pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 35, No. 1, pp. 51~59 (2020)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2020.35.1.51

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

우렁쉥이에 대한 병원성 비브리오균 정량적 미생물 위해평가

하지명[1] · 이지연[1] · 오혜민[2] · 신일식[3] · 김영목[4] · 박권삼[5] · 윤요한[1,2]*

[1]숙명여자대학교 위해분석연구센터, [2]숙명여자대학교 식품영양학과
[3]강릉원주대학교 해양식품공학과, [4]부경대학교 식품공학과
[5]군산대학교 식품생명공학과

Quantitative Microbial Risk Assessment of Pathogenic *Vibrio* through Sea Squirt Consumption in Korea

Jimyeong Ha[1], Jeeyeon Lee[1], Hyemin Oh[2], Il-Shik Shin[3], Young-Mog Kim[4], Kwon-Sam Park[5], Yohan Yoon[1,2]*

[1]*Risk Analysis Research Center, Sookmyung Women's University, Seoul, Korea*
[2]*Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul, Korea*
[3]*Department of Marine Food Science and Technology, Gangneung-Wonju National University, Gangneoung, Korea*
[4]*Department of Food Science and Technology/Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan, Korea*
[5]*Department of Food Science and Biotechnology, Kunsan National University, Gunsan, Korea*

(Received January 28, 2020/Revised February 8, 2020/Accepted February 10, 2020)

ABSTRACT - This study evalutated the risk of foodborne illness from *Vibrio* spp. (*Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae*) through sea squirt consumption. The prevalence of *V. vulnificus* and *V. cholerae* in sea squirt was evaluated, and the predictive models to describe the kinetic behavior of the *Vibrio* in sea squirt were developed. Distribution temperatures and times were collected, and they were fitted to probabilistic distributions to determine the appropriate distributions. The raw data from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2016 were used to estimate the consumption rates and amount of sea squirt. In the hazard characterization, the Beta-Poisson model for *V. vulnificus* and *V. cholerae* infection was used. With the collected data, a simulation model was prepared and it was run with @RISK to estimate probabilities of foodborne illness by pathogenic *Vibrio* spp. through sea squirt consumption. Among 101 sea squirt samples, there were no *V. vulnificus* positive samples, but *V. cholerae* was detected in one sample. The developed predictive models described the fates of *Vibrio* spp. in sea squirt during distribution and storage, appropriately shown as 0.815-0.907 of R^2 and 0.28 of *RMSE*. The consumption rate of sea squirt was 0.26%, and the daily consumption amount was 68.84 g per person. The Beta-Poisson model [$P=1-(1+Dose/\beta)^{-\alpha}$] was selected as a dose-response model. With these data, a simulation model was developed, and the risks of *V. vulnificus* and *V. cholerae* foodborne illness from sea squirt consumption were 2.66×10^{-15}, and 1.02×10^{-12}, respectively. These results suggest that the risk of pathogenic *Vibrio* spp. in sea squirt could be considered low in Korea.

Key words : *Vibrio vulnificus, Vibrio cholerae*, Sea squirt, Risk assessment, Predictive model

수산물은 주요한 식중독 원인식품으로, 연중 기온이 증가함에 따라 수산물 섭취로 인해 다양한 질병이 발생되고 있다[1]. 수산식품 내 식중독 세균의 검출율은 품목과 지역에 따라 차이가 있으며 뚜렷한 경향은 나타나지 않았으나, 국내산 횟감용 수산물(생선회, 우렁쉥이, 굴 등)에서 30.5%의 장염비브리오가 검출된 바 있다[2]. 또한 수산물은 다양한 미생물이 존재하는 해수 환경에 노출 되어있고, 생산 및 유통 과정에서도 습도가 높은 환경에 장시간 노출될 가능성이 있기 때문에, 미생물의 생장 및 대사가 활발하게 진행될 수 있다[3,4]. 식품의약품안전처의 연구[5]에 의하면 소비자들이 수산물 중 특히 우렁쉥이 섭취로 인한 식중독 위험에 대한 인식이 있다(많이 있다: 41.3%, 조금 있다: 42.9%)고 응답하여 우렁쉥이 섭취로 인한 병원성 비브리오균의 위해평가를 실시할 필요가 있다. 비브리오는

*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: yyoon@sookmyung.ac.kr

그람음성 간균으로 포자를 형성하지 않는 통성혐기성 세균이며 인체에 감염을 발생시키는 균주는 비브리오 패혈증균(*Vibrio vulnificus*), 비브리오 콜레라균(*Vibrio cholerae*), 일부 장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*)가 대표적이다[6,7]. *V. vulnificus*는 국내 법정감염병 제3군감염병에 속하며 국내에서는 해수온도가 상승하는 8~9월에 집중되어 환자가 발생하였다[8]. *V. cholerae*는 법정감염병 제1군감염병에 속하는 대표적 수인성 식품 매개 질환이며 면역력이 약화된 사람의 경우 수 시간 내에 탈수 현상과 더불어 쇼크로 사망 시킬 수 있는 위험한 세균이다[9]. 전세계적으로 기후변화에 따른 해수온도 상승으로 인해 병원성 비브리오균의 검출이 증가하고 있고, 특히 우리나라는 지리적으로 해양환경과 밀접하여 있기 때문에 병원성 비브리오균으로 인한 식중독 사고를 예방하고 관리하기 위해서는 수산물의 안전관리가 매우 중요한 실정이다[8].

