수산식품안전성 확보를 위한 노로바이러스 검출 및 제어기술 현황

Review: Norovirus Detection and Depuration in Seafood Safety Research

고상무[1], 권요셉[2], 최종순[2], 오명주[1], 은종방[3], 김두운[3*]

Sang-Mu Ko[1], Joseph Kwon[2], Jong-Soon Choi[2], Myung-Joo Oh[1], Jong-Bang Eun[3], and Duwoon Kim[3*]

[1]전남대학교 수산생명의학과, [2]한국기초과학지원연구원, [3]전남대학교 응용생물공학부 식품공학전공

[1]Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749,Jeonnam, Republic of Korea
[2]Korea Basic Science Institute, 305-806, Republic of Korea
[3]Department of Food Science and Technology and Functional Food Research Center, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Republic of Korea

서론

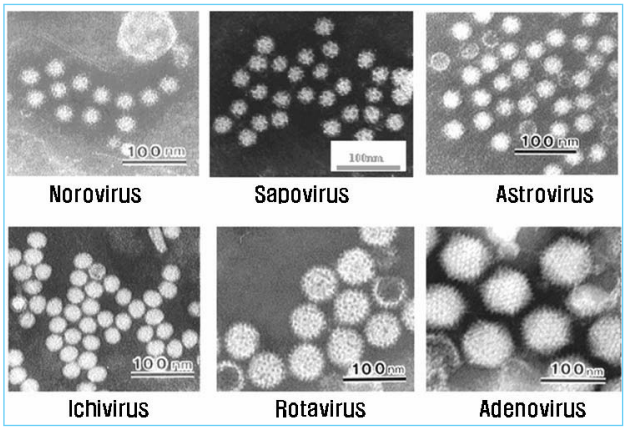
2004년 농촌경제연구원의 통계에 의하면 연간 국민 1인당 수산물 소비량은 48.7 kg으로 동물성 단백질 공급율 중 어패류의 비율이 42.8%에 달해 세계에서 수산물 소비율이 가장 높은 국가가 되었다. 그러나 수산물은 우리나라의 식습관상 생식하는 경우가 많아, 수산물이 가지고 있는 위해요인에 노출될 가능성이 매우 높다. 실례로 우리나라 국민들은 수산물을 섭취 후 다양한 식중독 유사 증상을 경험하였으나, 그냥 참고 견디거나, 날씨 탓 등으로 돌리는 경우가 많다. 이처럼 우리나라 국민은 수산물에 의해 경험한 유사 식중독에 대해 상당히 관대한 편이다. 이러한 수산물의 위해요인으로는 크게 생물학적 요인, 이화학적 요인, 독물학적 요인 등으로 나눌 수 있다. 생물학적 위해요인으로는 병원세균, 바이러스, 기생충 등이 있고, 이화학적 위해요인으로는 항생제, 중금속, 기타 잔류성 오염물질 등을 독물학적 위해요인으로는 복어독, 패류독과 같은 자연독이 있다. 본 고찰에서는 최근 국내외 식중독 발생과 특히, 수산물에서 식중독 주요 원인 전달체인 노로바이러스에 대한 식중독 현황, 검출방법 및 제어 시스템에 대한 동향을 살펴보고자 한다.

본론

국내 식중독 바이러스의 현황

국내 집단식중독 발생 추이를 보면 2001년 93건에 6,406명(건당 68.9명)이던 것이 2002년 78건에 2,980명(건당 38.2명)으로 줄었으나 이후 2003년 135건에 7,909명(건당 58.6명), 2004년 10월 말 147건에 9,566명(건당 65.1명) 2005년 109건 5,711명, 2006년 259건 10,833명, 2007년, 510건 9,686명, 2008년 254건, 2009년은 228건 2010년은 271건 2011년은 249건 7,105명으로 추산되고 있다. 이 중 바이러스가 차지하는 비율은 2011년의 경우 노로바이러스(norovirus)가 344건 중 31건에 1,524명이고 바이러스가 원인물질로 밝혀진 것이 총 21건에

*Corresponding author: Duwoon Kim
Department of Food Science and Technology and Functional Food Research Center, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Republic of Korea
Tel: (82) 62-530-2144 Fax: (82) 62-530-2149 E-mail: dwkim@jnu.ac.kr



