637.1
L293o

농림기술개발과제
최종보고서 부록

GOVP 12009316

유가공장과 낙농목장의 위생 관리 기술

- 고품질 우유의 생산 기술 개발 -

연 구 기 관
상 지 대 학 교

농 림 부

대한민국
기증등록
2000. 7. 21
82777
국회도서관

안 내 말

본 책자는 농림기술개발과제 최종연구보고서의 부록으로서 "고품질 우유의 생산 기술 개발" (주관연구과제 : 시유의 저장가능기간과 2차 오염의 결정 기술 개발, 협동연구과제 : *Staphylococcus aureus*와 streptococci의 원유 오염 경로에 관한 연구)의 연구 개발 결과를 유가공장과 낙농목장의 위생 관리에 적용할 수 있도록 정리하여 발간합니다.

1999 . 10 . 31 .

주관연구기관명 : 상지대학교
총괄연구책임자 : 최 석 호
연 구 원 : 이 승 배
연 구 원 : 김 선 기
연 구 원 : 노 동 광
연 구 원 : 황 보 식
연 구 원 : 권 우 혁
연 구 원 : 최 정 준
협동연구기관명 : 중앙대학교
협동연구책임자 : 윤 영 호
연 구 원 : 김 창 수
연 구 원 : 김 기 일

여 백

목 차

제 1 장 유가공장과 낙농목장의 위생 관리 필요성

1. 서론 ---------- 5
2. 유가공장의 위생 관리 ---------- 5
3. 낙농목장에서의 유방염의 예방과 위생 관리 ---------- 6

제 2 장 시유의 저장가능기간과 2차오염의 결정 방법

1. 서론 ---------- 8
2. 시유의 저장성과 2차오염 ---------- 8
3. 시유의 저장성 조사 ---------- 9
4. 저장 온도에 따른 시유의 세균수 변화 ---------- 16
5. 시유의 저장성 및 2차오염 결정 방법 ---------- 16
6. Resazurin 환원시간 검사법을 이용한 2차오염 검출 및 저장성 검사 ---------- 19
7. Resazurin 환원시간 검사법의 절차 ---------- 24
8. 인용문헌 ---------- 25

제 3 장 시유의 저장가능기간을 개선하기 위한 유가공장의 위생 관리

1. 서론 ---------- 28
2. 유가공장의 관리 ---------- 28
3. 참고문헌 ---------- 35

제 4 장 시유 제조와 HACCP

1. 서론 ---------- 36
2. HACCP의 개관 ---------- 36
3. HACCP 체계의 실행 ---------- 36
4. HACCP의 원리 ---------- 37
5. 위해요인 ---------- 38
6. HACCP의 정의 ---------- 39

7. 선결 프로그램 ---------- 40
8. HACCP의 실행 단계 ---------- 41
9. 참고문헌 ---------- 50

제 5 장 유방염의 예방과 관리

1. 머릿글 ---------- 51
2. 연구결과의 현장 적용 ---------- 51
3. 유방염에 관한 기본이해 ---------- 59
4. 유방염의 분류 ---------- 62
5. 유방염의 발생요인 ---------- 63
6. 유방감염의 단계 ---------- 65
7. 환경형 streptococci 유방염의 위해요소 ---------- 68
8. 유방염 예방 대책 ---------- 72
9. 항생제 치료 ---------- 75
10. 맺는말 ---------- 83
11. 참고문헌 ---------- 83

제 1 장 유가공장과 낙농목장의 위생 관리 필요성

1. 서 론

무역자유화에 따라 식품의 안전성을 보장하기 위하여 HACCP가 도입되고 있다. 또한 소비자들은 식품의 안전성에 대한 관심이 증폭되고 있으며 특히 우유는 어린이, 임신부 및 노년층의 영양에 중요한 식품이므로 우유의 안전성은 더욱 중요한다. 이러한 사회적 여건 변화하에서 우유가 소비자의 신뢰성을 상실하게 되면 낙농업의 존속이 위태롭게된다. 고름우유, 잔류항균물질, 식중독 및 대장균의 오염 등이 시유와 계속적으로 연관되어질 때에 낙농업과 유가공업의 장래는 밝지 않다.

따라서 낙농가와 유가공장은 소비자에게 안전성을 보증하고 신선한 풍미가 있는 고품질 우유를 지속적으로 품질관리하여 생산하여야할 것이다. 이를 위하여 첫째로 낙농가에서는 건강한 젖소의 위생적인 사양과 착유에 의해 신선한 원유가 공급되어야 하며 둘째로 유가공장에서는 위생적인 시유 생산 공정과 공장 관리 방법을 확립하고 유통체계를 관리하여 안전하고 저장성이 좋은 시유를 생산하여 소비자에 공급될 수 있어야 한다.

본 책자는 농림특정연구과제로서 수행한 '고품질 우유의 생산 기술 개발'의 연구 결과를 낙농업과 유가공업의 현장에서 위생 관리를 위한 안내서로서 발간하였다.

2. 유가공장의 위생 관리

시유 가공공정과 유통관리는 유가공장이 자율적으로 책임을 지고 수행해야한다. 또한 시유를 비롯한 유제품의 품질관리 자율화를 촉진하는 위해요소중점관리제도(HACCP)의 시행에 따라 최종 제품의 안전성과 저장성을 신속히 검사하는 방법의 필요성이 증대하고 있다. 신속한 저장성검사에 의해 가공공정의 위생상의 문제점을 신속히 발견하여 개선할 수 있게 하며 제품의 전반적인 품질을 향상시켜 효율적인 공장관리를 가능하게 하며 또한 우유의 유통관리를 용이하게 한다.

시유는 세균의 성장에 의해 부패하기 쉬운 식품으로서 유통과 저장 중 냉장하여야한다. 시유의 저장성을 높이고 품질을 향상시키기 위하여 유가공장에서 과학적인 가열처리방법으로 살균하고 철저한 위생관리로 시유의 오염을 방지하여야한다. 따라서 유가공장은 미생물학적 품질이 우수한 원

유를 확보하고 적절한 온도와 시간에서 살균처리하며 살균 공정 후 오염이 안되도록 유가공 기계의 세척 및 위생 관리에 주의를 기울여야 할 것이며 또한 살균 후에 최종 제품에 세균이 오염되었는가를 결정하여 저장성을 신속히 예측할 수 있어 변질된 우유가 유통되는 것을 방지하여야한다.

살균된 우유의 오염 여부와 저장성을 신속히 측정함으로써 제조공정과 위생관리의 적정여부를 결정하여 개선함으로써 제품의 품질을 균일하게 유지하고 향상시킬 수 있다. 또한 유통 중의 제품의 품질 변화를 예측하여 용이하게 유통관리를 할 수 있다. 우유의 살균 후의 오염의 검출 및 시유의 저장성을 결정할 수 있는 현존 방법들은 그람음성 내냉성균을 배양하여 검출하는 방법들이다.

본 연구의 결과인 국산 시유의 저장성 조사 결과를 기술하였고 resazurin 환원시간 검사법을 이용한 시유의 2차오염과 저장가능기간의 결정방법을 제시하고 저장가능기간을 개선하기 위한 유가공장의 위생 관리 방안과 HACCP을 포함시켰다.

3. 낙농목장에서의 유방염 예방과 위생 관리

유방염에 감염된 유우의 치료비의 지출과 유량 감소와 체세포수의 증가에 의한 유대의 감소는 경제적으로 낙농가의 소득에 타격을 줄뿐만 아니라 유제품의 품질도 떨어뜨린다. 또한 유방염 치료를 위한 항생제의 남용은 항생제 내성균을 증가시키고 우유 내 항생제 잔류물 문제를 유발하여 소비자의 건강에 위해 요인이 된다. 따라서 낙농가는 과학적인 위생사양 기술을 도입하여 유방염을 예방하여야 할 필요가 있다.

우유는 젖소의 유선으로부터 생산되므로 가축이 보유한 병원균이 우유를 통하여 사람으로 전달될 수 있다. 우유의 품질을 향상시키기 위하여 낙농가는 사양 조건을 최적화하여 가축의 유방염을 비롯한 질병을 예방하여야 한다. 유방염의 치료와 예방을 위해 많은 연구가 있었으나 유방염의 박멸은 아직도 해결이 되지 못하였다. 유방염을 통제하기 위하여서는 착유기 및 목장환경의 위생상태 정기점검, 유두 침지 및 건유기 치료, 유방염 감염우 조기검색 및 감수성 약제선발에 따른 치료를 시행하여야 한다.

유방염은 유방내에 있는 유선조직이 세균에 감염되어 일어나는 질병이다. 유방염에 관련된 세균에는 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Str. uberis* 및 *Str. dysgalactiae* 등이 있다. *Staph. aureus*는 준임상형 유방염의 중요한 원인균이며 임상형 유방염에서도 빈

도가 높게 발견되고 있으며, 항생제에 의한 치료가 실패할 경우 만성유방염으로 전이된다. 항생제내성균이 증가하고 있어 항생제에 의한 치료는 한계점에 도달하고 있다. 항생제로 유방염을 치료하기보다는 과학적인 사양관리하고 위생적인 목장환경을 유지하여 유방염을 예방하는 것이 더 중요하다.

본 연구에서는 유방염 세균의 목장 환경에서의 분포와 이동경로를 조사하였다. 분자생물학적 기술에 의하여 세균의 개체식별 및 동정 및 분류가 가능하게되어 세균의 분포와 이동경로를 정밀하게 추적할 수 있었다. 또한 목장에서 분리된 유방염 세균들의 항생제와 살균제들에 대한 내성을 조사하였다. 이러한 연구의 결과를 바탕으로 목장의 위생관리를 개선하여 세균의 유방으로의 전염을 효율적으로 차단하여 유방염을 예방하고 체세포수를 낮춤으로써 고품질의 원유를 생산할 수 있는 기회가 되기를 바란다

제 2 장 시유의 저장가능기간과 2차오염의 결정 방법

1. 서 론

시유의 살균 후에 일어나는 2차오염의 방지는 시유의 안전성과 저장성을 보장하기 위하여 중요하다. 이 글은 1997년과 1999년에 생산된 국산 시유의 저장성과 2차오염 현황에 대하여 조사한 바를 기술하였다. 그 결과 시유의 저장가능기간이 제품의 종류, 살균 방법, 생산 계절과 연도 및 저장온도에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다. 시유의 2차오염을 결정하는 방법으로서 본 연구에서 개발된 resazurin 환원시간 방법을 소개하였으며 이 방법의 원리와 응용에 대하여 설명하였다.

2. 시유의 저장성과 2차오염

시유의 미생물학적 규격은 식품공전에 규정되어 있는 바와 같이 세균수가 1㎖당 20,000군 이하 대장균군수은 1㎖당 10군 이하이며 권장유통기한이 0~10℃에서 5일이다. 시유의 열처리 방법으로는 저온장시간살균법(LTLT pasteurization), 고온단시간살균법(HTST pasteurization), 초고온순간처리법(UHT)으로 구분되어 있으며 살균된 제품은 살균 후 즉시 10℃ 이하로 냉각되어야하며 2차오염이 방지되도록 자동포장 공정으로 충전되어야한다(한국식품공업협회, 1994). 저온단시간살균법과 고온단시간살균법에 의해 원유 내 세균의 약 95~99%를 사멸할 수 있으므로 법적 규격에 맞도록 시유를 제조하기 위하여서는 원유의 세균수가 중요하다. 그러나 초고온순간처리법은 우유의 세균수를 10^9배 이상 감소시킬 수 있으므로 원유의 세균수에 의해 시유의 세균수가 영향을 받지 않는다(Kessler, 1981).

살균(pasteurization) 후 우유에 원유 또는 유가공 기계로부터 2차오염(post-pasteurization contamination)이 일어날 수 있다. 2차오염된 우유가 냉장 저장될 때에 내냉성 세균이 증식하여 저장가능기간(shelf life)이 단축하게 된다. 적정한 온도와 시간으로 열처리되고 2차오염이 안된 우유는 45°F(7.2℃)에서 14일간 저장하는 동안에 최소한 50% 이상의 제품이 1CFU/㎖ 미만의 대장균군수와 20,000CFU/㎖ 미만의 세균수를 나타낸다고 한다(Barnard 등, 1995). 우유를 위생적으로 열처리할 수 있으며 2차오염을 방지할 수 있는 유가공 기계의 설계와 가동 방법이 중요하다. 또한 우유의 2차오염 여부를 판정하고 저장가능기간을 예측할 수 있는 품

질관리방법이 필요하다.

우유를 냉장 저장하면서 세균수를 측정하여 일정 기준 이상을 초과하는 기간이나 불쾌한 냄새가 검출되는 기간을 저장가능기간(shelf life)으로 할 수 있다. McMeekin과 Ross(1996)는 식품 1㎖ 또는 1g 당 세균수가 10^7에 도달하면 부패되기 시작하며 세균수가 $10^{7.5}$가 되면 이미 부패된 것이라고 하였다. Bishop 등(1984)은 7℃ 이하에서 성장하는 세균들은 살균에 의해 파괴되므로 7℃를 우유의 저장가능기간을 결정하기 위한 저장 온도로 사용하였다. 저장된 우유의 변질여부를 ADSA 채점표를 이용한 관능검사로 판정하여 저장가능기간을 결정하였다.

3. 시유의 저장성 조사

국산 시유의 저장성 현황을 조사하기 위하여 1차로 1996년 12월 19일부터 1997년 7월 11일까지 국산 시유 중 저온장시간살균유 3제품(A, B, C), 고온단시간살균유 3제품(D, E, F), 초고온순간살균유 3제품(G, H, I)을 2~6회 구입하여 7℃에서 저장하며 구입일(생산일), 5일 후, 10일 후에 세균수를 표준평판법으로 측정하여 기하평균값을 계산하였다(Table 1).

Table 1. Changes of standard plate count of market milk stored at 7℃

Heat Treatment	Processing plant	Number of Sample	Geometric mean of SPC (CFU/㎖)		
			0 day	5 day	10 day
LTLT	A	6	29,000	62,000	460,000
	B	6	1,600	1,900	1,400
	C	6	500	5,500	4,700,000
HTST	D	3	<25	32	9,500
	E	2	<25	<25	35
	F	6	810	1,500	100,000
UHT	G	3	<25	<25	600
	H	3	<25	260	600
	I	3	<25	<25	700

저온장시간살균유 A는 제조당일의 세균수가 10,000~90,000CFU/㎖이었으며 6개의 시료 중 2개 시료가 10일 냉장 후 10^6CFU/㎖ 이상으로 세균수가 증가하였다. 저온장시간살균유 B는 세균수가 500~4,000CFU/㎖이며 냉장저장 후에 세균수가 약간 감소하는 경향을 보였다. 저온장시간살균유 C는 생산일에는 세균수가 500CFU/㎖ 미만이었으나 10일간 냉장저장 후 6개의 시료 중 4개의 시료가 10^6CFU/㎖ 이상으로 증가하였다.

