

우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터균의 행동예측 모델 개발 및 정량적 미생물 위해성 평가 연구

동자밍¹ · 민경진² · 서건호³ · 윤기선^{1,*}

¹경희대학교 식품영양학과, ²장안대학교 식품영양학과, ³건국대학교 수의과학과

Predictive model and quantitative microbial risk assessment of enterohemorrhagic *Escherichia coli* and *Campylobacter jejuni* in milk

Dong Jiaming¹, Kyung Jin Min², Kun Ho Seo³, and Ki Sun Yoon^{1,*}

¹Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University

²Department of Food and Nutrition, Jangan University

³KU Center for One Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University

Abstract We prepared the growth and survival models of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) and *Campylobacter jejuni* in milk as a function of temperature and assessed the microbiological risks associated with the consumption of whole milk. EHEC and *C. jejuni* were not detected in whole milk (n=195) in the retail market. The minimum growth temperature of EHEC in milk was 7°C. The lag time of EHEC in whole milk was longer than that in skim milk. The survival ability of *C. jejuni* in milk was better at 4°C than at 10°C. Lower delta values were observed in whole milk than in skim milk, indicating that *C. jejuni* survived better in skim milk. The probability of foodborne illness from whole milk consumption was 5.70×10^{-5} for EHEC and 9.86×10^{-9} for *C. jejuni*. Sensitivity analysis results show that the market temperature of EHEC and the dose-response model of *C. jejuni* are correlated with the probability of foodborne illness.

Keywords: Risk assessment, Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, whole milk, predictive model

서 론

유제품은 유지방을 다량 함유하고 있으며 유지방에서 발견되는 많은 짧은 사슬 지방산은 중요한 면역반응 기능과 함께 건강에 이로운 영향을 준다. 또한 우유에 들어 있는 단백질, 지방, 칼슘은 현대인의 성인병 동맥경화증의 원인인 염증과 산화적 스트레스에 대하여 염증 수치 감소 효과가 있는 것으로 보고되었다(Lawrence, 2013). 현재 우유는 일반우유, 저지방/무지방우유, 혼합우유 등 다양한 제품들이 판매되고 있으며 1인당 국내 유제품 소비량은 2017년에 79.5 kg, 2019년에 81.8 kg으로 증가하였으며, 일반우유 소비량이 가장 높은 것으로 나타났다(MAFRA, 2020). 보건복지부는 한국인 영양소 섭취기준에서 우유, 유제품류를 하루에 200 mL 이상 섭취하기를 권장하고 있다(MOHW, 2020).

우유는 사람에게 높은 영양분을 제공할 뿐만 아니라 미생물 성장의 주요 배양 성분 역할을 한다(Fusco 등, 2020). 우유 및 유제품에서 발견되는 주요 병원균은 시가독소 생성 대장균(*Shiga toxin-producing Escherichia coli*, STEC), 살모넬라균(*Salmonella* spp),

리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*), 캄필로박터(*Campylobacter* spp), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 등이 보고되었다(EFSA & ECDC, 2018). 특히 병원성 대장균은 지난 5년간(2016-2020년) 국내에서 발생한 세균성 식중독 원인물질 1위로 발생건수 195건, 환자수 8,881명을 기록했으며, 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*)에 의한 식중독 발생건수도 지난 5년간 60건, 환자수 2,023명이 보고되었다(MFDS, 2021). El-Zamkan과 Hameed(2016)은 195건의 유제품 중 37건에서 캄필로박터 제주니가 검출됨을 보고하였다. 1993년부터 2012년까지 미국에서는 127건, 환자수 1909명의 식중독 사고가 보고되었는데 식중독의 원인균으로 캄필로박터, 시가독소 생성 대장균 및 살모넬라에 의한 것으로 보고되었다(CDC, 2021).

병원성 대장균은 발병양식에 따라 장독소원성 대장균(Enterotoxigenic *E. coli*, ETEC), 장출혈성 대장균(Enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC), 장응집성 대장균(Enteraggregative *E. coli*, EAEC), 장침입성 대장균(Enteroinvasive *E. coli*, EIEC), 장병원성 대장균(Enteropathogenic *E. coli*, EPEC)으로 구별된다(Wang 등, 2010). 특히 장출혈성 대장균(EHEC)은 용혈성 빈혈, 혈소판 감소증, 급성신부전 등을 특징으로 하는 용혈성 요독 증후군을 일으키며(Dhaka 등, 2016; Momtaz 등, 2013) 인체 내에서 베로독소(Vero-toxin)를 생성하여 식중독 증상을 나타낸다(Dean-Nystrom 등, 2002). 대표적인 혈청형으로 쇠고기, 분쇄육 등에서 분리된 *E. coli* O157:H7이 있다. 캄필로박터 제주니는 미호기성 환경(산소 5% 이하)에서 발육하며 최적 생육온도가 37-42°C이고, 냉동과 건조, pH 5 이하의 산성에서 예민한 특성을 보이며 주로 동물의 장내

*Corresponding author: Ki Sun Yoon, Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Kyung Hee University, Seoul 02447, Korea

Tel: +82-2-961-0264

Fax:

E-mail: ksyoon@khu.ac.kr

Received August 20, 2021; revised September 25, 2021;

accepted September 26, 2021

에서 생존한다(Altekruse 등, 1999). 주요 식중독 원인균인 캄필로박터 제주니에 의한 식중독 치료를 제 때 하지 않으면 일주일까지 지속으로 다시 발병할 가능성이 있으며(Skirrow 등, 2000), 장기적 후유증으로 신경을 침범하는 길랭-바레 증후군(Guillian-Barre syndrome, GBS), 반응성 관절염(reactive arthritis) 등이 있다(Esan 등, 2017). 감염량도 10^3 CFU/g 이하로 다른 감염형 식중독 보다 미량에서 감염증을 일으키고 낮은 온도에서 생존능력이 좋은 것으로 보고되고 있다(Burnette 과 Yoon, 2004).

정량적 미생물 위해성 평가는 특정 병원성 미생물에 의해 오염된 식품을 섭취했을 때 해당 병원성 미생물로 인한 감염 또는 질병이 발생할 위해성을 수학적 모델과 데이터를 이용하여 위험성 확인, 노출평가, 위험성 결정, 위해도 결정의 단계에 따라 과학적으로 분석하고 평가하는 방법이다(Haas 등, 1999; MFDS, 2015). 유제품에 대한 정량적 미생물 위해성 평가 선행연구로는 이태리에서 생산된 원유에서 *E. coli* O157:H7과 캄필로박터 제주니 위해성평가(Giacometti 등, 2012), 원유와 저온살균우유로 만든 치즈에서 리스테리아 모노사이토제네스 위해성평가(Tiwari 등, 2015), 자연치즈와 가공치즈에서 Non-Enterohemorrhagic *E. coli* 위해성평가(Kim 등, 2017), 자연치즈에서(Lim 등, 2020), Gouda 치즈(Wemmenhove, 2019), 치즈(Ha 와 Lee 2020)에서 리스테리아 모노사이토제네스 위해성평가가 보고되었으나 국내에서 생산되는 우유에서 *E. coli* O157:H7과 캄필로박터 제주니에 대한 정량적 위해성 평가 연구는 보고된 바 없다.

본 연구에서는 일반우유, 무지방우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니에 대하여 행동예측 모델을 개발하고 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니에 대한 정량적 미생물 위해평가를 통해 국내에서 우유 섭취에 따른 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니 식중독 발생 가능성을 평가하였다.

재료 및 방법

우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 균주의 오염상태 조사

우유제품에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 균주의 오염수준(initial contamination level)을 분석하기 위하여 계절 별로 서울 대형 마트, 인터넷에서 판매된 195건 우유제품을 구입하여 분석하였다. 제품의 오염수준은 식품안전(MFDS, 2020) 장출혈성 대장균과 캄필로박터 정성시험법을 이용하였고, 확인시험은 PCR을 통해 진행하였다. 모니터링 결과로부터 우유에서 캄필로박터 제주니 및 장출혈성 대장균의 Prevalence data (PR)의 분포도는 Beta distribution (α , β) 식을 활용하여 α : 양성시료수+1, β : 전체시료수-양성시료수+1를 적용하였다(Vose, 1998). 일반우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니 초기 오염수준은 [$\text{Log}(-\ln(1-PR)/\text{weight})$]의 식을 통해 추정하였다(Sanaa 등, 2004).

모델 개발을 위한 유제품의 이화학적 특성 및 위생지표균 오염상태 조사

모델개발을 위한 대상식품 선정을 위해 대형마트(서울 동대문구)에서 구입한 유제품(일반우유, 무지방우유)을 멸균백에 각각 10 mL씩 넣고 증류수 90 mL를 첨가하여 균질화 한 후, pH meter (Orion Star™ A211 pH Benchtop Meter, ThermoFisher Scientific Co., Waltham, MA, USA)를 이용하여 pH를 측정하였다. 수분활성도는 시료를 용기의 70% 정도 채우고 수분활성도 측정기(HP-23, Rotronic, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 위생지표균 조사를 위하여 시료 25 mL에 0.1% peptone water (PW, Difco™ Peptone Water, BD, Sparks, MD, USA) 250 mL를 가하여 희석하

고 오염수준을 고려하여 10진 희석액을 준비하였다. 시험용액 및 10진 희석액 1 mL씩을 일반세균, 대장균군, 대장균 건조필름배지(3M corporation, St. Paul, MN, USA)에 각각 2매 이상씩 접종하여 $35\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 48 ± 2 시간 동안 배양한 후 생성된 집락 수를 계수하였다.

