

## 최근 식중독 발생 현황 및 식품안전 연구 동향

오세욱  
국민대학교

“식중독”이란 식품위생법 제2조제14항에 따르면 식품 섭취로 인하여 인체에 유해한 미생물 또는 유독물질에 의하여 발생하였거나 발생한 것으로 판단되는 감염성 질환 또는 독소형 질환을 말한다. 또한 WHO에서는 식품 또는 물의 섭취에 의해 발생되었거나 발생된 것으로 생각되는 감염성 또는 독소형 질환을 의미한다. 식중독의 일반적인 증상으로는 곧 바로 발생하거나 몇 시간에서 하루사이 발병하며 메스꺼움, 구토, 복통 및 설사가 있으며 때때로 열이 있고 몸이 나른해지고 식은땀을 흘리는 것이다. 식중독은 크게 미생물에 의한 식중독과 화학물질에 의한 식중독으로 나눌 수 있으며 미생물에 의한 식중독은 살모넬라, 장염비브리오, 병원성대장균, 리스테리아, 모노사이트제네스 등에 의한 세균에 의해 발생하거나 노로바이러스, 로타바이러스, 아스트로바이러스, 장관아데노바이러스, 간염A, E 바이러스에 의한 바이러스에 의해 발생하기도 하며 크립토스포리디움, 람블편모충, 이질아메바와 같이 원충에 의해 발생하기도 한다. 또한 화학물질에 의한 식중독은 복어독, 시가테라독, 감자독과 같은 자연독과 잔류농약, 유해성 금속화합물, 메탄올 등의 화학적독에 의해 발생한다. 2006-2010년 미국의 식중독발생 원인을 살펴보면 노로바이러스에 의한 식

중독이 49%로 가장 높았으며 세균에 의한 것이 40%, 기생충에 의한 것이 1%, 복합원인이 4% 이었으며 화학적요인은 6%로 나타나 노로바이러스와 세균에 의한 식중독 발생이 식중독발생원인의 대부분임을 알 수 있었다.

2002-2012년 사이에 발생한 식중독 발생현황을 보면 해마다 발생건수는 120-600건에 달하였으며 환자수는 최소 3,000명에서 최대 11,000 까지 발생하였다. 발생건수로는 2002년이 최소, 2007년이 최대로 발생하였으며 환자수로는 2002년이 최소, 2006년이 최대이었다. 2010년부터 2012년까지 3년간 월별 식중독 발생현황을 살펴본 결과 6월에서 9월에 많이 발생하였으며 8월에 가장 많이 발생하였다. 원인시설에 따른 식중독 발생현황은 음식점에서 가장 많이 발생하였으며 학교의 경우 직영에서 많이 발생하였는데 직영비율이 위탁에 비하여 높기 때문에 정확한 통계를 위해서는 급식인원수에 따른 식중독 발생수가 조사되어야 할 것으로 생각되었다. 지역별 식중독발생은 경기와 서울에서 많이 발생하는 것으로 나타났으나 인구수로 나누어 보면, 백만 명당 2-8명 정도의 수준으로 비슷하게 발생하는 것으로 나타났으나 보다 정확한 정보를 위해서는 통계를 이용한 데이터분석이 필요하다고 생각되었다.

2002년부터 2012년까지 식중독발생 대표적인 원인균은 살모넬라균, 황색포도상구균, 장염비브리오균, 병원성대장균, 노로바이러스였다. 식중독 발생원인을 알 수 없는 불명이 가장 높았으며 노로바이러스가 두 번째로 높았다. 식중독 판정을 위해서는 식품에서 병원성미생물, 바이러스, 독소, 화학물질 등 원인물질을 검출하여야 하며 또한 환자 2인 이상에서 동일한 혈청형 또는 유전자형의 미생물이 검출되어야 한다. 그렇지만 식품은 여러 가지 성분으로 복잡하게 구성되어 있으며 식중독을 일으키는 균이나 독소가 극미량 수준으로 존재하며 노로바이러스의 경우 물과 굴에서의 검사법만 개발되어 있어 다른 식품에서의 검출이 어렵고 환자 가검물의 경우에도 가검물(대변, 구토물 등) 채취 거부가 있을 수 있으며 또한 병원에서 항생제 치료를 받아 원인물질이 검출되지 않는 경우가 있기 때문에 식중독원인균이 불명으로 남는 경우가 매우 높다.

