 잘 발견되지 않는다. 대부분 엔도라이신은 숙주세균에 좁은 스펙트럼의 용균 활성을 지니지만 *Enterococcal* 파아지 라이신

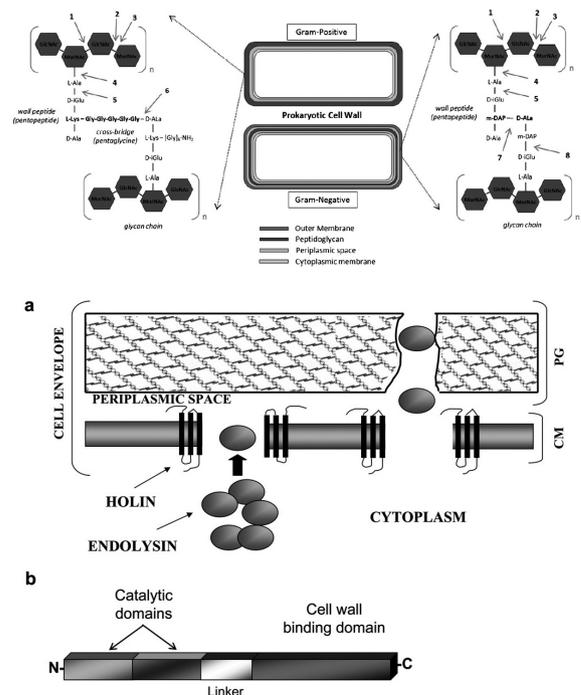


그림 3. 파아지 엔도라이신 효소 작용 부위(상)와 모듈 구조(하) 및 작용 양식(하b)의 모식도

은 예외적으로 *Streptococcus* 속, *S. aureus* 등 지금까지 발견된 것 중 가장 광범위하게 작용하는 라이신이다.

6.2 엔도라이신의 식품에서의 응용

강력한 항균제로서의 엔도라이신의 연구는 주로 동물에서 질병예방과 세균감염의 치료에 초점이 맞춰지고 있다. 식품의 생물학적 저장(biopreservation)에 관련된 연구는 아직 초기 단계에 있다. 그러나, 수많은 동물 매개 및 식품 유래 병원균에 대한 엔도라이신의 활성 연구는 기하급수적으로 증가하고 있으며 앞으로도 다양하게 응용될 것이다. 지금까지 엔도라이신에 대한 어떤 저항성도 보고되지 않았기 때문에 다른 항균제에 비해 장점이 될 수 있다. 최근 몇몇 연구에서 푸드 체인에서의 엔도라이신의 항균가능성이 언급되었다. 식물병원체인 *Erwinia amylovora*로부터 보호하기 위해 형질전환 감자에 T4 lysozyme을 처리, 배에서 재조합 파아지 Ea1h 엔도라이신을 표면에 처리, 그리고 유선염과 *S. aureus*에 의한 우유의 오염을 감소시키기 위해 형질전환 소에 엔도라이신 처리 등의 효과를 나타냈다. 또한 에어로졸화한 PlyC 엔도라이신이 비이온 세제, 경수, 유기물 등에 다양하게 존재하는 *Streptococcus equi*를 제거하거나 줄이는데 효과가 있으며, *Staphylococcal* 엔도라이신이 바이오필름에 존재하는 *S. aureus*를 제거함을 확인하였다. 식품 가공 분야에서는 주로 낙농생산에 적용된다. 또한 기타 엔도라이신의 역할은 CBDs의 높은 특이성을 기반으로 재조합 CBDs로 코팅된 마그네틱 비드를 이용한 빠르고 민감한 검출 시스템을 개발하는 데에도 사용된다(2).

7. 생물학적 병원균 제어 방법 비교

- 천연 항균제 (박테리옌, 파아지 및 엔도라이신)

식품의 바이오보존(biopreservation)에 대한 관심이 다양한 급원의 새로운 천연 항균 물질에 대한 탐구를 유도하고 있다. 박테리옌(bacteriocin)은 천연 식품 바이오보존제로서 널리 인식되어져왔으나 최근 박

