J. Fd Hyg. Safety 14(4), 319–326 (1999)

식품중 미생물 위해성평가 방법론 연구

이효민† · 최시내 · 윤은경 · 한지연 · 김창민* · 김길생
식품의약품안전청

Study on the Methodology of the Microbial Risk Assessment in Food

Hyo-Min Lee†, Shi-Nai Choi, Eun-Kyung Yoon, Jee-Yeun Han, Chang-Min Kim* and Kil-Sang Kim
Korea Food and Drug Administration 5 Nokbundong Eunpyung-ku, Seoul 122-704, Korea

ABSTRACT – Recently, it is continuously rising to concern about the health risk being induced by microorganisms in food such as *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. Various organizations and regulatory agencies including U.S.EPA, U.S.DA and FAO/WHO are preparing the methodology building to apply microbial quantitative risk assessment to risk-based food safety program. Microbial risks are primarily the result of single exposure and its health impacts are immediate and serious. Therefore, the methodology of risk assessment differs from that of chemical risk assessment. Microbial quantitative risk assessment consists of four steps; hazard identification, exposure assessment, dose-response assessment and risk characterization. Hazard identification is accomplished by observing and defining the types of adverse health effects in humans associated with exposure to foodborne agents. Epidemiological evidence which links the various disease with the particular exposure route is an important component of this identification. Exposure assessment includes the quantification of microbial exposure regarding the dynamics of microbial growth in food processing, transport, packaging and specific time-temperature conditions at various points from animal production to consumption. Dose-response assessment is the process characterizing dose-response correlation between microbial exposure and disease incidence. Unlike chemical carcinogens, the dose-response assessment for microbial pathogens has not focused on animal models for extrapolation to humans. Risk characterization links the exposure assessment and dose-response assessment and involve uncertainty analysis. The methodology of microbial dose-response assessment is classified as nonthreshold and threshold approach. The nonthreshold model have assumption that one organism is capable of producing an infection if it arrives at an appropriate site and organism have independence. Recently, the Exponential, Beta-poission, Gompertz, and Gamma-weibull models are using as nonthreshold model. The Log-normal and Log-logistic models are using as threshold model. The threshold has the assumption that a toxicant is produce by interaction of organisms. In this study, it was reviewed detailed process including risk value using model parameter and microbial exposure dose. Also this study suggested model application methodology in field of exposure assessment using assumed food microbial data(NaCl, water activity, temperature, pH, etc.) and the commercially used Food MicroModel®. We recognized that human volunteer data to the healthy man are preferred rather than epidemiological data for obtaining exact dose-response data. But, the foreign agencies are studying the characterization of correlation between human and animal. For the comparison of differences to the population sensitivity, it must be executed domestic study such as the establishment of dose-response data to the Korean volunteer by each microbial and microbial exposure assessment in food.

Key words □ Microbial risk, Dose-response assessment, Nonthreshold, Threshold, Risk characterization

†Author to whom correspondence should be addressed.

최근 국내에서는 *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* 등의 미생물에 대한 건강위해성이 강조되면서 미생물 위해성평가에 대한 필요성이 제기되고 있고, U.S.FDA, U.S.DA, FAO/WHO를 비롯한 국제기구 및 외국 유관기관들에서도 미생물 위해성평가방법을 식품관리에 활용코자 방법론 연구에 주력하고 있다. 현재 미국의 경우 식품에 기인한 연간 질병발생률(incidence rate)은 2.7×10^{-2}, 이와 관련된 사망률(mortality ratio)은 3.7×10^{-5} 정도로 보고된 바 있다.[1] 이러한 식품에 기인한 질환관리를 위하여 연간 상당수의 비용이 투자되고 있고 위해성평가 결과는 위해도관리를 목적으로 비용-효율적인 측면의 판단자료로 쓰여지고 있다. 위해성평가 방법론 연구는 음용수에 대한 수질기준제정에 필요한 과학적 기반조성을 목적으로 미국 EPA가 주축이 되어 시작되었고, 유해화학물질의 위해성평가 방법론을 중심으로 발전하게 되었다.[2] 미생물 위해성평가는 단일노출에 의한 유해영향발생을 평가해야 하며 식품중에 함유된 다른 화학물질에 의해 미생물이 안정화되거나 감소될 수 있어, 평가시 이동성과 적응성을 고려해야 하는 특징이 있다.[3]

최근의 미생물 위해성평가는 CAC, ILSI 기관과 U.S. EPA, U.S.DA를 중심으로 연구되고 있는데, 방법론에 약간의 차이가 있어 CAC, ILSI의 경우 대형 식중독사건등의 역학자료를 기초로 인구집단에 대한 위해도(population risk) 산출방법론을 주로 연구하며,[4] U.S.FDA, U.S.DA의 경우는 volunteer 자료로부터 얻어진 미생물단위당 용량-반응자료에 근거한 개인에 대한 위해도(individual risk) 산출을 주로 연구하고 있다.[5] 우리나라의 경우 미생물 위해성평가에 대한 방법론 연구는 이제 시작단계이어서 역학자료등이 미흡하여 미생물 노출정도에 따른 유병율등을 파악하기 어렵고 또한 외국의 자료와 비교하여 동일 미생물에 대한 인구집단간의 반응 감수성차이를 파악하기는 더욱 어려운 실정이다.