모델개발을 위한 표준균주 및 시험균액 제조

본 연구에 사용한 장출혈성 대장균(EHEC: NCCP 13720, 13721)과 병원성 대장균 O157:H7 (NCTC 12079) 균주는 식품의약품안전처(MFDS)에서 분양받아 -80°C 냉동고(Revco® Ultra Low Freezer, ThermoFisher Scientific Revco, Asheville, NC, USA)에 보관해 사용하였다. 실험을 위해 보관된 각각의 균주를 상온에서 해동한 후, tryptic soy broth (TSB, MB Cell, Seoul, Korea) 10 mL에 각각의 균주 10 μL 씩 접종하고 36°C 에서 140 rpm으로 24 시간 동안 전배양(VS-8480, Vision, Daejeon, Korea)하였다. 전배양액은 4000 rpm으로 10분 동안 원심분리(VS-550, Vision, Daejeon, Korea)하여 cell pellet을 취하고 이를 멸균된 0.1% PW 10 mL를 넣어 재 원심분리 하였다. 원심분리 후 상층액을 제거하고 0.1% PW 10 mL를 넣어 각각의 균주를 혼합하여 10진 희석한 후 약 3-4 log CFU/mL 농도의 균액을 사용하였다.

캄필로박터 제주니 균주(ATCC 33291, 33560, NCTC 11168)는 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양받아 -80°C 에 보관해 사용하였다. 실험을 위해 보관된 각각의 균주를 상온에서 해동한 후 0.16% agar가 포함된 brucella broth (BB, BD, Sparks, MD, USA) 10 mL에 10 μL 씩 접종하고 42°C 미침기성 환경조건(O_2 5%, CO_2 10%, N_2 85%)의 챔버(DG250; Don Whitley Scientific, West Yorkshire, UK)에서 48시간 동안 전배양 하였다. 전배양한 후 각각의 균주를 혼합하고 10진 희석한 후 약 4-5 log CFU/mL 농도의 균액을 사용하였다.

우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 행동예측 모델 개발

대형마트(서울 동대문구)에서 구입한 일반우유와 무지방우유를 무균적으로 각각 35 mL씩 50 mL 코니컬 튜브(SPL Life Sciences Co., Daejeon, Korea)에 담고 장출혈성 대장균 혼합균주를 초기 균수가 약 3-4 log CFU/mL가 되도록 각각의 시료에 350 μL 씩 접종하였다. 이후 유통환경을 고려하여 일반우유와 무지방우유 시료는 4, 7, 10, 17, 25, 36°C 온도에 저장하였다. 캄필로박터 제주니 혼합균주도 무균적으로 35 mL씩 50 mL 코니컬 튜브에 담겨진 일반우유와 무지방우유 시료에 초기 균수가 약 4-5 log CFU/mL가 되도록 350 μL 씩 접종한 후 4, 10, 17, 25°C 의 온도에 저장하며 캄필로박터 제주니의 행동 변화를 관찰하였다. 각각의 온도에서 1차 성장예측모델은 GraphPad Prism V7.03 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) 프로그램을 활용하고 Modified Gompertz model 공식(1)을 이용하여 유도기(lag time, LT), 최대증식속도(specific growth rate, SGR), 최대개체군밀도(maximum population density, MPD)를 산출하였다(Gibson 등, 1987).

$$Y=N_0+C*\exp(-\exp(2.718*SGR/C*(LT-X)+1)) \quad (1)$$

N_0 : 초기 균 로그수; C: 마지막과 초기 균수의 차이;

LT: 유도기(h); SGR: 최대증식속도(log CFU/h);

X: 시간(h); Y: 균수(log CFU/mL)

각각의 온도에서 1차 사멸예측모델은 Gina FiT V1.5 프로그램을 사용하고 Weibull Model 공식(2)을 이용하여 delta와 p 값을

산출하였다(Geeraerd 등, 2005).

$$\text{Weibull model: } \log 10(N) = \log 10(N_0) - (t/\delta)^\beta \quad (2)$$

N_0 : 미생물의 초기 오염농도; t : 시간;

δ : 초기 오염농도에서 1 log CFU/mL 감소하는데 걸리는 시간;

β : 그래프 모양

1차 성장예측모델 결과로부터 온도에 따른 LT, SGR, MPD 값을 각각 Davey model (Davey, 1989), Square root model (Ratkowsky 등, 1982), Polynomial second order model (McMeekin 등, 1993)을 사용하여 2차 행동예측모델을 개발하였다. 또한 1차 사멸예측모델 결과로부터 온도에 따른 δ 값 수치를 이용하여 Davey model (Davey, 1989)에 적용하여 2차 사멸예측모델을 개발하였다.

예측모델의 적합성 평가

일반우유 및 무지방우유에서 장출혈성 대장균(EHEC)에 대해 개발된 모델의 적합성 검증을 위하여 성장예측모델 개발에 사용되지 않는 소 유두 표면에서 검출된 장병원성 대장균(EPEC)을 일반우유에서 접종하여 10°C와 17°C에서 모델 검증 실험을 진행하였다. 캄필로박터 제주니의 경우 개발된 모델의 적합성 검증을 위하여 모델개발에 사용하지 않은 7°C에서 δ 값에 대한 2차 모델 검증 실험을 진행하였다. 개발된 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니 예측모델 식에 대한 적합성을 평가하고자 통계적 지표인 RMSE (Root Mean Square Error), bias factor (B_f), accuracy factor (A_f)를 산출하였다. 예측값과 실험결과의 차이를 통해 얻을 수 있는 RMSE는 0에 가까울수록 개발된 모델의 적합도가 높다 (Baranyi 등, 1996). B_f 는 실험을 통해 얻은 값과 유도된 2차 모델 식에서 얻은 값의 상대적 편차를 평가하는 수치로 0.7-1.15 사이의 값을 나타내면 모델이 적합하다는 것을 나타낸다(Ross, 1996). A_f 는 예측된 값이 얼마만큼 실험값과 가까운가를 측정하는 척도로 두 값이 일치했을 때 1을 기준으로 A_f 값이 1에서 멀어질수록 개발된 모델의 부정확성을 나타내며, 안전한 모델(fail-safe) 인가에 대한 방향성을 제시하지 않는다(Oscar, 2005).

판매점에서 가정까지의 단계별 노출 평가 시나리오

마트 판매대에서 보관 중 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니 생장 또는 사멸행동 추정을 위해서 마트 판매대 보관시간과 온도를 실측한 결과 보관시간은 최소 0시간, 최대 240시간으로 RiskUniform (0, 240)이, 보관온도는 최소 2°C, 최빈 4°C, 최대 7.5°C를 적용한 RiskPert (2, 4, 7.5)가 가장 적합한 확률분포모델로 선정되었다. 마트에서 가정으로 운송 중 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니 생존추정을 위해서 마트에서 가정으로 운송하는 시간 및 온도는 Jung (2011)의 연구결과를 사용하여 운송시간은 최소 0.325시간, 최빈 0.984시간, 최대 1.643시간을 적용한 RiskPert (0.325, 0.984, 1.643) 분포가, 운송온도는 최소 10°C, 최빈 18°C, 최대 25°C를 적용한 RiskPert (10, 18, 25)가 가장 적절한 확률분포모델로 활용되었다.

우유 섭취 노출평가 시나리오(섭취량 및 섭취빈도)

우유 평균 섭취량의 적정 분포모델은 식품의약품안전처(2015) 연구에서 1,500명을 대상으로 수행한 ‘50대 주요 축산식품의 섭취량 및 섭취패턴 조사’ 결과를 바탕으로 @RISK 7.5 (@RISK, palisade, Sydney, Australia)로 distribution fitting을 통해 도출해낸 확률분포 모델 식인 RiskLaplace를 이용하였으며 우유의 1일 평

균 섭취량은 197.42 g으로 나타났다. 섭취자 비율은 ‘주 2-3회’ 섭취자 비율은 41.5%, ‘주 1회 이상’ 섭취자 비율은 10.3%, ‘월 2-3회 이상’ 섭취자 비율은 9.4%, ‘1일 1회’ 섭취자 비율은 0.37%인 것으로 확인되었다.