미생물학적 위해평가는 미생물에 의한 위해를 추정하기 위한 과학적 평가방법으로 위험성 확인, 노출 평가, 위험성 결정, 위해도 결정의 4단계로 구성된다[10]. 위해평가는 일반적으로 국내·외에서 기준 및 규격을 설정하고 미생물의 안전관리를 위해 활용되고 있다[11]. 국내에서 병원성 비브리오균에 대한 위해평가는 장염비브리오에 집중되어 진행되어 왔으며, *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 대한 위해평가 결과는 매우 미비한 실정이다. 국내 수산물의 미생물 관리기준은 식품공전 제2. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격 3. 식품일반의 기준 및 규격에 따라, “장염비브리오균의 경우 식육(제조, 가공용원료는 제외한다), 살균 또는 멸균처리하였거나 더 이상의 가공, 가열 조리를 하지 않고 그대로 섭취하는 가공식품에서는 특성에 따라 n=5, c=0, m=0/25 g 이어야함. 더 이상의 가열 조리를 하지 않고 섭취할 수 있도록 비가식 부위 제거, 세척 등 위생처리한 수산물은 g 당 100 CFU 이하 이어야함”으로 규정하고 있으며[12] *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 대한 기준·규격은 마련되어 있지 않은 실정이다. 따라서 다양한 온도 조건에서 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 생장 또는 사멸 예측모델을 개발함으로써 해수의 온도 변화 등에 대응하고 관리할 수 있는 과학적이고 객관적인 근거를 마련할 필요가 있고[13] 예측모델을 바탕으로 한 위해평가를 통해 병원성 비브리오균에 대한 위해도를 평가할 필요가 있다.

Materials and Methods

우렁쉥이에서 병원성 비브리오균 오염 실태조사 및 유통환경조사

남해 권역(경남 통영시 일원), 동해 권역(강원도 강릉시 등 동해안 일원), 수도권(노량진 수산시장 등 수도권 일원), 서해 권역(전북 군산시 등 서해안 일원), 네 권역을 중심으로 유통(마트, 횟집, 시장) 단계에서의 우렁쉥이 101개를 채취 후 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 오염실태를 조사하였다. 유통환경(시간 및 온도)은 직접 측정하거나 전문가의 의견을 참고하였으며 조사 결과를 바탕으로 @RISK 프로그램을 이용하여 확률분포모델을 산정하였다.

예측모델 개발

본 연구에서는 *V. vulnificus* ATCC27562, NCCP14549, NCCP11887, *V. cholerae* NCCP14552 (Non-O1), NCCP12842 (O23)를 American Type Culture Collection (ATCC) 및 National Culture Collection for Pathogens (NCCP)에서 분양 받아 사용했으며, 각각의 균주는 20% 글리세롤을 함유한 바이알에 담아 -80°C에 보관하며 사용하였다. -80°C에서 동결되어 있는 각각의 균주 100 μL를 Luria-Bertani (LB; Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA)에 NaCl (Samchun chemicals, Seoul, Korea) 2%를 첨가한 액체 배지 10 mL에 현탁하여 37°C에서 배양하였다. 배양 후 새로운 LB에 NaCl 2%를 첨가한 액체 배지에 접종하여 24시간 배양하고 2회 원심분리(1,912×*g*, 15분, 4°C) 후 최종 균체를 Alkaline Peptone Water (APW; Oxoid Ltd., Basingstoke, UK) 로 현탁하고 희석하여 최종적으로 6 Log CFU/mL의 균액을 준비하였다.

우렁쉥이는 10 g씩 무균적으로 채취하여 50 mL conical tube (Hyundai micro Co., Seoul, Korea)에 취하였다. *V. vulnificus* ATCC27562, NCCP14549, NCCP11887과 *V. cholerae* NCCP14552, NCCP12842는 생장 패턴이 유사하여 병원성 비브리오균을 대표하는 예측모델 개발을 위해 두가지 균주를 혼합하여 사용하였다. 혼합한 균액을 100 μL씩 접종하여 초기 균수가 3.0±0.5 Log CFU/g 수준이 되도록 하였고, 균이 고르게 분포하도록 흔들어 준 뒤 4°C에서 15분 간 부착시켰다. 시중에서 오염된 우렁쉥이가 봉지 우렁쉥이로 판매되는 상태를 시뮬레이션하기 위하여 충진수를 우렁쉥이가 잠기는 정도로 5 mL씩 담은 후 7°C, 10°C, 15°C, 20°C에서 일정 기간 동안 저장하여 병원성 비브리오균의 생장 패턴을 확인하였다. 일정 시간마다, 균을 접종한 우렁쉥이를 멸균된 집게로 집어 멸균백(3M, St. Paul, MN, USA)에 취하고 APW 20 mL을 넣은 뒤 1분간 균질화하였다. 균질액을 APW에 십진 희석한 후, CHROM™agar Vibrio배지에 평판 도말하였으며 37°C에서 24시간 동안 배양 후 계수하여 균수를 확인하였다. 일반세균수는 희석액을 tryptic soy agar (TSA; Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) 에 동일 방법으로 평판 도말하여 확인하였다. 각 온도에서의 1차 모델은 Baranyi 모델을 이용하였으며 (Table 1) DMfit 프로그램을 통해, 최대생장률(μ_{max}; maximum specific growth rate)과 유도기(*LPD*; Lag Phase Duration)를 산출하였다. Polynomial linear model과 quadratic model을 이용하였으며, 1차 모델 결과로부터 계산된 온도에 따른 μ_{max}

Table 1. Parameters and equations used in the Baranyi model

Model	Formula
Baranyi model	$N_t = N_0 + \mu_{max} \times A_t - \ln\left[1 + \frac{\exp(\mu_{max} \times A_t) - 1}{\exp(N_{max} - N_0)}\right]$ $A_t = t + \frac{1}{\mu_{max}} \ln\left(\frac{\exp(-\mu_{max}) + q_0}{1 + q_0}\right)$ $q_0 = \frac{1}{\exp(h_0) - 1}$ - μ_{max} : maximum specific growth rate - N_0 : initial bacterial cell counts - N_{max} : final bacterial counts - h_0 : a parameter defining the initial physiological state of the cells - t : time