고온단시간살균유 D와 E는 생산일에 세균이 검출되지 않았으며 냉장저장 후에도 세균이 증가하지 않았다. 이 제품들은 가열취가 강하여 초고온순간살균유와 비슷하였다. 고온단시간살균유 F는 제조당일 세균수가 400~1,700CFU/㎖이었다. 6개의 제품 중에서 1개의 제품이 10일 냉장저장 후에 10^6CFU/㎖을 초과하였다. 초고온순간살균유는 모두 생산일에 세균이 검출되지 않았다. 7℃에서 10일간 저장한 후에 600-700CFU/㎖로 약간 증가하였다.

국산 시유와 가공유의 세균수는 각각 90-5,000CFU/㎖와 60-3,000CFU/㎖으로 보고되었다(김과 최. 1993). 국산 시유를 살균방법에 따라 조사한 결과 고온단시간살균유와 저온장시간살균유의 평균 세균수는 각각 6,730CFU/㎖와 4,960CFU/㎖이었고 초고온순간처리유에서는 세균이 검출되지 않았다고 보고되었다(강 등, 1995). 시유의 저장실험에서 일부 저온장시간살균유와 고온단시간살균유는 생산 후 각각 2일과 3일만에 100,000CFU/㎖까지 증가하여 법적 규격을 초과하였으며 초고온순간처리유는 생산 후 9일까지도 100CFU/㎖에 머물렀다고 보고되었다(강 등, 1995).

본 연구에서 강 등 (1995)의 연구와 일부 유사한 연구 결과를 보였다. 저온장시간살균유 A는 제조 일에 세균수가 10^4CFU/㎖으로서 상당히 높았으며 일부는 저장 중에 세균수가 증가하였다. 이는 원유의 세균수가 높고 우유의 살균 후 2차오염이 복합적으로 일어나기 때문이라고 할 수 있었다. 저온장시간살균유 A 중 일부는 냉장 중에 세균수가 증가하지 않아 2차오염이 일어나지 않은 것으로 보였다 이 제품들이 제조일에 세균수가 높은 이유는 원유의 세균수가 상당히 높았기 때문이라고 추측된다.

저온장시간살균유 C는 제조일에는 세균수가 10^2-10^3CFU/㎖이나 저장 중 급격히 증가하여 10일에는 10^6CFU/㎖ 이상의 세균수에 이르렀다. 이 제품에는 내냉성 세균이 오염되어 저장 중에 증식하는 것으로 사료되었다. 이러한 내냉성 세균은 열처리 공정에 의해 사멸되지 않는 포자의 생장세균일 수 있으며 또는 우유의 열처리 후 원유나 유가공 기계로부터 오염되는 2차오염에 기인할 수 있다. 2차오염은 세균의 오염정도에 따라 제조당일 제품의 세균수를 증가시킬 수도 있으나 대체로 2차오염에 의해 우유에 오염된 세균수가 낮은 경우가 일반적이다(Bishop과 White, 1986). 따라서 2차오염된 우유는 제조당일에는 세균수가 낮다하더라도 냉장 저장

중에 내냉성 세균이 성장하여 우유의 저장성을 감소시킬 수 있다. 포자의 생장세균이 성장하여 우유의 저장성을 감소시킬 수 있으나 2차오염으로 기인되는 그람음성 내냉성 세균이 냉장 온도에서 성장이 빨라서 우유의 저장성에 더 중요한 세균이다(Varnam과 Sutherland, 1994).

초고온순간살균유들은 제조당일의 세균수가 낮았으며 냉장 저장 중에도 세균수가 낮았다. 초고온순간살균유들이 저온장시간살균유와 고온단시간살균유 보다 저장성이 좋은 이유는 초고온순간살균유는 포자를 비롯한 모든 세균이 파괴되어 세균수가 매우 낮기 때문이다. 또한 본 연구에서 조사한 초고온순간살균유들은 2차오염에 의해 저장성이 감소되는 경우가 매우 적은 것으로 보였다.

2차로 여름철에 생산되는 국산 시유의 저장성과 본 연구에서 개발된 resazurin 환원시간검사의 현장 적응을 위하여 1999년 5월 11일부터 1999년 9월 3일 까지 국산 시유 중 저온장시간살균유는 1 유가공장의 제품과 초고온순간살균는 3 유가공장의 4 제품을 조사하였다. 총 127개의 시유 제품 시료를 구입하여 본 연구에서 개발한 그람음성세균의 선택배지인 SC-TS 배지를 첨가한 후 시유를 21℃, 25℃ 및 30℃에서 배양한 후에 resazurin을 첨가하고 30℃에서 배양하면서 resazurin 환원시간을 조사하여 내냉성 그람음성세균의 2차오염을 조사하였다. 또한 동일한 시유를 7℃에서 10일간 배양한 후의 세균수를 조사하여 내냉성 세균의 오염과 저장가능기간을 조사하였다. Table 2는 그 중 1999년 6월 30일 구입한 시유의 조사 결과이다.

Resazurin 환원시간 검사에서 10시간 이내에 변색하는 시유를 그람음성 세균에 의해 2차오염된 것으로 분류하였다. 7℃에서 10일간 저장한 후에 세균수가 10^5CFU/㎖ 이상인 시유는 내냉성세균에 오염된 시유로 분류하였으며 10^6CFU/㎖ 이상인 시유는 내냉성세균에 오염되었으며 저장가능기간이 10일 이하인 우유로 분류하였다 (Table 3).

Resazurin 검사에서 우유의 예비배양 온도가 높을수록 대체로 10시간 이전에 변색되는 시료의 수가 증가하였다(Table 3). 특히 저온장시간살균유의 경우 30℃에서 예비배양한 경우 10시간 이전에 변색하는 시유가 전체의 68~100%를 차지하여 대부분의 저온장시간살균유 제품이 2차오염되어 있었으며 내냉성, 중온성 및 고온성 등 다양한 그람음성세균에 의해 오염이 심한 것으로 추정되었다. 초고온순간살균유의 경우 30℃에서 예비배양하여 resazurin 검사한 결과로부터 17~50%의 우유가 2차오염된 것을 알 수 있으며 25℃와 30℃에서 그람음성세균에 오염된 시유 제품 갯수의 차이가 적어 2차오염이 비교적 적으며 고온성 그람음성세균에 의한 오염이 적은 것으로 사료되었다.

Table 2. Resazurin reduction time and bacterial count after storage at 7℃ for 10 days of market milk produced in June 30th

Type	Milk	Resazurin reduction time (hour)			Bacterial count (CFU/mℓ)
		21℃	25℃	30℃	
LTLT	A	>10	>10	9.5	6,900
	A	>10	>10	9.5	4,300
	B	>10	>10	5.5	$<10^2$
	B	>10	7.5	7.5	$<10^2$
	C	>10	>10	>10	1,600
	C	>10	>10	>10	65,000
	D	>10	7.5	>10	$<10^2$
	D	6.5	0.5	0.5	1,700,000
	E	>10	>10	>10	$<10^2$
	E	7.5	7.5	>10	690,000
	F	4.5	0.5	0.5	25,000,000
	F	5.5	1.5	1.5	$<10^2$
	G	>10	>10	6.5	$<10^2$
	G	>10	>10	3.5	$<10^2$
	H	>10	5.5	1.5	$<10^2$
	H	>10	5.5	1.5	$<10^2$
UHT	I	>10	>10	>10	$<10^2$
	I	>10	>10	>10	$<10^2$
	J	9.5	3.5	3.5	38,000,000
	J	9.5	3.5	3.5	44,000,000
	K	>10	>10	>10	2,700
	K	>10	>10	2.5	$<10^2$
	L	>10	7.5	>10	$<10^2$
	L	>10	7.5	>10	$<10^2$
	M	9.5	1.5	2.5	26,000
	M	>10	9.5	1.5	11,000,000
	N	7.5	1.5	1.5	71,000,000
	N	7.5	1.5	1.5	53,000,000
	O	>10	9.5	>10	$<10^2$
	O	>10	>10	>10	$<10^2$
	P	>10	>10	>10	$<10^2$
	P	>10	>10	>10	$<10^2$
	Q	>10	>10	>10	$<10^2$
	Q	>10	>10	9.5	$<10^2$
	R	5.5	1.5	1.5	37,000,000
	R	6.5	1.5	1.5	52,000,000
	S	>10	>10	3.5	$<10^2$
	T	7.5	1.5	1.5	1,600,000

Table 3. The percentage of market milk which had resazurin reduction time less than 10 hour after preliminary incubation with SC-TS broth and the percentage of market milk with bacterial count more than 10^5 and 10^6 CFU/mℓ after storage at 7℃ for 10 days

Mfg. date	Type	No of milk	Resazurin reduction time <10 hour (%)			Bacteria count >10^5CFU/mℓ (%)	Bacterial count >10^6CFU/mℓ (%)
			21℃	25℃	30℃		
May 11	LTLT	5	20	40	100	40	20
	UHT	12	0	25	17	33	25
Jun 30	LTLT	16	25	50	69	19	13
	UHT	23	35	52	52	35	35
Jul 29	LTLT	13	23	38	85	15	7
	UHT	19	37	58	53	26	21
Aug 11	LTLT	7	42	29	86	43	14
	UHT	12	33	33	50	50	42
Sep 3	LTLT	5	60	80	100	60	60
	UHT	15	20	40	46	0	0

7℃에서 10일 간 냉장한 시유의 세균수가 10^5CFU/mℓ 이상인 저온장시간 살균 시유의 비율이 6월과 7월에는 10%대로 낮으나 5월, 8월 및 9월에 40~60%로 높게 나타났다. 초고온순간살균유는 5월, 6월, 7월에는 약 30%의 시유가 10^5CFUmℓ 이상이었으나 가장 더운 8월에는 50%의 시유가 내냉성세균에 의해 오염된 것으로 나타났으며 저장성이 가장 악화되었다. 반면에 9월에는 0%로 낮아져 계절에 따른 기온 변화에 민감하게 반응하였다. 초고온순간살균유의 경우 세균수가 10^6CFU/mℓ 이상인 시유의 갯수는 10^5CFU/mℓ인 시유의 갯수와 유사한 경향을 보였다(Table 3).

이상의 결과를 요약하면 여름철에 저온장시간살균유 뿐만 아니라 초고온순간살균유도 내냉성세균에 의한 2차오염이 일어나고 있어 유가공장의 위생적인 공장관리가 필요함을 보이고 있다.

6월, 7월 및 8월까지 구입한 시유를 7℃에서 10일간 저장한 후 세균수가 10^6 CFU/mℓ 이상인 시유에서 세균을 분리하여 그람음성세균을 API 20E와 API 20NE를 이용하여 동정하였다. 시유에서 분리한 28 균주 중에서 2균주가 그람양성 간균과 구균이었다. 그람음성세균 26 균주 중에서 14 균주가 *Pseudomonas*어어서 비율이 50% 이상이었으며 다음으로

*Acinetobacter*와 *Aeromonas* 이었다. 시유 B제품의 동정안된 3균주도 *Aeromonas*와 유사하였다. Enterobacteria에 속하는 균주는 *Moellerella wisconsensis*, *Seratia ficaria* 및 동정 안된 1 균주를 합하여 3균주이었으며 나머지 23 균주는 호기성 그람음성세균이었다. 동정된 세균을 분리된 시유 제품명에 따라 분류하였다 (Table 4).

시유 A, D 및 E는 6월, 7월 및 8월에 생산된 시유로 부터 분리한 균주를 동정한 결과이었다. 시유 B는 6월에 생산된 시유로 부터 분리한 세균을 동정하였다. 시유 D은 저온장시간살균유이었으며 나머지 시유는 초고온순간살균유이었다. 시유 A와 시유 E는 동일 유가공장에서 생산되었으며 시유 A는 여러 종류의 기능성 성분이 첨가되어 생산되는 제품이었다.

*Pseudomonas*가 시유에서 부패를 일으키는 중요한 세균이라는 것을 확인할 수 있었으며 유가공장과 제품에 따라 세균의 분포가 다름을 알 수 있었다. 시유 A과 D제품이 다양한 그람음성세균에 의해 오염되어 있었으며 시유 C과 E는 *Pseudomonas*에 의해 오염되었다. 시유 B는 *Pseudomonas chlororaphis* 1 균주와 동정하지 못한 3 균주에 의해 오염되었으며 이 균주들의 생화학적 반응이 유사하여 동일한 세균으로 보였다. 저온장시간살균유 D 제품와 첨가제가 많은 초고온순간살균유 A 제품에서 다양한 그람음성 내냉성세균이 검출되어 이 제품들의 제조에서 특히 2차오염이 많이 일어나고 있음을 알 수 있었다.

Table 4. Bacteria isolated from market milk which had bacterial counts more than 10^6CFU/mℓ after storage at 7℃ for 10days

Bacteria	Market milk					Total
	A	B	C	D	E	
Pseudomonas fluorescens	1		1	2	5	9
Pseudomonas putida	1			1		2
Pseudomonas aureofaciens			1			1
Pseudomonas chlororaphis		1				1
Pseudomonas vesicularis	1					1
Acinetobacter junii/johnsonii	1			1		2
Acinetobacter lwoffii	1					1
Aeromonas hydrophilia/caviae				1		1
Aeromonas salmonicida ssp. *salmonicida*	1					1
Moellerella wiscosensis	1					1
Seratia ficaria				1		1
Not determined	1	3		1		5

SC-TS 배지와 혼합하여 21℃에서 18시간 배양한 후 resazurin 검사에서 10시간 이내에 변색한 시유로부터 그람음성세균을 분리하여 동정하였다. 분리된 세균이 총 25 균주이고 모두 그람음성 세균이었으며 이 중 21 균주를 동정하였다(Table 5). 이 중 7 균주가 *Acinetobacter*, 5 균주가 *Pseudomonas*, 4 균주가 *Enterobacter*, 나머지가 각각 *Chryseomonas luteola*, *Klebsiella oxytosa* 및 *Sphmon. pauciomobilis* 1 균주이었으며 나머지는 2 균주는 동정이 안되었다. Enterobacteria에 속하는 균주가 Enterobacter 3 균주, *Klebsiella oxytosa* 1 균주 및 *Sphmon. pauciomobilis* 1균주를 합하여 5 균주 이었으며 나머지가 호기성 그람음성세균에 속하였다. 이는 7℃에서 냉장저장한 우유에서 분리한 균주들과 약간 차이를 보였으며 *Pseudomonas*가 감소하고 *Enterobacter*가 분리된 점이 달랐다. 이는 SC-TS 배지의 영향때문이기 보다는 배양온도의 상승에 의한 중온성 세균의 성장 촉진때문이라고 생각된다. 이러한 결과로부터 여름철 생산된 시유는 소수의 그람음성세균에 의해 2차오염되기 보다는 다양한 종류의 그람음성세균으로 오염됨을 알 수 있었다.

