

## 생굴 섭취로 인한 고병원성 *Vibrio*균 식중독 위해평가

하지명<sup>1†</sup> · 이지연<sup>1†</sup> · 오혜민<sup>2</sup> · 신일식<sup>3</sup> · 김영목<sup>4</sup> · 박권삼<sup>5</sup> · 윤요한<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>숙명여자대학교 위해분석연구센터, <sup>2</sup>숙명여자대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>강릉원주대학교 해양식품공학과,  
<sup>4</sup>부경대학교 식품공학과/식품연구소, <sup>5</sup>군산대학교 식품생명공학과

### Microbial Risk Assessment of High Risk *Vibrio* Foodborne Illness Through Raw Oyster Consumption

Jimyeong Ha<sup>1†</sup>, Jeeyeon Lee<sup>1†</sup>, Hyemin Oh<sup>2</sup>, Il-Shik Shin<sup>3</sup>, Young-Mog Kim<sup>4</sup>, Kwon-Sam Park<sup>5</sup>, Yohan Yoon<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Risk Analysis Research Center, Sookmyung Women's University, Seoul, Korea

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul, Korea

<sup>3</sup>Department of Marine Food Science and Technology, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, Korea

<sup>4</sup>Department of Food Science and Technology/Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan, Korea

<sup>5</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Kunsan National University, Gunsan, Korea

(Received January 28, 2020/Revised February 6, 2020/Accepted February 7, 2020)

**ABSTRACT** - This study investigated the probability of foodborne illness caused by raw oyster consumption contaminated with high risk *Vibrio* species such as *V. vulnificus* and *V. cholerae*. Eighty-eight raw oyster samples were collected from the south coast, west coast and Seoul areas, and examined for the prevalence of high risk *Vibrio* species. The growth patterns of *V. vulnificus* and *V. cholerae* in raw oysters were evaluated, and consumption frequency and amounts for raw oyster were investigated from a Korean National Health and Nutrition Examination Survey. With the collected data, a risk assessment simulation was conducted to estimate the probability of foodborne illness caused by intake of raw oysters, using @RISK. Of 88 raw oysters, there were no *V. vulnificus*- or *V. cholerae*-positive samples. Thus, initial contamination levels of *Vibrio* species in raw oysters were estimated by the statistical methods developed by Vose and Sanaa, and the estimated value for the both *Vibrio* spp. was -3.6 Log CFU/g. In raw oyster, cell counts of *V. vulnificus* and *V. cholerae* remained unchanged. The incidence of raw oyster consumers was 0.35%, and the appropriate probabilistic distribution for the consumption amounts was the exponential distribution. A risk assessment simulation model was developed with the collected data, and the probability of the foodborne illness caused by the consumption of raw oyster was  $9.08 \times 10^{-15}$  for *V. vulnificus* and  $8.16 \times 10^{-13}$  for *V. cholerae*. Consumption frequency was the first factor, influencing the probability of foodborne illness.

**Key words :** *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae*, Raw oyster, Bioaccumulation, Risk assessment

통성혐기성의 간균인 *Vibrio*균은 염 존재 시 생장이 제어되는 대부분의 세균과 달리, 해수 및 수산물에 주로 존재하며 생장 가능한 호염성 세균이다<sup>1-3</sup>). 이들 중 병원성을 가진 *Vibrio*균은 *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae*가 대표적이고<sup>4</sup>), 날 것이거나 부적절하게 가열된 수산물 섭취를 통해 사람에게 감염된다<sup>5,6</sup>). 국내에서는 병원성 *Vibrio*균 중 *V. parahaemolyticus*를 저병원성으

로 분류하고 있으나, *V. vulnificus*와 *V. cholerae*는 병원성에 따른 분류가 되어있지 않다<sup>7</sup>). 그러나 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 감염되었을 경우, 장염을 유발하는 *V. parahaemolyticus*보다 심각한 증세(탈수, 쇼크, 패혈증, 사망 등)를 보여 병원성이 높다고 할 수 있다.

국내와 국외 모두 저병원성인 *V. parahaemolyticus*에 대한 위해평가 연구는 활발하게 이루어지고 있는 반면, 고병원성인 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 대한 연구는 부족한 실정이다. 그러나 국내외적으로 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*가 수산물에서 수차례 검출되었으며<sup>4,8-10</sup>), *V. vulnificus*의 경우 감염되었을 때 치사율이 50% 이상으로

†Jimyeong Ha and Jeeyeon Lee are equally contributed.

\*Correspondence to: Yohan Yoon, Risk Analysis Research Center, Sookmyung Women's University, Seoul 04310, Korea  
Tel: +82-2-2077-7585, Fax: +82-2-710-9479

E-mail: yyoona@sookmyung.ac.kr

다른 식중독에 비하여 매우 높은 수준이다<sup>11)</sup>. 또한 이러한 고병원성 *Vibrio*균에 의한 식중독 사고가 꾸준히 보고되는 바<sup>9,12)</sup>, 이에 대한 미생물학적 위해평가를 수행하여 식중독 발생에 대한 위해도를 평가할 필요가 있다.