<그림 1> 인간에게 설사를 유발시키는 바이러스들

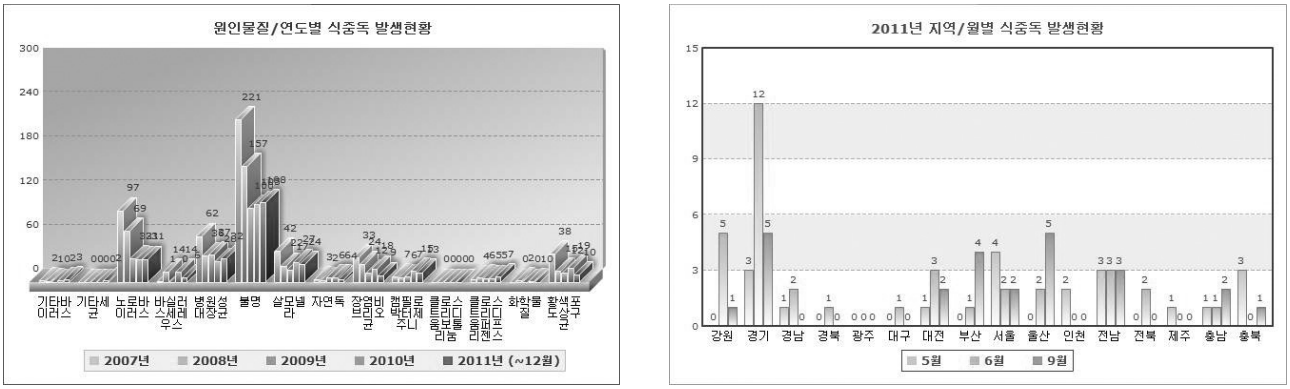
931명, 전체 75,275명 중 1.23%이다. 그러나 원인물질이 밝혀지지 않은 것도 921건에 15,319명으로 전체의 20.35%를 차지한다. 특히, 최근 발생한 노로바이러스나 세균성이질 등은 계절에 관계없이 대규모로 일어난다는 점에서 모든 사람들을 긴장시켰던 사례였다.

식약청 집단식중독 발생현황에 의하면 2004년은 165건에 10,388명의 환자가 발생되어 전년대비 환자수 31%, 건수 22%가 증가되었다. 특히, 전체 식중독 환자의 74%(7,738명)가 집단급식소에서 발생되었고, 이중 학교급식소가 64%(6,673명)를 차지하고 있다. 2011년도 식중독 발생을 월별로 분석 시 5월, 6월과 9월에 발생건수 및 환자수가 많았으며, 지역적으로는 서울, 경기지역이 발생수가 높았고, 인천지역이 가장 낮은 것으로 보고되었다. 원인균별로는 살모넬라, 황색포도상구균, 병원성대장균, 장염비브리오 및 노로바이러스가 우위를 차지하고 있는 것으로 분석되었다 (그림 2).

현재 1만여 개에 달하는 학교급식은 전체의 86%가 직영급식으로 운영되고 있으며, 위탁급식은 14%이다. 2003년 3월 서울지역 13개 학교에서 동시다발로 급식사고가 발생하였으며, 이 중 9개 학교의 환자가검물에서 노로 바이러스가 검출되었다. 정부는 급식사고 이후 국무조정실, 교육인적자원부를 중심으로 학교급식 관계장관회의를 거쳐 「학교급식개선 종합대책」을 수립 발표하고 위탁급식을 직영으로 전환하는 조치만 진행되었다. 2003년 급식사고는 급식종사자의 취급 부주의나 관리소홀과는 별개로 식재료 공급 유통 상의 위생관리체계의 심각한 허점에서 발생했다는 것이 최종적인 결론이었으며 따라서 식재료 관리체계개선 및 식재료 위생안전성 확보를 위한 제도적 장치와 시스템 구축을 꾸준히 요구되었다.