Table 5. Bacteria isolated from market milk which was incubated at 21℃ for 18 hours after adding SC-TS broth

Bacteria	Market milk					Total
	A	B	C	D	E	
Acinetobacter baumaii		2		1		3
Acinetobacter junii/johnsonii	1			1		2
Acinetobacter sp.	1	1				2
Pseudomonas fluorescens				1	1	2
Pseudomonas aureofaciens		1				1
Pseudomonas putida				1		1
Pseudomonas stutzeri	1					1
Enterobacter cloacae			1			1
Enterobacter intermedium			1	1		2
Enterobacter sakazakii					1	1
Chryseomonas luteola				1		1
Klebsiella oxytosa					1	1
Sphmon. pauciomobilis		1				1
Not determined	1			1		2

4. 저장 온도에 따른 시유의 세균수 변화

저온장시간살균유, 고온단시간살균유 및 초고온순간살균유를 7℃, 10℃, 13℃ 및 15℃ 저장온도에서 저장하여 세균수의 변화를 측정하였다 (Table 6). 7℃에서 저장한 모든 시유는 10일까지 세균수가 법적 규격인 20,000CFU/㎖에 미달하여 2차오염이 안된 우유로 확인하였다. 10℃에서 저장한 저온장시간살균유와 고온단시간살균유는 5일만에 18,000CFU/㎖과 79,000CFU/㎖에 각각 도달하여 법적 규격에 근접하거나 초과하였다. 반면에 초고온순간살균유는 10℃에서 세균수가 거의 증가하지 않아 저장성이 좋았다.

저온장시간살균유과 고온단시간살균유를 13℃에서 저장할 때에는 3일 후에 20,000CFU/㎖을 초과하며 5일 후에는 10^7CFU/㎖를 초과하여 이미 부패하였음을 알 수 있다. 그러나 초고온순간살균유는 13℃에서 3일 저장 후에 비교적 낮은 세균수를 보이고 있으며 5일 저장 후에는 10^6CFU/㎖을 초과하였다. 15℃에서는 저온장시간살균유와 고온단시간살균유는 3일 후에 10^7CFU/㎖ 이상이었으며 초고온순간살균유는 5일 후에 10^7CFU/㎖을 초과하였다.

Table 6. Changes of standard plate count of market milk stored at the different temperatures

Heat treatment	Storage day	SPC (CFU/㎖)			
		7℃	10℃	13℃	15℃
LTLT	0	2,900	2,900	1,300	2,900
	3	2,400	4,000	140,000	18,000,000
	5	3,300	79,000	32,000,000	21,000,000
	10	3,300	16,000,000	-	-
HTST	0	1,700	1,700	290	1,700
	3	1,500	1,800	44,000	17,000,000
	5	1,600	18,000	12,000,000	42,000,000
	10	9,700	23,000,000	-	-
UHT	0	4	4	0	0
	3	3	0	2,000	400
	5	0	0	1,700,000	32,000,000
	10	26	<2,500	-	-

저온장시간살균유와 고온단시간살균유에는 열처리에 의해 파괴가 되지 않는 포자 형성 세균인 내냉성 *Bacillus* 및 내열성 그람양성 세균이 7℃의 온도에서는 성장할 수 없으나 저장온도가 상승함에 따라 성장이 가능하게 되어 저장성이 감소될 수 있으나 초고온순간살균유에는 포자가 파괴되기 때문에 저장성이 우수한 것으로 생각된다(Varnam과 Sutherland, 1994).

이 결과로부터 초고온순간살균유는 10℃ 이하에서 저장이 가능하며 저온장시간살균유와 고온단시간살균유는 7℃ 이하에서 저장하여야 함을 알 수 있었다. 현재 식품공전에 의하면 0-10℃에서의 저장을 규정하고 있다. 과거에는 거의 모든 시유가 초고온순간살균유로서 생산되어 10℃에서 저장할 수 있었으나 저온장시간살균유와 고온단시간살균유가 생산되고 있는 현재에는 저장온도를 최소한 7℃이하로 규정을 개정할 필요가 있다. 소매점에서는 여름에 온도가 15℃ 이상까지도 올라갈 수 있는 개방형 냉장 전시대 보다는 최소한 7℃ 이하에서 온도를 유지할 수 있는 밀폐형 냉장전시대를 사용하는 것이 바람직하다.

5. 시유의 저장성 및 2차오염 결정 방법

2차오염에 의해 유입된 내냉성 그람음성세균은 시유의 저장성을 단축시킬 수 있다. 또한 *Salmonella* 및 *Listeria*와 같은 병원균에 의해 시유 또는 유제품이 2차오염이 되면 식중독을 일으켜 공중위생의 위해 요인이 될 수 있다. 실제로 오염된 시유에 의해 salmonellosis가 미국 Illinois 주에서 일어나 16,000명의 식중독 환자가 감염된바 있다(Phillips와 Griffiths, 1989). 국내에서도 대형 유가공장이 발달하여 한 유가공장에서 공급받는 소비자의 수는 매우 많으며 계층이 다양하다. 또한 근래에는 시유의 유통환경이 복잡해지고 제품 용량도 대형화되어 소비자가 제품을 보관하는 기간이 장기화되고 있어 시유의 저장성은 더욱 중요하게 되었다. 시유의 가공 공정이 과학적이고 위생적이어야 하며 미생물학적 품질관리를 엄격히 유지하여야 한다. 특히 시유의 2차오염을 방지하여야 하며 2차오염을 신속히 검출할 수 있는 방법을 도입하여야할 것이다. 시유의 미생물학적 품질과 2차오염의 신속한 검출법에 대한 많은 연구들에 대하여 토론된 바가 있다(Vasavada, 1993; White, 1993; IDF, 1993; Bishop과 White, 1986).

시유의 저장성을 단축시키는 세균은 *Pseudomonas*와 그외에 많은 그람음성세균인 것으로 알려져 있다(IDF, 1993; Phillips 등, 1981; Gyllenberg 등, 1960). 원유의 미생물학적 품질을 측정하는 표준평판세균수, 내냉성세균수 및 대장균군수는 시유의 2차오염을 검출함에 있어 쓸모

가 없다. 미국공중위생협회에서는 시유를 21℃에서 18시간 예비배양하여 내냉성세균의 성장을 촉진한 후에 plate count agar에 섞어 21℃에서 25시간 배양하여 modified psychrotrophic bacteria count(mPBC)를 계수하여 시유의 저장성을 측정하는 방법을 제안하였다(White 등, 1993). 그러나 이 방법은 예비배양중에 2차오염에 의한 내냉성 그람음성세균 뿐만 아니라 포자를 형성하는 *Bacillus*와 같은 내냉성 세균이 성장할 가능성이 있어 정상적으로 가공되고 냉장온도(7℃)에서 저장성이 좋은 시유도 높은 mPBC를 보여 저장성이 낮은 것으로 그릇되게 판정될 가능성이 있다. 이를 방지하기 위하여 적절한 그람음성세균 선택성 배지를 우유에 첨가하여 예비배양하므로서 2차오염 여부와 저장성을 정확하게 판정할 수 있다.

예비배양에 의해 성장한 세균을 한천배지에서 배양하여 형성된 집락을 계수하는 전통적인 세균수 측정법은 장시간의 배양시간을 요구하여 신속성이 떨어지며 노동력과 시약의 요구량이 크므로 품질관리 방법으로서 적절하지 못하다. 간편하고 신속한 생균수의 측정법으로서 ATP bioluminescnece 방법 및 전기저항법이 있다.

ATP bioluminescence 방법은 원유의 세균수 뿐만 아니라 시유의 2차오염 여부를 측정함에 응용되었다(Griffiths, 1993). 시유의 2차오염 여부를 검출하기 위하여 내냉성 그람음성세균의 성장이 유리하도록 Benzalkon A, crystal violet, nisin, 및 penicillin과 같은 그람양성세균의 억제제를 첨가하여 시유를 배양한 후에 ATP를 측정하는 방법들이 개발되었다(IDF, 1993; Baustista 등, 1992; Phillips와 Griffiths, 1985; Waes와 Bossuyt, 1981; Waes와 Bossuyt, 1982). 이 연구들에서 억제제의 종류 및 배양온도와 시간을 조절하여 최적의 2차오염 검출 조건을 연구하였다.

본 연구에서 DGN 배지를 시유와 혼합하여 30℃에서 18시간 예비 배양하여 ATP bioluminescence를 측정한 결과와 7℃에서 10일 간 저장한 후의 시유의 세균수가 낮은 상관관계를 보였다. 이는 예비배양 온도와 저장온도가 차이가 크며 DGN 배지가 그람음성세균에 대한 선택성이 낮기 때문이었다.

ATP bioluminescence 방법은 민감도가 낮아 10^6CFU/㎖ 이상의 세균수를 가진 우유를 검출할 수 있었다(Bossuyt, 1982). 민감도를 높이기 위하여 비세균성 ATP를 제거하고 세균을 선택적으로 농축하기 위하여 nylon filter를 이용하는 방법이 개발되었다(Reybroeck과 Schram, 1995). 이 방법은 10^4CFU/㎖의 세균수까지 검출할 수 있도록 민감도가 개선되었다(Reybroeck과 Schram, 1995; Baustista 등, 1992).

배지에 우유를 첨가하고 Bactometer에서 배양을 시작한 후 배지의 전기 저항의 급격히 상승을 시작하는 시간을 detection time(DT)이라 한다. 세균이 적은 우유는 DT가 크고 세균이 많은 우유는 그 반대다. 이러한 전

기저항법 (Bishop 등, 1984; Bossuyt와 Waes, 1983, Visser와 de Groote, 1984)을 이용하여 Byrne 등 (1989a)은 benzalkonium chloride를 첨가한 nutrient broth 또는 dairy gram negative(DGN) 배지를 우유에 섞어 21℃에서 18시간 예비배양한 후에 전기저항법으로 측정한 DT가 우유의 저장성과 높은 상관관계를 보였다.

본 연구에서 DGN 배지와 우유를 혼합한 예비배양에서 그람양성세균인 *E. faecalis*와 *S. aureus*가 성장하였다. SC-TS 배지는 그람음성세균에 대한 선택성은 좋았으며 그러나 전기저항법으로 측정하면 저온장시간 살균 시유의 2차오염을 결정할 수 있었으나 초고온순간 살균 시유의 2차오염을 검출할 수 없었다.

6. Resazurin 환원시간 검사법을 이용한 2차오염 검출 및 저장성 검사

가. SC-TS agar의 그람음성세균 선택성

그람음성세균에 대해 선택성이 있는 배지들에 대한 표준 세균들의 성장 여부를 조사하였다. NPC agar, DHL agar, MacConkey agar 및 SC-TS agar에 streaking 하여 26℃와 30℃에서 각각 배양한 후 조사한 결과 NPC agar와 DHL agar에서 그람양성세균 중에서 *B. cereus*와 *E. faecalis*가 각각 성장하였다. MacConkey agar와 SC-TS agar에서는 그람양성세균의 성장이 없었으며 그람음성세균 중에서는 *Flavobacterium* sp.와 *Achromobacter lyticus*가 성장하지 못하였다(Table 7).

그람음성세균을 평판당 100CFU/mℓ이 되게 plate count agar, MacConkey agar와 SC-TS agar에 접종하여 배양한 후 plate count agar의 세균수에 대한 MacConkey agar와 SC-TS agar의 세균수의 비율을 조사하였다(Table 8). MacConkey agar에서 *Pseudomonas* 3 균주의 세균수가 낮아 성장이 상대적으로 억제되었으며 반면에 SC-TS agar에서는 성장이 좋았다. *Acinetobacter baumaii*가 SC-TS agar에서 약간 성장이 억제되었다.

Table 7. Growth response of type culture of bacteria on selective agar

Bacteria	NPC agar	DHL agar	MacConkey agar	SC-TS agar
B. coagulans	-	-	-	-
B. cereus	+	-	-	-
S. aureus	-	-	-	-
L. invanovii	-	-	-	-
E. faecalis	-	+	-	-
E. coli	-	+	+	+
E. aerogenes	+	+	+	+
K. pneumoniae	+	+	+	+
Flavobacterium sp.	-	+	-	-
P. fluorescens	+	+	+	+
P. fluorescens	+	+	+	+
P. putida	+	+	+	+
A. lyticus	-	-	-	-
A. baumaii	+	+	+	+
A. faecalis	-	+	+	+

Table 8. Ratio of bacterial count of gram-nagative bacteria on selective agar against bacterial count on plate count agar for control

Bacteria	MacConkey agar (%)	SC-TS agar (%)
E. coli	107 ± 40	140 ± 34
E. aerogenes	108 ± 14	95 ± 14
K. pneumoniae	118 ± 44	110 ± 35
P. fluorescens	3 ± 2	107 ± 27
P. fluorescens	73 ± 27	162 ± 117
P. putida	26 ± 45	400 ± 369
A. baumaii	83 ± 43	29 ± 45
A. feacalis	67 ± 20	101 ± 1

Table 9. Growth response of gram-negative bacteria isolated from market milk with bacterial count more than 10^6CFU/mℓ after storage at 7℃ for 10 days

Bacteria	No. of culture	No. of culture with growth		
		CFC agar	SC-TS agar	MacConkey agar
Pseudomonas fluorescens	7	7	7	7
Pseudomonas putida	3	1	2	2
Pseudomonas chloraphis	2	2	1	1
Acinetobacter junii	2	1	1	0
Acinetobacter lwoffi	1	0	0	1
Aeromonas hydrophilia	1	1	1	1
Moellerella wiscosensis	1	0	1	1
Seratia ficaria	1	0	1	1
Total	18	12	14	14

7℃에서 10일간 냉장한 후 세균수가 10^6CFU/mℓ이상으로 증가한 시유에서 분리한 세균들을 CFC agar, SC-TS agar 및 MacConkey agar에 streaking 하여 성장 여부를 조사하였다(Table 9). CFC agar에서 *Pseudomonas putida* 3 균주 중에서 2 균주가 성장 못하고 *Acinetobacter lwoffi* 2 균주 중에서 1 균주가 성장 못하고 *Acinetobacter lwoffi*, *Moellerella wisconsensis* 및 *Seratia flcaria*가 성장하지 못하였다. SC-TS agar에서는 *Pseudomonas putida* 3 균주 중에서 1 균주가 *Pseudomonas chloraphis* 2 균주 중에서 1 균주가 *Acinetobacter chloraphis* 2 균주 중에서 1 균주와 *Acinetobacter lwoffi* 1 균주가 성장하지 못하였다. MacConkey agar에서는 *Pseudomonas putida* 3 균주 중에서 1 균주가 *Pseudomonas chloraphis* 2 균주 중에서 1 균주가 *Acinetobacter junii* 2 균주가 성장하지 못하였다. CFC 배지가 다른 2 배지에 비해 호기성 그람음성세균에 대해 선택성이 높았으며 Enterobacteria인 *Moellerella wisconsensis* 및 *Seratia ficaria*를 억제하는 것이 SC-TS agar와 MacConkey agar와 다른 특징이었다.