굴은 육류 등의 단백질 식품과 마찬가지로 아연을 풍부하게 함유하고 있는 식품 중 하나이며<sup>13,14)</sup>, 전세계적으로 굴의 생산량(2016년 기준)은 Molluscs (연체동물류) 중 1위로 전체 생산량 중 31%를 차지할 만큼 생산량이 높은 것으로 나타났다<sup>15)</sup>. 국내에서도 굴에 대한 선호도가 매우 높는데, 2014년의 국내 통계자료에 따르면 굴의 생산량은 패류 중 2위에 해당하고, 1인 1일당 식품공급량은 패류 중 4위에 해당하는 다소비/다생산 되는 수산물이다<sup>16,17)</sup>. 굴은 호흡을 통해 체내에 병원성 비브리오균 등의 병원성 미생물을 농축(bioaccumulation)시킬 수 있을 뿐만 아니라<sup>18,19)</sup>, 국내에서는 생굴로 섭취하는 경우가 많<sup>20)</sup>, 고병원성 *Vibrio*균으로 인한 식중독 발생 가능성이 매우 크다고 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 굴 섭취에 의한 고병원성 *Vibrio*균의 식중독 발생 가능성에 대하여 위해평가를 실시하였다.

## Materials and Methods

### *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 오염실태 조사

#### 시료채취

굴이 생산 또는 유통되는 남해권역(경남 통영시 일원), 서해권역(전북 군산시, 충남 서산시, 충남 당진시 등), 수도권(노량진 수산시장 등)에서 총 88개의 생굴을 채취하였다. 생굴은 각 권역의 수산시장, 횡집, 마트에서 판매대에 탈각되어 진열되어 있는 형태 또는 충전수가 담긴 봉지에 들어있는 형태로 판매되고 있는 것을 구입하였다.

#### MPN-PCR assay를 통한 오염도 조사

생굴에서의 *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 오염실태를 조사하기 위하여 MPN-PCR (most probable number-polymerase chain reaction) assay방법을 활용하였다<sup>21,22)</sup>. 구매한 생굴 시료 25 g을 무균적으로 채취한 후 225 mL의 0.85% 멸균 생리식염수를 넣고 균질화하였다. 균질액에서 10 mL을 세

번 취하여 2×alkaline peptone water (APW; Oxoid, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) 10 mL 시험관 3개에 접종하였다. 균질액을 다시 1 mL씩 취하여 10 mL의 새로운 APW 시험관 3개에 접종하고, 이를 다시 0.1 mL씩 취하여 10 mL의 새로운 APW 시험관 3개에 접종하였다. 총 9개의 시험액이 접종된 시험관을 35°C에서 14시간 배양하였다. 배양 후 눈으로 보았을 때 탁도가 확인된 시험관에서 배양액을 1 mL씩 취하여 12,000 rpm에서 2분동안 원심분리한 후 상층액을 제거하고 멸균 증류수 0.1 mL로 펠렛을 현탁하였다. 현탁액을 100°C에서 10분간 가열하였으며, 이를 DNA template으로 사용하였다. *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 특이적인 염기서열을 활용하여 PCR을 수행한 후(Table 1), 1.5% agarose gel로 전기영동을 실시하여 양성으로 판정된 시험관 개수를 확인하였다. 양성 시험관 개수를 이용하여 식품공전의 MPN 표를 토대로 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 오염도(MPN/100 g)를 계산하였다.

획선도말을 통한 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 집락 확보 MPN-PCR assay에서 오염도가 확인된 시험관의 배양액을 멸균백금으로 취한 뒤 Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar (TCBS, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 획선 도말 하였으며, 이를 35°C에서 18-24시간 배양하였다. *V. vulnificus*와 *V. cholerae*와 형태학적으로 유사한 집락을 다수 선택하여 3% NaCl이 첨가된 Tryptic Soy Broth (TSB; Becton, Dickinson and Company)에 접종하여 35°C에서 12-18시간 배양하였다. 앞선 방법과 동일하게 DNA를 추출하고 PCR 수행 및 전기영동을 실시하였다.

#### *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 분리 판정

MPN-PCR assay에서 양성인면서, 이와 동시에 TCBS agar로 확보한 집락을 이용한 PCR에서 양성인 경우 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*가 분리되었다고 판정하였다.

액체배지에서의 *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 성장 경향 비교 예측모델 개발 시 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 성장 경향이 유사한 경우 두 세균을 혼합하여 생굴에 bioaccumulation

**Table 1.** Oligonucleotide sequences and PCR amplification conditions to detect high pathogenic *Vibrio* spp

Species	Oligonucleotide sequence (5'→3')	PCR amplification <sup>1)</sup> conditions	Size (bp)	Reference
<i>Vibrio vulnificus</i>	CAG CCG GAC GTC GTC CAT TTT G ATG AGT AAG CGT CCG ACG CGT	94°C, 5min – (94°C, 30 sec → 60°C, 30 sec → 72°C 30 sec) - 72°C 10 min	484	21
<i>Vibrio cholerae</i>	CAC CAA GAA GGT GAC TTT ATT GTG GGT TTG TCG AAT TAG CTT CAC C	94°C, 5min – (94°C, 30 sec → 64°C, 30 sec → 72°C 30 sec) - 72°C 10 min	304	23

<sup>1)</sup>Amplification: denaturation→annealing→extension (30 cycles).