안전한 식품을 소비하여 건강한 삶을 유지하기 위해서는 식중독세균에 오염되지 않은 식품을 섭취하는 것이 필요하다. 식품을 공장에서 생산하여 출하하기 전이나 음식을 조리하기 전에 수행되는 식중독세균 검사는 식품안전을 확보할 수 있는 좋은 수단이 될 수 있으나 식품과 음식이 사람에게 의해 소비되기 이전에 결과를 파악해야 효과적이기 때문에 식중독균에 대한 신속검출기술이 사회적으로 요구되고 있다. 식중독세균 검출은 주로 생화학적 test를 포함하는 선택배지를 이용하는 방법이 표준방법(gold standard)이나 미생물 배양에 시간이 너무 많이 소요되기 때문에 예방차원의 품질관리가 어려운 점이 있다. 식중독균 신속검출 기술은 이에 대한 대안으로 개발되고 있는데 주로 presumptive colonies를 screening 하는 방법에 활용된다. 양성 결과를 나타낸 경우에는 반드시 생화학적 방법과 선택배지를 이용하여 확인하여야 한다.

식중독균 신속검출기술은 크게 생화학적 방법, 항체를 이용한 방법, 핵산을 이용한 방법으로 나눌

수 있다. 생화학적 방법은 미생물의 생화학적 특성을 이용하는 것으로 1980년대부터 개발되기 시작하였다. 보통 18-24시간이 소요되며 90-99%의 정확도를 가지며 자동시스템으로 개발된 것이 많다. Fatty acid profile과 같이 구성성분이나 carbon oxidation profile과 같이 대사특성을 분석대상으로 한다. 비흐매리사의 API system, Vitek이 있으며 95종의 carbon source를 이용한 Biology system이 있으며 지방산 조성을 이용한 MIDI system이 있다. 항체를 이용한 방법은 항원에 대하여 항체가 가지는 specificity를 활용하는 방법으로 식품안전검사에 다양하게 개발되어 사용되고 있다. 먼저 pathogen에 specific한 항체가 코팅된 color latex bead를 사용하는 latex agglutination 방법이 있다. Pathogen이 존재하는 경우, 항체에 의해 agglutination이 발생한다. 항체를 이용한 검출기술에서 활발하게 이용되는 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)는 96 well microtiter plate를 활용하여 많은 시료를 동시에 처리할 수 있다. 첫번째 항체가 immobilized 되어 있어 항원인 pathogen과 결합하게 되며 이후 2번째 항체가 첫 번째 항체와 결합하는데 이때 부착된 효소의 효소반응을 통하여 결합여부를 파악할 수 있다. 자동화된 ELISA 방법으로는 VIDAS system과 Assurance EIA가 있다. Immunomagnetic separation(IMS)에는 자석에 부착된 항체를 사용한다. 항체가 항원인 pathogen과 결합하게 되고 이후 자석을 이용하여 항체를 수거하여 PCR 방법이나 직접 배지에 plating 하는 방법으로 검출할 수 있다. IMS는 검출방법이라기 보다는 식품에 존재하는 pathogen을 농축하는 방법이라고 할 수 있다. 항체를 이용한 pathogen의 농축은 항원과 항체의 입체적인 접촉의 수월성이 가장 큰 변수로 작용한다. Pathogen은 식품에 극미량 존재하므로 항원, 항체의 접촉 자체가 매우 어려울 수 있어, 가장 큰 장애요인이 될 수 있다. 따라서 효율적인 항원, 항체간의 결합이 이루어지도록 하는 것이 중요하다. 최근 Pathatrix라는 제품이 판매되고 있는데, 이는 특히

액체시료에서 항원과 항체의 결합이 수월하게 이루어지도록 되어 있다. 즉, pathogen에 대한 항체를 마그네틱 bead에 결합시킨 후 얇은 관에 도열시키고 이 관을 통하여 액체시료가 계속적으로 순환되면서 항원, 항체간의 결합이 발생하도록 하고 있다. 이후 pathogen과 결합한 magnetic bead는 수거하여 PCR이나 agar plate를 이용하여 분석한다. 또한, 임신진단 kit와 같은 원리인 lateral flow technology에 의한 검출도 가능하다. 이는 금과 같은 입자로 코팅된 항체가 pathogen과 결합하여 test line을 만들고, 여분의 항체가 2번째 항체와 결합하여 control line으로 표시된다. 그러나 lateral flow technology는 높은 pathogen 농도가 필요하므로 사용하기 전에 반드시 전배양 과정(enrichment process)을 필요로 한다. 핵산을 이용한 신속검출법으로는 먼저 RNA hybridization을 이용한 GeneQuence System이 있다. 이는 DNA 보다 copy 수가 1,000배 이상 많은 ribosomal RNA를 검출 목표로 하고 있어 저농도의 균 검출이 가능하다는 장점이 있다. Capture probe는 목적하는 균의 rRNA와 결합하고 발색효소가 달린 detector probe가 다른 쪽과 결합하면 발색 정도에 차이가 나므로 이를 이용하여 목적하는 균을 검출할 수 있다. 다음으로는 최근 pathogen 검출기술로 가장 많이 사용되는 polymerase chain reaction(PCR)이 있다. PCR은 denaturing, annealing, polymerization의 과정을 거쳐서 수행된다. PCR은 검출한계(Detection limit)가 낮아 효율적인 검출기술이지만 증폭반응 후 agarose gel을 이용하여 분리, 검출하므로 검출시간이 길 수 있다. 이에 대한 대안으로 PCR 증폭반응 시간, 증폭후 시간을 단축한 새로운 PCR 기술이 real-time PCR이다. Real-time PCR은 PCR 반응초기에 specific한 primer에 의한 증폭반응 검출이 가능하므로 PCR 수행시간을 단축할 수 있으며 또한 증폭과 함께 검출이 가능하므로 agarose gel 없이 바로 검출할 수 있다. 현재 시중에 판매되고 있는 신속검출 kit로는 코젠바이오텍에서 생산되는 real-time PCR용 kit가 있