본 연구에서는 실질적인 식품관리에 미생물 위해성평가 방법 적용을 위하여 현재까지 알려지고 있는 미생물 위해성평가 방법론들을 검토하였으며 구체적인 연구목적으로는 첫째, 미생물 위해성평가의 4단계과정 위험성확인, 노출평가, 용량-반응평가, 위해도결정등 치료의 흐름에 대해 확인하고, 둘째, 노출평가에 쓰여지는 Food MicroModel® 의 활용 및 운영방법을 제시하였으며, 셋째, volunteer 자료에 근거하여 용량-반응평가를 실시하는 최근의 방법론 및 역치·비역치 모델의 활용방법을 제시하였고, 넷째, 역학자료 및 volunteer 자료에 근거한 위해도결정방법 및 결과의 해석방법을 제시하였다.

연구내용

식품중 미생물의 위해성평가는 크게 4단계로 구분되며, 각 단계는 미생물관련질환 추세파악 및 미생물 관련질병에 관한 역학조사등을 실시하는 위험성확인 단계와 실제 식품원료, 식품가공, 수송, 포장단계중 식품의 물리적, 화학적 조건에 따른 미생물 변화를 고려하여 식품섭취로 인한 미생물 노출을 정량화하는 노출평가 단계, 미생물 노출량과 질병발생과의 상관관계 즉, 용량-반응관계를 규명하는 용량-반응평가 단계, 모든 평가자료를 취합하여 식품섭취로 인한 질환 발생 위해도를 계산하는 위해도결정단계로 구성되어 있다.

위험성확인

위험성확인은 식품중 미생물 노출과 관련된 건강유해영향을 임상연구, 역학연구(사망률, 이환률 등), 모니터링연구, 동물실험연구등을 통하여 조사하고 규명하는 과정으로서 현재 미국에서는 CDC(Centers for Disease Control and Prevention), FDA(Food and Drug Administration)와 U.S.DA에서 지원하고 있는 FoodNet 라는 Sentinel Site Study 조사프로그램을 통하여 기관별 협력하에 이루어지고 있다.[1] 또한, 미생물의 위험성확인 단계는 다음과 같은 여러과정을 거쳐 수행한다.[2]

- 어떤 물질이 발견되어 특정 질병을 발생시킨후 전이되어 새로 노출된 개체에서도 유사한 질병이 발생될 때, 인체 질병발생의 원인이 되는 미생물의 규명
- 증후를 규명하고, 감염과 숙주의 시료(타액, 혈액 등)에서 미생물을 확인할수 있는 진단도구의 개발
- 병리학의 발전으로 노출에서 감염을 일으키는 질병발생과정의 이해
- 가능한 전이경로의 규명
- 유독성 요인, 미생물 성분과 life cycle을 활용한 질병발생과정 및 전이과정 이해
- 인구집단에서 질병발생율과 이환율을 평가하기 위한 진단도구의 활용(endemic risks)과 식중독사고의 조사(epidemic risks)
- 질병발생과정을 연구하고 치료에 접근하기 위한 모델의 개발(주로 동물모델)
- 감염에 대응하는 숙주면역체계의 역할평가와 예방을 위한 백신의 개발
- 다양한 노출과 관련된 역학적 연구

표 1은 미생물 감염과 관련된 증상을 급·만성으로 분류하여 기재한 것이다.

Table 1. Acute and chronic outcome associated with microbial infections.

Microorganism	Acute Disease	Chronic Disease
	Outcomes	Outcomes
Campylobacter	Diarrhea	Gullain-Barre's syndrome
E.coli O157:H7	Diarrhea	Hemolytic uremic syndrome
Helicobacter	Gastritis	Ulcers and stomach cancer
Salmonella, Shigella, & Yersinia	Diarrhea	Reactive arthritis
Coxsackievirus B	Encephalitis, aseptic meningitis, diarrhea, respiratory disease	Myocarditis, reactive insulin-dependent-diabetes
Giardia	Diarrhea	Failure to thrive, lactose intolerance, chronic joint pain
Toxoplama	Newborn syndrome, hearing and visual loss	Mental retardation, dementia, seizures

Table 2. Cases, severity, and mortality associated with *Salmonella* in the U.S.

Items	*Salmonella*	*E.coli*
Annual number of cases	2,000,000	200,000
Annual number of deaths	2,000	400
% Foodborne	96.0	25.0
Mortality ratio(%)	0.1	0.2*
Severity ratio(%)**	4.1	12.7
% Associated with reactive arthritis	2.3	NA
mortality ratio nursing homes	3.8	11.8*

**E.coli* O157:H7

**Hospitalized cases/Total cases during outbreaks

표 2는 *Salmonella*와 *E.coli*의 역학자료의 예이다.[1] 여기서 Mortality ratio와 Severity ratio등은 실제로 위해도 계산에 쓰여지는 것이다.

표 3은 위험성확인단계에서 도출되는 결과물로서 주로 문제가 야기되는 식품에 대한 중요한 정보를 제공하여 준다.