이와 같이 그람음성세균 선택성 배지들을 비교 조사한 결과 SC-TS 배지가 *Pseudomonas*의 성장을 억제하지 않을 뿐만 아니라 enterobacteria도 성장하는 배지였으며 반면에 MacConkey 배지는 *Pseudomonas*의 성장을 억제하였다. CFC 배지는 *Pseudomonas*가 성장할 수 있는 배지이며 대부분의 enterobacteria의 성장을 억제하는 배지이다.

나 SC-TS 배지를 이용한 resazurin 검사

SC-TS 배지를 첨가하여 시유를 21℃, 25℃ 및 30℃에서 배양한 후에 resazurin을 첨가하고 30℃에서 배양하면서 resazurin의 변색시간을 조사여 그람음성세균의 2차오염을 조사하였다. 또한 동일한 시유를 7℃에서 10일간 배양한 후의 세균수를 조사하여 내냉성 세균의 오염 여부와 함께 시유의 저장성을 조사하였다.

Resazurin 검사에서 변색시간이 10시간 이상 또는 미만인 시유와 냉장한 후의 세균수가 10^5CFU/㎖ 이상 또는 미만인 시유를 분류하고 두 방법간의 관계를 조사하기 위하여 4개의 집단으로 구분하였다(Table 10). 5월에 조사한 17개 시유에서 resazurin test에서 10시간 이내에 변색하고 세균수가 10^5CFU/㎖ 이상인 시유가 5개 이었다. 즉 이 시유들은 그람음성세균에 오염되었으며 또한 내냉성 세균에 의해 오염된 우유들이다. 반면에 11개 시유는 그람음성세균 및 내냉성 세균에 의해서도 오염되지 않았다. 따라서 17개 시유 중에서 그람음성세균의 오염 여부와 내냉성세균의 오염 여부가 일치하는 시유가 16개 제품이며 전체 시유의 94%에 해당한다. 따라서 이 경우에 상당히 높은 확율로 resazurin 검사로 시유의 저장성을 예측할 수 있다.

Table 10. Classification of market milk based on resazurin reduction time and bacterial count

Mfg date	Market milk examined	Temperature in resazurin test	Resazurin reduction time / Bacterial count* (No. of milk)				Milk with same response
			+/+	+/-	-/+	-/-	
May 11	17	25℃	5	0	1	11	94%
Jun 30	39	21℃	11	2	1	25	92%
Jul 29	26	21℃	3	5	1	17	77%
Aug 11	19	21℃	4	3	5	7	58%
Sep 3	20	21℃	3	1	0	16	95%

* Resazurin reduction time less than 10 hour : +
Resazurin reduction time more than 10 hours : -
Bacterial count more than 10^5CFU/㎖ : /+
Bacterial count less than 10^5CFU/㎖ : /-

그람음성세균의 오염을 예측하는 resazurin 환원시간 검사법과 내냉성 세균의 오염을 추정하는 저장성 검사는 5월, 6월 및 9월에는 92-95% 일치하나 7월에는 77%이고 8월에는 58%로 매우 낮았다. 이의 원인으로는 7월과 8월의 30℃ 이상의 기온 때문에 시유가 내냉성, 중온성 및 고온성 등 모든 세균에 의한 오염이 심각한 것(Table 3)과 시유의 살균 온도의 상승에 의한 *Bacillus* 세균의 발아에 의해 저장성에 영향을 받는 것 때문에 resazurin 검사와 냉장저장 후의 세균수 검사가 일치하지 않는 것으로 사료되었다.

Table 11. Resazurin reduction time and bacterial count after storage at 7℃ for 10 days of market milk produced in September 3, 1999

Type	Milk	Resazurin reduction time (hour)						Bacterial count (CFU/mℓ)
		SC-TS broth			CFC Broth			
		21℃	25℃	30℃	21℃	25℃	30℃	
	A	6.5	>10	2.5	>10	7.5	>10	22,000,000
	A	6.5	1.5	0.5	>10	3.5	10.5	14,000,000
LTLT	A	>10	10.5	6.5	>10	>10	>10	4,000
	A	>10	3.5	2.5	>10	>10	>10	4,400
	A	6.5	1.5	0.5	>10	5.5	>10	2,000,000
	B	>10	>10	>10	>10	>10	>10	<100
	B	>10	>10	>10	>10	>10	>10	<100
	B	>10	6.5	>10	>10	>10	>10	<100
	B	>10	>10	5.5	>10	>10	>10	<100
	B	>10	10.5	>10	>10	>10	>10	<100
	C	>10	>10	>10	>10	>10	>10	<100
	C	>10	>10	>10	>10	>10	>10	<100
UHT	C	>10	9.5	10.5	>10	>10	>10	<100
	C	5.5	7.5	2.5	>10	>10	>10	<100
	C	>10	>10	>10	>10	>10	>10	<100
	D	>10	9.5	1.5	>10	>10	>10	<100
	D	>10	7.5	>10	>10	>10	>10	<100
	D	>10	>10	4.5	>10	>10	>10	<100
	D	>10	>10	3.5	>10	>10	>10	<100
	D	>10	>10	2.5	>10	>10	>10	<100

Resazurin 검사에서 예비배양하는 배지로서 SC-TS 배지와 CFC 배지를 비교하였다(Table 11). SC-TS 배지를 사용하여 21℃에서 예비 배양하는 경우에 저온장시간 살균 시유에서 resazurin 검사에서 환원시간이 10시간 이하인 시유와 냉장저장 후의 세균수가 10^6CFU/㎖ 이하인 시유가 상호간에 일치하였으나 초고온순간 살균 시유에서는 resazurin 검사에서 21℃에서 예비 배양할 때에 환원시간이 10시간 이하인 시유가 1제품이 있었으나 10일 간 배양한 후의 세균수는 100CFU/㎖ 미만으로 나타나 내냉성세균의 오염이 없었던 것으로 나타나 상호 방법간에 일치하지 않았다.

그러나 CFC 배지와 예비배양한 경우에 25℃에서 10시간에 이전에 변색한 시유와 냉장저장 후의 세균수가 10^6CFU/㎖ 이하인 시유와 일치하였다. 또한 초고온 순간 살균시유에서는 모든 예비배양온도에서 10시간 내에 변색하지 않았으며 이는 냉장 저장한 시유의 세균수인 100CFU/㎖와 일치하는 결과 이었다.

이상의 결과를 고찰하면 CFC 배지에서 *Pseudomonas, Enterobacter, Aeromonas* 및 *Acinetobacter*가 성장할 수 있으나 대장균 같은 enterobacteria는 억제하는 배지이므로 SC-TS 배지 보다 그람음성세균 중에서 특히 내냉성 세균에 대해 선택성이 있는 배지로 추정된다. 따라서 여름철에 생산된 오염이 심각한 시유의 저장성을 추정할 수 있는 배지로서 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

다. 요 약

본 연구에서 개발된 SC-TS 배지는 enterobacteria 뿐만 아니라 *Pseudomonas*의 성장에 유리한 배지로서 개발되었으며 그람양성세균이 성장하지 않음을 표준균주와 시유와의 예비배양에서 확인하였다. SC-TS 배지을 이용한 resazurin 방법에서 시유의 2차오염을 신속히 결정할 수 있었으며 7~8월의 여름철을 제외한 달에는 저장가능기간과 상관 관계가 높음을 알 수 있었다.

7. Resazurin 환원시간 검사법의 절차

가. 배 지

(1) SC-TS 배지

Trypticase soy broth(Difco)에 sodium desoxycholate (0.5g/ℓ)와 cetrimide (0.15g/ℓ)을 증류수에 용해한 후 118℃에서 15분간 멸균한다.

나. Resazurin 환원시간 검사

50㎖의 시유를 무균적으로 50㎖의 SC-TS 배지 또는 CFC 배지가 들어 있는 media 병에서 부어 혼합한 다음 21℃, 25℃ 및 30℃에서 18시간 예비배양한다. 배양액 10㎖를 채취하여 시험관에 옮기고 1㎖의 resazurin(55㎍/㎖) 용액을 첨가하고 30℃에서 배양하고 30분 후부터 청색이 보라색, 적색 및 흰색으로 변하는 시간을 매시간 조사한다. SC-TS 배지의 경우에는 10시간 이내에 보라색 이상으로 변색하는 시료는 그람음성세균에 의해 오염된 것으로 확정한다.

8. 인용문헌

1. Baustista, D. A., L. McIntyre, L. Laleye, and M. W. Griffiths. 1992. The application of ATP bioluminescence for the assessment of milk quality and factory hygiene. J. Rapid Methods Automat. Microbiol., 1:179-193.
2. Bishop, J.R., and C.H. White. 1986. Assessment of dairy product quality and potential shelf life - a review. J. Food Prot., 49:739-753.
3. Bishop, J.R., C.H. White, and R. Firstenberg-Eden. 1984. Rapid impedimetric method for determining the potential shelf-life of pasteuried whole milk. J. Food Prot., 47:471-475.
4. Bossuyt, R. G. and G. M. Waes. 1983. Impedance measurements to detect post-pasteurization contamination of pasteurized milk. J. Food Protect;. 46:622-624.
5. Byrne, Jr, R.D., J.R. Bishop, and J.W. Boling. 1989a. Estimation of potential shelf-life of pasteurized fluid milk utilizing a selective preliminary incubation. J. Food Prot., 52:805-807.
6. Griffiths, M. W. 1993. Applications of bioluminescence in the dairy industry. J. Dairy Sci., 76:3118-3125.
7. Gyllenberg, H., E. Eklund, M. Antila, and U. Vartiovaara. 1960. Contamination and deterioration of market milk. II. Significance of pseudomonads as deterioration bacteria. Act Agric. Scand., 10:50-64.
8. IDF. 1993. Catalogue of tests for the detection of post-pasteurization contamination of milk. Bulletin of the IDF 281, ppl3-34.

9. Kessler, H.G. 1981. Food engineering and dairy technology. published by V. A. Kessler. Freising, F. R. Germany.
10. McMeekin, T.A. and T. Ross. 1996. Shelf life prediction: status and future possibilities. Inter. J. Food Microbiol. 33:65-83.
11. Phillips, J. D. and M. W. Griffiths. 1985. Bioluminescence and impedimetric methods for assessing shelf-life of pasteurized milk and cream. Food Microbiol. 2:39-51.
12. Phillips, J. D. and M. W. Griffiths. 1989. Pasteurized dairy products-the constraints imposed by environmental bacterial contamination. *in* J. O. Nriagu and M S. Simmons, ed. Advances in Environmental Science and Technology: Food Contamination from Environmental Sources. p. 387. John Willey and Sons, New York.
13. Phillips, J. D., M. W. Griffiths, and D. D. Muir. 1981. Growth and associated enzymic activity of spoilage bacteria in pasteurized double cream. J. Soc. Dairy Technol., 36:41-43.
14. Reybroeck, W. and E. Schram. 1995. Improved filtration method to assess bacteriological quality of raw milk based on bioluminescence of adenosine triphosphate. Neth. Milk Dairy J., 49:1-14
15. Varnam, A.H., and J.P. Sutherland. 1994. Milk and milk products - technology, chemistry and microbiology. Chapman and Hall. London.
16. Vasavada, P. C. 1993. Rapid methods and automation in dairy microbiology. J. Dairy Sci., 76:3101-3113.
17. Visser, I. J. R. and J. M. F. H. de Groote. 1984. The Malthus microbiological growth analyzer as an aid in the detection of post-pasteurization contamination of pasteurized milk. Neth. Milk Dairy J., 38:151-156.
18. Waes, G. M. and R. G. Bossuyt. 1981. A rapid method to detect postcontamination in pasteurized milk. Milchwissenschaft, 36:548-552.
19. Waes, G. M. and R. G. Bossuyt. 1982. Usefulness of the Benzalkon-crystal violet-ATP method for predicting the keeping quality of pasteurized milk. J. Food Protect., 45:928-931.
20. White, C. H. 1993. Rapid methods for estimation and prediction of shelf-life of milk and dairy products. J. Dairy Sci., 76:3126-3132.

21. White, C. H., J. R. Bishop, and D. M. Morgan. 1993. Microbiological methods for dairy products. In R.T. Marshall, ed. Standard methods for the examination of dairy products. pp. 287-308. American Public Health Association.
22. 강일수, 이진희, 이수원. 1995. 국내 살균유의 품질비교에 관한 연구. 한낙지, 17:161-166.
23. 김광수, 최석호. 1993. 액상유제품의 아미노산, 지방산, 당, 미생물수에 관한 연구. 한낙지, 15:118-127.
24. 한국식품공업협회. 1994. 4. 유가공품, 4-1 우유류. 식품공전 pp 149-153.

제 3 장 시유의 저장가능기간을 개선하기 위한 유가공장의 위생 관리

1. 서 론

이 글은 미국 펜실베니아대학교의 Barnard교수(1995)가 저술한 글을 번역하여 정리하였다. 우유의 저장성 향상에 의한 고품질 우유를 생산하기 위하여 공장에서 수행하여야 할 지침사항을 설명하고 있다.

시유의 가공공정을 개선하므로서 7.2℃에서 21일 간 저장한 후에도 신선한 풍미를 유지할 수 있도록 할 수 있다. 시유를 7.2℃에서 14일간 저장한 후에 시유 제품의 50% 이상이 대장균수가 1CFU/㎖ 미만이고 총균수가 20,000CFU/㎖ 미만이 되도록 하여야한다. 이러한 방법들은 유가공장에서 Good manufacturing Practices(GMPs)로서 사용할 수 있으며 HACCP의 수행을 위하여 응용할 수도 있다. 매일 각 충전기에서 채취한 시유를 유통기간까지 우유를 7℃에서 저장하여 세균수를 조사하여야 할 것이다. 모든 종업원이 이상적으로 가공 공정을 수행하면 100%의 모든 시료가 앞의 기준에 합격할 수 있을 것이다.