으며 삼성에버랜드에서 생산되는 RapiDx가 있다. RapiDx는 등온온도조건에서 증폭반응을 일으키는 loop-mediated isothermal amplification(LAMP) 기반 기술로서 증폭과 동시에 검출이 가능하다.

바이오센서 기술은 크기가 작고 들고 다닐 수 있어 현장에서 사용이 용이하며 분석시간도 짧으므로 동시에 많은 시료를 처리할 수 있다. ATP bioluminescence는 luciferase를 이용하여 ATP에 의해 생성되는 빛의 양을 측정하고 이를 미생물수로 전환한다. 그러나 미생물 종류와는 무관하게 총균수만 측정되어 식중독균의 정성분석에는 적합하지 않다. Surface plasmon resonance(SPR) sensor는 얇은 metal 필름위에 항체를 고정화 시키고 이후 visible 이나 near-infrared radiation을 이용하여 surface에서 reflection 되는 것을 감지하여 검출한다. 그러나 buffer 상에서는 가능하지만 복잡한 조성을 가지는 식품에서의 검출은 매우 어려운 상황이다. 또한 항체기반 기술은 항체를 사용하기 때문에 sensitivity가 높지만 specificity가 떨어진다. 항체와 pathogen간의 물리적인 접촉이 필요하지만 식품 매트릭스이기 때문에 효율적인 접촉이 어려운 현실적인 단점이 있다. 최근 라만분광법을 도입하여 광학적으로 신호를 얻을 수 있지만 식품에 존재하는 물리화학적 결합의 대부분이 미생물의 물리화학적 결합과 중복되기 때문에 라만 spectrum 패턴변화로 pathogen을 구별하기는 매우 어렵다. 또한 항체기반기술의 경우 단일항체는 일반적으로 동물세포를 조작하여 생산하며, 조작과 생산이 까다로움은 물론 생산 후 추가적인 정제공정이 요구되어 항체 생산에 상당한 비용이 소요되어 검출 kit가 비싸지는 단점이 있다.

식품에서 식중독균을 검출하기 위해서는 우선적으로 식중독균이 식품에 존재하는 특성을 파악하는 것이 중요하다. 식품에는 매우 낮은 농도로 식중독균이 존재하며 따라서 검출을 위해서는 반드시 증균(enrichment) 과정이 필요하다. 즉, 식품공전 기준에 따라 시료 25g에 1 cfu의 식중독균이 존재할 경

우 225 mL의 enrichment broth를 넣고 균질화 하면 0.004 cfu/mL 수준이 되어 어떠한 검출기술을 이용 하여도 검출이 불가능하다. 따라서 반드시 증균과정을 거치게 되는데, 바로 이 증균과정이 보통 10시간 이상 소요되어 신속검출기술 자체가 불가능하게 된다. 따라서 증균과정에 소요되는 시간이 신속한 검출을 방해하는 가장 큰 요인이 되며 따라서 배양 시간을 단축하는 것이 신속검출의 핵심이라고 할 수 있다. 한편 검출한계가 낮을 수록 미생물배양 시간이 짧아질 수 있기 때문에 신속검출 가능성이 높다고 할 수 있으며 현재까지 알려져 있는 pathogen 신속검출기술 중 가장 낮은 검출한계를 가지고 있는 기술이 PCR이다. Real-time PCR은 buffer나 물에서는  $10^1$ - $10^2$  cfu/mL의 검출한계를 나타내며 식품에서는  $10^2$ - $10^4$  cfu/mL 수준의 검출한계를 나타낸다.