하며, 유사하지 않은 경우 두 세균을 각각 bioaccumulation 하고자 하였다. 이를 비교하기 위해 액체배지에서 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 생장을 비교하였다. *V. vulnificus* 3개 균주(*V. vulnificus* ATCC27562, NCCP14549, NCCP11887)와 *V. cholerae* 3개 균주(*V. cholerae* NCCP14552, NCCP12842, NCCP12844)를 사용하였다. 각 균주를 2% NaCl이 첨가된 Luria-Bertani broth (LB+2; Becton, Dickinson and Company) 10 mL에 접종하여 37°C에서 28시간 배양하였다. 배양액 중 100 µL를 취해 새로운 10 mL의 LB+2에 접종하여 다시 한 번 37°C에서 12시간 배양하였다. *V. vulnificus* 3개 균주를 동량으로 혼합하여 *V. vulnificus* 혼합액을 준비하였고, *V. cholerae* 3개 균주를 혼합하여 *V. cholerae* 혼합액을 준비하였다. 각 혼합액을 원심분리(1,912×g, 15분, 4°C)하고 동량의 APW를 넣어 현탁시킨 뒤 동일한 조건에서 다시 한 번 원심분리 하였다. 이를 APW로 적절히 희석하여 접종액으로 사용하였다. 각 접종액을 LB+2에 4 Log CFU/g 수준으로 접종한 뒤 7°C, 10°C, 15°C, 25°C에 저장하였다. 일정시간마다 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*가 접종된 LB+2를 꺼내어 APW를 이용해 십진 희석하였다. 희석액을 Marine agar (Becton, Dickinson and Company)에 도말하여 37°C에서 24시간 배양 후 계수하였다.

### 고병원성 *Vibrio*균 예측모델 개발

#### *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 준비

예측모델 개발을 위해 *V. vulnificus* 3개 균주(*V. vulnificus* ATCC27562, NCCP14549, NCCP11887)와 *V. cholerae* 2개 균주(*V. cholerae* NCCP14552, NCCP12842)를 사용하였다. LB+2 10 mL에 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*를 균주 별로 접종하여 37°C에서 28시간 배양하였다. 배양액 중 100 µL를 취해 새로운 10 mL의 LB+2에 접종하여 다시 한 번 37°C에서 12시간 배양하였다. 배양된 *V. vulnificus* 3개 균주와 *V. cholerae* 2개 균주를 동량으로 모두 혼합하여 *Vibrio*균 혼합액을 만들고, 원심분리(1,912×g, 15분, 4°C) 후 동량의 APW를 넣어 현탁시킨 뒤 동일한 조건에서 다시 한 번 원심분리 하였다. 이를 APW로 적절히 희석하여 bioaccumulation을 위한 *Vibrio*균 접종액으로 사용하였다.

#### Bioaccumulation

굴은 호흡을 통해 내장에 병원성 비브리오균을 축적할 가능성이 있는데, 생굴을 섭취하게 될 경우 내장 제거 등의 가공 처리를 하지 않기 때문에 생굴을 통해 *Vibrio*균을 섭취할 가능성이 있다. 굴 내에 bioaccumulation된 *Vibrio*균의 생장 경향을 확인하고, 굴 섭취로 인해 섭취 가능한 *Vibrio*균의 농도를 유추하기 위하여 굴에 bioaccumulation된 *Vibrio*균에 대한 예측모델을 개발하고자 하였다. 살아

있는 굴에 *Vibrio*균을 bioaccumulation 시킨 후, 시간에 따라 굴에 bioaccumulation된 *Vibrio*균의 생장 경향을 살펴 보았다. 수돗물 100 L를 기준으로 천일염 1,750 g과 인공해수염(Reef Salt Mix, KENT Marine, Franklin, WI, USA) 1,750 g을 혼합하여 인공해수를 준비하였다. 인공해수에 6.0±0.5 Log CFU/g 수준의 *Vibrio*균을 접종하고 살아있는 상태의 탈각되지 않은 굴(석화)을 투하한 뒤 산소를 주입시키면서 12시간 동안 굴에 *Vibrio*균을 bioaccumulation 시켰다. Bioaccumulation 완료 후 멸균된 숟가락으로 굴을 탈각한 뒤 filter bag (3M™, St. Paul, MN, USA)에 굴을 옮겨 담고 7°C, 10°C, 15°C, 20°C에 최대 144시간까지 저장하였다.

#### *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 생장 경향 분석

저장 온도별로 일정 시간마다 생굴이 담긴 filter bag을 꺼내어 20 mL의 APW를 넣고 1분동안 균질기(BagMixer®; Interscience, St. Nom, France)를 이용해 균질화시킨 뒤 9 mL의 APW를 이용해 균질액을 십진 희석하였다. *V. vulnificus*와 *V. cholerae*를 계수하기 위하여 희석액을 CHROM agar™ *Vibrio* (CHROMagar, Paris, France)에 평판 도말 하고 이를 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 이와 동시에 일반 세균수는 tryptic soy agar (Beckton, Dickinson and Company)에 평판 도말 하여 확인하였다.

#### 생굴의 섭취자 비율 및 섭취량 조사

2017년에 질병관리본부에서 실시된 국민건강영양조사의 원시자료 중 24시간 회상법으로 조사된 자료를 활용하여 생굴의 섭취자 비율 및 섭취량을 조사하였다<sup>24</sup>). SAS® version 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 원시자료로부터 생굴에 대한 섭취인원과 섭취량 자료를 추출하였다. 추출한 자료에 대해 응답자 중복성 검사를 실시하였다. 섭취자 비율은 ‘하루 한 번 해당 식품을 섭취했다고 응답한 사람의 비율’을 의미하며, 전체인원 대비 생굴을 섭취했다고 응답한 섭취인원의 수로써 계산되었다. 섭취량은 섭취자들 중 ‘1인이 하루에 해당 식품을 섭취한 양’을 의미하며, 섭취량 원시자료를 @RISK (Palisade Corporation, Ithaca, NY, USA)로 분석하여 최적의 확률분포모델을 결정하고 섭취량을 추산하였다.