국외 식중독 현황

인간의 장염을 유발하는 Calicivirus과는 노로바이러스, 사포바이러스, 로타바이러스 등과 함께 바이러스성 구토설사병의 주요 인자로서, 위생과 의료시스템의 미비로 전염되는 후진국형 질병이 아니라 선진국에서도 아주 빈번히 발병해 확산되는 전염병 인자이다. 이러한 식중독 바이러스는 국민들의 건강에 심각하게 영향을 미치며 사회적 파장과 더불어 경제적 손실을 초래하는 경우도 많았다. 미국의 경우



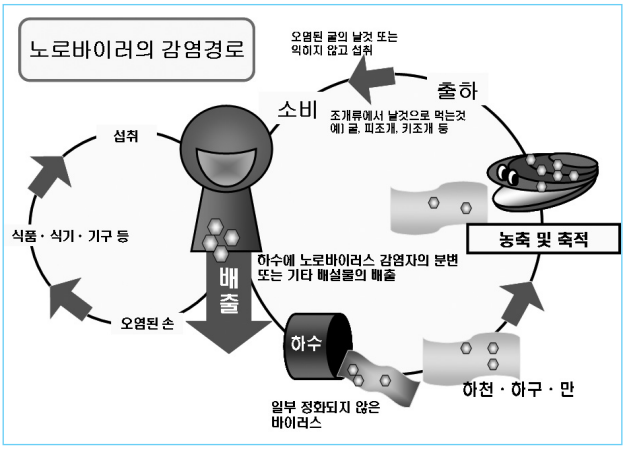
<그림 2> 원인물질 및 시기별 식중독 발생현황

<그림 3> 패류 양식장

1996~2000년 5년 동안 미국질병관리국(CDC)에서 파악한 노로바이러스의 발병은 348회에 이른다. 2000년 이후 일본, 유럽 등 위생 선진국에서도 이 병원체가 식중독을 제일 많이 유발하는 것으로 보고되고 있다. 국내에서 식중독 발생에 의한 경제적 직접 손실 비용이 1조 3,107억원으로 추정되고 있다. 바이러스 식중독이 전체 식중독의 34~40%를 차지한다고 계산한다면 바이러스 식중독에 의한 손실액이 4000억원에 이르고 있어 국민의 식생활 안전을 확보하기 위해 신속 정확한 식중독 원인체 규명에 대한 연구 및 어패류와 물을 중심으로 검출방법에 관한 연구가 진행되고 있다. 미국에서 1997년부터 2000년 사이 233건의 집단발생 원인을 분석한 결과 39%가 식품, 25%가 병원, 13%가 학교, 기타 원인이 12%라고 보고한바 있다. 1995년부터 2000년까지 유럽지역에서 발생된 비세균성 집단발생 중 85%이상이 노로바이러스로 확인된바 있어, 전 세계적으로 노로바이러스 식중독에 대한 중요성을 인식하고 관련 연구를 수행하고 있다.

노로바이러스 특징 및 감염경로

노로바이러스는 caliciviridae에 속하는 약 7.6 kb의 single stranded RNA 바이러스로써 3개의 ORF이 존재한다. 노로바이러스는 유전학적 또는 면역학적으로 매우 다양한 바이러스로 알려져 있다. 노로바이러스는 크게 5가지의 genogroup (GI-GV)으로 분류되며, 이중 3가지의 GI, GII 및 GIV의 genogroup이 인체에서 급성장염을 일으키는 인체의 병원성 바이러스로 알려져 있으나 GIV에 대한 정보는 매우 미약하다 (Vinje, J. et al, 2000). 노로바