펜실베니아 대학교의 연구에 의하면 전통적인 살균방법과 충전 방법을 사용하여 우유의 저장가능기간을 7℃에서 21일 이상으로 할 수 있음을 보였다. 현재 펜실베니아주의 40개 유가공장에서 생산된 시유의 90% 이상이 7℃에서 14일간 저장한 후에 품질을 유지하고 있다. 유가공장이 지속적으로 가공공정을 개선하므로서 펜실베니아주 농무부내 우유위생과에서 지정한 12일의 유통기간을 넘어설 수 있다. 이를 위하여 펜실베니아 대학교와 유가공업계가 협동관계를 유지하고 있다.

2. 유가공장의 관리

가. 기계가동 시작 직전에서의 열수 처리와 살균

○ HTST 살균기를 비롯한 모든 기계장치로부터 충전기의 내부 완충탱크까지 열수로 살균하여야 한다. 모든 충전기의 모든 밸브를 통하여 열수를 배수시켜야 한다. 살균우유탱크, 충전기의 입구 및 충전기의 밸브와 같이 온도를 측정할 수 있는 모든 기계 부분에서 76.6℃에서 최소한 5분간 온도가 유지되어야한다. 열수의 순환과 배수동안에 열수의 온도가 82.3℃에서 최소한 10분간 유지되어야한다.

○ 열수가 다시 가열되지 않는다면 살균우유탱크에서 유입될 때의 초기 온도를 93.2℃ 까지 되도록 하여 살균우유탱크, 펌프, 파이프, 충전기 및 살균우유를 수송하는 모든 기자재의 내부 표면이 최소한 76.6℃에서 5분간 유지되어야한다. 이를 위하여 충전기의 용량과 갯수에 따라 2.4~8t의 열수가 필요하다.

○ 열수 다음에 살균제 제조회사의 지시에 따라 제조되고 21~31℃로 냉각된 살균액을 유입시킨다. 살균액 대신에 열수 또는 다른 화합물을 사용하여서는 안된다. 살균액으로 최소한 2분이상 배수하여야 하며 5~10분간 하는 것이 추천되고 있다. 염소제 살균액과 옥소제 살균액의 온도가 49℃ 이상이 되어서는 절대로 안된다.

○ 만일에 살균우유탱크를 열수로 살균할 수 없다면 살균우유탱크가 완전히 세척되었는가 확인한다. 모든 돌출부위, 입구 및 개스킷의 청결도를 확인하고 산성살균제 또는 다른 살균제로 살균한다. 살균제로 살균탱크의 내부에 분사하므로서 충분한 저장기간의 가진 우유를 생산할 수 있다.

○ 살균제 용액이 배수되도록 기다린다. 살균제 용액을 헹구어 내기 위하여 절대로 수돗물을 사용하여서는 안된다. 이러한 물은 종종 내냉성세균을 함유하고 있다, 대장균군 세균으로 오염이 안되어 있더라도 우유의 부패를 촉진시킨다.

○ 최소한도로 요구되는 살균 온도는 질병을 유발하고 부패를 일으키는 세균을 파괴한다. 73.2℃ 이상의 온도와 18초 이상의 시간으로 증가시킨다고 우유의 저장성을 증가시키지 않는다.

○ 기계을 완전하게 세척하고 열수로 살균하여야 우유의 저장성을 증대시킬 수 있다.

나. 원유의 관리

○ 수유할 때에 모든 트럭의 우유의 외양, 온도 및 냄새를 확인한다. 하차하기 전에 관능검사, 현미경검사, 세균수검사, 항균물질잔류검사 및 적정산도검사를 위하여 무균적으로 우유 시료를 채취한다. 온도가 4℃ 이상, 세균수가 100,000CFU/㎖ 이상, 항균물질잔류검사 양성, 뚜렷한 이취, 또는 적정산도가 0.20% 이상인 우유의 수유를 거부한다.

○ 원유의 부패와 누출을 최소화한다. 살균용액을 이용하여 누출된 우유를 폐수관으로 씻어내거나 회수장치를 설치하여 회수한다.

○ 목장으로부터 수유한 후 48시간 이내에 가공처리한다.

○ 우유를 수유하는 날은 매일같이 탱크 트럭의 입구, 뚜껑, 공기출구, 개스킷 및 펌프 등의 부속장치를 손으로 세척한다. 만일에 세척수의 순환에 의해 고무호스 또는 부속장치를 깨끗이 세척하지 못하면 해체하여 손으로 세척한다.

○ 원유 펌프는 최소한 매주 해체하여 세척한다. 손으로 세척한 후 조립하여 사용하기 전에 살균한다. 어떤 종류의 수유트럭 펌프는 매일 해체하여 세척한다.

○ 만일에 가동중인 기계 내부의 원유 또는 살균유의 접촉면을 수리할 필요가 있으면 고무 또는 플라스틱 장갑을 끼고 표면을 세척한다. 완전한 세척과 살균 공정이 불가능하면 기계와 우유접촉면을 배수하고 헹궈내어 살균한다.

○ 수유트럭, 원유저장탱크 및 배관을 위한 별도의 CIP 시스템을 설치한다. 그러므로서 원유에 있는 병원균이 공장 전체에 전파되는 것을 방지할 수 있다. 별도의 CIP 시스템을 설치함으로써 살균유와 유가공기계의 오염을 방지할 수 있다.

○ 원유저장탱크를 최소한 매 72시간마다 비우고 세척하고 살균한다. 오래된 원유가 들어있는 저장탱크를 새 원유로 채우지 않아야 한다.

다. 오염의 유입 및 차단

1) 종업원 시설 설치 및 수행 사항

○ 커피, 휴게실, 시료용 냉장고, 얼음제조기, 음수대, 테이블 및 안락의자와 같은 것은 별도의 공간을 마련하여 설치하여 우유로부터 격리시킨다.

○ 모든 종업원에게 옷장, 탈의공간, 신발 및 복장을 지급한다. 종업원은 유가공장 내부를 통하지 않고 탈의실을 접근할 수 있어야한다. 종업원은

공장에 도착하면 탈의실에서 개인 의상과 신발을 벗고 일정한 복장을 하여야한다. 이 목적은 거주 지역으로부터 옮겨올 수 있는 세균과 분뇨가 유가공장에 유입되는 것을 방지하기 위해서이다.

○ 운영자와 영업과 직원 등을 포함한 모든 종업원은 헤어넷트를 머리에 쓰고 안전모를 착용한다. 수염에도 적절한 덮개를 쓴다. 유가공장과 충전실에서 근무하거나 출입하는 모든 사람은 이를 준수하는 것이 매우 중요하다.

○ 유가공장과 충전실에 근무하는 사람은 보석류를 착용하지 않아야한다. 펜, 연필 및 온도계를 셔츠와 블라우스의 호주머니에 넣고 다니지 않아야 한다.

○ 모든 종업원은 자신의 근무 장소에 이탈한 후 돌아올 때에 손을 완전하게 세척하여야 한다. E-3 등급의 비누를 사용한다. 손을 일회용 종이타월, 일회용 천타월 또는 열풍건조기를 사용하여 손을 건조시킨다.

2) 살균조의 사용 및 설치

○ 4가암모늄화합물 살균제 용액(800~1,000ppm)이 들어있는 신발욕조 또는 분출수통을 가공공장 지역간 문과 통로 외부에 설치하여 종업원 및 방문객이 사용하도록 한다.

○ 매일 신발욕조를 비우고 염소제알칼리세제와 브러시를 사용하여 세척한 후 행궈내고 다시 4가암모늄화합물 용액으로 채운다. 잘 헹구지 않으면 4가암모늄용액 살균제의 역가가 감소한다.

3) 유가공장의 시설 및 기계 관리

가) 공장 바닥 관리

○ 고압펌프를 사용하여 트럭, 유가공장 바닥, 벽 또는 다른 유가공기계를 세척하지 않아야한다. 고압으로 분사된 물은 세균을 함유한 에어로솔을 생성하여 공기를 통하여 세균이 분사된다.

○ 유가공장과 충전실내에서 물의 사용을 최소화하여 바닥을 건조하게 유지하여 세균의 번식을 억제한다. 얼룩을 제거하기 위하여 살균용액을 사

용한다. 바닥의 표면을 경사지게 만들어 액체가 고이는 일이 없어야한다.

○ 어떠한 기계도 배수구 위에 설치하면 안 된다. 배수관에 쉽게 근접할 수 있도록 기계를 재배치한다. 배수구는 매일 세척한다. U자형 트랩과 함께 세척과 살균이 용이한 뚜껑을 배수구에 설치한다.

○ 매일 모든 배수구을 브러시로 닦는다. 이 브러시는 이 용도에 맞게 설계되어진 것이어야 하며 다른 용도로 사용하지 않는다.

○ 세척용 브러시를 색깔을 달리하여 표시하여 원유와 살균유가 접촉하는 기계를 위한 브러시, 바닥과 벽을 위한 브러시, 및 하수구를 위한 브러시를 각각 분리하여 사용한다.

나) 곤충, 설취류 및 조류의 방제

○ 곤충, 설취류 및 조류의 방제 프로그램을 세우고 실시한다 독자적인 프로그램을 실행하거나 상업적인 전문 방역자를 예약한다. 방제가 제대로 달성되는가를 확인한다. 살충제로 인한 오염문제가 있을 수 있으므로 방역자가 이러한 문제를 확실히 이해하도록 한다.

다) 기계 및 시설의 설치 및 관리

○ 용수, 증기, 세척제 또는 유제품 성분을 포함한 모든 원유와 살균유의 배관과 기계의 작업 공정 계통도를 만든다. 많은 경우에 작업공정계통도가 현재의 공정과 일치하지 않는다. 변화가 있을 때마다 작업공정계통도를 새로 만든다. 배관을 색으로 표시하여 원료와 제품의 종류와 수송방향을 알 수 있게 한다. 모든 종업원은 작업공정계통도가 배치된 장소를 알고 이해할 수 있어야한다.

○ 위쪽으로 열려있는 가공기계나 충전기의 상단에 있는 배관은 제거하여야한다. 이러한 파이프에 형성된 응축수가 우유와 유제품에 떨어질 수 있다. 응축수의 낙하는 부패의 중요한 원인이다.

○ 모든 가공과 충전을 위한 기계에 철제 덮개를 만들어 제품과 용기에 오염이 되지 않도록 한다. 모든 덮개은 매일 세척하고 살균한다. 덮개의 아랫면이 깨끗하고 습기가 없는가 조사한다. 습한 표면은 오염의 원인이 된다.

○ 내부 또는 외부에 있는 모든 콘베이어벨트를 매주 세척한다. 상단의 콘베이어벨트 밑에 낙수 방지 장치를 하고 살균제가 들어있는 윤활유를 사용한다.

○ 유가공장과 충전실에서 분리된 별도의 용기와 케이스를 세척하는 방을 마련한다. 이 세척실에서는 용기와 케이스를 400~600 ppm의 사차암모늄 염 화합물 용액으로 세척과 살균을 할 수 있다. 모든 제품 케이스는 환수되자마자 세척하고 헹구고 살균하고 건조하여 사용한다.

라) 충전실 및 제품의 관리

○ 충전실은 기압을 형성케 하여 외부의 공기가 안으로 들어오지 못하도록 한다. 이로 인하여 외부의 먼지 및 미생물의 진입을 감소시킬 수 있다.

○ 가공 종료 후 여분의 용기와 뚜껑이 들어있는 상자는 밀봉한다. 이렇게 하여 먼지 및 오물 등의 오염물질의 유입을 방지할 수 있다.

○ 제품과 용기를 전환할 대마다 남은 제품은 다시 살균하고 같은 날 사용한다. 모든 기계의 주축과 덮개는 최소한 매 60분마다 그리고 제품이 전환될 때 마다 살균용액으로 분무한다.

○ 반출되었던 제품은 다시 냉장 창고에 입고시키지 않는다. 반송된 제품은 별도의 장소에 보관하던가 목장에 공급하여 돼지 사료로 사용할 수 있다.

마) 기계의 세척 및 살균

○ 공장 용수와 냉매를 조사하여 병원균과 부패균으로 오염되었는가 조사한다.

○ 살균된 우유에 관련된 기계를 위한 별도의 CIP를 설치하여 원유로부터의 오염을 방지한다. 뱃트의 경우 CIP로 헹구기 전에 뚜껑을 열고 미리 헹구는 것이 도움이 된다. 헹구어낸 모든 세척수은 방출한다.

○ 매일 CIP를 새 용수와 세제로 바꾼다. 세척액이 뿌옇게 되던가 오물로

더러워졌을 때에는 언제든지 바꾸고 최소한 10회전 후에는 바꾼다. 세척액의 염소 농도가 오물에 의한 오염 정도를 나타내는 지표이다.

○ 공장에서 사용하는 세척과 살균을 위한 가동 조건(세척액의 농도 및 양, 제품, 시간 및 온도)을 기록하라. 세제를 공급하는 회사의 기술 협조를 빈아 작성한다. 잘 제시된 점검 명단은 종업원에게 큰 도움이 된다. 세제와 살균제의 권장된 양을 사용하여 적절한 농도와 pH이어야 한다. 세제와 살균제의 초기 농도를 매일 점검하고 기록한다.

○ 원유를 위한 기계와 파이프의 경우 54~65℃의 알칼리 세척액으로 시작한다. 살균기, 충전기 및 살균유를 위한 기계 또는 파이프를 위한 알칼리세척액의 온도는 57~79℃이어야 한다.

○ CIP 세척액의 유속은 최소 1.5m/sec이어야한다. HTST의 열교환판을 잘 닦으려면 우유 유속의 1.5배이어야 한다.

○ 사일로 탱크의 교반기, 문, 개스킷, 시료채취구, 창 및 밸브 등의 튀어나와 있는 부문은 손으로 세척할 필요가 있다. 다른 기계의 밸브와 개스킷도 손으로 세척한다. HTST 살균기에서도 펌프, 입관(stand pipe), 교반기, 밸런스 탱크, 막힌 파이프(압력완충장치) 및 역류파이프 등은 손으로 매일 닦아야 한다.

○ 다른 제품을 밀어넣어 현재의 제품을 기계로부터 방출시키기 보다는 압축공기로 제품을 기계로부터 불어내야한다. 압축공기는 여과막을 통과시켜 세균을 제거한다.

○ 모든 밸브는 점검하여 청결상태를 확인하여야 한다. 밸브가 3방향 수동식 밸브일 경우 매일 점검할 필요도 있다.

○ 균질기에는 세척액과 살균액을 통과시키지 않는다. 세척액을 위한 측관(bypass pipe)를 설치하여야 한다.