테리옌 생물학이 크게 진보하여 새로운 탐구 분야를 열고 있다. 반면에, 파아지와 엔도라이신은 불과 최근 10년 이내에 이용이 고려되어 발달하기 시작하여 유망한 분야로 떠오르고 있다. 그림 4와 같이 푸드 체인의 크게 3가지 주요한 단계, 즉 초기 상품(원자재)의 생산, 식품 가공, 식품 저장 단계별로 박테리옌, 파아지, 엔도라이신이 각각의 항균 활성 및 그 기능들이 제안되고 있다. 박테리옌은 초기 상품(원자재) 생산 단계에서 감염을 예방하고, 항생제 기반 성장 촉진제를 대체하며, 동물 매개 세균의 감소에 응용될 수 있으나 파아지는 감염에 대한 파아지 요법, 동물 매개 세균의 저감화에, 엔도라이신은 질병 예방이나 설비의 위생에 이용될 수 있다. 식품 가공 단계에는 파아지와 엔도라이신이 바이오필름 제거, 신선 식품 등에 이용성이 더 크음을 알 수 있다. 식품의 저장 단계에서는 박테리옌 및 파아지 모두 허들 테크놀로지를 사용할 때 효용성이 증대됨을 알 수 있으며, 특히 파아지는 박테리옌과 함께 처리될 때 효과가 매우 크다고 보고되고 있다.

8. 결론

파아지 요법은 신선식품, 가공식품, 육류 등을 생산함에 있어 식품 유래 병원균을 효과적으로 감소시킬 수 있는 가능성을 보여준다. 하지만 파아지-세균 상호작용과 생태, 다양한 환경조건에 따른 파아지의 효과, 식용동물의 생리적 조건, 파아지 저항성, 소비자의 수용 여부 등에 대한 문제를 해결해야 한다. 향후 더 진행되어야 하는 연구 주제는 용원성, 숙주 특이성의 분자적 기초, 변이의 빈도, 항균 활성/도메인과 연결된 알려지지 않은 파아지 단백질, DNA 교환 및 숙주 병원성, 독성에 있어서 파아지의 역할, 식품 매트릭스 및 식품 가공의 영향, 허들 테크놀로지의 사용, 바이오필름 제거 및 생물학적 위생 등이다. 또한 파아지를 박테리옌과 같은 다른 항균제, 백신, 경쟁적 배제 방법 등과 통합하는 방법을 개발하는 연구도 필요하다. 이러한 여러 가지 해결해야 할 과제가 있음에도 불구하고, 식품에서 병원균을 감소시키고 식품생산에서의 오염을 줄이는 데에 파아지의 유용성이 입