와 *LPD* 값에 대한 2차 모델을 SigmaPlot10.0 (Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA)을 이용하여 개발하였다. 또한 모델 개발에 이용하지 않은 온도(13°C, 23°C)에서 접종된 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*의 생장을 관측한 값과 모델 개발을 통하여 예측한 값을 비교하여 적합성을 판단하였다. 적합성을 판단하기 위하여 *RMSE* (*Root Mean Square Error*)를 계산하였고 식은 아래와 같다[14].

$$\text{RMSE} = \sqrt{1/n \times \Sigma(\text{observed data} - \text{predicticed data})^2}$$

섭취자 비율 및 섭취량

우렁쉥이의 섭취자 비율 및 섭취량은 보건복지부의 국민건강영양조사(2016년) 원시자료를 통하여 산출하였다. 2016년 국민건강영양조사의 원시자료 중 24시간 회상법으로 조사된 자료를 바탕으로 SAS® version 9.3을 이용하여 우렁쉥이 함유 식품을 섭취하였다고 응답한 섭취인원과 섭취량을 SAS coding을 이용하여 추출하였다. 추출된 데이터는 Excel (Microsoft@ Excel 2007, Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) spreadsheet를 이용하여 응답자 중복성 검사를 실시하였으며, 이를 통해 선정식품에 대한 섭취자 비율과 섭취량을 산출하였다.

섭취 세균수 추정 및 위험성 결정

우렁쉥이를 통해 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*를 섭취하게 되는 용량(Dose, CFU)은 최종 오염도(CFU/g)와 섭취자의 우렁쉥이 섭취량(g)을 고려하여 산출하였다. 또한 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 대한 용량-반응 모델을 문헌 조사를 통하여 선정하였다.

위해도 결정

국내에서의 1일 1인 식중독 발생 가능 확률을 계산하기 위해 초기 오염도, 저장 온도 및 시간, 섭취자 비율 및 섭취량, 용량-반응 모델 등의 결과를 활용하여 @RISK와 연동되는 Excel spreadsheet에 시나리오를 구성했다. 최종적으로 구성된 시나리오를 @RISK 프로그램을 이용하여 10,000번의 몬테카를로 시뮬레이션을 시행했고, 이를 통해 1일 1인 식중독 발생 가능 확률을 계산하였다.

Results and Discussion

초기 오염도 및 유통환경

유통 단계 우렁쉥이에서 병원성 비브리오균의 초기오염도를 확인한 결과 *V. vulnificus*는 101개 시료에서 모두 음성으로 나타났고 *V. cholerae*는 101개 시료 중 1개에서 양성으로 나타났다. Tao 등[15]의 연구에 의하면 어류에서 *V. vulnificus*의 검출률은 37%로 나타났고, 해수 온도가 높아질수록 검출률이 높아졌다. 하지만 우렁쉥이 섭취로 인한 *V. vulnificus* 발생에 관한 연구 결과는 없었고 *V. vulnificus*는 주로 어류나 해수에서 검출되었다[16]. 하지만 박정준 등[17]의 연구에 의하면 횟집에서 우렁쉥이를 섭취하고 고열 및 오한, 설사로 병원을 방문한 환자의 혈액배양검사에서 *V. cholerae* non-O1이 분리되었으며 2016년에도 거제도 지역에서 우렁쉥이 섭취로 인한 *V. cholerae* 감염의 위험이 추정된 바 있다[18]. 그래서 우렁쉥이를 섭취하고 *V. vulnificus* 및 *V. cholerae* 식중독에 걸릴 확률을 추정하기 위해 대형할인마트, 시장 및 횟집에서 관리자와의 면담을 통해 유통 시간에 대한 정보를 수집했다. 그 결과 우렁쉥이의 경우 최소 1시간, 최대 48시간 진열되는 것으로 조사되어 이를 Uniform 분포[Uniform(1, 48)]로 적용하였다. 유통 온도에 대한 정보는 시료의 품온 및 진열대 온도를 직접 측정하여 수집하였고 이 또한 Uniform 분포[Uniform(0, 10)]로 적용하였다.

예측모델 개발

병원성 비브리오균의 예측모델 개발을 위해 접종실험(4 samples/data points)을 실시하였다. 그 결과 7°C, 10°C, 15°C, 20°C의 모든 온도에서 점차 사멸하는 것을 확인하였으며(Fig. 1), *LPD*는 저장온도가 높을수록 증가하는 경향을 보였다(Fig. 2). Kaspar and Tamplin[19]의 연구결과에 의하면 병원성 비브리오균은 온도가 높아질수록 잘 생장하고 8.5°C 이하의 낮은 온도에서는 잘 생존하지 못하는 것으로 나타나 본 연구결과와 유사한 것으로 판단된다. 1차 모델에서 계산한 *LPD*와 μ_{max} 값을 각각 linear model