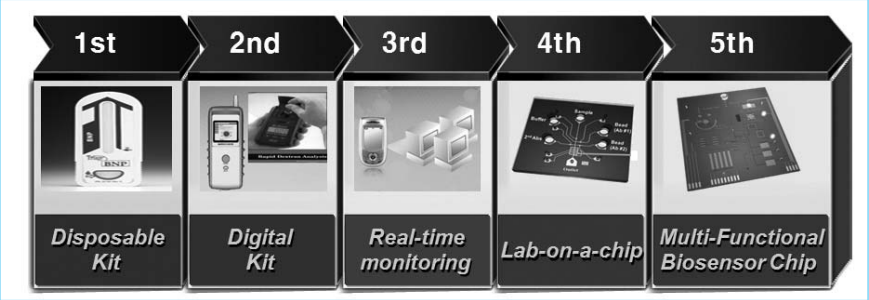


<그림 4> 노로바이러스의 감염경로

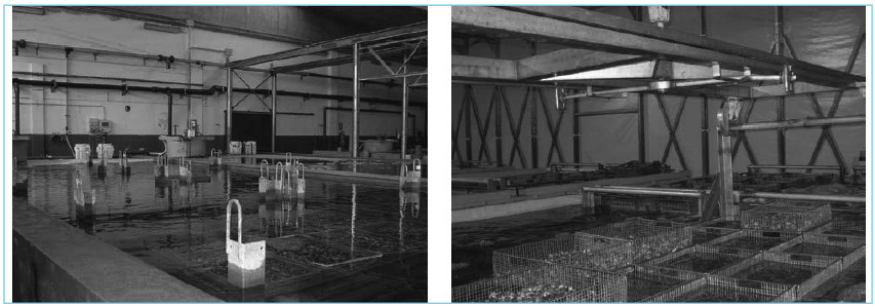
이러스의 GI과 GII는 감염 및 분자생물학적, 역학적, 및 계통학적으로도 매우 상이하며, 현재까지 노로바이러스(GI 및 GII)의 capsid 유전자의 염기서열에 따라 31가지 이상의 유전자타입(genotype)으로 분류되고 있다 (Kageyama, T. et al, 2004). 노로바이러스는 세균에 비해 적은 개체수에서도 높은 전염성을 보이는데, 10 비리온만 있어도 발병한다고 알려져 있다. 노로바이러스의 주요 감염경로는 감염된 사람의 분변과 기타 배설물이 하수에 유입되거나, 지하수를 오염시키고, 오염된 식품 및 물에 의해 발생된다고 추정하고 있다. 또한 감염자의 직접적 접촉이나 식품, 식기류를 통한 간접적 교차감염도 의심되고 있다.

노로바이러스의 검출방법

노로바이러스 검출연구는 약 10년 전부터 진행되어 왔으며 1세대 신속진단방법은 항체기반 1회용 진단기기가 개발



<그림 5> 세대별 바이러스 검출기술



<그림 6> 이태리의 기계화된 실내 청장시설

되었으며, 2세대에는 소형화 디지털기기를 활용한 센서가 개발되고 있으며, 3세대기술은 2세대기술을 현장에서 실시간 점검이 가능한 IT 기술이 융합된 센서가 개발되었으며, 4세대기술은 소형 칩에서 검출반응이 가능한 시스템이 구현되고, 최종적으로 5세대기술은 소형 칩에서 시료의 전처리, 농축, 유전자 증폭, 면역반응 등 다양한 센서를 동시에 구현할 수 있는 기술로 전개되고 있다 (그림 5).

그러나 식품 중의 위해 바이러스 검출 효율성을 향상시키고 실용화되기 위해서는 다음의 단점을 극복할 대안이 필요하였다.

1) 일반적으로 식품 중에는 오염된 바이러스의 양이 극미량이므로 많은 양의 식품을 사용해서 분석할 수 있는 기술이 요구되는데 이를 위한 식품 추출물의 농축기술이 미비하고,
2) 식품 중에는 다양한 물질이 존재하고 이들 중 일부는 RT-PCR을 위한 중합효소의 방해물질로 작용하므로 실제로 바이러스가 존재함에도 불구하고 유전자 증폭을 방해하여 바이러스가 오염되지 않은 것으로 잘못 판정하는 경우가 많을 수 있으므로 RT-PCR을 하기 전에 식품 중의 PCR 방해물질을 제거해야 하는데 이들의 제거가 용이하지 않으며,
3) 노로바이러스의 경우 염기서열의 변이가 극심하여 노로바이러스 간에 염기서열이 많이 다르므로 모든 노로바이러스를 증폭할 수 있는 일반적인 primer가 개발되어 있지 않다는 점이다.