#### 용량-반응 모델

용량-반응 모델은 병원성 세균의 노출 용량(dose)에 따라 나타나는 질병의 심각성(response)에 대한 모델이다. 식중독 발생 확률을 계산하기 위해서는 세균 별 용량-반응 모델이 필요한데, 문헌조사를 실시하여 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 대하여 기존에 개발된 용량-반응 모델을 조사하였으며, 이를 식중독 발생 가능성 분석에 활용하였다.

**위해평가 시뮬레이션 모델 개발**

생굴의 *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 오염실태 결과, 생굴의 섭취자 비율 및 섭취량 결과, 용량-반응 모델을 활용하여 Excel spreadsheet에 시뮬레이션 모델을 준비하고 @RISK를 이용하여 시뮬레이션을 진행하여 생굴 섭취로 인한 *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 식중독 발생 가능성을 추산하였다.

**Results and Discussion**

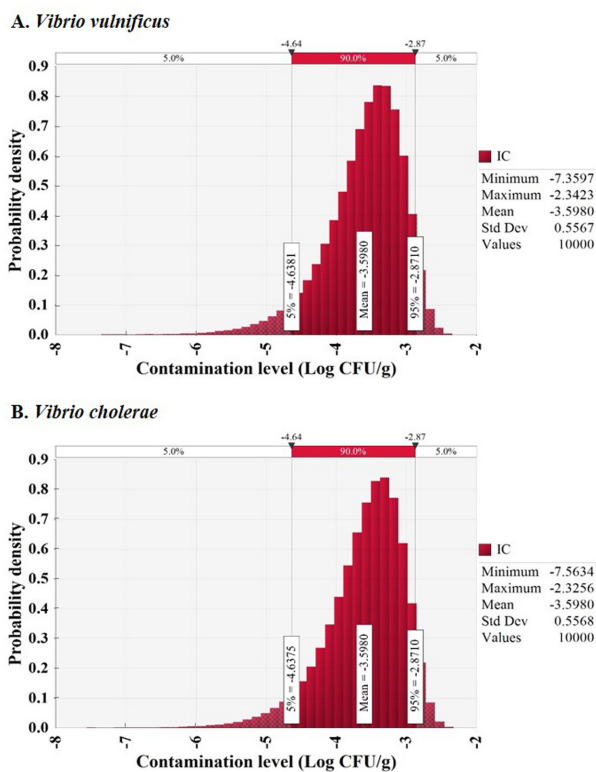
**생굴에서의 *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 초기오염수준 추정**

수산시장, 마트 및 식당에서 판매되고 있는 생굴 8개를 수집하여 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 오염도를 조사하였다. 그 결과, *V. vulnificus*는 남해권역의 8개 시료에서 30-4,600 MPN/100 g, 서해권역의 1개 시료에서 36 MPN/100 g 수준으로 나타났다. *V. cholerae*는 남해권역의 8개 시료에서 30-130 MPN/100 g 수준으로 나타났다. 오염도가 확인된 시료에 대하여 TCBS에 희석 도말 후 PCR을 수행한 결과, 양성으로 판정된 시료가 없었기 때문에 최종적으로 생굴에서 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*는 분리되지 않은 것으로 판정(불검출)하였다. 따라서, 초기오염도를 Beta distribution<sup>25)</sup>을 이용하여 추정하였다. Beta distribution

에서  $\alpha$ 는 ‘양성시료수+1’,  $\beta$ 는 ‘전체시료수-양성시료수+1’을 의미한다( $\alpha=0+1$ ,  $\beta=88-0+1$ ). 이는 Sanaa 등<sup>26)</sup>의 자연로그를 이용한 계산식인 ‘ $-\ln(1-\text{Beta distribution})/25$ ’에 대입되어 최종적으로 생굴에서의 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 초기오염수준이 추정되었다. 그 결과, 생굴에는 *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 모두 -3.6 Log CFU/g로 오염되어 있는 것으로 추정되었다(Fig. 1).

**고병원성 *Vibrio*군 예측모델**

LB+2에 접종된 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 성장 경향이 유사하게 확인되어(data not shown), 두 세균을 혼합하여 생굴에 bioaccumulation 시켰다. *Vibrio*군이 bioaccumulation 된 굴을 탈각한 뒤 7°C, 10°C, 15°C, 20°C에 저장하면서 일정 시간마다 시료를 꺼내어 *Vibrio*군을 계수하였다. 그 결과 7°C, 10°C, 15°C에서는 *Vibrio*군이 초기 접종 수준을 유지하는 경향을 보였고, 20°C의 경우 약 10시간 후 초기 접종 수준과 비교하여 1 Log CFU/g 정도 증식하였다가 그 수준을 유지하는 경향을 보였다(Fig. 2). 예측모델 개발에 사용된 대부분의 온도(7°C, 10°C, 15°C)에서 *Vibrio*군의 수가 유지되었기 때문에 생굴에서의 *Vibrio*군의 성장을 모사하기 위한 예측모델을 개발하지 않았다. 이를 토대로 유통단계에서 도출된 초기오염수준이 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*이 생굴에 오염될 수 있는 가장 높은 수준(worst case)인 것으로 판단되었다. 따라서 초기오염수준으로 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 오염된 생굴을 바로 섭취함으로써 발생할 수 있는 식중독 발생 가능성을 계산하도록 위해평가 시뮬레이션을 설정하였다. 알래스카의 한 굴 생산업체에서는 병원성 비브리오군의 성장을 억제하기 위하여 10°C 이하에서 굴을 양식하는데, 이러한 점과 본 연구의 결과를 미루어 보았을 때 저온에서는 고병원성 비브리오군의 생장이 어려운 것을 알 수 있다<sup>11)</sup>. 생굴에서 일반 세균수는 7°C, 10°C에서 저장 시 초기 수준보다 1-2 Log CFU/g 정도 증가하다가 점차 감소하는 경향을 보였으며, 15°C, 20°C에서는 초기 수준보다 다소 증가한 것으로 확인되었다(data not shown).