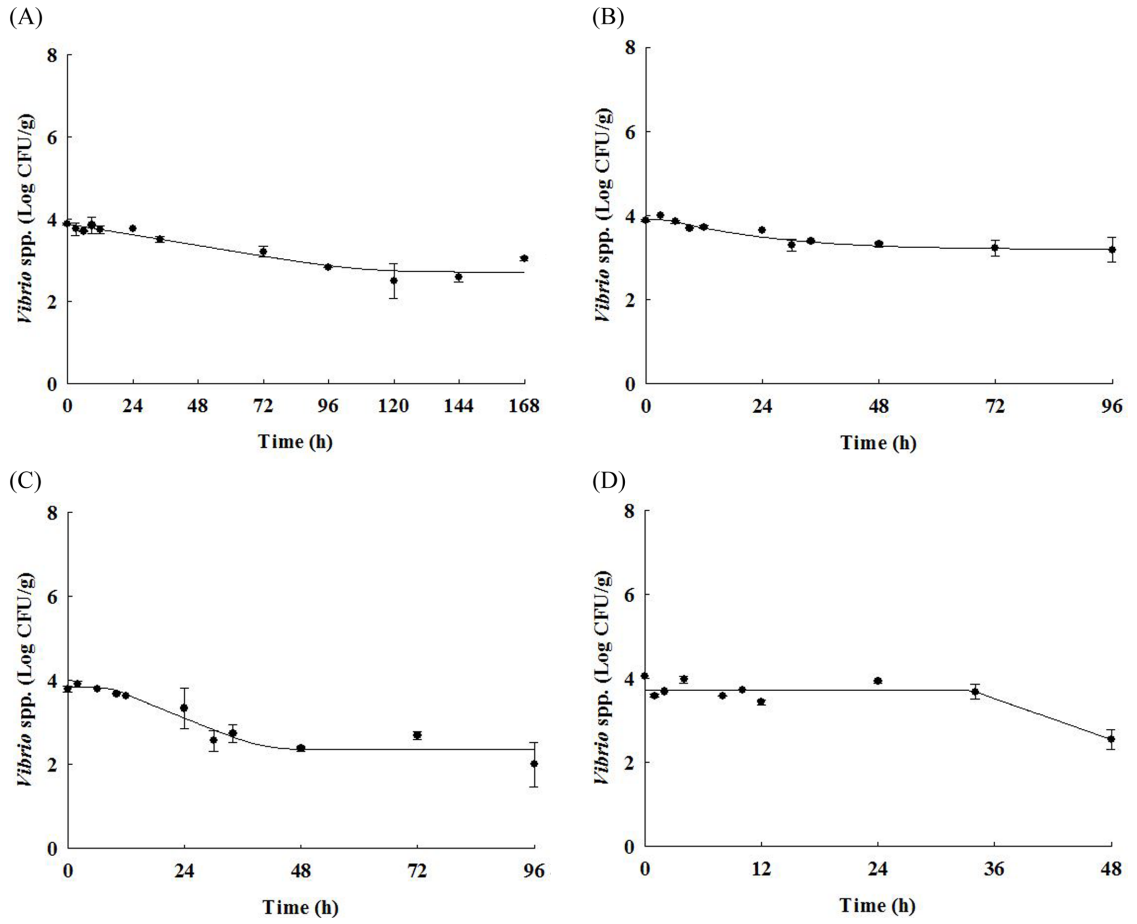

Fig. 1. Primary model for pathogenic *Vibrio* spp. (*Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae*) growth in sea squirt during storage at 7°C(A), 10°C(B), 15°C(C), and 20°C(D). (• : observed data; — : fitted line)

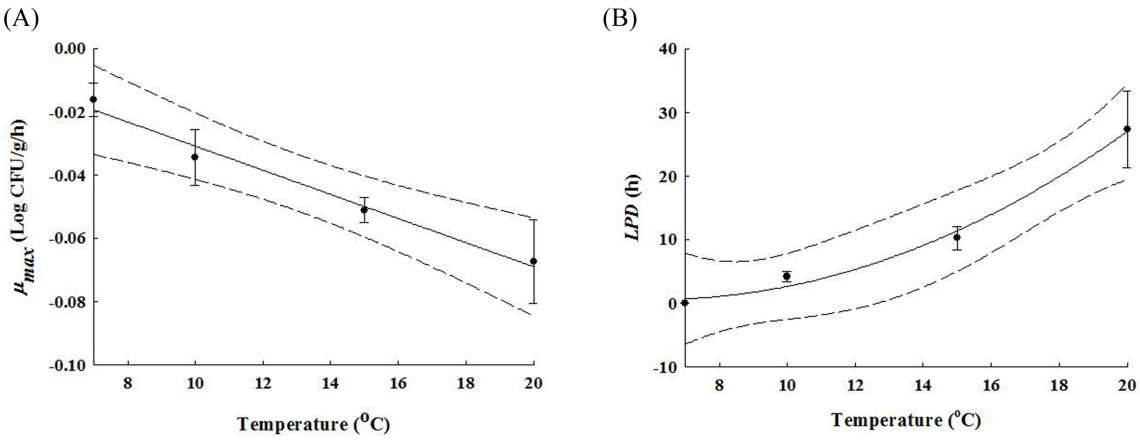

Fig. 2. Secondary model for μ_{max} (A) and *LPD* (B) of pathogenic *Vibrio* spp. in sea squirt as a function of temperature.

Table 2. Secondary modeling formula for μ_{max} and *LPD* in sea squirt

Parameter	Equation	R^2
μ_{max} (Log CFU/g/h)	μ_{max}=0.0074-0.0038*T	0.815
LPD (h)	*LPD*=5.8721-1.6984*T+0.1378*T^2	0.907

T: Temperature(°C).

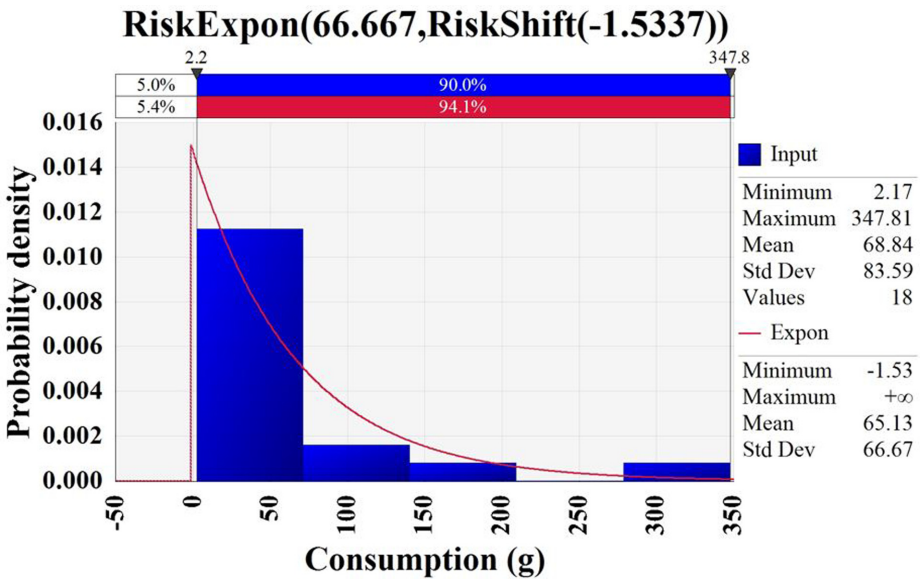

Fig. 3. Probabilistic distribution for intake of sea squirt obtained from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHNES) 2016 with @RISK.