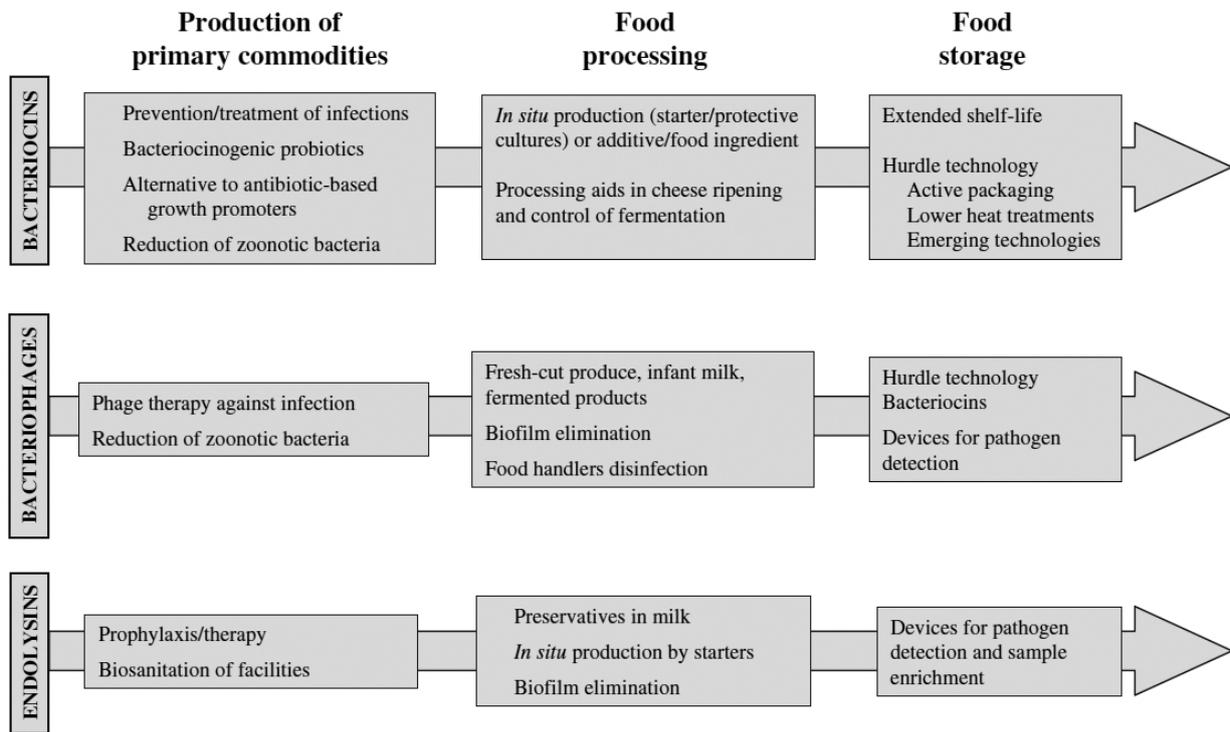


그림 4. 푸드 체인의 주요 단계에서 박테리옌, 박테리오파아지 및 엔도라이신의 생물학적 보존제로서의 기능

증되고 있으므로 앞으로 더 많은 파아지 제품이 연구 개발되어 식품 안전에 기여할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Garcia P, Martinez B, Obeso JM, Rodriguez A. Bacteriophages and their application in food safety. *Lett. Appl. Microbiol* 47: 479-485 (2008)
- Garcia, P, Rodriguez, L, Rodriguez, A, Martinez B. Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends Food Sci. Tech.* 21: 373-382 (2010)
- Haq, IU, Chaudhry, WN, Akhtar, MN, Andleeb, S, Qadri, I. ZBacteriophages and their implications on future biotechnology: a review. *Virol. J.* 9: 9-16 (2012)
- Hagens, S, Loessner, MJ. Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogen: calculations and considerations. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 11: 58-68 (2010)
- Mahony, J, McAuliffe, O, Ross, RP, van Sinderen, D. Bacteriophages as biocontrol agents of food pathogens. *Curr. Opin. Biotechnol.* 22: 157-163 (2011)
- Goodridge, LD, Bisha, B. Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods. *Bacteriophage* 1: 130-137 (2011)
- Callaway, TR, Edrington, TS, Anderson, RC, Jung, YS, Genovese, KJ, Elder RO. Isolation of naturally-occurring bacteriophage from sheep that reduce populations of *E.coli* O157:H7 in vitro and in vivo. *Proc. 5th Int. Symp. on Shiga Toxin-Producing Escherichia coli infections.* Edinburgh, UK (2003)
- Bach, SJ, McAllister, TA, Veira, DM, Gannon, VPJ, Holley, RA. Effect of bacteriophage DC22 on *Escherichia coli* O157:H7 in an artificial rumen system(Rusitec) and inoculated sheep. *Anim. Res.* 52: 89-101 (2003)
- Callaway, TR, Edrington, TS, Braban, AD, Kutter, ES, Anderson RC, Nisbet DJ. Isolation and use of bacteriophage to reduce *E.coli* O157:H7 populations in ruminants. *Proc. Int. Conf. Perspect. Bacteriophage Preparation* p72-83 (2006)
- Sheng H, Knecht HJ, Kudva, IT, Hovde CJ. Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O157:H7 levels in ruminants. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:5359-5366 (2006)
- Florentin, L, Vieira, ND, Barioni, W, Jr. Oral treatment