노출평가

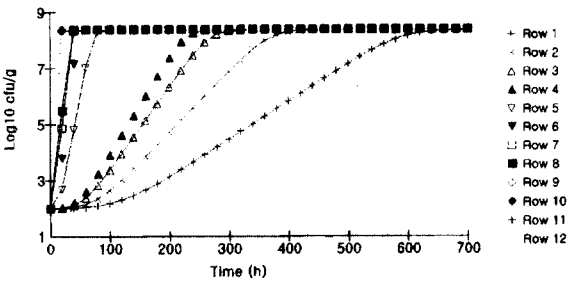
노출평가는 식품생산에서 섭취에 이르기까지의 과정에서 일어나는 미생물의 성장 및 사멸등 미생물변화를 고려하여, 식품섭취를 통한 미생물의 인체노출량을 정량화하는 과정이다. 따라서, 실제 식품유통과정에 대한 조사와 미생물 검사등이 수행되어져야 하며, 이러한 과정은 식육제품의 경우 도살, grinding, 포장, 유통, 저장, 그리고 조리과정등 섭취에 이르기까지의 모든 과정을 대상으로 하여 이루어진다. 노출평가를 수행하기 위하여 필요한 주요 정보는 다음과 같다.[3]

- 익히지 않은 제품중의 병원균 수 (미생물 수)
- 식품제조 · 유통 · 취급 · 보존 등의 과정에서 일어나는 미생물의 변화
- 식품소비행태

식품의 제조 · 유통 · 취급 · 보존 등의 과정에서 식품의 물리적, 화학적 조건에 따른 미생물변화의 평가는 실질적인 실험에 의해서 혹은 노출모델을 활용하여 예측이 가능하다. 정확한 위해성평가를 위해서는 실질적인 실험이 가장 유효하나 비용이 많이 소요되며 또한 역학조사를 통해 얻어진 결과들은 이미 반응이 나타난 사후결과이므로 사실성과 거리가 먼 경우가 있어 이러한 단점을 보완하기 위하여 현재는 많은 모델들이 개발되어 활용되고 있다. 이러한 모델의 예로, 영국 MAFF에서 제안하여 Food MicroModel사와 함께 공동 개발한 Food MicroModel®이 있다.[7] 이 모델은

Table 3. Microorganisms and their principal food sources associated with food contamination and illness

Microorganism	Food source
Salmonella	Raw meat and poultry, raw mik, eggs
Clostridium perfringens	Meats, poultry, dried foods, herbs, spices, vegetables
Bacillus cereus and other Bacillus spp.	Cold foods(handled during preperation), dairy products, meat and meat products, especially if prepared from raw milk
Escherichia coli	Cereals, dried foods, dairy products, meat and meat products, herbs, spices
Vibrio paraheamolyticus	Many raw foods
Yershinia enterocolitica	Raw and cooked fish, shellfish, and other seafoods
Campylobacter jejuni	Raw poultry, meat, raw or inadquately heat treated milk, untreated water
Listeria monocytogenes	Meat, poultry, dairy products, vegetables, shellfish
Viruses	Raw shellfish, cold foods prepared by infected food handlers



	Growth & Survival Model Name (Initial Count=1E2 cfu/g)	Temp ℃	NaCl %w/w aq	aW	pH	CO2 %	Lag h	Double h	Growth Rate /h	h to 1E6	log cfu/g 360 h
1	Escherichia coli O157:H7	10.0	0.5	(0.997)	4.5	0.0	118.6	22.05	0.014	411.7	5.3
2	Escherichia coli O157:H7	10.0	0.5	(0.997)	5.0	0.0	74.5	13.84	0.022	258.4	8.0
3	Escherichia coli O157:H7	10.0	0.5	(0.997)	5.5	0.0	54.3	10.09	0.030	188.4	8.4
4	Escherichia coli O157:H7	10.0	0.5	(0.997)	6.0	0.0	46.0	8.55	0.035	159.6	8.4
5	Escherichia coli O157:H7	20.0	0.5	(0.997)	4.5	0.0	14.6	2.71	0.111	50.6	8.4
6	Escherichia coli O157:H7	20.0	0.5	(0.997)	5.0	0.0	9.5	1.77	0.170	33.0	8.4
7	Escherichia coli O157:H7	20.0	0.5	(0.997)	5.5	0.0	7.2	1.34	0.225	25.0	8.4
8	Escherichia coli O157:H7	20.0	0.5	(0.997)	6.0	0.0	6.3	1.18	0.256	22.0	8.4
9	Escherichia coli O157:H7	30.0	0.5	(0.997)	4.5	0.0	3.6	0.68	0.446	12.6	8.4
10	Escherichia coli O157:H7	30.0	0.5	(0.997)	5.0	0.0	2.5	0.48	0.688	8.55	8.4
11	Escherichia coli O157:H7	30.0	0.5	(0.997)	5.5	0.0	1.9	0.36	0.836	6.72	8.4
12	Escherichia coli O157:H7	30.0	0.5	(0.997)	6.0	0.0	1.8	0.33	0.915	6.15	8.4

Fig. 1. The prediction of timely growth rate to the *E.coli* O157:H7 using Food MicroModel®.

염도, 수분활성도, 온도, pH 등의 조건에 따른 미생물의 성장률과 사멸률등 변화를 예측하는 모델이며, 미생물의 특성에 따라 성장 및 생존모델(growth & survival model)과 열적 사멸모델(thermal death model)을 활용할 수 있도록 구성되어있다. *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens* 등 16종의 미생물에 대해 활용이 가능하다.