과 quadratic model을 이용하여 2차 모델을 개발하였다. 개발한 모델 공식은 Table 2와 같으며, 모델은 Fig. 2와 같다. R^2의 경우 μ_{max}는 0.815, *LPD*는 0.907로 개발된 모델이 온도와 카이네틱 변수의 상관성을 잘 묘사하는 것으로 확인되었다(Table 2). 개발된 모델의 적합성을 확인하기 위해 *RMSE* 값을 산출한 결과 13°C, 17°C에서의 *RMSE* 값은 각각 0.337과 0.230으로 나타나 0에 가까우므로 개발된 모델이 우렁쉥이에서 병원성 비브리오균의 균주 변화를 묘사하기에 적합한 것으로 확인되었다.

섭취자 비율 및 섭취량 조사

2016년도에 수행된 국민건강영양조사에서 전체 응답자는 7,042명이며 이 중 '우렁쉥이(또는 멍게)' 함유 식품을 섭취했다고 응답한 섭취 인원은 18명으로 추출되었다. 이에 따라 전체 인원 중 하루에 한번 우렁쉥이를 섭취하는 섭취자 비율은 0.26%로 나타났으며, 이를 discrete 분포에 입력 변수로 사용하였다. 우렁쉥이를 섭취했다고 응답한 응답자의 섭취량을 분석한 결과 우렁쉥이의 1일 평균 섭취량은 68.84 g으로 나타났다. 우렁쉥이 섭취자의 섭취량을 @RISK Fitting 프로그램으로 fitting하여 최적 확률분포모델을 추정하였다. 그 결과, 우렁쉥이 섭취량 데이터에 대한 최적 확률분포모델은 Exponential distribution[Expon (66.667, Shift (-1.5337))]로 나타났고, 이를 통해 계산된 우렁쉥이를 섭취하는 사람들의 1일 평균 섭취량은 65.13 g으로 나타났다(Fig. 3).

용량-반응 모델

용량-반응 모델은 가장 널리 이용되는 Beta-Poisson model[P=1-(1+Dose/β)$^{-\alpha}$]을 사용하였다. 모델에 사용된 변수는 *V. vulnificus*의 경우 WHO[20]가 제시한 α=9.3×10^{-6}, β=1.1×10^{5}의 값을, *V. cholerae*의 경우 Cash 등[21]과 WHO[22]가 제시한 α=1.31×10^{-1}의 값과 β=1.49×10^{7}의 값을 사용하였다.

위해도 결정

우렁쉥이를 섭취하였을 경우 1일 1인에게서의 병원성 비브리오균 식중독 발생 확률을 추정하기 위하여 위의 결과들을 바탕으로 @RISK와 연동되는 Excel spreadsheet에 Table 3과 같은 시나리오를 구성하고 시뮬레이션 모델을 개발하였다.

우렁쉥이에서의 *V. vulnificus*의 오염도는 평균 -4.0 Log CFU/g으로 나타났으며, 이는 초기 오염 수준(-3.7 Log CFU/g)과 비교하여 0.3 Log CFU/g 감소한 것으로 확인되었다(Fig. 4). 또한 우렁쉥이에서의 *V. cholerae* 오염도

Table 3. Excel spreadsheet for calculating the risk of *Vibrio* spp. in sea squirt with @RISK

Input model	Unit	Variable	Formula	Reference
PRODUCT				
Product				
V. vulnificus prevalence		PR	=RiskBeta(1,102)	This research; [23]
V. cholerae prevalence		PR	=RiskBeta(2,101)	
Initial contamination level	CFU/g	C	=-ln(1-PR)/25	[24]
	Log CFU/g	IC	=Log(C)	
MARKET				
Market display				
Display time	h	$Time_{mark-dis}$	=RiskUniform(1,48)	This research; Personal communication[a]
Display temperature	°C	$Temp_{mark-dis}$	=RiskUniform(0,10)	This research; Personal communication[a]
Death				
	Log CFU/g	h_0	=Fixed 0.001	This research; [25]
	Log CFU/g	Y_0	=average(Y_{0i}), Fixed 3.9	This research; [25]
	Log CFU/g	Y_{end}	=Fixed 1.0	This research; [25]
		ln(q)	=ln(1/(EXP(h_0)-1))	This research; [25]
Death rate	Log CFU/g/h	$DR_{mark-dis}$	=0.0074-0.0038*$Temp_{mark-dis}$	This research; [25]
Pathogenic *Vibrio* death model	Log CFU/g	C1	=IC+1/(1+EXP(-ln(q))) *(1-$10^{-\|Y0-Yend\|}$/ln(10))*$DR_{mark-dis}$*$Time_{mark-dis}$	This research; [25]
CONSUMPTION				
Daily consumption frequency	%	ConFre	Fixed 0.26	[26]
		CF(0)	=1-0.26/100	[26]
		CF(1)	=0.26/100	[26]
		CF	=RiskDiscrete({0,1},{CF(0),CF(1)})	[26]
Daily consumption amount	g	Consump	=RiskExpon(66.667,RiskShift(-1.5337), RiskTruncate(2,350))	[26]
Final consumption amount	g	Amount	=IF(CF=0,0,Consump)	[26]
DOSE-RESPONSE				
V. vulnificus amount	CFU	D	=10^{C1}*Amount	
		α	=Fixed 9.3*10^{-6}	[20]
		β	=Fixed 1.1*10^{5}	[20]
V. cholerae amount	CFU	D	=10^{C1}*Amount	
		α	=Fixed 1.31*10^{-1}	[21,22]
		β	=Fixed 1.49*10^{7}	[21,22]
RISK				
Probability of illness /person/day		Risk	=1-(1+D/β)$^{-α}$	[20,21,22]

[a] Personal communication with manager in charge of products at retail store.

