J. Fd Hyg. Safety 18(3), 107–112 (2003)

확률적 접근방법을 이용한 식육에서의 *Listeria monocytogenes* 오염수준 산출

박경진 · 김성조 · 심우창 · 천석조 · 최은영* · 최원상** · 홍종해***,†

*한국보건산업진흥원 HACCP팀, *농촌진흥청 농촌생활연구소*

***동국대학교 자연과학대학 생명공학과, ***강원대학교 수의학과*

Estimation of Contamination Level of *Listeria monocytogenes* in meat and meat products Using Probability Approaches

Gyung-Jin Bahk, Sung-Jo Kim, Woo-Chang Sim, Seok-Jo Chun, Eun-young Choi*, Weon Sang Choi and Chong-Hae Hong***,†**

HACCP Team, Korea Health Industry Development Institute, Seoul 156-050, Korea

**National Rural Living Science Institute, Suwon, kyonggi-Do, 441-853, Korea*

***Department of Biotechnology, College of Natural Sciences, Dongguk University, Gyeongju 780-714, Korea*

****Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chunchon, Kangwon-Do 200-701, Korea*

ABSTRACT – Probabilistic exposure assessment has been recognized as an important tool in microbial risk assessment, because of obtained the desired results to characterize of variability and uncertainty associated with the microbial hazards. In addition, it will be provided much more actuality information than the point-estimate approaches. In this study, we present methodology using mathematical probability distribution in exposure assessment and estimating of contamination level of *Listeria monocytogenes* in meat and meat products as a case study. The result of estimation contamination level was mean (50^{th} percentile) -4.08 Log CFU/g, minimum (5^{th} percentile) -4.88 Log CFU/g, maximum (95^{th} percentile) -3.56 Log CFU/g.

Key words: Probability exposure assessment, Microbial risk assessment, *Listeria monocytogenes,* Contamination, Meats

식품의 식중독 원인균 오염수준 평가는 연구대상 범위내의 제한적인 분석자료를 이용하거나 기존의 모니터링 자료에 의존하는 피상적인 평가였다. 따라서 이들 평가결과는 시기와 장소 그리고 분석자 등에 따라서 많은 다양성 또는 변이성과 불확실성을 갖고 있으며, 과거 시점이나 분석 당시의 단편적인 결과만을 나열할 뿐 미래의 발생가능성에 대한 예측에 있어서는 미흡하였다.

효과적인 식품안전관리 정책을 수립하기 위해서는 과거의 자료로부터 경향 분석을 통하여 미래의 발생가능성을 예측하고 이를 현재의 식품관리정책에 반영하여야 한다.[1] 따라서 미래의 발생경향을 예측하기 위해서는 수학적인 확률방법이 적용되고 있으며, 현재 기존의 자료분석과 이를 통한 예측방법의 하나로 미생물 위해성 평가(Microbial risk assessment; MRA)방법이 개발 · 적용되고 있다.[2]

MRA는 음용수에 대한 수질기준제정에 필요한 과학적 기반조성을 목적으로 미국 Environment Protection Agency가 주축이 되어 연구를 시작하였고, 유해화학물질의 위해성 평가(Chemical risk assessment; CRA) 방법론을 중심으로 발전되었다. 그러나 CRA와 달리 MRA는 주위 환경조건에 따라 미생물이 증식 또는 사멸될 수 있는 다양성 또는 변이성과 불확실성이 존재하므로 하나의 값(point estimate)이 아닌 편차를 가진 분포로서 제시된다.[3]

식품에서의 MRA 적용은 1995년 National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods에서 시작되어, 육류 및 가금류에서의 식중독균 발생 예방을 위한 MRA 활용과 그 필요성이 최초로 제기되었다. 이후 Codex는 1998년 최초로 MRA의 원칙과 지침을 발표하였고, 계속적인 수정보완을 거쳐 2000년 Codex 총회에서 최종 승인되었다. 더욱이 WTO 체제하의 국제 식품교역이 증가하면서 미생물 위해요인 관리의 중요성이 더욱 부각되었고 따라서 안전성 확보차원에서 전세계적으로 MRA 적용이 점차 보편화되고 있다.[4,5] 우리나라는 MRA에 대한 방법론 연구를 시작하는 단계이다.[6]

MRA에서의 노출평가는 식중독 원인균의 오염수준을 평

†Author to whom correspondence should be addressed.