위험성 결정(Hazard characterization)

위험성 결정 단계에서 장출혈성 대장균 용량-반응 모델은 Haas 등(1999)의 Beta poisson model을 이용하였다.

$$P = (1 + D/\beta)^{-\alpha} \quad (\alpha: 0.49, \beta: 1.81 \times 10^5)$$

P : 장출혈성 대장균의 질병가능성, α , β : 변수,

D : 장출혈성 대장균의 섭취로 노출된 세포 수

캄필로박터 제주니 용량-반응 모델은 Medema 등(1996) 및 Nauta 등(2007)의 Betabinomial model을 이용하였다.

$$P_{inf} = 1 - (1 - p_1)^D$$

P_{inf} : 캄필로박터 제주니에 의해 감염될 확률,

p_1 : 섭취된 하나의 세포에 의해 감염될 확률(0.019, 2% 확률),

D : 섭취된 캄필로박터 제주니 균수

캄필로박터 제주니 균수에 의해 식중독이 발생할 확률($P_{inf|inf}$)은 89 감염자 중 29명에게 실제로 식중독이 발생하게 될 것이라는 사실에 기반하여 0.33으로 계산하였다(Havelaar 등, 2000). 따라서 최종 캄필로박터 제주니에 의한 식중독 발생 리스크는 P_{inf} 와 $P_{inf|inf}$ 값을 곱하여 계산되었다($Risk = P_{inf} \times P_{inf|inf}$)

우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니 위해도 결정 (Risk characterization)

우유 섭취로 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니에 의한 식중독 발생 확률을 추정하기 위해 수식과 입력변수(Input)는 Excel (Microsoft@ Excel 2010, Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) spreadsheet 프로그램에 시나리오 모델을 작성하였다. 시나리오 모델은 @RISK 7.5를 사용하여 몬테카를로 시뮬레이션을 활용하여 위해도를 산출하였다. Sampling type은 Median Latin Hypercube sampling을, Generator seed는 Random 방법을 선택하였고, Iteration (반복시행 횟수) 10,000 이상의 결과를 최종적인 시뮬레이션 결과로 이용하였다. 최종적으로 시뮬레이션 결과에 대해 영향을 주는 주요요인 분석은 @RISK에 있는 민감도 분석(sensitivity analysis) 기능을 통하여 상관계수를 산출하였다.

통계처리

본 연구는 SAS Software (ver. 9.4, SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA)를 이용하여 장출혈성 대장균에서 온도 별 일반우유와 무지방우유의 LT, SGR, MPD값 차이와 캄필로박터 제주니에서 온도에 따른 일반우유와 무지방우유의 δ 값을 t-test로 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

유제품의 이화학적 특성 및 위생지표균 오염실태 조사

우유에서 장출혈성 대장균 및 캄필로박터 제주니의 행동예측 모델개발을 위한 시료선택을 위해 서울 대형마트(동대문구)에서 판매되고 있는 일반우유와 무지방 우유제품 각각 3개 브랜드로 각 5개씩, 15개의 시료에 대해 위생지표균을 분석하였다. 일반우

유(3-4% 지방) 및 무지방우유(0% 지방) 제품에서 일반세균, 대장균군, 대장균은 모두 검출되지 않았으며 일반우유의 pH는 6.96-7.01, Aw는 0.938-0.953, 무지방우유의 pH는 6.80-6.87, Aw는 0.942-0.951 범위로 확인되었다. Aw는 제품간 큰 차이는 없었지만, 우유의 pH는 일반우유보다 무지방우유가 낮은 것으로 확인되었다. 유제품의 이화학적 특성 및 위생지표균 오염상태 조사결과를 반영하고 판매량이 가장 높은 제품을 선택하여 행동예측모델 시료로 사용하였다.

일반우유 및 무지방우유에서 장출혈성 대장균의 1차 행동예측 모델 개발

일반우유 및 무지방우유에서 장출혈성 대장균의 보관온도(4-36°C)에 따른 행동 변화를 분석하였다. 본 연구에서는 4-6°C 사이의 온도에서 장출혈성 대장균의 성장은 관찰되지 않았으며 4°C에서는 장출혈성 대장균의 사멸이 관찰되었는데 일반우유와 무지방 우유에서 delta 값이 각각 10.46일, 11.52일로 일반우유에서 더 빨리 사멸하는 것으로 확인되었다. 따라서 장출혈성 대장균의 1차 성장예측모델은 7-36°C 범위온도에서 개발하였다. 각각의 온도에서 일반우유, 무지방 우유에서 장출혈성 대장균의 1차 성장예측모델의 R²값은 0.988-0.999 범위로 나타나 모델의 적합성을 확인하고 온도별로 개발된 1차 성장예측 모델에서 유도기(LT), 최대증식속도(SGR) 및 최대개체군밀도(MPD)를 산출하였다(Table 1). 유도기의 경우 모든 온도에서 일반우유에서 장출혈성 대장균의 유도기는 연장되어 3% 이상의 유지방이 병원성 대장균의 유도기 연장에 영향을 준 것으로 확인되었으나 10, 17°C의 온도에서 만이 일반우유와 저지방 우유의 유도기에서 유의적 차이를 보였다($p < 0.05$). SGR 값은 일반우유와 무지방우유 각각 0.008-0.977 log CFU/h, 0.007-0.821 log CFU/h 범위로 나타났으며 지방의 함량이 최대증식속도에는 유의적 영향을 주지 않았다. 또한 일반우유에서 MPD 값은 7°C에서 6.09 log CFU/mL로 가장 낮게 관찰되어 일반우유에서 장출혈성 대장균의 성장 경계온도는 7°C인 것으로 확인되었다. 무지방우유에서 MPD 값도 저장온도가 올라감에 따라 6.63-9.01 log CFU/mL 범위로 증가하였다. 무지방우유의 MPD 값은 모든 저장온도에서 일반우유의 MPD값(6.09-8.91 log CFU/mL) 보다 높았으며 7°C 및 10°C의 냉장온도에서 유의적으로 더 높아 일반우유의 지방성분이 병원성 대장균의 최대 성장에도 영향을 준 것으로 사료된다. 선행연구(Sprong 등, 2002; Ten

Bruggencate 등, 2016) 결과에서도 유지방은 병원성 대장균의 활성을 억제하는 것으로 보고되어 본 연구에서 무지방우유 보다 일반우유에서 장출혈성 대장균의 성장이 억제된 결과와 일치하는 것으로 나타났다.

일반우유 및 무지방우유에서 온도에 따른 장출혈성 대장균의 2차 행동예측모델 개발 및 검증

일반우유 및 무지방우유 각각에서 1차 모델 변수에 대한 온도의 영향을 나타낸 2차 행동예측 모델 개발 결과는 Fig. 1과 같다. 일반우유와 무지방우유의 LT 값은 온도가 7, 10, 17, 25, 36°C로 증가할수록 유제품 사이의 LT 값 차이는 유의적으로 감소하였으며($p < 0.05$), 전반적으로 무지방우유에서 장출혈성 대장균의 LT 값은 일반우유보다 더 짧은 것으로 나타났으며 그 차이가 낮은 온도에서 더욱 컸다. 1차 모델 변수 MPD 값은 저장온도가 높을수록 증가하였고 7°C와 10°C에서 다른 저장온도에 비하여 일반우유와 무지방우유의 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$)(Table 1). 본 연구에서 우유의 유지방 함량(3-4%)의 차이는 냉장온도에서 장출혈성 대장균의 생존에 영향을 주는 것으로 확인되었다(Table 1, Fig. 1). 이는 유지방을 함유한 트리글리세라이드(triglycerides)와 막성지질(Membrane lipids)이 병원성 대장균 O157:H7, 살모넬라 엔테리티디스, 캄필로박터 제주니, 리스테리아 모노사이토제니스, 클로스트리듐 퍼프린젠스에 저감화 효과를 보인 선행연구 와도 일치하는 결과였다(Sprong 등, 2001).

일반우유 및 무지방우유에서 장출혈성 대장균으로 개발된 모델의 적합성 검증을 위하여 성장예측모델 개발에 사용되지 않는 소 유두 표면에서 검출된 장병원성 대장균을 활용하여 10°C와 17°C에서 모델 검증 실험을 진행하였다. 장출혈성 대장균으로 개발된 모델식을 통해 얻은 예측 값과 10°C와 17°C에서 진행된 장병원성 대장균의 성장 실험값을 통해 산출한 B_p, A_p, RMSE 값은 LT의 경우 0.703, 1.804, 3.305, SGR의 경우 1.192, 1.226, 0.0005, MPD의 경우 1.003, 1.035, 0.096으로 본 연구에서 개발된 장출혈성 대장균 성장예측모델은 장병원성 대장균에도 적용 가능한 것으로 판단된다. 이는 Kim 등(2013)의 연구에서 깻잎에서 장출혈성 대장균 O157:H7에 대한 LT, SGR, MPD 예측모델개발 결과가 장출혈성 대장균과 장병원성 대장균 예측모델에도 적용된 보고와 유사한 결과이다. 본 연구에서 장병원성 대장균의 LT 값은 10°C에서 23.57시간, 17°C에서 7.764시간으로 나타나 장