○ 여과망과 계기가 청결한가 최소한 매주 점검한다. 여과망은 매일 멸균한다.

○ 부품을 설치할 때에, 충전기를 조절할 때에 또는 우유접촉면을 수리할 때에는 플라스틱 장갑 또는 고무 장갑을 착용한다. 장갑을 낀 채로 적절

한 농도의 살균용액에 손을 1분간 담가 살균한다.

○ 충전기의 완전한 세척과 살균은 매우 어렵다. 거의 모든 기계의 경우 해체하여 손으로 세척하여야 한다. 외래 물질로 오염이 안되도록 한다.

○ 충전기의 구동체인, 튀기기방지벽, 체인보호대, 가열기, 구동주축, defoamer tube, 호스, 충전밸브, 충전보호대, 충전컵 및 피스톤 등은 손으로 세척하여야 하며 점검을 자주하여야한다.

○ 부품이 깨끗하고 건조되었을 때에 이물이 부착되어있는가 점검한다. 매주 비정기적으로 재조립하고 살균하기 전에 점검한다.

○ 열수로 세척하기 전에 전체 기계가 다 조립되었는가 확인한다. 충전기의 망은 열수로 살균하기 직전에 살균액에서 꺼내서 장치한다. 열수는 모든 밸브를 통해 방출한다(한두개의 밸브만을 사용하여서는 안된다.)

○ 모든 기계와 공정에서 세척하기 어려운 부분을 확인한다. 가능한한 자주 기계를 해체하여 이 부문이 청결한가 점검한다.

○ 기계관리기록부를 작성한다. (개스킷 교환, HTST 열교환판 개봉, 충전기 개스킷 점검, 압축공기 작동 밸브 점검) 종업원에게 기록할 책임을 지정한다. 모든 종업원으로 하여금 책임의 중요성을 인지하도록 한다. 4분기마다 개스킷을 교환하고 압축공기밸브를 분해한다. 열교환기판은 최소한 2회 이상 분해한다.

3. 참고문헌

Barnard, S. E. 1995. Extending the keeping quality of fluid milk to 21 days. Dairy Food Environmenal Sanitation, 15:12-16.

제 4 장 시유 제조와 HACCP

1. 서 론

시유의 안전성을 확보하기 위하여 시행되고 있는 HACCP는 또한 시유의 저장성과 품질을 향상시킨다. 시유의 2차오염은 병원균 뿐 만 아니라 그람음성 내냉성 세균도 유발하므로 안전성과 저장성은 불가분의 관계에 있다. 물론 병원성 세균의 2차오염에 의한 유입은 소비자에게 직접적인 위해를 유발하지만 냉장되고 있는 시유에 의한 식중독에 관련된 병원성세균이 그람음성세균이기 때문에 병원성 세균에 의해 오염될 확율보다는 그람음성세균에 의해 오염될 확율이 크다. 따라서 시유 및 공정중에 채취한 시료의 2차오염 검사는 시유 제품의 안전성을 확보할 수 있는 방법이며 HACCP의 일부로서 도입이 가능하다.

2. HACCP의 개관

HACCP(Hazard Analysis Critical Control Point) 체계는 식품의 안전을 확보하기 위한 과학적이고 효율적이며 조직적인 식품제조관리체계이다. HACCP는 식중독의 발생 후 대처하는 체계가 아니라 식중독 발생 전에 미리 예방할 수 있고 위해 요인이 없는 무 결점의 제품을 생산할 수 있는 생산관리체계이다. 이 체계를 적절히 응용하여 식품의 안전성에 문제가 될 수 있는 식품 제조 첫 단계부터 통제한다. HACCP는 안전한 식품을 생산하기 위해 논리적이고 체계적인 과학을 이용해서 만들었기 때문에 이론과 방법적인 면에서 뒤받침되었으며 위해 위험이 있는 공정에 적절한 기술을 집중적으로 적용할 수 있다. HACCP는 최종 제품에 대한 검사의 필요성을 감소시켰다. HACCP는 식품에서 발견된 위해 요인의 원인을 정확하게 밝혀낼 수 있다. 식품에 문제가 발견되었을 때에 제품 검사에 의해서는 책임소재를 정확하게 밝힐 수는 어렵지만 각 제조단계를 모니터하는 HACCP에서는 문제 발생 장소를 정확하게 파악하고 그 원인이 무엇인가를 알 수 있다.

3. HACCP 체계의 실행

시유의 제조에 있어 효율적인 HACCP를 실행하기 위하여 다음 단계들을

적용하여야 한다. 첫째 단계로서 선결 프로그램을 파악하는 것이다. 선결 프로그램으로서 회사에서 현재 실행하고 있는 위생체계를 우선 파악하여야 하며 HACCP에 적용할 수 있는지 여부를 결정하여 기존의 운영체제를 그대로 운영할 수 있으며 필요에 따라 변형하여 운영할 수 있다. 법적으로 강제성을 띤 기존의 식품위생법령, 축산물위생처리법, 등 관련 규정들을 제정하여 국가가 요구하고 있으므로 이 선결요구조건들을 고려하여 HACCP 체계를 수립할 필요가 있다. 또한 회사의 식품제조 환경이 선결조건이 되어 HACCP의 운영체제에 영향을 미친다.

둘째 단계로서 HACCP의 실행에 있어 경영진의 참여 결정과 HACCP 팀의 결성이 필요하다. 최고경영자는 HACCP를 효율적으로 수행하여 제품의 안전을 확보하고자하는 의지를 보이고 참가하여야 한다. 경영진의 참여 약속을 얻은 후에 HACCP 팀에 생산부의 모든 부서가 참여하여 결성되어야한다.

셋째 단계로서 시유에 관한 설명서를 작성한다. 이 설명에는 제품의 분배 방법, 예정된 사용용도, 소비자 계층이 기술되어야한다. 이는 유제품의 위해 요인과 관련된 모든 문제점을 파악하기 위하여 필요하다.

넷째 단계로서 시유 생산을 위한 제조공정도를 작성하며 현장 검증을 한다. 생산의 전체 단계들을 모두 기술하는 간단한 제조공정도가 필요하다. 이 제조공정도가 정확하고 완전한가를 확인하기 위하여 공장을 실제로 조사한다.

다섯째 단계에서부터 열한번째 단계까지는 HACCP의 일곱 가지 원리를 수행하는 것이다. 이 원리들에는 위해 분석, 중요관리점의 결정, 중요관리점의 관리 기준 설정, 중요관리점에 대한 모니터링 방법 결정, 관리 기준 이탈시 개선 조치 방법 결정, 기록 유지 및 문서화 방법 확립 및 HACCP의 검증이다.

열두번째 단계로서 HACCP 체계를 평가하고 개정하는 것이다. 현재의 중요관리점의 타당성을 평가하고 모든 위해요인이 적용되고 있는가를 조사한다.

4. HACCP의 원리

HACCP의 일곱 가지 원리를 적용하여 안전한 유제품을 생산한다.

가. 위해 분석 (hazard analysis) : 시유의 생산에 관련하여 젖소의 사양, 착유, 원료, 가공, 수송, 판매, 조리 및 소비에 이르기 까지 관련

된 위해를 분석한다.

나. 중요관리점 (critical control point)의 결정 : 공정중에서 확인된 위해를 관리하기 위한 중요관리점을 결정한다.

다. 관리 기준 (critical limit)의 설정 : 각 확인된 중요관리점에서의 예방수단을 위한 관리 기준을 결정한다.

라. 모니터링 (monitering) : 중요관리점에 대한 모니터링 방법을 확립한다. 공정을 조절하고 유지하기위하여 수행하는 모니터링 결과의 사용 방법을 결정한다.

마. 개선조치 (corrective action)의 결정 : 모니터링의 결과가 중요관리점에서의 관리기준에서 이탈할 때에 취할 개선 조치을 확립한다.

바. 기록 (recording) : 효율적인 HACCP 계획의 기록 유지와 문서화 체계를 확립한다.

사. 검증 (verification) : HACCP 체계가 올바르게 작동하는지 검증하는 방법을 확립한다.

5. 위해 요인

유제품과 관련된 위해 요인에는 미생물학적, 화학적 및 물리적 위해 요인을 들 수 있다. 다음은 NACMCF에 의해 열거된 위해 요인은 다음과 같다.

표 1. HAACP 체계에서의 미생물학적, 화학적 및 물리적 위해 요인

미생물학적 위해 요인		
중상이 심한 질병	잠재적 전염성이 강하고 중상이 완만한 질병	제한적 전염성이 있고 중상이 완만한 질병
Brucella	*Salmonella* spp.	*Bacillus cereus*
Clostridium botulinum	Enterotoxigenic *E.coli*	*Campylobacter jejuni*과
Listeria monocytogenes	Enteroinvasive *E.coli*	관련 종
Salmonella typhi,	*E.coli* 0157:H7	*Clostridium perfringens*
*paratyphi*와	*Shigella* spp.	*Staphylococcus aureus*
dublin	Viruses	*Aeromonas*
Shigella dysenteriae	*Cryptospordium* protozoa	*Yersinia enterocolitica*
Hepatitis A와 E		Parasites

화학적 위해 요인	
자연독소	• Mycotoxin - 급성 : Ochratoxin, Trichothene, Zearalenone, Aflatoxin - 만성 : Aflatoxin, Sterigmatocystin, Patulin • 기타 독소 : Thyro-toxicosis
중금속	구리, 카드뮴, 수은
항생제 잔류물	Beta-lactams, Sulfonamides, Tetracyclines, 기타
소독제 잔류물	염소제, 지방산, 요오드제, 기타
살충제	
식품첨가제	
비고의성 오염 화합물	윤활유, 보일러 첨가제, 기타

물리적 위해 요인
금속, 유리, 곤충 및 해충의 부분, 먼지, 나무조각, 종업원, 원료, 기타

6. HACCP의 정의

HACCP는 시유의 생산에서 시유의 안전을 보장하기위한 수단으로 사용하는 체계적인 방법이다. 수확으로부터 소비에 이르기까지 존재하는 위해의 위험을을 평가하는 HACCP 개념에 7가지의 원리가 기초를 이루고 있다. HACCP 원리를 표준화하고 통일된 훈련 내용을 위하여 다음 정의들이 개발되었다.

- 중요 관리점의 결정 절차표 (CCP descision tree)
- 지속적 모니터링 (continuous monitoring)
- 관리 (control)
- 관리점 (control point)
- 개선 조치 (corrective action)
- 기준 (criterion)
- 중요관리점 (critical control point)
- 관리 기준 (critical limit)
- HACCP 계획 (HACCP plan)
- HACCP 팀
- HACCP 계획의 재확인 (HACCP plan revalidation)

• HACCP 계획의 확인 (HACCP plan validation)
• 위해 (hazard)
• 모니터링 (monitoring)
• 예방 수단 (preventive measure)
• 무작위 검사 (random check)
• 위험율 (risk)
• 강도 (severity)
• 목표 수준 (terget level)

7. 선결 프로그램

시유의 HACCP 체계를 수립하기 전에 HACCP 체계를 보완하는 선결 프로그램을 조사하여 문서화하고 실행할 필요가 있다. 또한 선결 프로그램을 효율적으로 모니터하고 조절할 필요가 있다. 이러한 선결 프로그램들에는 유가공장에서 현재 시행되는 제조공정 및 위생 및 품질관리체계, 우유 및 시유에 관련된 식품위생법, 축산물위생처리법, 및 기타 법규, 및 유가공장의 생산 환경 조건이 포함될 수 있다. 선결 프로그램은 안전한 시유를 생산하기 위하여 필요한 환경조건을 참작하여 설정된 유가공장의 공정조건에 영향을 주는 보편적인 규정 또는 단계로서 정의할 수 있다.

유가공장에서 HACCP를 실행함에 있어 첫 번째 단계는 기존의 생산 및 품질관리 프로그램을 조사하고 기존의 법규에서 규정되어 있는 선결조건이 충족되는지 여부를 평가하고 모든 필요한 관리 방법이 제대로 수행되고 있는가를 검증하여야 한다. 또한 이 프로그램들에 관한 서류, 책임자 및 모니터링 기록과 같은 서류가 갖추어져 있는지를 확인하여야한다. 선결 프로그램의 효율성을 모니터하고 필요한 기록을 유지한다. 현재의 선결 프로그램을 평가하고 새로운 선결 프로그램을 개발함에 있어 지침이 필요하다.

선결 프로그램의 필요성을 아무리 강조해도 지나침이 없다고 할 수 있다. 선결 프로그램은 HACCP 체계의 필수적인 기본조건이므로 적절하고 효율적이어야만 한다. 만일에 선결 프로그램이 적절하게 관리되지 않았을 때에는 HACCP 체계에서 추가적인 중요관리점이 설정되고 모니터되고 관리될 필요가 생긴다. 종합적으로 말하자면 효율적인 선결 프로그램은 HACCP 체계를 단순하게 만들며 균형있게 유지시키며 생산제품의 안전성을 확보시킨다.

선결 프로그램에 다음과 같은 일곱분야가 있다.

가. 시설 및 설비
1) 외부 시설 및 주변 환경
2) 건물의 설계 및 건축
3) 위생 설비
4) 수질 관리 프로그램

나. 입고 및 저장
1) 원료, 부재료, 및 포장재의 입고
2) 저장

다. 기계의 성능 및 유지 프로그램
1) 일반적 기계의 설계
2) 기계의 설치 방법
3) 모니터링 기계의 유지 방법

라. 종업원 훈련 프로그램
1) 제조 관리 방법에 관한 교육
2) 위생적 습관 관리
3) 공장의 출입 통제 및 방법

마. 위생 관리
1) 위생 프로그램
2) 설치류 방지 프로그램

바. 리콜 프로그램 (recall program)

8. HACCP의 실행 단계

가. HACCP 팀의 조직 (제1단계)

HACCP 팀의 인원을 선발하기 전에 HACCP 계획의 설립에 대한 모든 경영진의 완전한 참여 약속을 받는 것은 매우 중요하다. 확실한 약속이 없이는 HACCP 계획을 수행하는 것은 매우 어렵다. HACCP 계획을 개발하는 첫 단계는 HACCP 팀을 조직하는 것이다. 대상 인원은 시유와 가공에 있어

숙련되어 있으며 전문적 지식을 가지고 있어야한다. 팀은 각계각층으로부터 구성되어야 하며 유가공 공정에 익숙해 있고 일일 공정에 직접적으로 연관되어 있는 모든 종업원을 포함하여야 한다.