Food MicroModel®은 성장 및 생존모델과 열적 사멸모델로 구성되어 있으며, 각 미생물의 특성에 따라 두 모델을 선택하거나 한가지 모델을 활용하도록 되어 있다. 이 모델은 미생물의 주어진 조건내에서의 생존률과 온도에 의한 불활성도를 예측하기 위한 것이며, 다양한 식품의 조리 및 보관조건(temperature, water activity, pH, food type, NaCl, organic acids, ethanol, carbon dioxide 등)에서 미생물의 변화(growth, survival, thermal death)를 예측하는 software로서 식품의 조리 보관조건을 최적화하고, 관리기술을 표준화하는 데에 활용할 수 있다.

본 연구에서는 Food MicroModel®을 활용하여 햄버거중 *Escherichia coli* O157:H7의 식품조건에 다른 성장률과 열에 의한 변화율을 예측하고자 하였다. 모델의 입력자료는 이미 알려진 실제 햄버거의 식품조건을 활용하였으며, 대상 미생물은 *Escherichia coli* O157:H7을 사용하여 성장 및 생존모델과 열적 사멸모델을 운용하였다. 모델의 입력자료로 활용한 햄버거의 식품조건은 온도 10~30℃, 염도(%) 0.5, pH 4.5~6.0, 수분활성도 0.997이었다.

그림 1은 Food MicroModel®을 통해 미생물의 변화율을 예측한 결과를 그래프로 나타낸 것이다.

용량-반응평가

미생물의 용량-반응평가과정은 미생물 단일노출 용량에 대한 인체감염확률이나 사망확률간의 용량-반응관계를 규명하는 과정이다. 이는 크게 비역치(Nonthreshold) 및 역치(Threshold) 평가 방법론으로 구분되는데, 비역치평가방법론은 단일 병원균이 감염을 일으킬 수 있다는 것과 감염을 일으킬수 있는 확률이 독립적이라는 가정을 전제로 하고, 역치평가방법론은 미생물이 감염을 일으키기 위해서 각기 개별 역치가 존재하는데 어느 정도의 미생물수가 모여 서로 작용하여 독성유발물질을 생산하여 감염을 일으킨다는 가정을 전제로 하고 있다.

현재 받아들여지고 있는 비역치 모델로는 Exponential, Beta-poisson, Gompertz, Gamma-weibull 모델등이 있으며, 역치모델로는 Log-normal, Log-logistic 모델등이 있다.[5] 역치모델중 Exponential 모델은 일반적인 역치모델의 가정외에 유기체의 증식을 통한 용량의 증가가 poisson 분포를 이룬다는 가정을 가지며, 감염후 생존이 가능할 것을 전제로 한다.[5]

이에 비해 beta-poisson 모델은 감염후 생존율이 지속적이지 않은 것을 전제로 하고 생존율(1/K)은 beta distribution을 이룬다는 가정을 토대로 한다. 이 때 beta-poission 모델은 exponential 모델에 비해 용량-반응곡선의 기울기가 완만한 형태를 지니며, 대체로 역치모델은 비역치모델에 비해 더 급한 기울기를 가진다고 한다.[8] 비역치모델의 경우는 저용량에서 비선형 용량-반응곡선을 나타내며 경험적 모델(empirical models)이라고도 한다.[9]

지원자(human volunteer)를 대상으로 한 인체 용량-반응자료를 토대로 최적의 용량-반응곡선을 찾기 위하여 적합한 수학적 모델을 선별해야 하는데, 선별된 모델은 적합도 검정을 통해 사용한 용량-반응자료와 모델의 관계가 최적인지를 판단할 수 있다.

이 과정은 지원자를 대상으로 조사된 용량-반응자료를 토대로 용량-반응관계를 plotting 한 후 best-fitting curve를 파악하여, 표 4의 모델들을 대상으로 적합도를 검정하여 p-value가 큰 최적모델을 선정한 다음, 선정된 모델에서 Likelihood Function을 최대화시켜주는 MLE(Maximum Likelihood Estimation) value를 구하여 모델을 완성시키는 것이다(그림 2). 용량-반응평가 과정에서 beta-poisson 모델을 선택할 경우를 예로 들어, 곡선의 기울기와 형태를 결정하는 α, β값의 MLE 값을 추정하여 모델을 완성시키는 과정을 살펴보면 다음과 같다.

예) beta-Poisson Model : $Pi=1-(1+N/\beta)^{\alpha}$

→ Pi 값을 최대화시켜주는 α, β 값을 찾음(α^{MLE}, β^{MLE})

α : slope parameter

Table 4. Threshold and nonthreshold models applied in microbial.