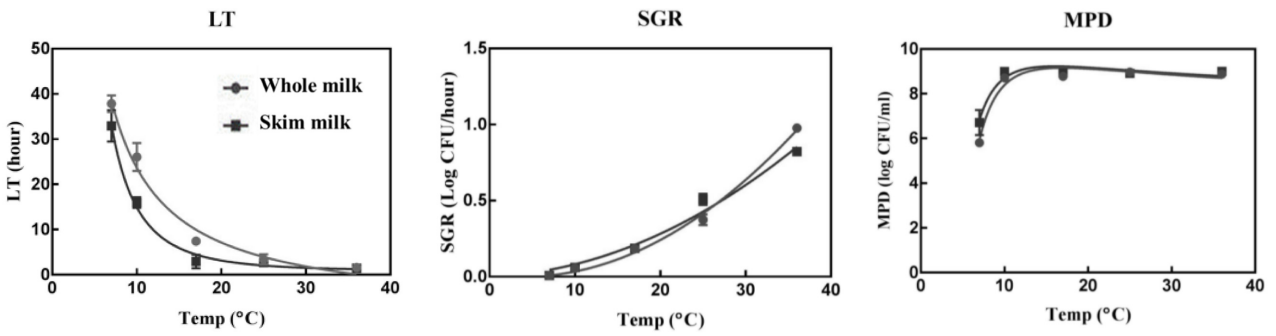
Table 1. LT, SGR, MPD and R² values for Enterohemorrhagic *E. coli* in whole milk and skim milk at 7, 10, 17, 25 and 36°C

Sample	Storage temperature (°C)	LT(h)	SGR (Log CFU/h)	MPD (Log CFU/g)	R ²
Whole milk	7	37.84±1.83	0.008±0.001	6.09±0.14*	0.994
	10	26.06±3.08*	0.057±0.001	8.75±0.06*	0.999
	17	7.42±0.20*	0.184±0.002	8.91±0.004	0.998
	25	3.38±0.03	0.456±0.03	8.70±0.04	0.988
	36	1.59±0.02	0.977±0.02	8.85±0.003	0.996
Skim milk	7	32.92±4.09	0.007±0.001	6.63±0.56*	0.995
	10	15.96±1.19*	0.06±0.001	8.99±0.02*	0.993
	17	2.94±1.49*	0.186±0.008	8.94±0.006	0.994
	25	2.68±0.51	0.508±0.03	8.91±0.08	0.989
	36	1.42±0.04	0.821±0.01	9.01±0.04	0.998

LT: Lag time (h), SGR: Specific growth rate (log CFU/h)

MPD: Maximum population density (log CFU/g)

*Significant difference was observed between whole milk and skim milk by t-test at $p < 0.05$



Whole milk: $LT = -8.322 + (282.3/T) + (320.5/T^2)$ Whole milk: $SGR = (0.03066 * (T - 3.978))^2$ Whole milk: $MPD = 7.544 + 54.69T - 462.7T^2$
 Skim milk: $LT = -0.8238 + (26.13/T) + (1257/T^2)$ Skim milk: $SGR = (0.02452 * (T - (-1.652)))^2$ Skim milk: $MPD = 7.307 + 65.3T - 524.3T^2$

Fig. 1. Secondary models for LT, SGR and MPD of Enterohemorrhagic *E. coli* in whole milk & skim milk as a function of temperature.

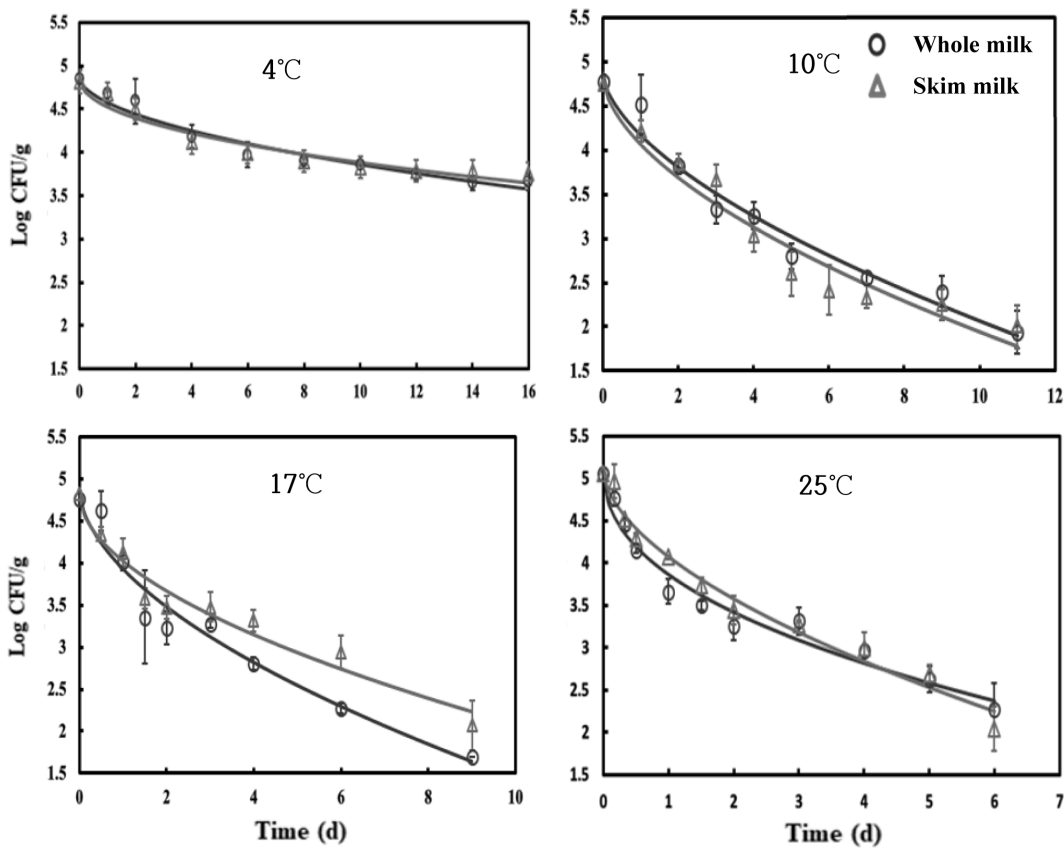


Fig. 2. Primary models of *C. jejuni* in whole milk and skim milk during storage as a function of time at 4, 10, 17 and 25°C.

출혈성 대장균의 결과와 유의적 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$).

일반우유 및 무지방우유에서 캄필로박터 제주니의 1차 행동에 예측모델 개발

일반우유 및 무지방우유에서 캄필로박터 제주니는 보관온도 4-25°C에서 모두 생존하여 캄필로박터 제주니의 1차 사멸예측모델을 개발하였다(Fig. 2). 보관온도 4, 10, 17, 25°C에서 일반우유와 무지방우유에서 캄필로박터 제주니 delta 값은 온도가 높아짐에 따라 비례적으로 감소하는 경향이 나타났으며, 4°C 보관 경우는 일반우유와 무지방우유 delta 값이 각각 9.55일과 10.43일로 유의적($p < 0.05$) 차이가 있는 것으로 확인되었다(Table 2). 4°C에서 delta

값은 10°C의 delta 값(일반우유 1.78일, 무지방우유 1.59일)보다 약 5-6배로 낮은 냉장온도에서 캄필로박터 제주니가 더 오래 생존하는 것으로 확인되었다. 반면에 17°C와 25°C에서 delta 값은 일반우유와 무지방우유 사이에 유의적 차이가 없는 것으로 확인되었다. 이와 같은 본 연구결과는 선행연구에서 닭 가슴살에서 캄필로박터 제주니가 4°C에서의 생존기간이 10°C 또는 24°C 보다 더 길다는 보고와 일치하였다(Burnette 과 Yoon, 2004).

일반우유와 무지방우유에서 캄필로박터 제주니 사멸모델의 p 값은 모두 1보다 작은 값으로 지방함량의 유무와 상관없이 모든 온도에서 보관 초기에 캄필로박터 제주니는 급격히 사멸하는 것으로 나타났다.