가하는데 있어 가장 중요한 단계이다. CRA의 노출평가에서 주로 사용되는 Point-estimate 값은 위해성 추정의 경우 증식 또는 사멸될 수 있는 미생물의 특성을 제대로 반영할 수 없으므로 1990년대부터 MRA의 노출평가에서는 확률적인 접근방법이 도입되기 시작했다.[7] 확률적 접근방법은 식중독 발생에 관련된 많은 위해 미생물의 다양성과 변이성 그리고 불확실성에 대한 분석을 수행하여 point estiamte보다 훨씬 더 현실성이 반영된 결과치를 제공하므로 좀 더 효과적인 방법으로 인정되고 있다.[8]

따라서 본 연구는 MRA 방법론 중 노출평가에서 이용될 수 있는 수학적 확률분포 모델을 이용하여 위해 미생물의 발생수준을 추정하는 방법론을 제시하고, 이를 바탕으로 국내 식육에서의 *Listeria monocytogenes*에 대한 모니터링 결과를 수집, 적용하여 정량적인 오염수준을 추정하고자 하였다.

방 법

식품에서의 노출평가는 개인 또는 집단이 위해 미생물에 어느 정도 노출되어 있고 최종적으로 섭취되는 양이 어느 정도인지를 추정하는 것으로 정의할 수 있다.[9] 따라서 식품을 통해 섭취되는 식중독 원인균의 양(ingestion level)은 해당 식품의 섭취량(food consumption)과 오염수준(contamination level)을 이용하여 다음과 같이 추정할 수 있다.

Ingestion level = Food consumption × Contamination level

식품의 섭취량은 국가별, 지역별 식문화에 따라 차이가 있으며 우리나라의 경우 매년 실시하는 국민영양실태조사에서 그 자료를 얻을 수 있다. 그러나 오염수준 자료는 식중독 발생의 역학조사자료에서도 구하기 어려우며 따라서 특정 위해 미생물의 오염수준을 직접 산출하기란 거의 불가능하다. 그러므로 오염수준은 다음과 같은 방법[10]을 이용하여 얻을 수 있다.

Contamination level = Prevalence(P) × Concentration(C:μ_{mle})

식품에서의 특정 위해 미생물의 발생수준(prevalence)은 모니터링 등의 직접적인 조사자료를 활용하여 추정이 가능하며, 이 발생수준을 근거로 확률분포를 이용하면 특정 위해 미생물에 대한 오염농도(concentration) 추정도 가능해 진다.

식육에서의 *L. monocytogenes* 오염수준 산출

시중에 유통중인 식육에서의 *L. monocytogenes* 발생에 관한 자료는 정부산하 식품위생 관련 기관의 모니터링(1999~2001) 자료와 국내 학회에서 발표된 자료를 이용하였다(Table 1).

식육에서의 *L. monocytogenes* 발생수준 산출

발생수준 및 그 신뢰구간 추정 – 조사된 자료를 바탕으로 식육에서의 *L. monocytogenes*의 발생수준(P)은 각 개별분석에서의 전체표본수를 n, 이중 양성으로 판명된 표본수를 s라고 할 때 s/n로 나타낼 수 있다. 그러나 이들 결과는 실험시기, 시료선정 등의 차이로 인한 불확실성을 내포하고 있으므로 이를 반영하기 위하여 신뢰구간을 산출하였다. 발생수준에 대한 신뢰구간($\alpha = 0.05$)은 누적이항분포(cumulative binomial distribution)를 이용하는 방법으로 그 상한, 하한값은 다음 식을 이용하였다[11](Table 1).