노로바이러스는 환경매체에서 다양한 물리화학적 요인들에 대하여 저항성이 매우 큰 바이러스이다. 높은 감염성과 환경에서의 강한 저항성 등으로 인하여, 임상 샘플과 환경 샘플에서 노로바이러스의 신속하고 민감한 측정 및 진단 방법 및 바이러스 typing 방법은 바이러스에 의한 질병의 예방에 매우 중요하다. 노로바이러스의 진단방법으로는 전자현미경을 이용한 방법, 인체항체 등을 이용한 EIA 등의 면역학적방법, RT-PCR 등을 이용한 분자생물학적 방법 등이 존재한다. 일반적으로 EIA의 경우는 민감도가 떨어져서, RT-PCR 등을 이용한 분자생물학적 방법이 가장 흔하게 사용되는 바이러스 진단법이다. 그러나 분자생물학적 방법은 수질 등에 낮은 농도로 바이러스가 존재하면 바이러스의 감염성을 알 수가 없는 단점이 존재하고 바이러스 농축과정에서 생기는 중금속 및 각종 유기물질에 의하여 반응이 저해되기도 한다. 최근에는 항체 등을 이용한 immunomagnetic separation 방법을 이용한 바이러스의 농축방법 등이 식품 등에서의 바이러스 검출에 응용되기도 하였다 (Park, Y. B. et al, 2006). 신속하고 민감도가 높아 저농도로 존재하는 바이러스 검출법의 개발이 공중보건학적으로 시급한 과제이다.

기획특집 바이러스 제어기술: 청장 (淸臟, depuration)

자연정화 (Relaying)는 오염지역에서 수확된 굴을 미생물학적 오염이 없는 청정지역내에서 장내 청장작용을 유도하는 기술이며, 청장(정화)과정은 미생물에 오염된 패류를 깨

끗한 해수의 수조에 수 시간에서 수일간 보관하여 해로운 오염물질 및 미생물을 제거하는 일종의 정화기술로서 체내에 축적 및 유입된 오염물질 및 세균을 체외로 배출하는 이매패류의 생리적인 특성을 활용한 것이다 (그림 6). 이러한 자연정화나 청장과정은 열처리방법을 하지 않고 이면패류의 생식용 판매를 허용하게 하는 수단으로서 특히, 유럽에서는 식용 이매패류에 축적된 오염원을 소비자들이 구매 전에 제거하기 위한 청장제도를 오래 전부터 실시하였다. 이러한 청장과정이 HACCP을 적용하기 위한 수단으로서 효과적으로 미생물적 위해요인을 제어하려면, 개발될 청장시스템은 이면패류의 생리적 최적조건하에서 여과섭식(Filter-feeding) 활동을 신속히 유도해야 하고, 이면패류에 의해 분비된 오염원을 제거 및 재오염을 방지하는 과정이 필요하며, 사용하는 해수의 용존산소, 유속, 염도 및 온도에 대한 최적화가 필요하다. 일반적으로 식용으로 안전한 이매패류는 인간이나 가축 배설물에 의한 오염이 되지 않은 지역에서 수확하거나 또는 양식하는 것이 최상의 방안이다. 미국에서는 패류의 채취 및 양식장소를 법규로 "허가지역(Approved areas), 한정지역(Restricted areas), 금지지역(Prohibited areas)"으로 구분하고 허가지역의 이매패 채취 및 양식이 허용된다. 향 후 청정지역에서 수확하여 청장과정을 거친 이매패류가 열을 가지지 않고 식용으로 안전하게 소비를 위해서는 해수에 존재하고 있는 병원성 비브리오, 식물플랑크톤과 관련된 독성물질 그리고 중금속 등과 같은 오염원에 대한 청장연구도 함께 필요한 실정이다. 현재 이면패류의 식용을 위한 전처리 기술로서 청장제도를 채택하고 있는 국가별 방법은 표 1과 같다.