Classification	Model	Equation
Threshold	Exponenitial	P=1−exp(−rN)
	Beta-poisson	P=1−(1+N/β)− α
	Gompertz	P=exp(−exp(−B(t−M)))
Non-Threshold	Log-normal	$P=1-\frac{1}{2\pi}\exp(-Z^2/Z)dx$
	Log-logistic	P=1/(1+exp(−B(1−M)))

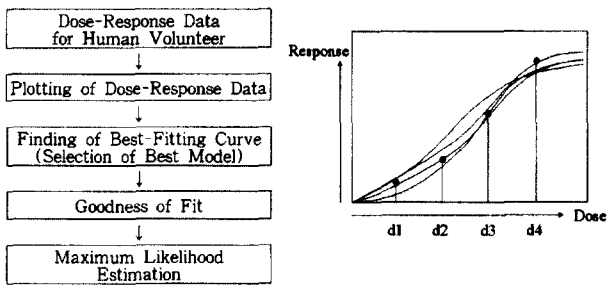


Fig. 2. The process for dose-response modeling

β : $2^{(1/b}-1)$ N_{50}

(N_{50} : 대상집단이 50% 감염될 때의 미생물 수)

위해도 결정

위해도결정단계는 노출평가에서 도출된 결과와 용량-반응평가의 결과를 통합하여 위해수준을 결정하는 과정이다. 위해도 결정과정을 *E.coli*와 *Salmonella*를 예로 들어 설명하면 다음과 같다.[8]

노출량자료의 활용시 – 식품중에 존재하는 *E.coli*와 *Salmonella*의 CFU(Colony Forming Unit) 수를 파악한 후 용량-반응평가를 통해 도출된 적합모델을 활용하여 위해도를 계산하는 과정이다. 식품중 함유된 *E.coli*와 *Salmonella*의 CFU 수를 1, 10, 100으로 가정할 때, *E.coli*와 *Salmonella*의 human feeding study를 토대로 얻어진 용량-반응자료를 활용하여 도출된 미생물노출에 따른 질병감염확률 변수값(표 5)을 활용하면 표 6과 같은 결과를 얻을 수 있다.[1]

*E.coli*는 beta-poisson model(α=0.1705, β=1.61×10^6), *Salmonella*는 exponential model(γ=0.00752)이 가장 적합한 모델로 활용되고 있다.[1]

규명된 모델 parameter를 활용하여 완성된 용량-반응모델 수식은 다음과 같다.

E.coli : $Pi = 1 - (1+N/\beta)^{-\alpha}$

E.coli : $Pi=1-(1+N/\beta)^{-\alpha}=1-(1+N/(1.6)\times10^6))^{-0.1705}$

Table 5. Best fit dose-response parameters for various microorganism induced from human feeding studies.

Microorganism	Best model	Model parameters
E.coli	beta-poisson	α=0.1705 β=1.61×106
Salmonella	exponential	γ=0.00752
Models	Pi=1−(1+N/β)$^{-\alpha}$ (beta-poission model) Pi=1−exp(−rN) (exponcntial model)	

Pi : probability of infection

α, β, γ: parameters defining dose-response curves

N=exposure(CFU)

Table 6. Infection probability induced by risk characterization using exposure data and dose-response parameter(assumed value).

Microorganism Exposure(CFU)	Risk of Infection*	
	Salmonella	*E.coli*
1	7.5 ×10^{-5}	1.0 ×10^{-1}
10	7.2 ×10^{-2}	1.0 ×10^{-6}
100	5.3 ×10^{-1}	1.0 ×10^{-5}

CFU : colony forming unit

계산예: *Pi=1−(1+1/1.61×106)−0.1705

=1.0×10^{-7}=1.0×10^{-7}

Salmonella : Pi=1−exp(−rN)=1−exp(−0.00752×N)

식품중 *E.coli*의 오염도를 1, 10, 100 CFU라고 가정할 때, 규명된 모델에 적용하여 감염확률을 예측하면 표 6과 같다.[1]

역학자료의 활용시 – 용량-반응평가의 결과로 도출된 적합모델과 노출량을 통하여 미생물 섭취에 따른 감염확률(Pi)을 구한 다음, 식중독사건에 대한 역학자료조사를 활용하여 다음과 같이 미생물노출로 인한 사망확률이나 특정질병 발생확률을 예측할 수 있다. 앞서 제시되었던 표 2의 *Salmonella*에 대한 역학자료를 토대로 사망확률과 severity 확률을 아래와 같이 구할 수 있다(표 7).

만성노출을 고려한 위해도결정 – 일반적으로 미생물에 의한 질병발생으로 식중독과 같은 경우는 대부분 단일노출에

Table 7. Adverse health effects associated with risks from exposure to *Salmonella*(exposure : 1 colony forming unit)

Item	Incidence Probability	Estimated Value
Probability of infection	Pi=1−exp(−0.00752×1)	7.5×10^{-7}
Probability of severity	Ps=Pi×severity ratio =7.5×10^{-7}×0.041	3.1×10^{-8}
Probability of mortality	Pm=Pi×motality ratio =7.5×10^{-7}×0.001	7.5×10^{-10}

의해 질병이 발생되지만, 일정량이 식품중에 존재하고 있을 경우의 만성노출을 평가하기 위한 방법론으로서는 다음과 같은 이론이 제시되고 있다.[8]

Probability of illness per year(1년중 질병에 걸릴 확률)

$$= 1-P_H$$

$$= 1 - \prod_{i=1}^{365} (1-P_{X,Y})$$

P_H : 365일 동안 건강할 확률

$P_{X,Y}$: 하루중 질병에 걸릴 확률

만성노출의 경우는 일일기준의 감염확률 또는 질병발생확률을 일년 기준으로 하여 계산한다. 이 때 각 일년중의 하루하루의 노출을 독립적이라고 가정하고, 만성노출은 하루하루의 노출이 반복되는 것으로 가정한다.