$$P_U = \{(s+1)F_{\alpha/2}(2(s+1),\ 2(n-s))\}/\{ns + (s+1)F_{\alpha/2}(2(s+1),\ 2(n-s))\}$$

$$P_L = s/\{s + (n-s+1)F_{\alpha/2}(2(n-s+1),\ 2s)\}$$

확률분포 선정 – 적절한 확률분포모델은 통계적인 Fitting 절차를 거쳐 선정하였다. Fitting은 @RISK 프로그램을 통해 이루어졌으며,[12] 최종적으로 β 분포를 적용하였다. β 분포는 본 연구와 같이 기존의 조사된 자료로부터 표본수와 양성표본수를 구하고 또한 여러 연구결과를 종합하여 분석하는 경우에 존재하는 각 연구의 이질성을 나타내는 데 적합한 확률분포모델로 알려져 있다(Table 2).[13]

L. monocytogenes 오염농도 산출

오염농도 추정 – 국내의 경우 식육에서의 *L. monocytogenes* 오염농도를 나타내는 정량적인 자료가 부족하므로 그 추정방법으로 포아슨 분포(Poisson distribution)를 이용하였다. 포아슨 분포는 식육에서의 *L. monocytogenes* 오염분포가 각각의 개체에 균일하고, 임의적(random)으로 분포한다는 전제조건에 따른 것이다. 이는 지금까지 이루어진 개별 식품에 대한 미생물 위해성 평가에서도 전제가 되었던 가정으로, *L. monocytogenes*뿐만 아니라 일반적인 미생물의 분포를 나타내는 방법으로 이용되고 있다.[13] 미생물 분포가 포아슨 분포를 따르고 모든 시료의 양이 동일하게 25 g 사용되었다는 가정하에 다음의 식을 이용하여 식육에서의 *L. monocytogenes* 오염농도를 산출하였다.

$$\mu_{mle} = \frac{-1}{V}\ln\frac{n-p}{n}$$

V: sample volume, n: sample numbers
p: positive numbers

확률분포 선정 – 위의 오염농도에 대한 추정식으로부터 평균과 표준편차를 얻을 수 있으므로 Normal 분포를 적용하였다.

시뮬레이션(Simulation)

확률적 접근방법을 통한 식중독원인균의 오염수준 추정에 있어 가장 특징적인 것 중에 하나가 시뮬레이션이 포함된다는 것이다. 본 연구에서는 오염수준의 평가를 위해 확률분포로 나타낸 각 변수를 @RISK 4.0 프로그램[12]을 이용하여 시뮬레이션을 행하였다. 표본추출방법으로 Latin Hypercube sampling, 반복시행횟수(iterations)는 10,000번, generator seed는 random방법을 사용하여 최종적인 시뮬레이션 결과로 이용하였다.

결 과

식육에서의 *L. monocytogenes* 발생수준

식육에서의 *L. monocytogenes*의 발생수준을 추정하는 데 이용된 자료와 각각의 독립된 자료로부터 계산된 발생수준 비율(Fraction: P), 상(P_U)·하한(P_L) 값에 대한 결과는 Table 1과 같다. 발생수준비율(P)은 최소 0.00에서 최대 0.17로 나타났으며, 각각의 독립된 실험결과로 부터의 불확실성을 최소화하기 위한 95% 신뢰구간에서의 상한값의 범위는 최소 0.008에서 최고 0.414로 나타났다(Table 1, Fig. 1). 이 상한값의 경우 같은 발생수준 비율(P)을 가지더라도 시료수가 적을수록 커져 신뢰구간의 값이 커지게 되며, 시료수가 많을수록 작아져 신뢰구간의 값은 작아지게 된다.