Table 2. Delta, p , N_0 and R^2 values for *C. jejuni* in whole milk and skim milk at 4, 10, 17, 25 °C

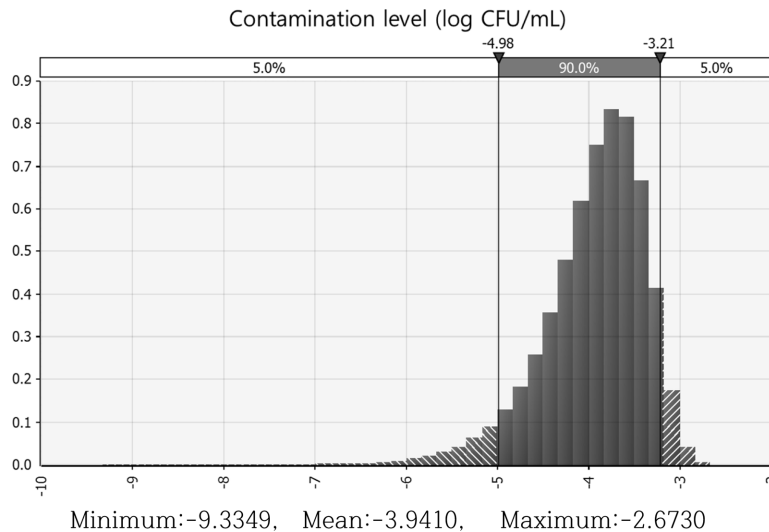
Storage temperature (°C)	Sample	Delta ¹⁾	p ²⁾	N_0 ³⁾	R^2
4	Whole milk	9.55* ⁴⁾	0.52	4.88	0.962
	Skim milk	10.43*	0.45	4.86	0.942
10	Whole milk	1.78	0.60	4.88	0.967
	Skim milk	1.59	0.58	4.83	0.952
17	Whole milk	1.10	0.56	4.87	0.955
	Skim milk	1.57	0.54	4.81	0.958
25	Whole milk	0.58	0.43	5.13	0.970
	Skim milk	0.96	0.57	5.10	0.977

¹⁾Delta: Treatment time for the first decimal reduction

²⁾ p : Shape

³⁾ N_0 : Log initial number of cells

⁴⁾Significant difference was observed between whole milk and skim milk by t-test at $p < 0.05$

**Fig. 3.** Probability distribution for contamination level of Enterohemorrhagic *E. coli* and *C. jejuni* in whole milk.

일반우유 및 무지방우유에서 온도에 따른 캄필로박터 제주니의 2차 행동예측모델 개발 및 검증

일반우유 및 무지방우유에서 1차 사멸예측모델 결과로부터 온도에 따른 delta 값(Table 2)을 Davey model에 적용하여 2차 행동예측모델을 개발하였다. 매개변수 delta 값을 이용하여 개발된 2차 행동예측모델의 적합 결정 계수 R^2 값은 일반우유는 0.955-0.970, 무지방우유는 0.942-0.977로 개발된 2차모델은 온도 변화에 의한 일반우유와 무지방우유에서 캄필로박터 제주니의 사멸을 예측하기에 적합한 것으로 나타났다. 본 연구의 대상 식품인 일반우유와 무지방우유에서 캄필로박터 제주니는 온도가 증가함에 따라 delta 값이 감소하는 것으로 관찰되었으며 Hong 등(2016)의 연구결과와 일치하였다. 또한 캄필로박터 제주니의 delta 값은 온도가 낮아질수록 증가하여 저온에서 생존기간이 연장되어 원유 수집 과정, 우유 생산 공정에서 우유에 캄필로박터 제주니의 오염이 발생하지 않도록 관리하는 것이 중요한 것으로 사료된다. 일반우유 및 무지방우유에서 캄필로박터 제주니에 대해 개발된 모델의 적합성 검증을 위하여 모델개발에 사용하지 않은 7°C 온도에서 delta 값에 대한 2차모델 검증 실험을 진행하였다. 개발된 1차 사멸예측모델을 활용하여 얻어진 예측 값과 7°C에서의 실험 값을 통해 RMSE 값을 산출하였으며 그 값은 0.16로 나타나

Weibull Model이 캄필로박터 제주니의 사멸예측모델 매개변수인 delta 값을 예측하기에 적합한 것으로 확인되었다.

일반우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 노출평가 (초기 오염수준)

위해성 평가 연구를 위해서는 시중 마트에서 유통 판매되고 있는 일반우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 오염 실태를 모니터링(n=195) 하였다. 그 결과 모니터링한 일반우유 모든 제품에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니는 검출되지 않았다. 따라서 일반우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 초기 오염수준은 beta distribution을 활용하여 추정된 결과 각각 평균 -3.941 log CFU/mL로 동일한 값으로 확인되었다 (Fig. 3).

판매장에서 가정까지 유통 중 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 오염도 변화

일반우유에서 판매장에서 가정까지의 유통환경에 따른 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 오염도 변화 및 최종 오염수준을 예측한 결과는 Fig. 4와 같다. 선행연구결과(MFDS, 2009)에 따르면 우유는 구매 직후 바로 섭취하지 않고 2-3일 이내에 냉

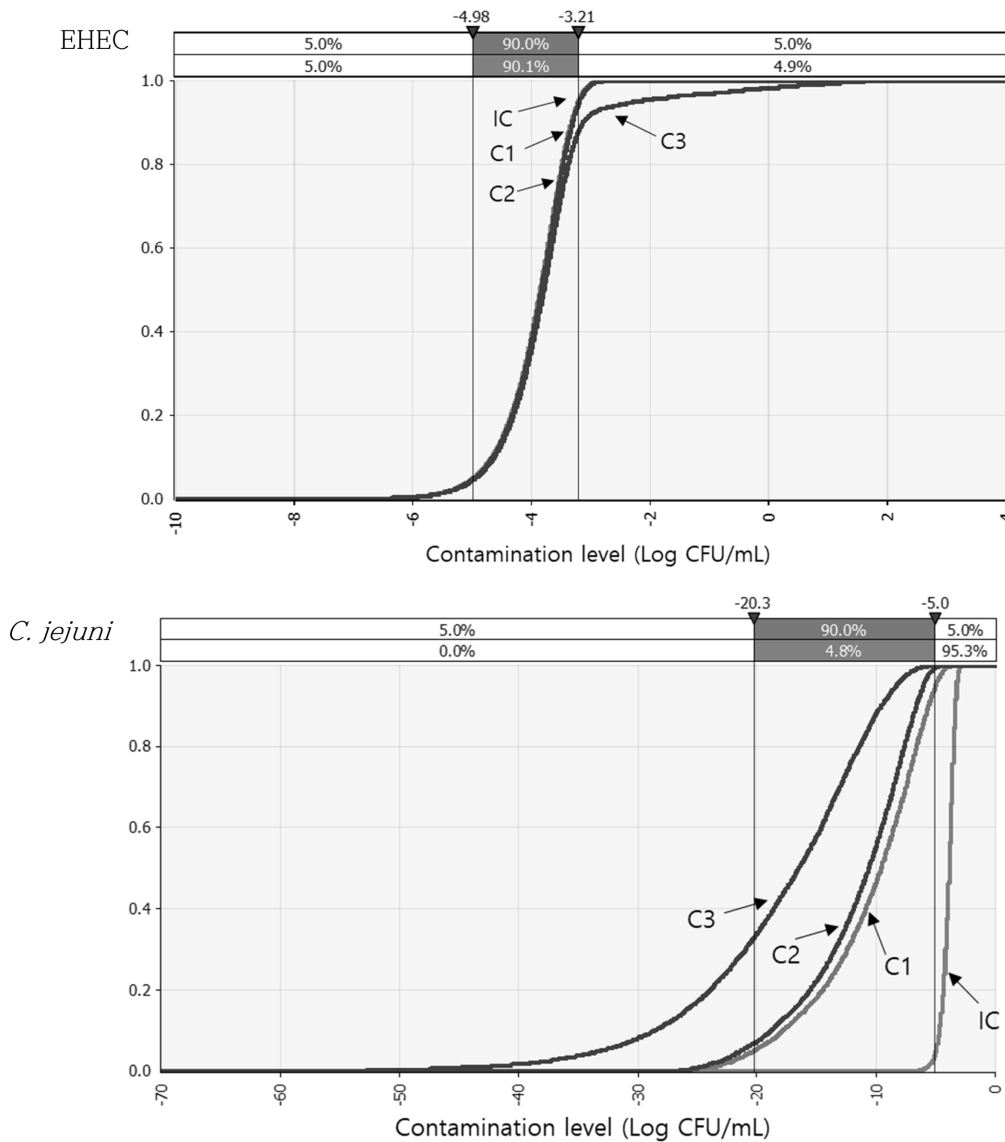


Fig. 4. Cumulative distribution for comparing the contamination level of Enterohemorrhagic *E. coli* and *C. jejuni* in milk from initial contamination level to home with @RISK. IC: initial contamination level; C1: market storage; C2: transportation; C3: home storage.

장 보관하는 경우는 69.2%, 한달 이상까지 냉장 보관하는 경우도 0.2% 있는 것으로 보고되었다. 본 연구에서는 섭취량이 가장 많은 일반우유를 대상으로 판매 마트 부터 가정에서 섭취할 때까지의 유통 및 보관환경을 고려하여 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니에 의한 식중독 발생 가능성을 추정하였다.

일반우유에서 장출혈성 대장균의 초기오염도(IC)는 $-3.94 \log \text{CFU/mL}$ 이었으나 판매장에서 보관하는 동안의 오염수준(C1)은 $-3.93 \log \text{CFU/mL}$ 로 증가하였다. 소비자가 판매장에서 우유를 구매한 후 가정으로 운송하는 시간과 온도는 Jung (2011)의 연구 내용을 활용하여 판매장에서 우유를 구매 후 가정으로의 운송 시간은 최소 0.325시간, 최빈 0.984시간, 최대 1.643시간을 적용하여 RiskPert (0.325, 0.984, 1.643) 확률분포 값을 추정하였다. 또한 일반우유 구매 후 가정까지 운송할 때까지의 온도는 최소, 최빈, 최대의 온도로 각각 10, 18, 25°C 인 것을 반영하여 RiskPert (10, 18, 25)로 추정하였다. 운송 중인 우유에서 장출혈성 대장균의 최종 평균 오염수준(C2)은 $-3.92 \log \text{CFU/mL}$, 가정에서 섭취

전까지의 냉장보관 시 일반우유 오염도(C3)는 $-3.73 \log \text{CFU/mL}$ 로 증가하였다.