일년중 식품미생물에 의한 감염확률이나 질병발생확률은, 전체 일년중 건강한 날의 확률을 제외한 것을 의미한다. 365일중 건강한 날의 확률은 전체 365일중 질병에 걸릴 날의 확률을 제외한 것이며, 이 때 365일, 각 하루에 대한 질병에 걸릴 확률은 본 식품중 미생물에서 예측코자 하는 위해도로서 이상의 위해도 결정과정으로부터 도출되는 값이다.

이와같이 식품중 미생물의 만성노출로 인한 감염확률이나 질병발생확률은 단일노출에 의한 감염확률 또는 질병발생확률을 활용하여 구하는 방법론이 활용되고 있다.

불확실성 분석(uncertainty analysis) – 위해성평가 과정이 매우 복잡하고 실측치가 존재하지 않을 경우 모델을 이용한 예측치를 사용하게 되므로 실제로 도출된 결과물은 사실성이 결여될 수 있어 이러한 결과의 요인이 될 수 있는 부분을 불확실성 요소라고 한다. 위해도결정 단계에서는 위해성평가의 각 단계에서 일어나는 모든 가정을 가능한 한 규명하고, 각 가정으로부터 일어날 수 있는 영향을 서술함으로써 불확실성을 최소화하도록 하여야 한다.

그림 3은 용량-반응평가단계에서 발생할 수 있는 선택된 용량-반응모델의 불확실성을 나타내기 위한 bootstrapping graph이다. Bootstrapping의 원리는 구해질 수 있는 α^{MLE} 값과 β^{MLE}을 모두 그래프에 도식화하므로써 그 불확실성을 규명하고 α^{MLE}값과 β^{MLE}의 분포를 평가에 활용하는 것이다. 이는 *Monte-Carlo simulation*의 개념과 유사하다.[8]

불확실성 분석은 평가에 관여되는 변수의 분포값을 평가에 모두 고려하여 있을 수 있는 최대 노출과 최저 노출을 파악하고자 하는 것이며, 관리적인 측면에서 활용시 확률값에 근거한 선택을 할 수 있어 point value를 사용하는 경우 보다 불확실성을 줄일 수 있다.

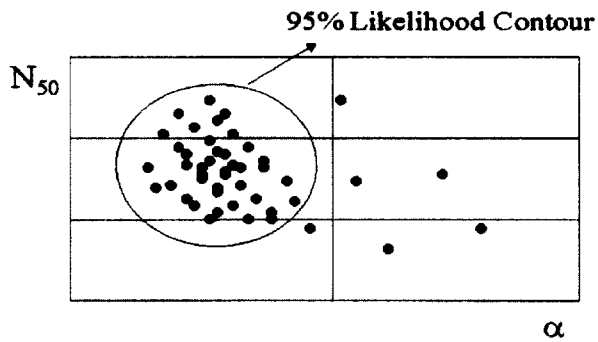


Fig. 3. Bootstrap sampling distribution for rotavirus dose-response parameters 1000 replicates. The box indicates the maximum- likelihood estimate.

위해성평가 방법론의 시스템개발 – 식품중 미생물의 위해성평가 방법론은 여러 연구를 통해 개발되고 있으며, 방법론을 시스템화하여 모델로서 제시되고 있다.

Peeler와 Bunning(1994)[10]는 식품유통과 관련한 정량적 위해성평가로서 우유생산과 저온살균의 효율을 평가하기 위한 우유중 *L.monocytogenes*에 대한 Hazard assessment를 수행하였으며 이러한 방법론은 Cassin(1994)[11]에 의해 더욱 개발되어 *Monte-Carlo simulation*기법의 활용이 제안되었다.

이후 미생물의 위해성평가 방법론이 확립되면서 여러 가지 시스템모델이 개발되었는데, 이러한 시스템모델로는 Buchanan과 Whiting(1996)에 의하여 제안된 노출모델과 용량-반응모델을 결합시킨 위해성평가 시스템모델, dynamic risk assessment model,[12] Cassin 등이 ground beef hamburger중 *Escherichia coli* O157:H7의 위해성평가 수행에서

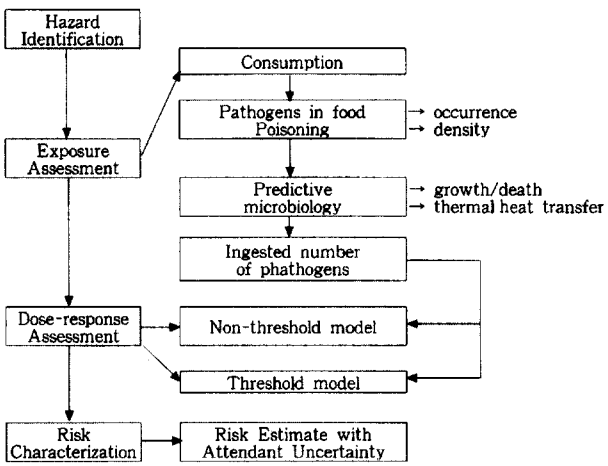


Fig. 4. Structure for microbial risk assessment for *E.coli* O157:H7 in hamburger.