**Fig. 1.** Initial contamination level of high pathogenic *Vibrio* spp. in raw oyster.

**생굴의 섭취자 비율 및 섭취량**

총 7,167명을 대상으로 실시된 2017년 국민건강영양조사 결과에서 ‘생굴’을 섭취했다고 응답한 인원은 25명으로 확인되었다. 이에 따라 생굴의 섭취자 비율은 0.35% (25/7167×100%)로 계산되었으며, 이는 Discrete distribution의 입력변수로 사용하였다. 생굴을 섭취한다고 응답한 사람들의 섭취량을 @RISK의 확률분포 분석 기능으로 분석하였을 때 가장 적절한 확률 분포는 Exponential distribution으로 나타났고(Fig. 3), 이를 통해 계산된 생굴의 1일 평균 섭취량은 66.8 g으로 확인되었다.

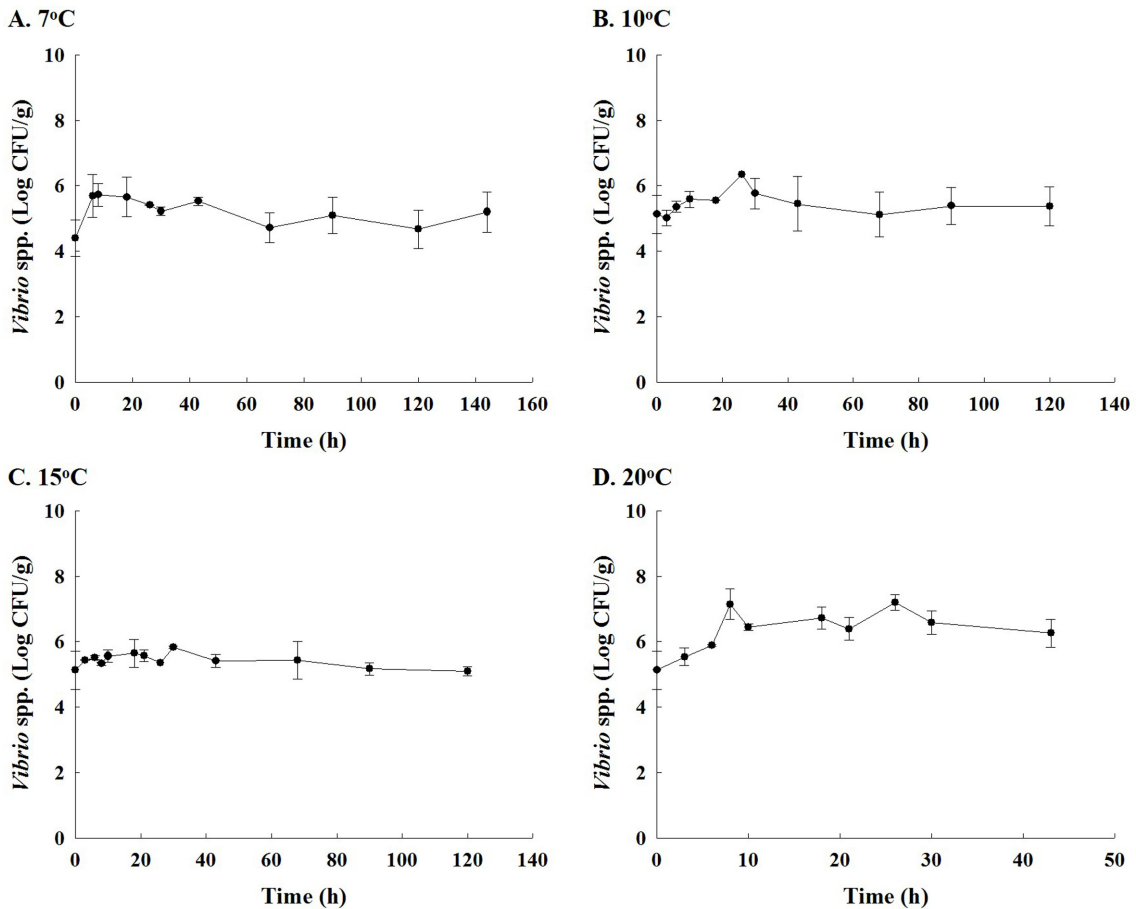


Fig. 2. Bacterial populations of high pathogenic *Vibrio* spp. in raw oyster during storage at 7°C, 10°C, 15°C and 20°C.

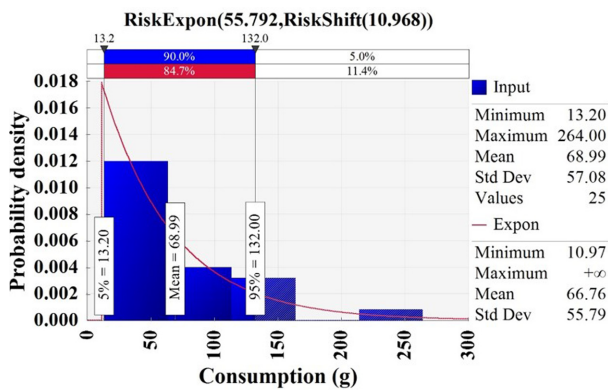


Fig. 3. Probabilistic distribution for consumption of raw oyster in 2017 analyzed by SAS® and @RISK.