식육에서의 *L. monocytogenes*의 발생수준을 추정하기 위하여 각각의 독립적인 개별자료로부터 발생할 수 있는 다양성을 최소화하기 위하여 사용된 fitting된 β분포의 변수는 Table 2와 같다. 이 변수로부터 평균의 상, 하한값과 α, β값을 BetaGeneral(α, β, min, max)분포에 적용, 시뮬레이션 프로그램을 이용하여 추정한 발생수준은 Fig. 2와 같다. 이용된 자료로부터 국내 식육에서의 *L. monocytogenes*의 평균

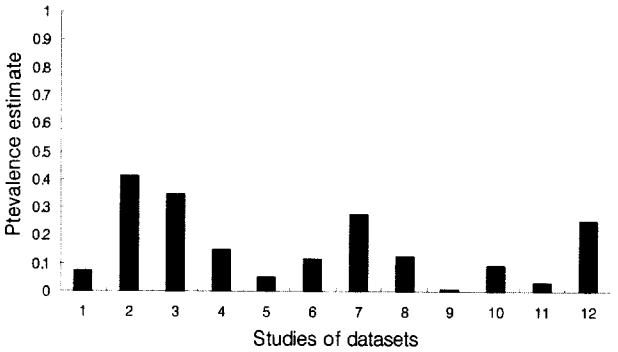

Fig. 1. Prevalence of contamination *L. monocytogenes* in meat meat and meat products.

Table 2. Parameters for fitted Beta distributions and prevalence of *L. monocytogenes* in meat and meat products

	Lower limit	mle*	Upper limit
Mean	0.020	0.085	0.161
Variance	0.001	0.006	0.016
α	0.477	1.071	1.198
β	23.117	11.519	6.243

* mle: maximum likelihood estimator

(50th percentile) 발생수준은 3%로 나타났으며, 최소(5th percentile)값이 2%, 최대(95th percentile)값이 5%로 나타나는 것으로 추정할 수 있었다.

식육에서의 *L. monocytogenes* 오염농도

식육에서의 *L. monocytogenes*의 오염농도에 대한 추정은 시료 25 g을 기준으로 최소 1 cell의 *L. monocytogenes*가 존재한다면 이를 양성으로 판정하는 것으로 가정하였고, 그 결과는 Fig. 3과 같다. 식육중의 *L. monocytogenes*의 오염

Table 1. Data sets used to estimate prevalence of *L. monocytogenes* in meat and meat products

No	Sample	Positive	Lower limit (p_L)	Fraction (p)	Upper limit (p_u)	Reference
1	270	12	0.02317	0.04444	0.07635	14
2	18	3	0.03578	0.16667	0.41418	15
3	30	5	0.05642	0.16667	0.34721	16
4	235	24	0.06654	0.10213	0.14814	17
5	254	6	0.00872	0.02362	0.05070	18
6	30	0	0.00000	0.00000	0.11570	19
7	48	7	0.06070	0.14583	0.27764	20
8	77	4	0.01433	0.05195	0.12770	21
9	637	1	0.00004	0.00157	0.00872	22
10	38	0	0.00000	0.00000	0.09251	23
11	104	0	0.00000	0.00000	0.03485	24
12	26	2	0.00946	0.07692	0.25130	25

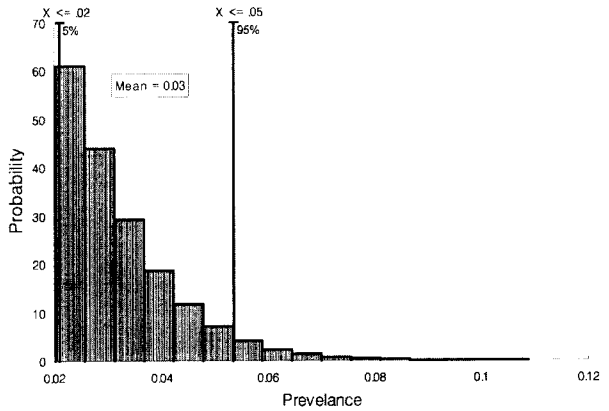

Fig. 2. Simulated distribution of prevalence of *L. monocytogenes* in meat and meat products.