회사 경영진은 HACCP체계에 의한 제품의 안전성 보장이 주는 궁극적인 혜택과 HACCP 설립에 필요한 소요 재원에 대해 보고되어야한다. HACCP에 직접적인 관련이 없는 관리자와 직원에게 도 HACCP의 필요성과 직원의 역할에 대해서 보고한다. HACCP 팀 일원에게는 HACCP의 원리, 이론적이고 체계적이고 완전한 위해 분석의 절차, HACCP체계의 잇점, 및 시유 안전성에 대한 팀의 역할에 대하여 교육과 훈련을 한다.

HACCP 계획은 다음과 같은 사항이 포함되어야 한다. HACCP 계획 시간표를 작성하여야하며 HACCP에 대해 폭 넓은 지식이 있고 HACCP 계획의 지휘에 경험이 있는 위원장을 선임한다. 조사 대상 공정과 HACCP 계획의 적용 범위를 HACCP 팀 인원에게 설명하여야 한다. 만일에 HACCP 팀이 비교적 경험이 없으면 절차를 단순화하여 범위를 제한하는 것이 바람직하다. (예: 단일 유제품의 병원균을 고려한다.) 추가적인 기록이나 도움이 필요한가를 결정하기 위한 관련 정보를 조사한다. 시유 가공에 지식이 있는 전문가들이 참여하여 위해 분석과 HACCP 계획이 완전한가를 입증하는 것이 권장된다.

나. 시유에 대한 제품설명서 작성 (제2단계)

해당 유가공 시설에서 생산되고 있는 각 제품에 대한 별도의 HACCP를 개발한다. HACCP 팀은 우선 시유에 관한 모든 것을 설명하는 제품설명서를 작성한다. 제품설명서에는 시유의 성분, 구조, 가공공정, 포장체계, 저장, 요구되는 저장가능기간, 사용방법 같은 항목을 설명한다. 수송 방법으로서 시유가 냉동, 냉장 또는 상온에서 운송될 수 있는가에 관한 정보와 함께 기술되어야 한다. 유통 경로에서 또는 소비자에 의해 제품이 오용될 가능성에 주의하여야 하며 이에 관련된 문제가 위해 문제인가를 결정하여야한다.

다. 시유의 사용용도 확인 (제3단계)

시유의 예정된 사용 용도는 최종 사용자 또는 소비자들에 의한 정상적 사용에 근거하여 결정된다. 예정된 소비자 또는 사용자는 일반 대중, 일부 계층, 다른 식품, 또는 비식품제품이 될 수도 있다.

라. 제조공정도의 작성 (제4단계) 및 검증 (제5단계)

제조공정도의 목적은 제품의 생산에 관련된 단계들을 간단 명료하게 설명하는 것이다. 제조공정도의 범위는 공장의 직접적인 관리하에 있는 공정의 모든 단계를 포함한다. 제조공정는 사각형내에 각 공정을 기술하여 연결하여 작성한다. 제조공정도는 한정된 정보를 간단 명료하게 작성하여야하며 복잡한 공학적 공정도와는 다르다. 이미 수행되고 있는 선결 프로그램을 참고한다. 제조에 사용되는 원료, 부재료, 및 포장재의 미생물학적, 화학적 및 물리적 조사 자료, 원료의 첨가를 포함한 모든 공정 단계의 순서, 공정의 시간과 온도, 제품의 재가공을 위한 순환, 제품의 저장 및 수송 조건을 고려하여 제조공정도를 개발한다.

HACCP 팀은 제조공정도의 정확성과 완전성을 입증하기 위해 공정을 검증하여야 한다. 제조공정도를 적절히 검증하는 방법은 제조공정도를 공장 현장에 가지고 나가 각 단계를 실제로 걸어보는 것이다. 제조공정도는 필요시 변경되어야 한다.

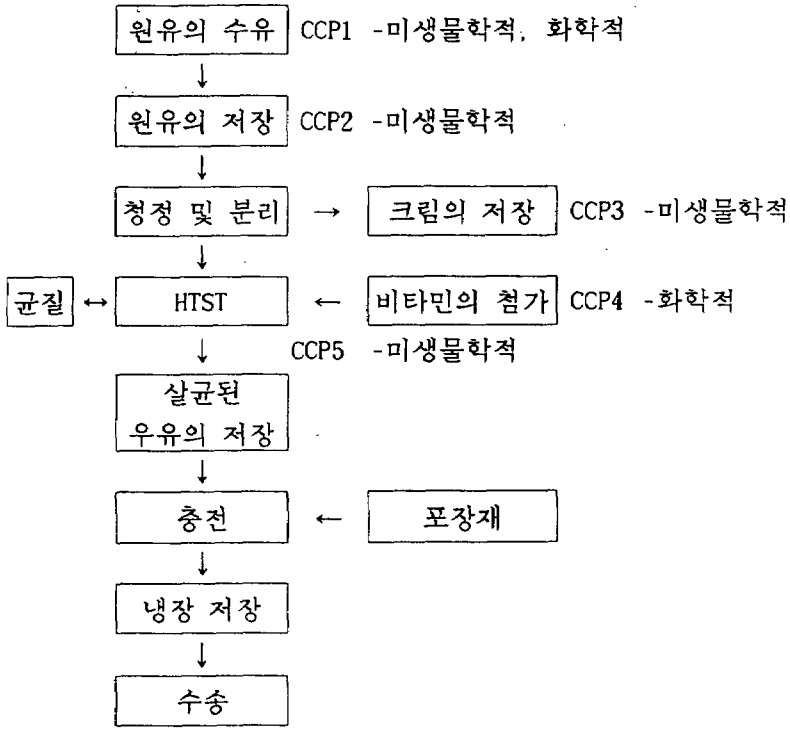


그림 1. 시유의 제조공정도의 예

마. 위해 분석(hazard analysis) (제6단계, 원리 1)

위해 요인은 시유를 사람이 소비함에 있어 건강에 불안전성을 유발하는 요인이 되는 모든 미생물학적, 화학적 및 물리적 성질들이다. 첫째로 HACCP 팀은 위해 분석을 실시하고 잠재적으로 중요한 위해를 일으킬 수 있는 공정 단계를 찾아낸다. 위해를 예방 또는 제거하고 허용될 수 있는 수준으로 감소시키는 것이 안전한 시유의 생산을 위하여 필수적이다.

둘째로 HACCP 팀은 각 위해에 있어 취할 수 있는 예방 수단을 고려하여야만 한다. 예방 수단은 알려진 위해 요인을 관리하기 위하여 사용할 수 있는 물리적, 화학적 또는 기타 인자이다. 위해 분석과 연계하여 예방 수단을 확인하므로서 목적을 달성할 수 있다.

위해 분석하는 동안에 위해의 강도와 위험율을 고려하여 각 위해의 잠재적 중요성을 평가한다. 위험율의 추정치는 일반적으로 생산자의 경험, 전염병학적 데이터, 및 기술문헌으로부터의 정보를 종합하여 결정한다. 안전성 문제는 품질 문제와는 분별되어야 한다. 위해라는 용어는 식품의 안전에 한정되어 사용한다.

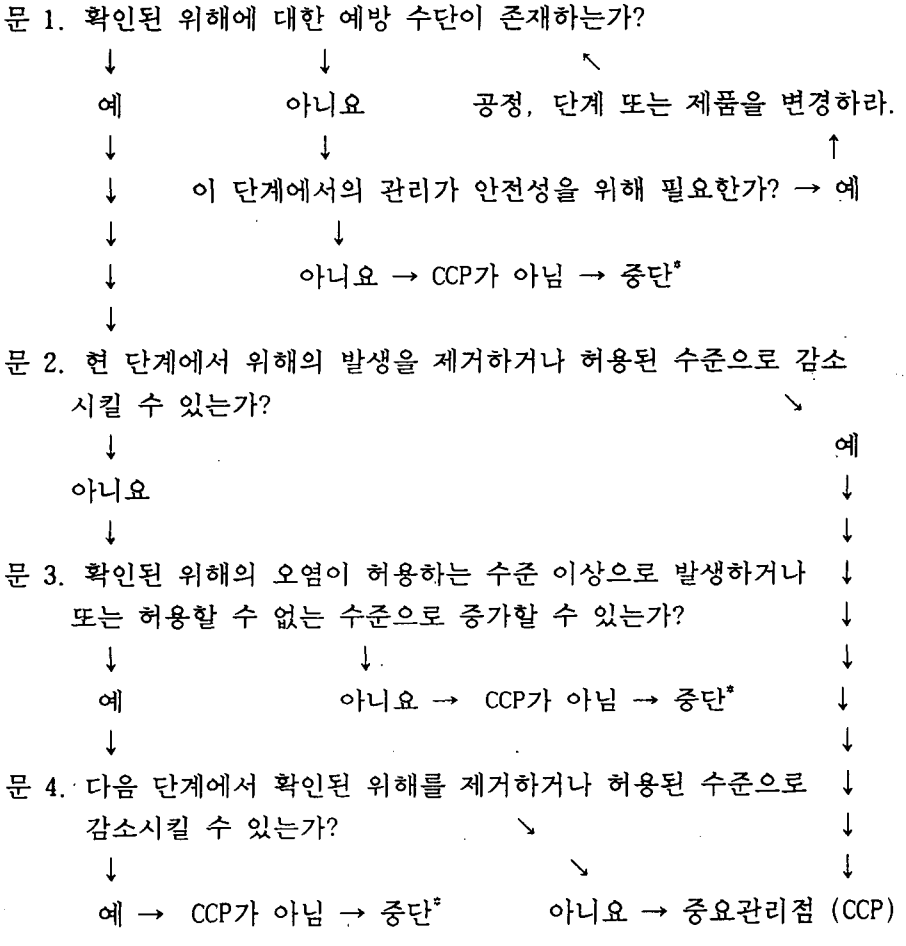
위해 분석의 완료에 따라 제조공정도의 각 단계와 관련된 위해와 위해의 예방 수단을 함께 열거되어야한다. 예를 들면 원유의 존재 가능한 병원균을 잠재적 위해로 확인하여야한다. 그리고 살균을 위해와 예방 수단과 함께 기술한다. 위해를 품질관리와 법적 규제와 혼돈하지 않아야한다. 중요관리점만이 HACCP 체계의 일부이다.

표 2. 중요관리점이 법적규제사항과 품질 관리와 다른 점

	중요관리점(CCP)	법적 규제	품질 관리
관심사	제품의 안전성	안전과 관련이 없는 법적 규제	회사에 수행하는 품질 관리
HACCP 계획에 포함여부	예	아니요	아니요
기록	필요함	대체로 요구됨	권장됨
예	공정의 온도와 시간	중량, labeling	저장기간, 관능검사, 중량율

바. 중요관리점 (critical control point) 결정(제7단계, 원리 2)

중요관리점(CCP)는 생산 단계 중에서 관리가 가능하고 시유의 안전성에 관련된 위해가 예방되고, 제거되고 또는 허용수준으로 감소시킬수 있는 단계를 지칭한다.



* 계속해서 해당 공정의 다음 단계가 CCP 인가를 결정한다.

그림 2. 중요관리점 결정 절차 도표(CCP decision tree)

미생물학적 관점에서 CCP에 있어 두가지 중요 부분이 있다. 첫째로 도입된 원료는 안전성을 고려한 회사의 명세서에 부합하여야한다. 둘째로 온도의 조절은 유가공장에서 위해를 방지할 수 있는 중요한 관리 방법이다. 온도를 조절함에 있어 품질과 안전을 혼돈하지 않아야 한다. 따라서 CCP에 원료, 온도, 및 화학적 위해를 포함할 수 있다. CCP의 예에는 수유된 원유의 온도, 원유의 항생물질, 원유와 크림의 저장온도, 원유의 금속검출기가 있다.

위해를 분석하는 동안에 개발된 정보는 HACCP 팀으로 하여금 공정중에서 CCP인 단계를 확인하는 것을 가능하게한다. 중요관리점의 결정 절차 도표(CCP decision tree)를 사용하여 각 CCP를 용이하게 확인할 수 있다. 논리적으로 예상할 수 있는 모든 위해를 고려해야 한다. 특정 단계가 특정 위해에 대한 CCP인가를 결정하기 위하여 중요관리점의 결정 절차 도표(CCP decision tree)를 사용함으로써 도움을 얻을 수 있다.

같은 종류의 제품을 생산하는 다른 유가공장들 간에 위해의 위험율이 다르고 CCP가 될 수 있는 단계가 다르다. 이는 각 공장의 설비상태, 기계, 재료의 선택 (원유 포함) 및 사용하는 공정이 다르기 때문이다.

사. 관리 기준(critical limits) 설정 (제8단계, 원리 3)

중요관리점이 결정되면 각 중요관리점에 관련된 예방 수단을 위한 관리 기준이 결정되어 중요관리점의 관리로부터의 이탈 여부를 결정하게 된다. 관리 기준을 이탈하는 것은 중요관리점이 관리되지 못하고 있어 직접적으로 위해의 위험이 있거나 위해가 발생할 수 있고 안전을 보장할 수 없는 상태에서 제조되고 있다는 증거이다.

관리 기준은 예방 수단이 충족하여야만 하는 기준이다. 그러므로 안전의 한계영역으로서 역할을 하는 관리 기준과 CCP는 직접적인 관계가 있다. 정부기관의 규제, 표준, 및 권장안, 문헌조사, 실험결과 및 전문가를 참고하여 관리기준을 결정할 수 있다. 온도, 시간, 수분활성도, pH, 적정산도, 항생물질 잔류량, 미생물수와 같은 예방에 관련된 측정치에 대한 관리 기준이 설정될 수 있다.

아. 모니터링(monitoring)과 검사(inspection) 방법의 확립 (제9단계, 원리 4)

CCP가 제대로 관리되고 있고 정확한 기록을 작성하는가를 평가하기 위

한 일련의 계획된 관찰과 측정을 모니터링이다. 모니터링은 HACCP 체계의 상태를 추적하므로 안전한 시유의 제조를 위하여 필수적이다. CCP에서 관리 기준을 벗어나던가 또는 관리가 안되는가를 결정하기 위하여 모니터링이 사용되며 개선 조치가 뒤따라야만 한다. HACCP 계획을 검증하기 위하여 모니터링을 기록하여 문서로 작성한다.

중요한 결함에 의해 잠재적으로 심각한 결과를 일으킬 수 있기 때문에 모니터링 절차는 효율적이어야 한다. 이상적으로는 100% 수준에서 모니터링이 수행되어야한다. 예를 들면 살균 온도와 시간과 같은 화학적 또는 물리적인 방법들은 계속적인 모니터링이 가능하다.