일반우유에서 캄필로박터 제주니의 초기오염도는 $-3.94 \log \text{CFU/mL}$ 이고, 판매장 보관 시 오염수준은 $-7.86 \log \text{CFU/mL}$, 가정으로 운송되었을 때 오염수준은 $-8.89 \log \text{CFU/mL}$ 로 감소되는 것으로 확인되었다. 일반우유를 판매장에서 가정으로 운송되는 동안의 온도는 최소 10°C 에서 최대 25°C 이며 운송시간은 최대 1.643시간으로 확인되어(Jung, 2011), 캄필로박터 제주니가 최종적으로 가정에서 섭취 전까지 최악의 시나리오설정인 실온 보관 시 오염수준은 $-12.10 \log \text{CFU/mL}$ 로 감소하였다. 따라서 일반우유를 구매한 후 가정으로 운송하는 동안 온도와 시간이 캄필로박터 제주니의 위해도에 가장 큰 영향을 주는 것으로 확인되었다. 최근 식품을 온라인으로 구매한 후 배송서비스를 통해 가정으로 운송되는 점을 고려할 때 우유의 운송과정에서 더욱 철저한 온도 및 시간 관리가 강조되어야 할 것으로 사료된다.

Table 3. Simulation model and formulas in the Excel spreadsheet used to calculate the risk of Enterohemorrhagic *E. coli* in whole milk with @RISK

Symbol	Unit	Definition	Formula	Reference
Product				
Pathogens contamination level				
PR		Prevalence of <i>E. coli</i> in whole milk	=RiskBeta(1,196)	This research; Sanaa et al., 2004
CL	CFU/g	Contamination level of EHEC	=LN(1-PR)/25	
IC	Log CFU/g	Initial contamination level	=Log(CL)	
Market				
M _{Time}	h	Storage time in market	=RiskUniform(0,240)	This research
M _{Temp}	°C	Storage temperature in market	=RiskPert(2,4,7.5)	
Growth				
SGR ₁	Log CFU/h	Specific growth rate	={0.03066*(T-3.978)} ²	This research
LT ₁	h	Lag time	=-8.43+(301.9/T) + (191/T ²)	
C	Fixed	Difference between initial and final cell numbers	Fixed 5.1375	
G ₁	Log CFU/g	Growth model	=IC+C*EXP[-EXP{(2.718*SGR ₁ /C)* (LT ₁ -M _{Time})+1}]	
Transportation to home				
T _{Time}	h	Storage time during transportation	=RiskPert(0.325,0.984,1.643)	Jung, 2011
T _{Temp}	°C	Storage temperature during transportation	=RiskPert(10,18,25)	Jung, 2011
Growth				
SGR ₂	Log CFU/h	Specific growth rate	={0.03066*(T-3.978)} ²	This research
LT ₂	h	Lag time	=(-8.43)+(301.9/T)+(191/T ²)	
C	Fixed	Difference between initial and final cell numbers	Fixed 5.1375	
G ₂	Log CFU/g	Growth model	=G ₁ +C*EXP[-EXP{(2.718*SGR ₂ /C)* (LT ₂ -T _{Time})+1}]	
Home				
H _{Time}	h	Storage time until consumption	=RiskUniform(0,720)	MFDS, 2009
H _{Temp}	°C	Storage temperature until consumption	=RiskLoglogistic(-10.407,13.616,8.6107)	Bahk, 2010
Growth				
SGR ₃	Log CFU/h	Specific growth rate	={0.03066*(T-3.978)} ²	This research
LT ₃	h	Lag time	=-8.43+(301.9/T) + (191/T ²)	
C	Fixed	Difference between initial and final cell numbers	Fixed 5.1375	
G ₃	Log CFU/g	Growth model	=G ₂ +C*EXP[-EXP{(2.718*SGR ₃ /C)* (LT ₃ -H _{Time})+1}]	
Consumption				
Consum		Daily consumption average amount	=RiskLaplace (200, 20.524)	MFDS, 2015
Intake rate	Fixed	Intake rate	=0.37	
Amount		Daily consumption average amount considered frequency	=Consume*Intake rate	
Dose- response model				
Dose (D)		EHEC amount	=10 ^{G3} ×Amount	Huertas et al., 2008
Model		1-(1+D/β) ^α	α=Fixed 0.49	
			β=Fixed 1.81*10 ⁵	
Risk Characterization				
Risk		Probability of illness/person/day	=1-(1+D/β) ^α	Haas et al., 1983

Table 4. Simulation model and formulas in the excel spreadsheet used to calculate the risk of *C. jejuni* in whole milk with @RISK

Symbol	Unit	Definition	Formula	Reference
Product				
Pathogens contamination level				
PR		Prevalence of <i>C.jejuni</i> in whole milk	=RiskBeta(1,196)	This research Sanaa et al., 2004
CL	CFU/mL	Contamination level of EHEC	=-LN(1-PR)/25	
IC	Log CFU/mL	Initial contamination level	=Log(CL)	
Market				
M_{Time}	d	Storage time in market	=RiskUniform(0,10)	This research
M_{Temp}	°C	Storage temperature in market	=RiskPert(2,4,7.5)	
Death				
delta	d	delta	=0.5198+((-1.908)/T)+(152/T ²)	This research
p		p	= 0.4507+(0.0232*T)+(-0.0009582*T ²)	
<i>C. jejuni</i> survival model	log CFU/mL	C_1	=IC-(M_{Time} /delta) ^p	This research
Transportation to home				
T_{Time}	d	Storage time during transportation	=RiskPert(0.014,0.041,0.068)	Jung, 2011
T_{Temp}	°C	Storage temperature during transportation	=RiskPert(10,18,25)	
Death				
delta	d	delta	=0.5198+((-1.908)/T)+(152/T ²)	This research
p		p	= 0.4507+(0.0232*T)+(-0.0009582*T ²)	
<i>C. jejuni</i> survival model	log CFU/mL	C_2	= C_1 -(T_{Time} /delta) ^p	
Home				
H_{Time}	d	Storage time until consumption	=RiskPert(0,2.5,15)	MFDS, 2009 Bahk, 2010
H_{Temp}	°C	Storage temperature until consumption	=RiskLoglogistic(-10.407,13.616,8.6107)	
Death				
delta	d	delta	=0.5198+((-1.908)/T)+(152/T ²)	This research
p		p	= 0.4507+(0.0232*T)+(-0.0009582*T ²)	
<i>C. jejuni</i> survival model	log CFU/mL	C_3	= C_2 -(H_{Time} /delta) ^p	
Consumption				
Consumption Intake rate	Fixed	Daily consumption average amount	=RiskLaplace(200,20.524)	MFDS, 2015
Amount		Intake rate	=0.37	
		Daily consumption average amount considered frequency	=Consume*Intake rate	
Dose- response model				
Dose (D)		<i>C.jejuni</i> amount	=10 ^{C₃} *Amount	Medema et al., 1996 Nauta et al., 2007
Probability of infection by one infested <i>C. jejuni</i>		$P_1 = RiskBeta(\alpha, \beta)$	α =Fixed 0.145 β =Fixed 7.59	
Probability of infection		P_{inf}	$1-(1-p_1)^D$	Nauta et al., 2007
Probability of illness given infection		$P_{ill inf}$	Fixed 0.33 (33%)	
Risk Characterization				
Risk		Probability of illness/person/day	= P_{inf} * $P_{ill inf}$	Nauta et al., 2007

@RISK를 활용한 일반우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 정량적 위해성평가

본 연구에서 일반우유의 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 정량적 위해성 평가를 위해 @RISK 프로그램을 사용하였다. 일반우유의 1일 평균 섭취량의 확률분포 모델식은 RiskLaplace

가 가장 적합한 것으로 조사되었고 1일 평균 섭취량은 197 mL, 1일 1회 섭취자비율은 0.37인 것으로 확인되었다(Table 3, 4). 유통 및 저장 단계를 거치면서 균 수 변화에 따른 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 최종 오염수준(log CFU/g)은 일반우유 1일 섭취량 및 섭취자비율을 고려하여 추정하였다. 그 결과 시중

Table 5. Probability of foodborne illness of *C. jejuni* and Enterohemorrhagic *E. coli* per day per one serving of whole milk

Probability of illness/person/day	Min	25 %	Mean	95 %	Max
<i>C. jejuni</i>	0	0	9.86×10^{-9}	2.33×10^{-9}	1.05×10^{-5}
EHEC	6.95×10^{-13}	1.29×10^{-8}	5.70×10^{-5}	1.10×10^{-6}	3.59×10^{-2}