는 평균 -3.5 Log CFU/g으로 나타났으며, 이는 초기 오염 수준 (-3.2 Log CFU/g)과 비교하여 0.3 Log CFU/g 감소한 것으로 확인되었다(Fig. 5). 이는 우렁쉥이가 유통되어 마트에 진열되면서 오염수준이 점차 낮아진다는 것을 의미한다.

최종적으로 @RISK Fitting 프로그램을 활용한 시뮬레이션을 통하여 우렁쉥이에서의 *V. vulnificus* 및 *V. cholerae*에 대한 위해도를 추정한 결과, 우렁쉥이를 섭취하였을 경우 1일 1인에게서의 *V. vulnificus*로 인한 식중독 발생 확률은 평균 2.66×10^{-15}(최소 0, 최대 5.52×10^{-12}), *V. cholerae*

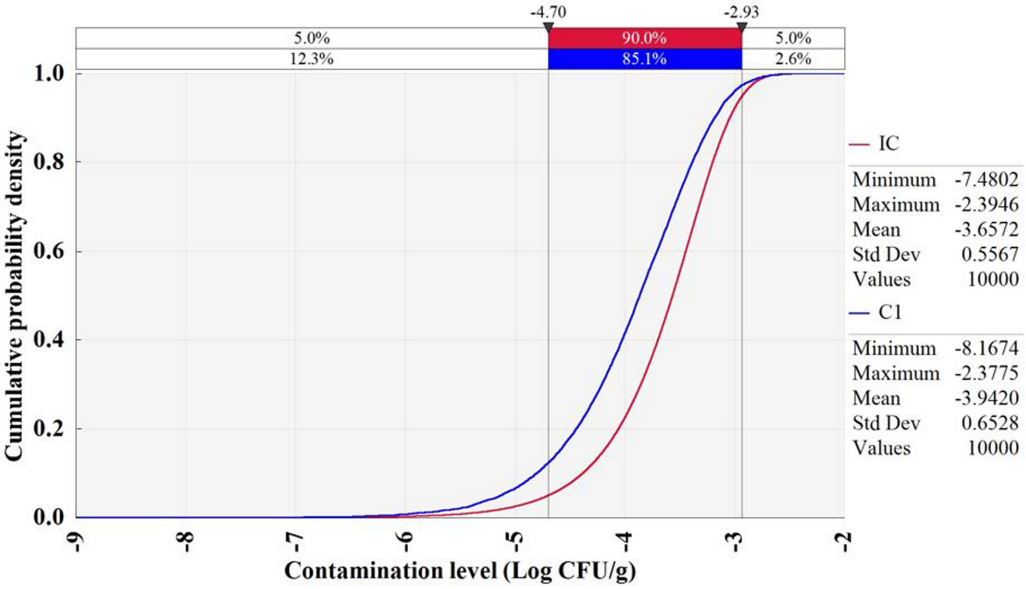

Fig. 4. Growth of *Vibrio vulnificus* by domestic distribution in sea squirt.
(IC-Initial concentration, C1-Concentration after display in markets)

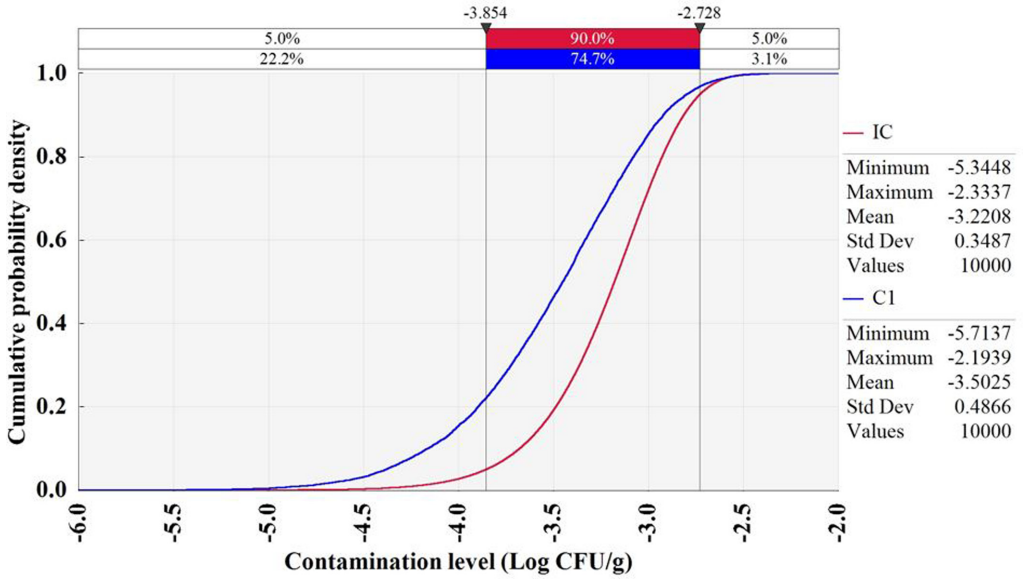

Fig. 5. Growth of *Vibrio cholerae* by domestic distribution in sea squirt.
(IC-Initial concentration, C1-Concentration after display in markets)

식중독 발생 확률은 평균 1.02×10^{-12}(최소 0, 최대 1.60×10^{-9})으로 추정되었다. 우렁쉥이는 평균 5°C 이하의 냉장환경에서 유통이 이루어지는데, 이러한 유통환경 하에서 병원성 비브리오균이 감소하며 섭취자 비율도 0.26%로 낮게 나타나 식중독 발생확률이 낮게 나타난 것으로 추정된다. 또한 입력한 변수와 추정된 위해도 간의 상관성 분석을 통해 민감도 분석을 실시한 결과, 섭취자 비율이 위해도에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 조사되었다(Fig. 6).