표 1. 청장제도를 채택하고 있는 국가 및 청장방법

국가	청장시설	주 청정 대상종	체계 유형	용수 멸균
중국	7	굴 및 대합조개류	재순환; 유수	자외선; 오존
불란서	1,422	*Crassostrea gigas; Mytiulus edulis; Mytilus galloprovincialis; Ostrea edulis; cerastoderma edule; Ruditapes decussates; Tapes phillippinarum*	정수: 재순환; 유수	자외선; 오존 염소; 기폭
아일랜드	20	*Crassostrea gigas; Mytilus edulis; Ostrea edulis*	재순환	자외선;지하수
이태리	114	*Tapes philippinarum; Mytilus galloprovincialis; Chamlea gallina*	재순환; 유수	자외선; 오존 염소
말레이시아	2	*Crassostrea iredalei; Crassostrea belcheri*	재순환	자외선
모로코	2	*Crassostrea gigas; Ruditpes decussates; Mytilus galloprovincialis; Perna perna*	정수: 재순환	자외선; 염소
네덜란드	10	*Mytilus edulis; Crassostrea gigas; Ostrea edulis*	재순환: 유수	자외선 또는 멸균치 않음
필리핀	1	*Crassostrea iredalei; perna viridis*	정수: 유수	자외선, 오존 PVP-idoine
포르투갈	22	*Ruditapes decussates; Ostrea spp; Crassostrea angulata; Mytilus spp.*	정수: 재순환: 유수	자외선: 염소
영국	82	*Mytilus spp.,; Crassostrea gigas; Ostrea edulis; Tapes philippinarum; Rudipes decussates; Cerastoderma edule*	재순환: 유수	자외선
일본	›1000	굴 및 가리비	정수: 유수: 재순환	자외선; 오존 염소; 전해
스페인-갈리시아	60	담치, 대합, cockles 및 굴	재순환: 유수	염소

결론

이상에서와 같이 바이러스는 환경에서의 강한 저항성과 in vitro 배양법 등이 개발되어있지 않아, 노로바이러스의 인체 위해성 평가 및 감염요인, 면역반응 등에서 많은 연구가 이루어지지 않고 있다. 바이러스 식중독 발생의 급속한 증가

추세에 따라 바이러스의 주요 매개식품에 대한 오염 실태조사, 시험법 교육, 노로바이러스의 분자생물학적 특성을 규명하고, 인체감염의 유전적 요인 및 면역반응을 규명하는 것이 식품위생학적으로 매우 중요하다. 또한 이를 바탕으로 하여 노로바이러스의 검출 및 제어기술을 개발함으로써 바이러스로 인한 식중독 예방 및 감소에 최선의 노력이 요구된다.

참고 문헌

1. Sookgee Ha, Gun-Jo Woo, Hyo-Sun Kwak, In-Gyun Hwang, and Weon Sang Choi, 2005. Simplified procedure for detection of poliovirus and norovirus in oysters. Korean J. Food Sci. Technol. 37:1018~1023

2. Hardy, M. E. 2005. Norovirus protein structure and function FEMS Microbiol. lett. 253(1):1-8.

3. Soo-Yeon Lee, Keum-Il Jang, Gun-Jo Woo, Hyo-Sun Kwak, and Kwang-Yup Kim, 2007, Development of Protocol for the effective detection of feline calicivirus as norovirus surrogate in oyster and lettuce. Korean J. Food Sci. Technol. 39:71-76.

4. Hutson, A. M., Atmar, R. L., Graham, D. Y., and M. K. Estes, 2002, Norwalk virus infection and diseases is associated with ABO histo-blood group type, J. Infect. Dis,. 185, 1335-37.

5. Karst, S. M., Wobus, C. E., Lay, M., Davison, J., and H. W. Virgin, 2003, 4th, STAT dependent innate immunity to Norwalk-like viruses, Science, 299(5612):1575-7.

6. Kageyama, T., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S. Hoshino, F. B., Kojima, S., Takai, R., Oka, T., Takeda, N., and K. Katayama, 2004, Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan, J. Clin. Microbiol. 42 (7)2988-95.

7. Park, Y. B. and Ko, G. P., 2007, Developement of immunomagnetic separation and receptor-mediated methods for noroviruses., ASM meeting.

8. Parino T. A., Schreiber, D. S., Trier, J. Ss., Kapikian, A. Z., and N. R. Blacklow, 1977, Clinical immunity in acute gastroenteritis caused by Norwalk agent. New Engl. J. Med. 297(2):86-9.

9. Vinje, J., Green, J., Lewis, D. C., Gallimore, C. I., Brown, D. W., and M. P. Koopmans. 2000. Genetic polymorphism across regions of the three open reading frames of "Norwalk-like viruses". Arch. Virol 145:223-41.

10. 식품안전. 2007

11. www.eurosurveillance.org,

12. idsc.nih.go.jp

13. http://www.tharri.com/upload/contents/data_item01/234.pdf