### *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 용량-반응 모델

*V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 용량-반응 모델은 Beta-Poisson model ( $P=1-(1-Dose/\beta)^\alpha$ )을 이용하였다. *V. vulnificus*의 용량-반응 모델로는 WHO/FAO<sup>27)</sup>가 제시한  $\alpha=9.3 \times 10^{-6}$ ,  $\beta=1.1 \times 10^5$ 를 인용하였다. *V. cholerae*에 대한 용량-반응 모

델은 Cash 등<sup>28)</sup>과 WHO/FAO<sup>29)</sup>가 제시한  $\alpha=1.31 \times 10^{-1}$ ,  $\beta=1.49 \times 10^7$ 을 이용하였다.

### 생굴에서의 *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 위해평가

#### 위해도 결정

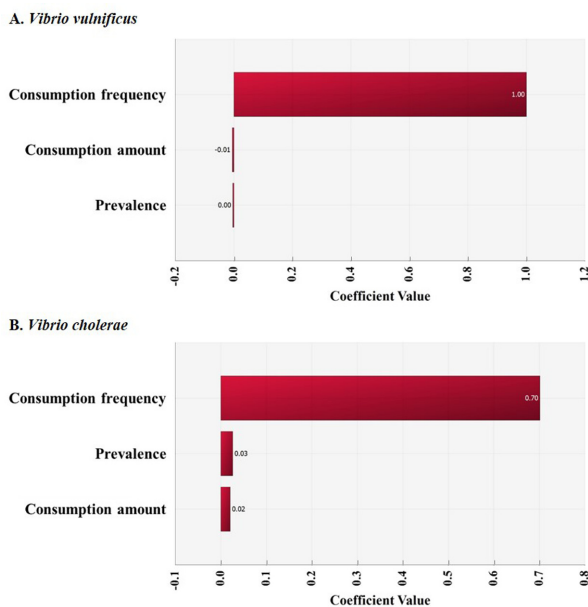
추정된 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 초기오염수준, 섭취자 비율 및 섭취량에 대한 확률분포, 용량-반응 모델을 바탕으로 개발된 생굴에서의 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 대한 위해평가 시뮬레이션 모델은 Table 2와 같다. 생굴 1g당 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 초기오염수준 추정 결과와 국민건강영양조사 데이터를 기반으로 생굴로부터 국민 1인이 하루에 섭취할 수 있는 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 최종오염량(dose; 초기오염수준[IC]×섭취데이터[Amount])을 추정하였다. @RISK로 시뮬레이션하여 생굴에서의 *V. vulnificus* 위해도를 추정한 결과, 생굴을 섭취하였을 때 하루에 1인에게서 *V. vulnificus* 식중독이 발생하게 될 가능성은 평균  $9.08 \times 10^{-15}$ (최소 0, 최대  $1.96 \times 10^{-11}$ )으로 나타났다. *V. cholerae* 위해도를 추정한 결과, 생굴을 섭취하였을 때 하루에 1인에게서 *V. cholerae* 식중독이 발생하게 될

**Table 2.** Simulation model for estimating the probability of foodborne illness caused by consumption of raw oyster contaminated with *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* with @RISK

Input model	Unit	Variable	Formula	Reference
<b>PRODUCT</b>				
Pathogens contamination level				
Pathogenic <i>Vibrio</i> spp. prevalence		PR	=RiskBeta(1,89) for both VV <sup>1)</sup> and VC <sup>2)</sup>	This research; 25
Initial contamination level	CFU/g	C	=-ln(1-PR)/25	26
	Log CFU/g	IC	=Log(C)	
<b>CONSUMPTION</b>				
Daily consumption frequency	%	ConFre	Fixed 0.35	24
		CF(0)	=1-0.35/100	24
		CF(1)	=0.35/100	24
		CF	=RiskDiscrete({0,1},{CF(0),CF(1)})	24
Daily consumption amount	g	Consump	=RiskExpon(55.792,RiskShift(10.968),RiskTruncate(10,270))	24
Final consumption amount	g	Amount	=IF(CF=0,0,Consump)	
<b>DOSE-RESPONSE</b>				
Pathogenic <i>Vibrio</i> spp. dose	CFU	D	=10 <sup>C</sup> ×Amount	
Beta-Poisson parameters of pathogenic <i>Vibrio</i> spp.		$\alpha$	Fixed 9.3×10 <sup>-6</sup> for VV Fixed 1.31×10 <sup>-1</sup> for VC	27-29
		$\beta$	Fixed 1.1×10 <sup>5</sup> for VV Fixed 1.49×10 <sup>7</sup> for VC	27-29
<b>RISK</b>				
Probability of illness/person/day		Risk	=1-(1+D/ $\beta$ ) <sup>-<math>\alpha</math></sup>	27-29

<sup>1)</sup>VV, *V. vulnificus*.

<sup>2)</sup>VC, *V. cholerae*.



**Fig. 4.** Correlation coefficient values of factors, affecting the probability of high pathogenic *Vibrio* spp. foodborne illness per person per day caused by raw oyster consumption.

가능성은 평균  $8.16 \times 10^{-13}$  (최소 0, 최대  $9.89 \times 10^{-10}$ )으로 나타났다.