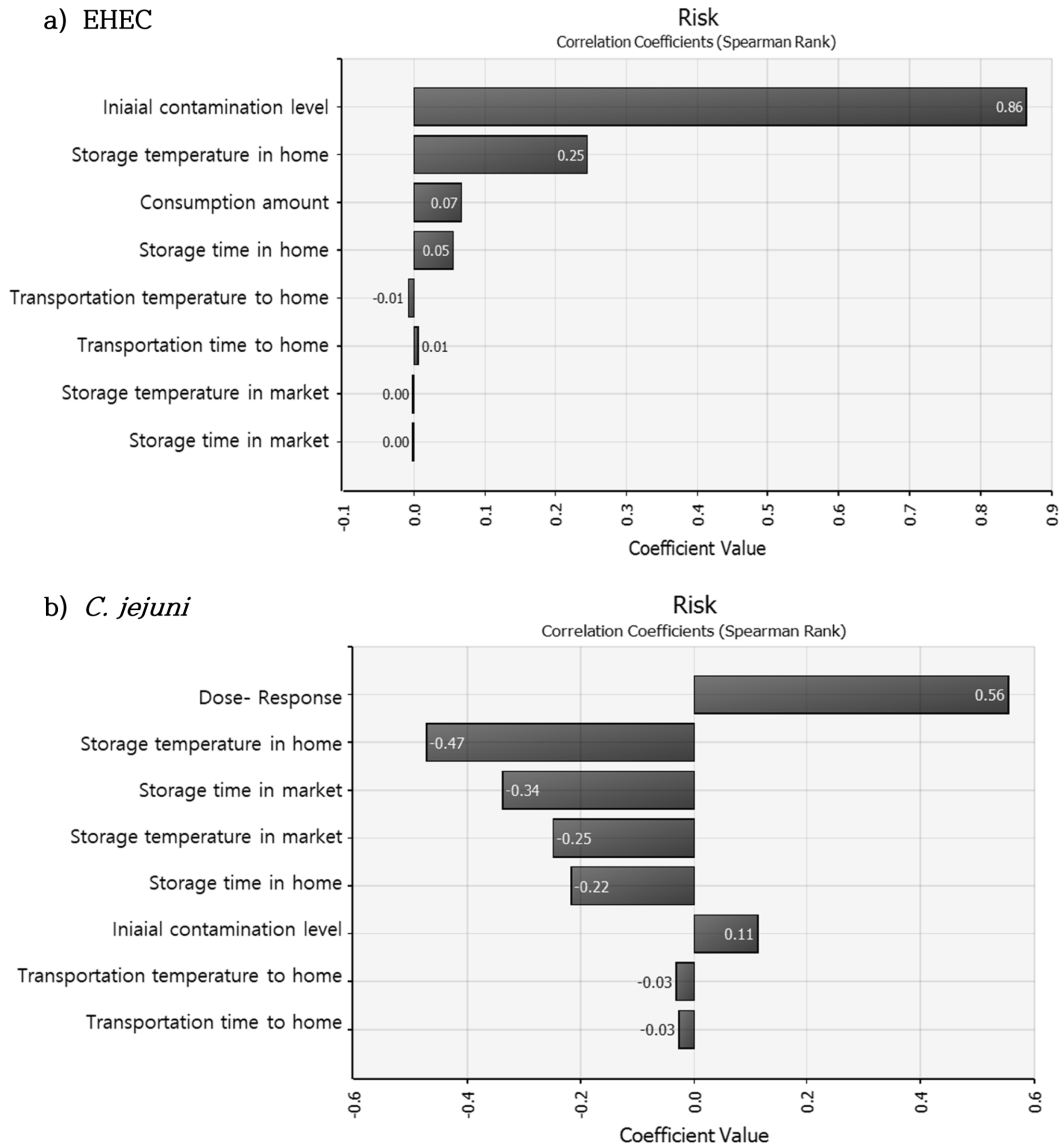


Fig. 5. The correlation coefficient for sensitivity risk factor affecting probability of foodborne illness of Enterohemorrhagic *E. coli* (a) and *C. jejuni* (b) by consumption of whole milk with @RISK.

에서 판매 중인 일반우유를 마트에서 가정까지의 유통환경 시뮬레이션을 적용하고 1일 1회 섭취할 경우 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니에 의한 식중독 발생 확률은 각각 평균 5.70×10^{-5} , 9.86×10^{-9} 로 나타나(Table 5), 일반우유에서 장출혈성 대장균에 의한 식중독 발생 확률이 더 높은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과로부터 우유 제조업체의 원유사용, 교차오염 방지, 살균 온도/시간 등의 관리가 장출혈성 대장균에 의한 식중독 발생 예방을 위해 위생적인 제조의 중요관리점이 될 것으로 사료된다.

일반우유에서 캄필로박터 제주니에 의한 식중독 발생 확률은 현재 오염도, 유통 조건 및 소비자 섭취 패턴 등의 조건에서 낮은 것으로 추정되었다. 현재의 유통환경 조건 시 캄필로박터 제

주니는 일반우유에서 사멸하는 것으로 본 연구결과 확인되었으며 하루에 1회 일반우유 섭취에 의한 캄필로박터 제주니 식중독 발생 확률이 9.86×10^{-9} 으로 확인되었다. 이는 Giacometti 등(2012)의 선행연구에서 최적의 보관 환경에서 끓인 원유와 최악의 보관 환경에서 끓인 원유에서 캄필로박터 제주니에 의한 식중독 발생 위험도가 각각 6.66×10^{-9} , 3.49×10^{-9} 으로 보고된 결과와 유사한 경향인 것으로 확인되었다.

본 연구에서 일반우유의 캄필로박터 제주니는 25°C 이하의 온도 조건에서 사멸하였으며 실제로 판매장에서 일반우유의 보관 온도는 평균 4.1°C로 캄필로박터 제주니가 증식하지 않는 온도이다. 판매장에서 집으로 이동하는 중의 온도는 최소 10°C, 최대

25°C, 가정에서의 보관 온도는 평균 3.53±2.96°C로 보고되었다 (Bahk, 2010; Jung, 2011). 따라서 일반우유를 판매장에서 구매 한 후 집으로 이동하는 환경에서는 캄필로박터 제주니의 증식이 발생하지 않으며 우유 섭취로 캄필로박터 제주니에 의한 식중독 발생 확률은 매우 낮은 것으로 사료된다.

민감도 분석(Sensitivity analysis)

민감도 분석은 입력변수(초기 오염도, 유통 환경조건, 섭취량 등)들이 위해도에 미치는 영향력의 크기를 분석하는 방법으로 위해성평가 시 위해관리를 위한 우선순위를 결정하고자 할 때 매우 유용하게 사용된다. 본 연구에서 민감도 분석을 통해 일반우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 위해수준에 대한 영향요인을 분석한 결과는 Fig. 5와 같다. 장출혈성 대장균 위해도에 영향을 주는 요인은 초기 오염도, 가정보관온도, 섭취량, 가정보관시간 순으로 양의 상관관계를 보였다. 캄필로박터 제주니 위해도에 영향을 주는 요인은 용량-반응모델과 초기오염수준이 양의 상관관계를 보였고 반면에 가정보관온도, 마트 보관시간, 마트 보관온도, 가정보관시간 등은 음의 상관관계를 보였다.

요 약

본 연구는 일반우유와 무지방우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 행동예측모델을 개발하고, 미생물학적 안전관리를 위한 기준의 적절성 평가를 위해 정량적 위해성평가를 수행하였다. 시중 마트에서 유통 판매되고 있는 일반우유(n=195)에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 오염상태를 모니터링한 결과 모든 제품에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니는 검출되지 않아 초기 오염도는 각각 -3.94 log CFU/mL로 동일하게 추정되었다. 장출혈성 대장균은 7°C 이상의 온도에서 성장하였고, 캄필로박터 제주니는 4-25°C 온도의 우유에서 사멸하였다. 우유에서 1차 모델에서 얻은 parameter를 사용하여 장출혈성 대장균은 2차 성장모델을 캄필로박터 제주니는 2차 사멸예측모델을 개발하였다. 일반우유의 섭취패턴은 식품의약품안전처 (2015) 연구에서 수행한 “50대 주요 축산식품의 섭취량 및 섭취 패턴조사” 결과를 바탕으로 @RISK 프로그램을 활용하여 하루에 일반우유의 1회 섭취를 통하여 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니에 의한 식중독 발생 확률을 추정하였다. 추정 결과 1일 1회 일반우유 섭취로 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니로 인한 평균 식중독 발생 확률은 각각 5.70×10^{-5} , 9.86×10^{-9} 것으로 확인되었다. 본 연구에서 정량적 위해평가를 통해 일반우유에서 장출혈성 대장균과 캄필로박터 제주니의 위해수준을 산출한 결과 일반우유에서 장출혈성 대장균의 식중독 발생 가능성이 상대적으로 높으므로 우선관리 대상임을 알 수 있었고, 우유제조업체에서 교차오염 방지, 살균온도/시간 관리, 유통온도, 가정에서 온도 관리 등이 매우 중요한 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2020년도 식품의약품안전처 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(20162위생안027)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. *Campylobacter*