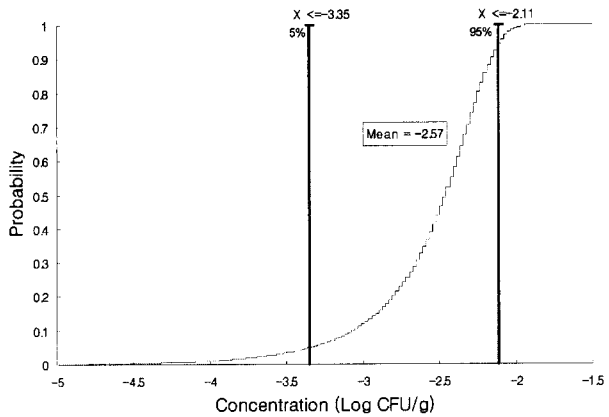

Fig. 3. Simulated distribution of concentration of *L. monocytogenes* in meat and meat products.

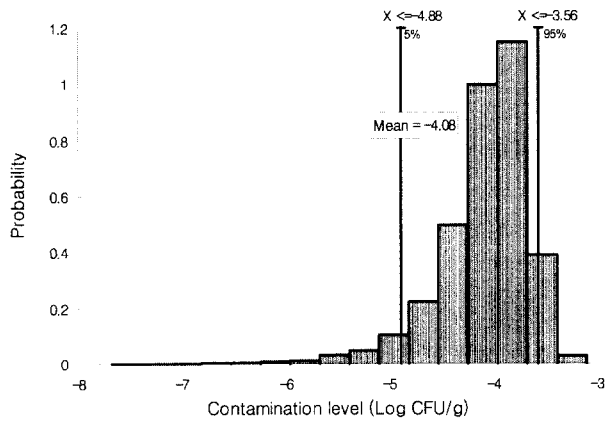

Fig. 4. Simulated distribution of contamination level of *L. monocytogenes* in meat and meat products.

농도는 평균(50^{th} percentile) -2.57 Log CFU/g이며, 최소(5^{th} percentile)값은 -3.35 Log CFU/g, 최대(95^{th} percentile) 값은 -2.11 Log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정할 수 있었다.

식육에서의 *L. monocytogenes*의 오염수준

식육에서의 발생수준과 오염농도를 이용하여 시뮬레이션으로 추정된 *L. monocytogenes*의 오염수준은 Fig. 4와 같다. 오염수준은 평균(50^{th} percentile) -4.08 Log CFU/g이며, 최소(5^{th} percentile) -4.88 Log CFU/g, 최대(95^{th} percentile) -3.56 Log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되었다. 이 값은 유통중인 국내 식육에서의 *L. monocytogenes*의 오염수준이 최소 1 cell/10kg, 평균 8 cell/10kg, 최대 28 cell/kg 인 것으로 해석되었다.

고 찰

노출평가의 초기단계에서는 단순히 수학적 방법만을 적용한 point estimate가 이용되어 왔는데, 이러한 접근방법에 대해서는 전문가들로부터 많은 문제점들이 지적되었다. 노출평가에 활용되는 많은 입력변수들은 시간 및 공간적으로 다양할 뿐 아니라 측정과정 및 그에 따른 결과치 역시 매우 다양하다. 따라서 입력변수 자체의 불완전성 혹은 불확실성을 배제할 수 없으므로 입력변수의 한가지 대표값만을 이용하는 것은 신뢰성 있는 추정치를 얻기 어렵게 된다.

반면 확률적 접근방법에서는 입력변수로 인한 다양성과 불확실성의 문제점을 감소시키기 위하여 확률분포 모델을 활용하여 개발된 시뮬레이션 소프트웨어를 활용하고 있다. 그러나 확률적 접근방법도 여전히 입력변수에 대한 다양성과 불확실성 문제를 완전하게 해결한 것은 아니며 단지 point estimate 보다 좀 더 논리적인 연구접근을 가능하게 하고 있다.[26]

확률적 접근방법의 장점으로는 point estimate보다 결과에 영향을 미치는 정보와 자료의 수준분석을 가능하게 하여, 추후 위해성평가에서 정확한 추정을 위한 필요 정보에 대한 구체적인 내용과 어떤 내용이 부족한지 그리고 어떻게 개선을 하여야 하는지에 대한 결정을 유도한다는 점이다. 또한 확률적 접근방법은 노출평가의 결과에 있어 발생범위와 그 발생가능성을 정량적으로 제시할 수 있다.