- with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella* Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers. *Avian Pathol.* 34: 258-263 (2005)
12. Andreatti Filho, RL, Higgins, JP, Higgins SE, Gaona, G, Wolfenden, AD, Tellez, G. Ability of bacteriophage isolated from diffenet sources to reduce *Salmonella* enterica serovar enteritidis in vitro and in vivo. *Poult. Sci.* 86: 1904-1909 (2007)
 13. Toro, H, Price, SB, McKee, AS, Hoerr, FJ, Krehling, J, Perdue M. Use of bacteriophages in combination with competitive exclusion to reduce *Salmonella* from infected chickens. *Avian Dis.* 49: 118-124 (2005)
 14. Atterbury, RJ, Van Bergen MA, Ortiz, F, Lovell, MA, Harris, JA, De Boer, A. Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 4543-4549 (2007)
 15. Borie, C, Albala, I, Sanchez, P, Sanchez, ML, Ramirez, S, Navarro, C. Bacteriophage treatment reduces *Salmonella* colonization of infected chickens. *Avian. Dis.* 52: 64-67 (2008)
 16. O'Flynn, G, Ross, RP, Fitzgerald, GF, Coffey, A. Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 3417-3424 (2004)
 17. Atterbury, RJ, Connerton, PL, Dodd, CER, Rees, CED, Connerton, IF. Isolation and characterization of Camphylobacter bacteriophages from retail poultry. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 4511-4518 (2003)
 18. Goode, D, Allen, VM, Barrow, PA. Reduction of experimental *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of chicken skin by application of lytic bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5032-5036 (2003)
 19. Pao, S, Randolph, SP, Westbrook, EW, Shen, H. Use of bacteriophages to control *Salmonella* in experimentally contaminated sprout seeds. *J. Food Sci.* 69: 127-130 (2004)
 20. Leverentz, B, Conway, WS, Camp, MJ, Janisiewicz, WJ, Abuladze, A, Yang, M. Biocontrol of *Listeria* monocytogenes in fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 4519-4526 (2003)
 21. Kim, KP, Klumpp, J, Loessner, MJ. *Enterobacter sakazakii* bacteriophages an prevent bacterial growth in reconstituted infant formula. *Int. J. Food Microbiol.* 115: 195-203 (2007)
 22. Whichard, JM, Sriranganathan, N, Pierson, FW. Suppression of *Salmonella* growth by wild-type and large-plaque variants of bacteriophage Felix O1 in liquid culture and on chicken frankfurters. *J. Food Prot.* 66: 220-225 (2003)
 23. Dykes, GA, and Moorhead, SM. Combined antimicrobial effect of nisin and a listeriophage against *Listeria* monocytogenes in broth but not in buffer or on raw beef. *Int. J. Food Microbiol.* 73: 71-81 (2002)
 24. Garcia, P, Madera, C, Martinez, B, Rodriguez, A. Biocontrol of *Staphylococcus aureus* in curd manufacturing processes using bacteriophages. *Int. Dairy Journal.* 17: 1232-1239 (2007)
 25. Garcia, P, Martinez, B, Rodriguez, L, Rodriguez, A. Synergy between the phage endolysin LysH5 and nisin to kill *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk. *Int. J. Food Microbiol.* 141: 151-155 (2010)
 26. Carlton, RM, Noordman, WH, Biswas, B, deMeester, ED, Loessner, MJ. Bacteriophage P100 for control of *Listeria* monocytogenes in foods: genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. *Regul. Toxicol. Pharm.* 43: 301-312 (2005)
 27. Leverentz, B, Conway, WS, Alavidze, Z, Janisiewicz, WJ, Fuchs, Y, Camp, MJ, Chighladze, E, Sulakvelidze, A. Examination of bacteriophage as a biocontrol method for *Salmonella* on fresh-cut fruit: a model study. *J. Food Prot.* 64: 1116-1121 (2001)
 28. Modi, R, Hirvi, Y, Hill, A, Griffiths, MW. Effect of phage on survival of *Salmonella* enteritidis during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. *J. Food Prot.* 64: 927-933 (2001)
 29. Leverentz, B, Conway, WS, Janisiewicz, W, Camp, MJ. Optimizing concentration and timing of a phage spray application to reduce *Listeria* monocytogenes on honeydew melon tissue. *J. Food Prot.* 67: 1682-1686.
 30. Guenther, S, Huwyler, D, Richard, S, Loessner, MJ. Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria* monocytogenes in ready-to-eat foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 93-100 (2009)
 31. Raghu, HV, Manju, G, Manjunatha, BM, Mishra, S, Sawale, P. Beneficial face of bacteriophages: applications in food processing. *Int. J. Qual. Res.* 6: 101-108 (2012)
 32. Srey, S, Iahid, IK, Ha S-D. Biofilm formation in food industries: a food safety concern. *Food Contro.* 31: 572-585 (2013)
 33. Oliveira, H, Azeredo, J, Lavigne R, Kluskens LD. Bacteriophage endolysins as a response to emerging foodborne pathogens. *Trends Food Sci. Tech.* 28: 103-115 (2012)