결론적으로 우렁쉥이는 유통단계를 거칠수록 병원성 비브리오균의 오염 수준이 낮아지는 것으로 판단되며, 우렁쉥이 섭취로 인한 *V. vulnificus* 및 *V. cholerae* 식중독 발생 확률은 매우 낮은 것으로 사료된다. 하지만 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*는 법정감염병으로 인체 감염 시 치명적인 결과를 초래하므로 해당 위해평가 결과를 활용하여 과학적인 근거를 토대로 한 관리 기준 마련이 필요할 것으로 사료된다.

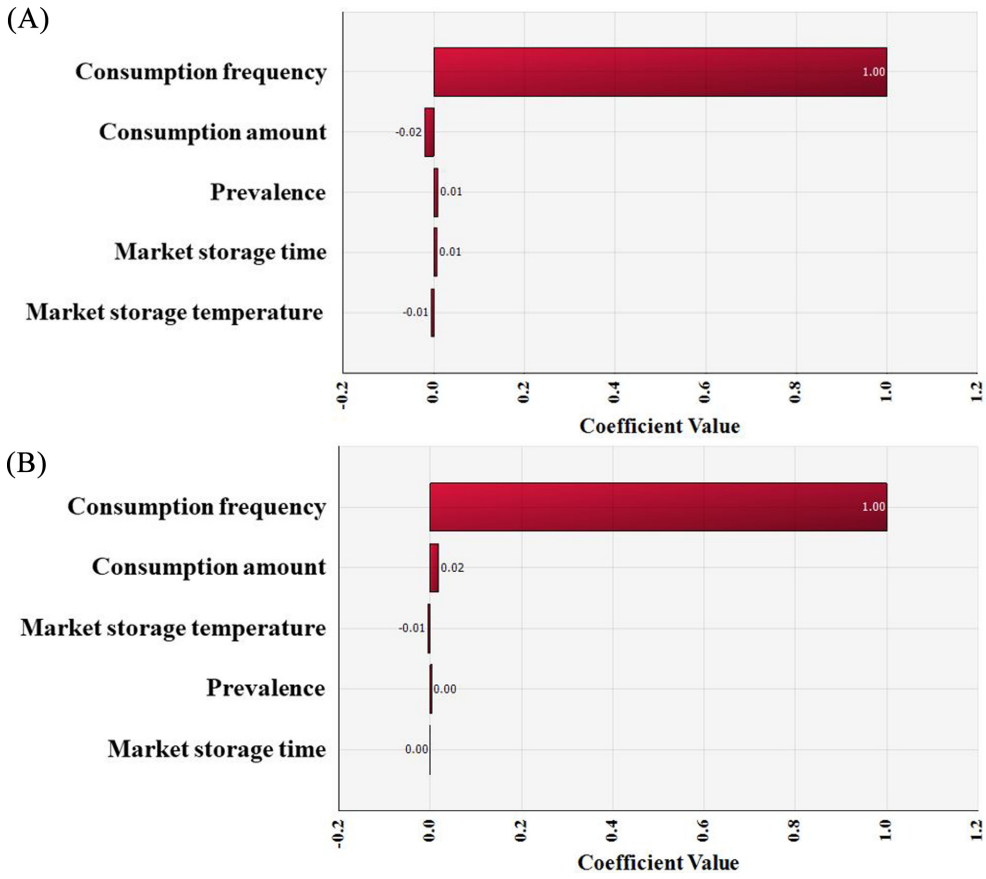

Fig. 6. Correlation coefficient values for risk factors, affecting the probability of *Vibrio vulnificus* (A) *and Vibrio cholerae* (B) foodborne illness per person per day caused by sea squirt consumption.

Acknowledgement

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

국문요약

본 연구에서는 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*를 중심으로 국내에서 유통되는 우렁쉥이에 대한 위해평가를 실시하였다. 위험성 확인 단계에서 병원성 비브리오균의 위험성에 대해 조사하였고, 노출평가 단계에서는 초기오염도를 산출하기 위하여 네 권역에서 우렁쉥이의 병원성 비브리오균 오염실태를 조사하였다. 또한 대형할인마트, 시장 및 횟집에서 관리자와의 면담을 통하여 유통 시간을 조사하였으며, 시료의 품온 및 진열대 온도를 직접 측정하여 유통 온도를 수집하였다. 예측모델 개발을 위하여 병원성 비브리오 균을 혼합하여 우렁쉥이에 접종 후 다양한 온도(7°C, 10°C, 15°C, 20°C)에 저장하면서 시간대별로 꺼내어 세균의 생장 및 사멸을 확인하였다. 섭취자 비율 및 섭취량은 2016년 국민건강영양조사 원시자료를 활용하여 산출하였으며 용량-반응모델 선정을 위하여 문헌조사를 실시하였고, 최종적으로 수집된 데이터들을 활용하여 시나리오를 구성하였다. 오염실태 조사 결과 *V. vulnificus*는 검출되지 않았으며 *V. cholerae*는 101개의 시료 중 1개에서 양성으로 검출되었다. 유통환경조사 결과 우렁쉥이는 최소 1시간, 최대 48시간까지 진열되는 것으로 조사되었고 0-10°C로 유통되는 것을 확인하였다. 예측모델 개발 결과 모든 온도(7°C, 10°C, 15°C, 20°C)에서 병원성 비브리오균은 점차 사멸하는 경향을 띄었으며 개발된 모델의 적합성 검증 결과 *RMSE*값이 0에 가까워 개발된 모델이 우렁쉥이에서 병원성 비브리오 균의 균주 변화를 묘사하기에 적합하다고 판단되었다. 섭취자 비율 및 섭취량은 0.26% 및 65.13 g으로 나타났으며 용량-반응 모델은 Beta-Poisson 모델을 사용하였다. 최종적으로 @RISK Fitting 프로그램을 활용하여 위해도를 추정한 결과, 우렁쉥이를 섭취하였을 경우 1일 1인에게서의 *V. vulnificus*로 인한 식중독 발생 확률은 평균 2.66×10^{-15}, *V. cholerae*로 인한 식중독 발생 확률은 평균 1.02×10^{-12}으로 추정되었다. 또한 민감도 분석결과 섭취자 비율이 위해도에 가장 큰 양의 상관관계를 나타내는 것으로 조사되었다. 해당 연구결과는 국내 우렁쉥이 유통