Specificity가 높은 항체를 개발하기 위하여 aptamer와 *in vitro* 항체 제작이 활발하게 진행되고 있다. Aptamer는 “꼭 들어 맞다”라는 라틴어에서 유래하였으며 저분자화합물로부터 단백질까지 다양한 종류의 표적 리간드에 높은 친화성과 특이적으로 결합할 수 있는 작은(보통 20-60 nucleotide) 단일가닥 핵산 조각을 의미한다. Aptamer 개발은 Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment (SELEX)에 의해 수행되는데, 이 기술은 2010년 12월 SELEX 원천특허가 만료되어서 이를 이용한 기술개발이 진행될 수 있다. Aptamer는 표적 물질에 대해 nanomolar-picomolar 수준의 높은 결합력과 선택성을 지니고 있다는 점에서 항체와 유사한 특성을 가진다. Aptamer는 항체와는 달리 화학적 합성이 가능하며 다양한 화학적 변형도 가능하다. 또한 단백질이 아니기 때문에 열에 안정하며 크기 및 소수성 조절에 의해 약물 동력학적 성질 조절이 가능한 장점이 있다. Aptamer는 일반적으로  $10^{14-15}$  정도의 서로 다른 서열, 즉 다양성을 가지는 library로부터 screening 하기 때문에 specificity가 우수한 nucleotide를 선별할 수 있다. *In vitro*에서 항체를 생산하는 기

술로서 display 기술이 사용된다. Ribosome display는 stop codon을 제거한 mRNA를 제작하여 다양한 mRNA-protein-ribosome complex를 형성하고 이후 immobilized ligand를 이용하여 selection 한다. 이후 reverse transcriptase를 이용하여 cDNA를 합성하게 된다. 이후 이 nucleotide를 이용하여 항체를 형성하게 된다. 다른 display 기술로서 mRNA display가 있다. mRNA display는 tRNA analog인 puromycin을 mRNA와 연결하여 translation을 정지시켜 다양한 mRNA-puromycin-protein complex를 형성한다. 이후 target 항원과 반응시켜 specificity가 높은 nucleotide를 선별하며 이후 cDNA로 제조한다. 이렇게 함으로서 target 항체에 대한 specificity가 높은 항체를 선별할 수 있다. Ribosome display와 mRNA display의 장점은 screening에 사용되는 library가  $10^{15}$  정도로 매우 넓다는 점이다. 이에 비해 phage와 bacterial display는  $10^{10}$  정도의 library size를 가지고 있다. 또한 *in vitro* system 이므로 mutagenesis가 원활하다는 장점도 있다. Ribosome display에 사용되는 ribosome 보다는 mRNA display에 사용된 spacer linker가 크기가 작으므로 immobilized target과의 interaction이 적으므로 더욱 더 낮은 biased results가 도출될 수 있다. 또한 Pathogen의 신속검출 기술로서 bacteriophage를 활용한 기술이 있다. 이는 bacteriophage가 가지는 target pathogen에 대한 specificity를 기반으로 하고 있는데, 즉, bacteriophage가 감염되어 lytic cycle에 의해 plaque가 생성되면 그 pathogen은 bacteriophage의 host로 사용될 수 있는 specific한 pathogen임을 나타내므로 정성적 검출에 사용될 수 있다.

Salmonella의 대표적인 serotype은 *Salmonella* Typhimurium 이었으나 최근에는 *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Newport 등으로 변화되었다. 이것은 빈번한 horizontal gene transfer, hypervirulence의 출현, serotype 간의 다양한 genomic diversity에 기인한다. 또한 2011년 유럽에서 발생한 병원성대장균은 장세 포응집성 대장균(Enteroaggregative *E. coli*)와 장출혈

성대장균(*Shiga toxin-producing E. coli*)가 유전적으로 혼합된 사실이 밝혀졌으며 따라서 새롭게 출현하는 균종에 대한 serotyping을 위해서는 보다 많은 유전적 정보가 필요함이 부각되었다. 이에 대한 일환으로 pathogen에 대한 whole genome sequencing이 진행되고 있다. 이 “100K Pathogen Genome Project”는 University of California Davis, US FDA CFSAN과

전문 sequencing 업체인 Agilent Technologies가 공동으로 추진하고 있으며 100,000개의 pathogen의 염기서열분석을 목표로 하고 있다. 이 project 결과는 우선적으로 새롭게 출현하는 pathogen 진단에 효과적으로 활용될 수 있다. 우리나라에서도 pathogen에 대한 whole genome sequencing이 조만간 진행될 것으로 생각된다.