현재 식중독원인균에 대한 모니터링에 있어서 정량적 자료의 이용 가능성은 상당히 어려운 형편이다. 이러한 경우 확률분포를 이용한다면 본 연구에서와 같이 현재의 자료를 바탕으로 어느 정도의 정량적인 추정을 가능하게 할 수 있다. 그리고 모델을 이용한 반복적인 수행 즉, 시나리오 분석으로 식품안전관리정책의 결정에 있어 다양한 선택을 가능하게 할 수 있다. 대부분의 국가에서 식품안전정책 결정시 이용 가능한 자료의 부족으로 한정된 자료만을 이용하게 되

어 많은 한계를 나타내고 있다. 확률적 접근방법을 이용하는 경우 해당 식품의 국내 오염수준의 정도를 평가할 수 있고, 이를 식품별, 지역별, 국가별 비교가 가능하며, 관리를 위한 기준 및 규격설정에 있어서도 과학적인 기초자료로 이용할 수 있다.

본 연구의 결과는 조사된 자료만을 바탕으로 추정한 결과이므로 우리나라 전체를 대표한다고는 볼 수 없다. 또한 식품군에 대한 세부적인 분류도 자료의 양이 제한적이어서 식육 전체를 대상으로 추정할 수 밖에 없는 현실이었다. 그러나 연구결과를 볼 때 미생물학적 위해성 평가방법 중 노출평가에서 이용될 수 있는 확률분포 모델의 이용은 식품의 위해미생물 오염수준을 추정하고 평가하는데 충분히 활용성이 있는 것으로 판단되었다. 확률적 접근방법에서 신뢰성 높은 결과를 산출하여 활용성을 높히기 위해서는 자료의 표준화와 질적 양적 자료의 확보이다. 앞으로 식품의약품안전청, 농림부 등 식품위생관련 정부기관 차원에서의 체계적이고 지속적인 모니터링 프로그램이 계획되고 추진되어야 할 것이다.

감사의 말씀

이 논문은 2002년도 농림부 농림기술개발연구사업(202138031SB010)의 지원으로 이루어진 것이며, 이에 깊이 감사드립니다.

국문요약

미생물학적 위해성평가(Microbial risk assessment: MRA)에서 노출평가시 확률적 접근방법은 식중독 발생에 관련된 많은 위해 미생물의 다양성과 변이성 그리고 불확실성에 대한 분석이 가능하고 과거의 접근방법인 point estiamte 보다 훨씬 더 현실성이 반영된 결과를 제공할 수 있어 현재 MRA의 노출평가에서 가장 효과적인 방법으로 인정되고 있다. 본 연구는 MRA 방법론 중 노출평가에서 이용될 수 있는 수학적 확률분포 모델을 이용하여 위해 미생물의 발생수준을 추정하는 방법론을 제시하고, 이를 바탕으로 국내 식육에서의 *Listeria monocytogenes*에 대한 오염수준을 추정하였으며, 그 결과 국내 식육에서의 *L. monocytogenes*의 오염수준은 평균(50^{th} percentile) -4.08 Log CFU/g이며, 최소(5^{th} percentile) -4.88 Log CFU/g, 최대(95^{th} percentile) -3.56 Log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되었다.