- jejuni*-an emerging foodborne pathogen. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 28-35 (1999)
- Bahk GJ. Statistical probability analysis of storage temperatures of domestic refrigerator as a risk factor of foodborne illness outbreak. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 373-376 (2010)
- Baranyi J, Ross T, Roberts TA, McMeekin TA. Effects of parameterization on the performance of empirical models used in 'predictive microbiology. *Food Microbiol.* 13: 83-91 (1996)
- Burnette CN, Yoon KS. Comparison of growth and survival kinetics of *Salmonella* Typhimurium and *Campylobacter jejuni* on cooked chicken breast stored under aerobic conditions various temperatures. *Food Sci. Biotechnol.* 13:796-800 (2004)
- Centers for Disease Control and Prevention. How many outbreaks are related to raw milk? Available at: <http://www.cdc.gov/food-safety/rawmilk/raw-milk-questions-and-answers.html#related-outbreaks>. Accessed Sept. 22, 2021
- Davey KR. A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase. *J. Bacteriol.* 67: 483-488 (1989)
- Dean-Nystrom EA, Gansheroff LJ, Mills M, Moon HW, O'Brien AD. Vaccination of pregnant dams with intiminO157 protects suckling piglets from *Escherichia coli* O157: H7 infection. *Infect. Immun.* 70: 2414-2418 (2002)
- Dhaka P, Vijay D, Vergis J, Negi M, Kumar M, Mohan V, Doijad S, Poharkar KV, Malik SS, Barbudde SB, Rawool DB. Genetic diversity and antibiogram profile of diarrhoeagenic *Escherichia coli* pathotypes isolated from human, animal, foods and associated environmental sources. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 6: 31055 (2016)
- El-Zamkan MA, Hameed KGA. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in raw milk and some dairy products. *Vet. World.* 9: 1147-1151 (2016)
- Esan OB, Pearce M, van Hecke O, Roberts N, Collins DR, Violato M, McCarthy N, Perera R, Fanshawe TR. Factors associated with sequelae of *Campylobacter* and non-typhoidal *Salmonella* infections: a systematic review. *EBioMedicine.* 15:100-111 (2017)
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA & ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal* 16: 5500 (2018)
- Fusco V, Chieffi D, Fanelli F, Logrieco AF, Cho GS, Kabisch J, Böhnlein C, Franz, C. M. Microbial quality and safety of milk and milk products in the 21st century. *Compr. Rev. Food Sci. F.* 19: 2013-2049 (2020)
- Geeraerd AH, Valdramidis VP, Van Impe JF. GInaFit, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. *International J. Food Microbiol.* 102: 95-105 (2005)
- Giacometti F, Serraino A, Bonilauri P, Ostanello F, Daminelli P, Finazzi G, Losio MN, Marchetti G, Liuzzo G, Zanoni RG, Rosmini R. Quantitative risk assessment of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 and *Campylobacter jejuni* related to consumption of raw milk in a province in Northern Italy. *J. Food Prot.* 75: 2031-2038 (2012)
- Gibson AM, Bratchell N, Roberts TA. The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *J. Appl. Bacteriol.* 62: 479-490 (1987)
- Ha J, Lee J. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* foodborne illness caused by consumption of cheese. *J. Food Hyg. Saf.* 35: 552-560 (2020)
- Haas CN. Estimation of risk due to low doses of microorganisms: a comparison of alternative methodologies. *Am. J. Epidemiol.* 118: 573-582 (1983)
- Haas CN, Rose JB, Gerba CP. Quantitative microbial risk assessment. John Wiley & Sons, Inc. (1999)
- Havelaar AH, van Koningsveld R, van Kempen E. Health burden in the Netherlands due to infection with thermophilic *Campylobacter* spp. *Epidemiol. Infect.* 125: 505-522 (2000)
- Hong SH, Kim HS, Yoon KS. Survival and risk comparison of *Campylobacter jejuni* on various processed meat products. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 13: 580-594 (2016)

- Huertas E, Salgot M, Hollender J, Weber S, Dott W, Khan S, Schafer A, Messalem R, Bis B, Aharoni A, Chikurel H. Key objectives for water reuse concepts. *Desalination*. 218: 120-131(2008)
- Jung H. Consumer survey and hazard analysis for the improvement of food hygiene and safety in purchase. MD thesis, Korea Univ., Seoul, Korea (2011)
- Kim K, Lee H, Lee S, Kim S, Lee J, Ha J, Yoon Y. Microbial risk assessment of non-enterohemorrhagic *Escherichia coli* in natural and processed cheeses in Korea. *Korean J. Food Sci.* 37: 579-592 (2017)
- Kim J, Ro E, Yoon KS. Comparison of growth kinetics of various pathogenic *E. coli* on fresh perilla leaf. *Foods* 2: 364-373 (2013)
- Lawrence GD. Dietary fats and health: dietary recommendations in the context of scientific evidence. *J. Am. Coll. Nutr.* 4: 294-302 (2013)
- Lim JY, Jo HY, Lee CL, Kim GH, Lee JY, Seo HO, Yoon KS. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in natural cheese. *Safe food* 15: 11-19 (2020).
- Medema GJ, Teunis PFM, Havelaar AH, Haas CN. Assessment of the dose-response relationship of *Campylobacter jejuni*. *Int. J. Food Microbiol.* 30: 101-111 (1996)
- McMeekin TA, Olley J, Ross T, Ratkowsky DA. Predictive microbiology: theory and application. John Wiley & Sons Ltd. Taunton, UK. pp. 340 (1993)
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA). Agriculture, food and rural affairs statistics. Available from: <https://www.mafra.go.kr/mafra/360/subview.do> Accessed Nov. 20, 2020
- Park JH, Cho JI, Joo IS, Heo JJ, KS Yoon, Estimation of amount and frequency of consumption of 50 domestic livestock and processed livestock products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 45: 1177-1191 (2015)
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). Food hygiene in the home for consumer awareness survey. pp. 67-68 (2009)
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). Korea Food Code. Available from: https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=63. Accessed April. 30, 2020.
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). Foodborne disease outbreak. Available from: https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=3724&menu_grp=MENU_NEW02 Accessed Feb. 28, 2021
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). Guidelines for Preparation of Risk Assessment Report. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_231/view.do?seq=20205&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=3, Accessed Jun. 16, 2015
- Ministry of Health and Welfare, Republic of Korea (MOHW). Dietary Reference Intakes for Koreans 2020. Available from: http://www.mohw.go.kr/upload/viewer/skin/doc.html?fn=1608684513121_20201223092638.pdf&rs=/upload/viewer/result/202103/ Accessed Dec. 23, 2020
- Momtaz H, Dehkordi FS, Rahimi E, Ezadi H, Arab R. Incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in ruminant's meat. *Meat Sci.* 95: 381-388 (2013)
- Nauta MJ, Jacobs?Reitsma WF, Havelaar AH. A risk assessment model for *Campylobacter* in broiler meat. *Risk Anal.* 27: 845-861 (2007)
- Oscar TP. Development and validation of primary, secondary, and tertiary models for growth of *Salmonella* Typhimurium on sterile chicken. *J. Food Prot.* 68: 2606-2613 (2005)
- Ratkowsky DA, Olley J, McMeekin TA, Ball A. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *J. Bacteriol.* 149: 1-5 (1982)
- Ross T. Indices for performance evaluation of predictive model in food microbiology. *J. Appl. Bacteriol.* 81: 201-508 (1996)
- 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)
- Skirrow MB. Clinical aspects of *Campylobacter* infection. *J. Campylobacter.* 69-88 (2000)
- Sprong RC, Hulstein MF, Van der Meer R. Bactericidal activities of milk lipids. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1298-1301 (2001)
- Sprong RC, Hulstein MFE, Van der Meer R. Bovine milk fat components inhibit food-borne pathogens. *Int. Dairy J.* 12: 209-215 (2002)
- Ten Bruggencate SJ, Frederiksen PD, Pedersen SM, Floris-Vollenbroek EG, Lucas-van de Bos E, van Hoffen E, Wejse PL. Dietary milk-fat-globule membrane affects resistance to diarrheagenic *Escherichia coli* in healthy adults in a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *J. Nutr.* 146: 249-255 (2016)
- Tiwari U, Cummins E, Valero A, Walsh D, Dalmasso M, Jordan K, Duffy G. Farm to fork quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* contamination in raw and pasteurized milk cheese in Ireland. *Risk Anal.* 35: 1140-1153 (2015)
- Vose DJ. The application of quantitative risk assessment to microbial food safety. *J. Food Prot.* 61: 640-648 (1998)
- Wang Q, Ruan X, Wei D, Hu Z, Wu L, Yu T, Wang L. Development of a serogroup-specific multiplex PCR assay to detect a set of *Escherichia coli* serogroups based on the identification of their O-antigen gene clusters. *J. Mol. Cell. Probes.* 24: 86-290 (2010)
- Wemmenhove E. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in gouda cheese. Dissertation, Wageningen University. Wageningen, Gelderland, Netherlands (2019)