과정에서 병원성 비브리오균에 대한 안전한 수산물을 생산하는데에 기여할 수 있을 것으로 판단된다. 또한 위해평가 결과는 국내 수산물에서 *V. vulnificus*와 *V. cholerae*에 대한 기준·규격을 설정하는데 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

References

1. Barrett, K.A., Nakao, J.H., Taylor, E.V., Eggers, C., Gould, L.H., Fish-associated foodborne disease outbreaks: United States, 1998-2015. *Foodborne Pathog. Dis.*, **14,** 537-543 (2017).
2. Kim, S.H., Sin, Y.M., Lee, M.J., Shin, P.K., Kim, M.C., Cho, J.S., Lee, C.H., Lee, Y.J., Chae, K.R., Isolation of major foodborne pathogenic bacteria from ready-to-eat seafoods and its reduction strategy. *J. Life Sci.*, **15**, 941-947 (2005).
3. Gram, L., Dalgaard, P., Fish spoilage bacteria–problems and solutions. *Curr. Opin. Biotechnol.,* **13**, 262-266 (2002).
4. Noh, B.Y., Hwang, S.H., Cho, Y.S., Microbial contamination levels in Porphyra sp. Distributed in Korea. *Korean J. Fish Aquat. Sci.*, **52**, 180-184 (2019).
5. Ministry of Food and Drug Safety, 2009. Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in fishery products. Cheongju, Korea. pp. 92-98.
6. Koh, Y.J., Jang, J.S., Relationships of pathogenic Vibrios and environmental factors affecting their occurrence in the seawater of Incheon coastal area. *Korean J. Food Nutr.,* **26**, 414-420 (2013).
7. Liu, H., Srinivas, S., He, H., Gong, G., Dai, C., Feng, Y., Chen, X., Wang, S., Quorum sensing in *Vibrio* and its relevance to bacterial virulence. *J. Bacteriol. Parasitol.*, **4**, 1-6 (2013).
8. Korea Centers for Disease Control and Prevention, (2019, December 30). Infectious disease portal, Disease statistics. Retrieved from http://www.cdc.go.kr/npt/biz/npp/ist/bass / bassDiss StatsMain.do
9. Bae, I.G., Epidemiology, management, and prevention of cholera. *J. Korean Med. Assoc.,* **60**, 140-146 (2017).
10. Codex Alimentarius Commission, 2015. Procedural manual. 24th edWorld Health Organization/Food and Agricultural Organization of the United Nations. Rome, Italy. pp.128-241.
11. Lee, J., Lee, H., Lee, S., Kim, S., Ha, J., Choi, Y., Oh, H., Kim, Y., Lee, Y., Yoon, K.S., Seo, K., Yoon, Y., Quantitative microbial risk assessment for *Campylobacter jejuni* in ground meat products in Korea. *Food Sci. Anim. Resour.*, **39**, 565-575 (2019).
12. Ministry of Food and Drug Safety, (2019, December 30). Korea food code. Retrieved from https://www. foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=12
13. Ha, J., Lee, J., Lee, S., Kim, S., Choi, Y., Oh, H., Kim, Y., Lee, Y., Seo, Y., Yoon, Y., Mathematical models to describe the kinetic behavior of *Staphylococcus aureus* in jerky. *Food Sci. Anim. Resour.*, **39**, 371-378 (2019).
14. Baranyi, J., Ross, T., McMeekin, T.A., Roberts, T.A., Effects of parameterization on the performance of empirical models used in predictive microbiology. *Food Microbiol.*, **13**, 83-91 (1996).
15. 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).
16. Strom, M.S., Paranjpye, R.N., Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Microbe. Infect.*, **2**, 177-188 (2000).
17. Park, J.J., Lee, M.L., Hwang, H.J., Cha, M.S., *Vibrio* species isolated from clinical specimens. *Korean J. Clin. Lab. Sci.*, **27**, 236-243 (1995).
18. Korea Centers for Disease Control and Prevention, 2017. Epidemiological investigation of infectious diseases in Korea. Annual report 2016. Cheongju, Korea. pp. 29-32.
19. Kaspar, C.A., Tamplin, M.L., Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 2425-2429 (1993).
20. Food and Agriculture Organization/World Health Organization, 2005. Risk assessment of *Vibrio vulnificus* in raw oysters: interpretative summary and technical report (Vol. 8). Food & Agriculture Org. Geneva, Switzerland, pp. 21-26.
21. 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).
22. Food and Agriculture Organization/World Health Organization, 2005. Risk assessment of choleragenic *Vibrio cholerae* O1 and O139 in warm water shrimp for international trade: interpretative summary and technical report. Geneva, Switzerland, pp. 47-49.
23. Vose, D., 1996. Quantitative Risk Analysis. A Guide to Monte Carlo Simulation Modelling. Chichester. Hoboken, United States.
24. 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).
25. Baranyi, J., Roberts, A., dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.*, **23**, 277-94 (1994).
26. Korea Center for Disease Control and Prevention, (2020, January 19). Korea health statistics 2016, Retrieved from https:// knhanes.cdc.go.kr/knhanes/sub03/sub03_02_02.do