**위해도와 입력변수 간 상관성**

입력된 변수(오염실태, 섭취자 비율, 섭취량)와 위해도 간 상관성을 분석하여 위해도에 가장 큰 영향을 미치는 변수를 확인하였다. 그 결과, *V. vulnificus*와 *V. cholerae* 모두 섭취자 비율이 위해도에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 확인되었다(Fig. 4). 이는 생굴을 섭취하는 횟수가 높을수록 고병원성 *Vibrio*균으로 인한 식중독 발생 위험성이 커질 수 있다는 것을 의미한다.

**Conclusion**

본 연구 결과, 생굴에서는 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 추정된 오염도는 낮은 것으로 확인되었으며, 고병원성 *Vibrio*균에 오염된 굴에서 고병원성 *Vibrio*균의 수에 변화가 없는 것으로 관찰되었다. 또한 생굴의 섭취자 비율과 평균 섭취량도 다른 식품들에 비하여 높지 않은 편이었다. 이

러한 조건들을 토대로 살펴보았을 때, 생굴 섭취를 통한 국내 고병원성 *Vibrio*균의 식중독 발생 가능성은 상대적으로 낮은 것으로 보여진다.

### Acknowledgement

This research was supported by a grant (18162MFDS542) from Ministry of Food and Drug Safety in 2019.

### 국문요약

패류 중 소비량이 높은 굴에서의 고병원성 *Vibrio*균(*V. vulnificus*와 *V. cholerae*)의 식중독 발생 가능성을 분석하기 위하여 위해평가를 실시하였다. 남해권역, 서해권역, 수도권에서 유통되고 있는 굴 88개를 채취하여 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 오염실태를 조사하고, 생굴에서의 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 성장 경향을 관찰하였다. 2017년의 국민건강영양조사 데이터를 활용하여 생굴의 섭취자 비율 및 섭취량을 조사하였으며, 생굴 섭취로 인한 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 식중독 발생 가능성을 분석하기 위해 @RISK를 통해 위해평가를 실시하였다. 88개의 생굴에서 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*는 검출되지 않아 Beta distribution과 자연로그를 이용한 식을 통해 초기오염수준을 추정하였다. 그 결과 두 세균 모두 -3.6 Log CFU/g으로 생굴에 오염되어 있는 것으로 추정되었다. 생굴에 bioaccumulation된 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*는 성장하지 않고 초기 접종 수준을 유지하는 것으로 확인되었다. 생굴을 섭취했다고 응답한 사람은 7,167명 중 25명이었으며, 따라서 섭취자 비율은 0.35%로 나타났다. 섭취량에 대한 최적확률분포는 exponential distribution으로 나타났으며 생굴의 평균 섭취량은 66.8 g으로 확인되었다. *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 용량-반응 모델은 Beta-Poisson model을 사용하였다. 이상의 데이터를 이용하여 위해평가 시뮬레이션을 개발하고 분석하였다. 초기오염수준으로 오염된 생굴을 바로 섭취함으로써 발생할 수 있는 식중독 발생 가능성은 *V. vulnificus*의 경우 평균  $9.08 \times 10^{-15}$ , *V. cholerae*는  $8.16 \times 10^{-13}$ 이며, 섭취자 비율이 식중독 발생 가능성에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

### References

1. Bae, S.M., Cho, M.G., Hong, G.T., Jeong, J.Y., Effect of NaCl concentration and cooking temperature on the color and pigment characteristics of presalted ground chicken breasts. *Food Sci. Anim. Resour.*, **38**, 417-430 (2018).
2. Baker-Austin, C., Stockley, L., Rangdale, R., Martinez-Urtaza, J., Environmental occurrence and clinical impact of

*Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*: a European perspective. *Environ. Microbiol. Rep.*, **2**, 7-18 (2010).

3. Chen, W.D., Lai, L.J., Hsu, W.H., Huang, T.Y., *Vibrio cholerae* non-O1-the first reported case of keratitis in a healthy patient. *BMC Infect. Dis.*, **19**, 916 (2019).
4. Mok, J.S., Ryu, A.R., Kwon, J.Y., Kim, B., Park, K., Distribution of *Vibrio* species isolated from bivalves and bivalve culture environments along the Gyeongnam coast in Korea: Virulence and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolates. *Food Control*, **106**, 106697 (2019).
5. Gauthier, D.T., Bacterial zoonoses of fishes: A review and appraisal of evidence for linkages between fish and human infections. *Vet. J.*, **203**, 27-35 (2015).
6. Yan, L., Pei, X., Zhang, X., Guan, W., Chui, H., Jia, H., Ma, G., Yang, S., Li, Y., Li, N., Yang, D., Occurrence of four pathogenic *Vibrios* in Chinese freshwater fish farms in 2016. *Food Control*, **95**, 85-89 (2019).
7. Ministry of Food and Drug Safety, 2017. Principle of setting standards for foods. Korea, p. 87.
8. Fernández-Rendón, C.L., Barrera-Escorcía, G., Wong-Chang, I., Vázquez Botello, A., Gómez-Gil, B., Lizárraga-Partida, M.L., Toxigenic *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, and *V. vulnificus* in oysters from the Gulf of Mexico and sold in Mexico City. *Int. J. Environ. Health Res.*, **29**, 430-440 (2019).
9. Park, K., Mok, J.S., Kwon, J.Y., Ryu, A.R., Shim, K.B., Seasonal and spatial variation of pathogenic *Vibrio* species isolated from seawater and shellfish off the Gyeongnam coast of Korea in 2013-2016. *Kor. J. Fish. Aquat. Sci.*, **52**, 27-34 (2019).
10. Tao, Z., Larsen, A.M., Bullard, S.A., Wright, A.C., Arias, C.R., Prevalence and population structure of *Vibrio vulnificus* on fishes from the northern Gulf of Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.*, **78**, 7611-7618 (2012).
11. Martinez-Urtaza, J., Bowers, J. C., Trinanés, J., DePaola, A., Climate anomalies and the increasing risk of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* illnesses. *Food Res. Int.*, **43**, 1780-1790 (2010).
12. Bonnin-Jusserand, M., Copin, S., Le Bris, C., Brauge, T., Gay, M., Brisabois, A., Grard, T., Midelet-Bourdin, G., *Vibrio* species involved in seafood-borne outbreaks (*Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus*): Review of microbiological versus recent molecular detection methods in seafood products. *Crit. Rev. Food Sci.*, **59**, 597-610 (2019).
13. Ali, M., Lee, S.Y., Park, J.Y., Jung, S., Jo, C., Nam, K.C., Comparison of functional compounds and micronutrients of chicken breast meat by breeds. *Food Sci. Anim. Resour.*, **39**, 632-642 (2019).
14. Saito, H., Cherasse, Y., Suzuki, R., Mitarai, M., Ueda, F., Urade, Y., Zinc-rich oysters as well as zinc-yeast-and astaxanthin-enriched food improved sleep efficiency and sleep onset in a randomized controlled trial of healthy individuals. *Mol. Nutr. Food Res.*, **61**, 1600882 (2017).
15. Food and Agriculture Organization, The State of World Fish-