개발한 process risk model[13], Marks 등의 dynamic flow tree model[14] 등이 있다.

최근 제안된 이러한 모델들은 미생물의 성장 및 동태까지 고려한 노출모델과 용량-반응모델을 연계시켜 수행할 수 있도록 설계된 것이다. 그림 4는 dynamic flow tree model의 구성도를 나타낸 것이다.

고 찰

미생물은 온도, 습도, 수분활성도, pH 등의 환경 조건에 따라 매우 다양하게 변화하기 때문에 식품을 통한 미생물 노출평가와 유해영향 용량-반응평가를 포함하는 미생물 위해성평가를 수행하는 것은 쉬운 일이 아니다.

외국에서도 미생물 위해성평가는 아직 초기연구단계에 있으며 그동안 사후조사자료인 역학자료를 주로 활용하였으나 발병이 있은 이후 조사된 결과에 대한 신빙성여부등이 문제시되고 있다. 최근 미국에서는 건강한 성인을 대상으로 하여 계획된 미생물 노출실험으로부터 용량-반응자료를 구하고 그 결과를 우선적으로 활용하고 있으나 노약자나 민감그룹에 대한 실험은 현실적으로 불가능하여 동물실험을 이용한 평가방법을 연구중에 있다. 또한 미생물의 다양한 특성상 각 미생물의 적용가능한 모델이 개발되고 있다. 이러한 미생물에 활용할 수 있는 적절한 위해성평가 모델개발을 위해서는 식품내에서의 미생물 성장능력과 관련된 여러 가지 정보들이 요구된다. 만약 어떤 미생물이 낮은 감염률을 지니더라도 저온에서의 성장능력을 지니고 있다거나 빠른 성장속도를 지니고 있을 경우 그 미생물의 위해도는 커질수 있다. 미생물자체의 독성을 충분히 고려하고 검토할 수 있도록 충분한 정보들이 제공되어야 한다. 현재까지는 이러한 기본적인 자료들이 어느정도 충족되어 있는 *E.coli*와 *Salmonella*를 대상으로 한 미생물 위해성평가 방법론의 개발은 활발히 이루어지고 있으나, 아직 *Bacillus, Clostridium, Campylobacter, Listeria* 등의 다른 미생물에 대해서는 적용가능한 모델이 제시되지 않고 있는 상태이다.

또한 관리가 어려운 미생물이거나 관련된 제품의 사용이 많은 경우도 고려되어야 하므로 이러한 미생물자체에 대한 정보뿐 아니라 제품에 대한 정보도 뒷받침되어야 한다.

추후 연구방향으로 국내 지원자들을 대상으로 한 미생물별 용량-반응결과를 토대로 population sensitivity를 비교할 수 있는 기초자료를 습득함으로써 미생물에 대한 인구집단의 반응 민감성 차이를 비교하고, 미생물 위해성평가 방법론을 식품미생물관리에 활용하는 것이 요구되고 있다.

국문요약

최근 국내에서는 *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*등의 미생물에 대한 건강위해성이 강조되면서 미생물 위해성평가에 대한 필요성이 제기되고 있고, U.S.FDA, U.S.DA, FAO/WHO를 비롯한 국제기구 및 외국 유관기관들에서도 미생물 위해성평가방법을 식품관리에 활용하고자 방법론 연구에 주력하고 있다. 미생물 위험성은 화학물질과 달리 인체건강에 대한 영향이 즉각적이고, 심각하게 나타나 정량적인 위해성평가가 용이하지 않고 유해화학물질과는 다른 평가방법이 요구된다. 식품중 미생물의 위해성평가는 크게 4단계로 구분되는데, 미생물관련질환 추세파악 및 미생물 관련질병에 관한 역학조사 등을 활용하는 위험성확인 단계와 실제 식품원료, 식품가공, 수송, 포장단계중 식품의 물리적, 화학적 조건에 따른 미생물 변화를 고려하여 식품중 미생물에 대한 노출을 정량화하는 노출평가 단계, 미생물의 용량에 따른 질병발생에 근거하여 용량-반응관계를 규명하는 용량-반응평가 단계, 규명된 모델을 활용하여 모든 평가결과를 통합함으로 위해도치 예측과 불확실성분석등을 수행하는 위해도결정단계로 구성되어 있다. 미생물 용량-반응평가는 크게 비역치(Nonthreshold)와 역치(Threshold) 평가 방법론으로 구분되는데, 비역치 평가방법론은 단일 병원균이 감염을 일으킬 수 있다는 것과 감염을 일으킬수 있는 확률이 독립적이라는 가정을 전제로 하고, 역치평가방법론은 미생물이 감염을 일으키기 위해서 각기 개별 역치가 존재하는데 어느 정도의 미생물 수가 모여 서로 작용해야 독성유발물질을 만들어 낸다는 가정을 전제로 한다. 현재 받아들여지고 있는 비역치 모델로는 Exponential, Beta-poisson, Gompertz, Gamma-weibull 모델 등이 있으며, 역치모델로는 Log-normal, Log-logistic 모델 등이 있다. 본 연구에서는 인체 volunteer 자료를 활용하여 용량-반응자료를 입력하고 용량-반응자료를 토대로 적합한 수학적 모델을 찾아내어, 선별한 모델의 적합도검정을 실시하는 방법론 연구를 실시하였으며, 노출평가 자료와 용량-반응평가 결과를 연계하여 위해도를 결정하는 과정에 대해 연구하였다. 이 밖에도 모델(Food MicroModel®)을 이용하여 식품의 염도, 수분활성도, 온도, pH 등의 조건에 따른 미생물의 성장률, 사멸률 등 변화를 예측할 수 있는 방법론 연구를 통해 식품의 최적 보관조건등을 찾아내는 방법을 습득하였다. 미생물 위해성평가는 외국에서도 아직 초기 연구단계에 있으며 현재로서 사후조사자료인 역학자료보다 건강한 성인남자를 대상으로 한 volunteer 자료를 우선적으로 활용하고 있으나 노약자나 민감그룹에 대한 실험은 현실적으로 불가능하여 동물실