참고문헌

1. Notermans S., Teunis P.: Quantitative risk analysis and the production of microbiologically safe food : an introduction. *Int. J. Food Microbiol.*, 30, 3-7 (1996).
2. Lammerding A.M.: An overview of microbial food safety risk assessment. *J. Food Prot*, **60**, 1420-1425 (1997).
3. Buchanan, R.L.: National Advisory Committee on Microbiological Criteria for foods "principles of risk assessment for illnesses caused by foodborne biological agents", *J. Food Prot.*, **60**, 1417-1419 (1997).
4. Codex: Draft principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. Codex Committee on Food Hygiene, Report of the thirty-first session, Orlando, United States (1998).
5. FAO/WHO: Application of risk analysis to food standards issues. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, March 13-17, Geneva, Switzerland (1995).
6. 박경진: Microbial Risk Assessment의 최근 연구동향. 2001년도 한국 HACCP 연구회 심포지움, **6**, 22 (2001).
7. Sheen, P. J.: Use of Probabilistic exposure assessment methods in ecological risk assessment for CERCLA and RCRA sites, Society for Risk Analysis, Annual metting, http://www.riskworld.com (1994).
8. Lammerding, A. M, McNab, W. B., Irwin. R., Muckle, C. A.: Risk assessment strategies for microbial food safety in Canada, Society for Risk Analysis, Annual metting, http://www.riskworld.com (1994).
9. Lammerding A.M., Fazil A.: Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *Int. J. Food Microbiol.*, **58**, 147-157 (2000).
10. FAO/WHO: Guidelines on exposure assessment of microbiological hazards in food and water. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, Dec. 11. Geneva, Switzerland (2001).
11. FDA: Draft assesment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to eat foods. http://www.foodsafety.gov/~dms/lmrisk.

html (2000).
12. Palisade corp.: Guide to using @RISK. Version 4, pp 403-408 (2000).
13. Charles N. Haas, Joan B. Rose, Charles P. Gerba.: Quantitative Microbial Risk Assessment. John Wiley & Sons, Inc., pp162-193 (1999).
14. 구동환. 정충일. 정동관. 남은숙: 국내 시판 쇠고기의 *Listeria* spp. 오염. *한국식품위생안전성학회지*, **10**, 89-95 (1995).
15. 이명숙. 김미은. 이원재. 김진상. 이훈구. 강지희: 일반식품에서 분리된 *Listeria* spp.의 지방산 조성에 관한 연구. *한국식품위생안전성학회지*, **11**, 107-114 (1996).
16. 강호조. 김용환. 손원근: LMO의 정량시험에 의한 시판 식육 및 계육의 오염도 평가. *한국식품위생안전성학회지*, **15**, 204-208 (2000).
17. 백선영, 곽효선, 차진, 박성국, 임순영, 김형일, 박성희, 김창민: 냉동식품 중 *Listeria monocytogenes*의 분포 조사 및 시험방법에 관한 연구. *식품의약품안전청연보*, **1**, 31-37 (1997).
18. 김창민. 박선희. 곽효선. 강윤숙. 차진. 박성국. 백선영. 장미경: 식품중 *Listeria monocytogenes*의 조기진단법 및 분포조사에 관한 연구. *식품의약품안전청연보*, **2**, 32-37 (1998).
19. 차인호. 진성현. 박은희. 박성아. 김선봉. 조현철. 이영숙. 이영근: Prevalence of *Listeria* spp. Over Commercial Frozen and Refrigerated Foods at the Supermarket Level. *J. Food Sci. Nutr.*, **3**, 157-162 (1998).
20. 홍종해. 안상철: 돈육가공 작업환경에서 *Listeria monocytogenes*의 분리와 혈청형 분포조사. *한국식품위생안전성학회지*, **13**, 425-429 (1998).
21. 한국소비자보호원: 1999-2000 식중독 발생관련 모니터링 조사표 (2001).
22. 서울특별시보건환경연구원: 1999-2000 식품중 식중독균 검사 내역 (2001).
23. 경상북도보건환경연구원: 1999-2000 식품중 식중독균 검사 내역 (2001).
24. 전라북도보건환경연구원: 1999-2000 식품중 식중독균 검사 내역 (2001).
25. 강원도보건환경연구원: 1999-2000 식품중 식중독균 검사 내역 (2001).
26. Frey, H. C., Cullen, A. C.: Distribution development for probabilistic exposure assessment. Proceedings of the 88th annual meeting of Air and Waste Management Association, June 18-23, San Antonio, Texas (1995).