- eries and Aquaculture 2018. CC BY-NC-SA 3.0 IGO, Rome, p. 24 (2018).
16. Korea Rural Economic Institute, (2016, March 23). 2014 Food balance sheet. Retrieved from <http://www.krei.re.kr/krei/researchReportView.do?key=67&pageType=010101&bibliId=395469>
  17. Korean Statistical Information Service, (2019, January 28). Fishery production survey in 2018. Retrieved from [http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT\\_1EW0001&vw\\_cd=MT\\_ZTITLE&list\\_id=F37&seqNo=&lang\\_mode=ko&language=kor&obj\\_var\\_id=&itm\\_id=&conn\\_path=MT\\_ZTITLE](http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT_1EW0001&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=F37&seqNo=&lang_mode=ko&language=kor&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITLE)
  18. Burkhardt, W., Calci, K.R., Selective accumulation may account for shellfish-associated viral illness. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 1375-1378 (2000).
  19. Kinsey, T.P., Lydon, K.A., Bowers, J.C., Jones, J.L., Effects of dry storage and resubmersion of oysters on total *Vibrio vulnificus* and total and pathogenic (*tdh+*/*trh+*) *Vibrio parahaemolyticus* levels. *J. Food Prot.*, **78**, 1574-1580 (2015).
  20. Kim, J.-U., Park, J.-H., Kang, H.-S., Changing consumer intake of oyster, a twenties focus group study. *J. Fish. Marine Sci. Edu.*, **31**, 1150-1160 (2019).
  21. Kim, H.J., Ryu, J.O., Lee, S.Y., Kim, E.S., Kim, H.Y., Multiplex PCR for detection of the *Vibrio* genus and five pathogenic *Vibrio* species with primer sets designed using comparative genomics. *BMC Microbiol.*, **15**, 239 (2015).
  22. Nandi, B., Nandy, R.K., Mukhopadhyay, S., Nair, G.B., Shimada, T., Ghose, A.C., Rapid method for species-specific identification of *Vibrio cholerae* using primers targeted to the gene of outer membrane protein OmpW. *J. Clin. Microbiol.*, **38**, 4145-4151 (2000).
  23. Nair, G.B., Ramamurthy, T., Bhattacharya, S.K., Mukhopadhyay, A.K., Garg, S., Bhattacharya, M.K., Takeda, T.T., Shimada, T., Takeda, Y., Deb, B.C., Spread of *Vibrio cholerae* O139 Bengal in India. *J. Infect. Dis.*, **169**, 1029-1034 (1994).
  24. Korea Center for Disease Control and Prevention, (2019, September 10). National health statistics in 2017. Retrieved from [https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/sub03/sub03\\_02\\_02.do](https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/sub03/sub03_02_02.do)
  25. Vose, D., 1996. Quantitative risk analysis. a guide to Monte Carlo simulation modelling. Chichester, New York.
  26. Sanaa, M., Coroller, L., Cerf, O., Risk assessment of listeriosis linked to the consumption of two soft cheeses made from raw milk: Camembert of Normandy and Brie of Meaux. *Risk Anal.*, **24**, 389-399 (2004).
  27. WHO/FAO, Risk assessment of *Vibrio vulnificus* in raw oysters: interpretative summary and technical report. *Microbiological Risk Assessment Series*, **8**, 1-109 (2005).
  28. Cash, A., Music, S.I., Libonati, J.P., Snyder, M.J., Wenzel, R.P., Hornick, R.B., Response of man to infection with *Vibrio cholerae*. I. Clinical, serologic, and bacteriologic responses to a known inoculum. *J. Infect. Dis.*, **129**, 45-52 (1974).
  29. WHO/FAO, Risk assessment of choleraenic *Vibrio cholerae* O1 and O139 in warm-water shrimp in international trade: Interpretative Summary and Technical Report. *Microbiological Risk Assessment Series*, **9**, 1-90 (2005).