험을 이용한 평가방법을 연구중에 있다. 추후 연구방향으로는 국내 volunteer들을 대상으로 한 미생물별 용량-반응결과를 토대로 population sensitivity를 비교할 수 있는 기초자료를 확보함으로써 미생물에 대한 인구집단의 반응 민감성 차이를 비교하고 시료채취 후 즉각적인 실험실적 분석이 가능토록하여 정확한 인체노출평가를 수행함으로써 미생물 위해성평가방법론을 식품미생물관리에 적용하는 것이다.

참고문헌

1. Ross, J.B., Hass, C.N. and Gerba, C.P.: Linking microbiological criteria for foods with quantitative risk assessment. *J. Food Safety* **15**, 121-132 (1995).
2. Macler, B.A., and Regli, S.: Use of microbial risk assessment in setting US drinking water standards. *Int. J. Food. Microbiol.* **18**, 245-256 (1993).
3. ICMSF: Potential application of risk assessment techniques to microbiological issues related to international trade in food and food products. International Commission on Microbiological Specification for Foods. *J. Food Protect.* **61**(8), 1075-1086 (1998).
4. ILSI(Internstional Life Science Institute): A conceptual framework to assess the risks of human disease following exposure to pathogens. *Risk Analysis*, **16**, 841-848 (1996).
5. Gaylor, D.W., Axelrad, J.A., Brown, R.P., Cavagnaro J.A., Cry, W.H., Hulebak, K.I., Lorentzen, R.I., Miller, M.A. Mulligun, I.T. and Schwetz, B.A.: Health risk assessment practices in the U.S. Food and Drug Administration. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **26**, 307-321, (1997).
6. Rose, J.: Steps in microbial hazard identification. '98 SRA annual meeting proceeding (1998).
7. Food MicroModel Ltd, Food MicroModel version 2.5 User Manual (1997).
8. Haas, C.N., Rose, J.B., Gerba, C.P. and Regli, S.: Risk assessment of viruses in drinking water, *Risk Analysis*, **13**, 545-552 (1993).
9. Haas, C.N.: Estimation of risk due to lew doses of microorganism; a comparison of alternative methodologies, *Am. J. Epidemiol.*, **118**, 578-582 (1983).
10. Peeler, J.T. and Bunning, V.K.: Hazard assessment of *Listeria monocylogenes* in the processing of bovine milk, *J. Food Protect.* **57**, 689-697 (1994).
11. Cassin, M.H., Paoli, G.M. and MeColl, R.S.: A comment on "Hazard assessment of *Listeria monocytogenes* in the processing of bovine milk", *J. Food Protect.* **57**, 689-697, 1994, *J. Food Protect.*, **59**, 341-343 (1994).
12. Whiting, R.C. and Buchanan, R.L.: IFT scientific status summary: microbial modelling. *Food Technol.* **44**(6), 113-120 (1994).
13. Cassin, M.H., Lammerding, A.M., Todd, E.C.D., Ross, W. and McColl, R.S.: Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. *Int. J. Food Microbiol.*, **41**, 21-44 (1998).
14. Marks, H.M., Coleman, M.E., Lin, J. and Roberts, T. : Topics in microbiat risk assessment : dynamic flow tree process. *Risk Analsis.*, **18**, 309-328 (1998).
15. Hathaway, S.C. and Cook, R.L.: A regulatory perspective on the potential uses of microbial risk assessment in international trade. *Int. J. Food Microbiol.*, **36**, 127-133 (1997).
16. McMeckin, t.A., Brown, J., Krist, K., Miles, D., Neumeyer, K., Nochols, D.S., Olley, J. Presser, K., Ratkowsky, D.A. Ross, T., Salter, M. and Soontranon S.: Quantistive Microbiology: A Basis for Food Safety, *Emerging Infections Diseases* **3**(4), 541-549 (1997).
17. Plyasens, P., Liou, S. and Mckellar, R.C.: Predictive modelling of Listeriu spp. in bovine milk during high temperature short-time pasteurization. *Int. J. Food Microbiol.* **39**, 167-173 (1998).
18. Todd, E.C.D. and Harwig, J.: Microbial risk analysis of food in Canada, *J. Food Protect.* **59**(suppl.), 10-18 (1996).