각 CCP에서의 모니터링을 위한 임무의 배정은 중요하다. 각 임무 배정은 CCP와 예방 수단의 개수 및 모니터링의 복잡성에 의해 결정된다. CCP를 모니터할 사람은 예방 수단을 모니터할 때에 사용할 기술을 훈련받아야 하며 모니터링의 목적과 중요성을 충분히 이해하여야 한다. 모니터링과 결과보고에 편견이 없어야하며 정확히 보고하여야한다. 즉각적인 개선조처가 이루어 질수 있도록 관리기준에 벗어난 시유 또는 유가공 공정을 신속히 보고하여야 한다.

만일에 관리기준에 대한 연속적인 모니터가 이루어질 수 없으면 모니터 간격을 설정하여 위해가 관리될 수 있도록 할 필요가 있다. 이를 위하여 통계학적으로 설계된 시료 채취와 측정 체계를 사용할 필요가 있다. 통계학적으로 설계된 공정 관리 방법을 사용할 때에 관리 기준을 벗어나지 않아야한다는 것을 인식하는 것이 중요하다.

CCP에 대한 모니터링 절차는 공정에 시간적으로 연계되어있어 장시간 동안 분석할 수 없기 때문에 신속하게 수행할 필요가 있다. 미생물학적 검사는 실험에 소요되는 시간 때문에 CCP를 모니터함에 있어 효율적이지 못하다. 물리적 및 화학적 측정이 신속히 수행할 수 있고 공정상에서 미생물의 관리 상태를 가리킬 수 있기 때문에 더 바람직하다. 모니터링의 예에는 시각적 관찰, 온도, 시간, pH, 및 수분함량이 있다. 모니터링 프로그램을 확립하기 전에 정확한 CCP를 조사하고 CCP가 관리되고 있는지 여부를 측정할 수 있는 모니터링 방법을 설계한다.

모니터링의 문서화를 위한 기록 절차를 결정한다. 위해의 위험률 형태와 강도에 따라 모니터링의 빈도를 결정한다. (예: 살균 온도 vs. 원유저장 온도) 모니터링 책임자와 작업장의 위치와 개선 조치를 결정한다.

모니터링 업무는 다음과 같이 수행한다. 과거 유래를 모르는 원료 및 부재료에 대해 lot 검사를 실시한다. 판매자가 검사를 받았거나 제품에 관한 기록이 제출된 경우, 원료의 생산된 유래를 알고 있을 때에는 예비

로 인증하고 현장검사를 실시한다. 온도, 시간, 습도, pH, 염소 농도등과 같은 중요한 인자는 연속적으로 기록한다. 미생물학적, 화학적 및 물리적 검사를 시각적 검사로 실시할 수 있다. 중요관리점은 직접적인 모니터링 방법으로 실시하며 직접적인 모니터링의 효율성을 평가하기 위하여 간접적인 모니터링을 실시한다. (예: 기계 표면의 미생물 오염 여부 검사)

관리기준으로부터 벗어남으로서 발생하는 문제가 직접적인 위해의 증거가 되거나 위해가 발생할 수 있는 증거가 될 때 개선조치 결정을 내려야만 한다. 또한 시유가 안전을 보장하는 조건하에서 생산되지 않을 때와 CCP가 관리되지 않을 때도 개선 조치를 내려야 한다.

HACCP 체계의 설계에서 모니터링 체계의 개발은 중요한 특성이다. CCP와 모니터링 프로그램을 설계할 때에 판단력과 신중함이 가장 중요하다.

자. 개선 조치(corrective action)의 확립 (제10단계, 원리 5)

개선 조치는 CCP가 관리 기준으로부터 벗어날 때에 취하게 되는 절차이다. 개선 조치에 의해 관리 기준을 벗어남에 따라 일어날 수 있는 실질적 및 잠재적 위해를 제거할 수 있다. 다른 시유간에 CCP에서 차이가 있고 다양성이 있기 때문에 각 CCP에 대한 별도의 개선 조치가 개발되어야만 한다. 개발된 개선 조치로 인해 CCP가 관리됨을 보여야만 한다. 시유, 공정 및 HACCP 계획에 대한 철저한 지식을 갖춘 사람만이 개선 조치에 대한 책임을 맡을 수 있다. 개선 조치 절차는 HACCP 계획에 문서화되어 있어야한다.

관리 기준에서 벗어난 공정에 의해 생산된 시유의 안전한 처리법이 개선 조치에 포함된다. 개선 조치에 의해 관리 기준의 이탈 원인이 교정되어 CCP가 관리되어야한다. 개선 조치가 결정되지 않았을 때에는 시유의 생산을 중단시켜야한다. 안전에서 이탈에 의해 일어나는 효과를 알기 어려울 경우에 시유의 검사와 처리 방법은 적절한 책임자의 동의를 받아야 한다.

차. 기록 유지 및 문서화 방법의 확립 (제11단계, 원리 6)

HACCP에서 사용하는 기록은 (1) HACCP 팀 인원과 배정된 책임 항목, (2) 시유의 설명서와 예정된 사용용도, (3) CCP를 표시한 전체 유가공 제조공정도, (4) 각 CCP와 관련된 위해 요인과 예방 수단, (5) 관리 기준, (6) 모니터링 체계, (7) 관리 기준에 벗어날 때에 취할 개선 조치, (8)

모든 CCP에서의 기록, (9) HACCP 체계를 검증하기 위한 절차가 있다.

카. 검증 방법 확립 (제12단계, 원리 7)

검증은 현재의 HACCP 체계가 HACCP 계획에 부합하는가 여부를 확인하거나 HACCP 계획의 변경과 재확인이 필요한가를 결정하기 위하여 모니터링외에 추가로 실행하는 검증 방법, 절차, 및 검사로 구성되어있다. 검증에 관련된 4 종류의 절차가 있다. 첫째로, CCP에서의 관리 기준이 만족스러운가를 검증하는 과학적이고 기술적인 절차이다. 이 절차는 관리 기준이 위해를 관리하기에 적절한가를 입증하기 위하여 관리기준을 검증하는 것이다. 이 절차는 복잡하므로 집중적인 연구와 분석을 할 수 있는 여러 분야의 전문가의 철저한 참여가 요구된다. 둘째로, 공장의 HACCP 계획이 효율적으로 가동되고 있음을 확인하는 검증 절차이다. 최종 제품의 검사에 의존하기 보다는 유가공장의 HACCP 계획을 자주 검토하고, HACCP 계획이 올바르게 집행되고 있는가를 검증하는 방법이다. 또한 유가공장은 CCP 기록을 검토하고 공정이 관리 기준을 벗어났을 경우에 적절한 위험율을 결정을 하고 제품의 처리가 잘 되었는가를 검증한다. 셋째로, HACCP 계획의 정확성을 보장하기 위하여 수행하는 검사로서 다른 품질 검사 또는 검증과는 별도로 독립적으로 수행하는 문서화된 정규적으로 수행하는 재확인 검사이다. 넷째로, 공장의 HACCP 체계에 관련된 기관의 규제와 조항에 관련된 검증이다.

검증 절차은 다음과 같다. 적절한 검증 조사 일정을 설정하고 HACCP 계획과 CCP 기록을 검토하고 관리기준이 벗어났을 때에 제품의 적절한 처리를 확인한다. 또한 CCP의 작동여부를 관찰하기 위한 현장 검사를 실시한다. 시료를 무작위로 채취하여 분석을 한다. 관리기준이 위해를 관리하기에 적절한지 검증하기 위한 검토를 한다. HACCP 계획에 부합하는 기록과 HACCP 계획에 벗어났을 때에 취해진 개선 조치를 인증하기 위한 검증의 결과를 검토한다. 제조공정도와 CCP의 현장 검토를 포함한 HACCP 계획을 재확인하며 HACCP 계획의 변경에 관하여 검토한다.

검증을 위한 검사는 다음과 같이 실시한다. 선정된 CCP가 관리되고 있는가를 확인하기위하여 검사계획발표 없이 통상적으로 검사을 실시한다. 시유에 관련된 새로운 정보 때문에 특정 상품에 대한 집중적인 조사가 필요하다고 결정될 때와 생산된 시유가 식중독 질병의 매개체로서 관련졌을 때 실시한다. 또한 자문 차원에서 필요가 있을 때에 또는 설정되어있는 관리기준에 벗어났을 때에 실시한다. HACCP 계획에 변경이 있을 때에 변

경된 HACCP 계획이 올바르게 시행되고 있는가를 검증할 때에 실시한다.

타. HACCP 체계의 평가와 개정 (제13단계)

CCP의 확인과 평가는 최소한 일년에 한번씩의 검토가 있어야 하며 이외에 평가가 필요한 상황은 새로운 병원균과 같은 잠재적인 위해가 발견되고 HACCP 체계에 변화가 있을 때, 새로운 제품 개발이 있을 때, 생산공정의 변화가 있을 때에, 규제 검사와 변화에 대해 대응할 때, 위해의 위험율이 증가하거나 HACCP 프로그램을 강화하려고 할 때이다.

평가의 결과를 문서화하며 이에는 제조공정도, 가공중 위해 범위, 관리 기준을 포함한 CCP와 구입 원료의 명세서, 모든 물질들에 대한 완전한 연구개발과 품질보증 명세서이다. 제조공정도의 정확도와 중요관리점을 평가하며 연구개발부, 품질관리부, 및 외부의 전문가가 참가한 HACCP 팀을 형성하여 평가를 수행한다.

9. 참고문헌

1. Pierson M.D. and D.A. Corlett, Jr. 1992. HACCP - Principles and applications. AVI. N.Y.

2. Stevenson, K.E. and D.T. Bernard. 1995. HACCP - Establishing hazard analysis critical control point program - A workshop manual. The Food Processors Institute. N.Y.

3. 김창남. 1997. 식품위생관리와 hazard analysis critical control point system. Proceedings 춘계 제45회 유가공 심포지움, 1-49.

4. 김현욱. 1999. 유가공학 -기초공정·유제품제조-. 선진문화사.

5. 한국유가공품질보증회. 1997. HACCP - Hazard analysis critical control point for milk and milk products.

제 5 장 유방염의 예방과 관리

1. 머릿글

낙농가에게 경제적인 비중이 큰 소의 질병 중에서 유방염은 가장 중요한 질병으로 부각되고 있다. 일부 병원균에 의한 유방염의 경우는 감염에 대한 효과적인 관리가 이루어질 수 있으나 병원균에 따라서는 거의 별 진전이 나타나지 않는 유방염도 있고 유방염은 완전히 제거하는 것은 불가능한 것으로 알려져 있다.

유방염 원인균 중에서 staphylococci와 streptococci는 대부분이 유방염의 원인균인 것으로 알려져 있다. 유방염의 원인균이 우유 내로 오염되는 경로를 정확히 파악하고 적절히 차단하는 것은 유방염 확산을 예방하는 방법중의 하나로서 그 의의가 클 뿐 아니라 유질을 향상시킨다는 관점에서도 그 중요성이 크다 할 것이다. 특히 유방염에 대한 적절한 관리를 함에 있어서는 그 원인균의 정확한 검색이 요구되며 균주의 동정과 type 결정은 적절한 치료를 위한 기본자료가 된다 필자는 농특과제로서 *Staphylococcus aureus*와 streptococci의 우유로 오염경로에 관한 연구를 수행하게 되었으며 전염성 및 환경형 유방염 원인이 되는 균주의 국내 목장의 사육환경과 우유중의 분포현황을 검사하고 분리된 균주의 특성을 구명하는 연구를 수행하였다. 연구결과 얻은 주요정보를 기초로 하여 낙농목장의 수준에서 유방염 원인균을 적절히 관리함에 있어서 필요로 하는 정보를 선발하여 제시함과 아울러 유방염관리의 기초가 되는 주요정보를 종합하여 낙농목장을 관리하는 전문관리자의 수준에서 참고가 되는 지식을 종합하여 여기에 제시하는 바이다.

2. 연구결과의 현장 적용

가. 유방염 원인균의 분포 현황 위험요소 분석결과

적용대상: 목장 관리책임자
가축방역 관계 공무원
유가공장 원유검사 담당자 및 품질관리요원

Table 1. 대상 목장별 *Staphylococcus aureus* 및 streptococci의 분리를 위한 시료 채취 내역

목 장 명 (기호)	우유 시료	체 표 면					환 경
		비경	측면	항문	질	유두	
중대(CA)	31	9	3	7	7	3	16
펠렉스(PLX)	16	6	3	5	5	3	18
웅 수(ws)	14	8	6	7	7	6	18
주 림(JL)	3	5	4	5	4	4	9
세공주(SGJ)	16	3	2	3	3	2	9
영오(YO)	18	7	3	8	4	4	18
성원(SW)	21	9	3	8	4	3	17
건천(GC)	15	6	3	6	6	3	18
오현경(OHK)	22	5	3	4	3	3	18
초야(CY)	15	6	4	6	5	4	18
계	171	64	34	61	48	35	159
		242					

시료채취는 1996년 12월부터 1997년 7월 중에 실시되었고, 우유 시료 171점, 체표면 시료 242점 및 환경 시료 159점를 합하여 총 572점이 채취되었다. 이를 냉동상태에서 보존하면서 미생물 분리 동정 및 기타의 실험에 사용하였다.

1) 주요 유방염 원인균으로 알려지고 있는 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* 및 *Streptococcus dysagalactiae*가 분리 동정되었다. 균종 수준으로 동정한 결과는 PCR을 이용한 방법으로 확인할 수 있었다. 목장에 따라서 분리되는 빈도를 조사한 결과 총 시료 중에서 최저 7% 수준에서 최고 30% 수준까지 유방염 원인균이 검출되며 목장의 위생관리상태와 환경요인에 따라 차이를 나타내었다.

2) 유우 체표면에 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* 및 *Streptococcus dysagalactiae* 등 유방염 원인균이 존재하고 있음이 확인되었다. 유우 신체 부위 중에서도 비경과 항

문 부위의 오염빈도가 가장 높아 40% 수준에서 검출되었고 질과 유두 부위도 오염된 상태로 있다는 인식이 필요하다. 원인균의 균종에 의한 약간의 차이는 나타나고 있었다.

3) 환경요인 중의 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* 및 *Streptococcus dysagalactiae*의 오염도를 측정한 결과 사료, 깔짚 및 목장 내의 사용되는 기구, 음용수, 관리자의 신체 부위 및 축사내의 공기 및 축사건물 바닥과 벽체 등에서 22%에서 80%수준에 이르기까지 오염되어 있음을 알 수 있었다. 따라서 이들 원인균의 확산을 방지하기 위하여는 관리자의 의식과 목장 내의 어느 부위에서 든지 유방염 원인균이 존재 가능한 것으로 인식의 전환이 요구된다. 목장에서 사육되는 가축에서도 오염되어 있어서 이들이 매개체로서의 역할이 가능하다는 사실에 대하여 깊이 인식하고 있어야 한다.

위의 결과를 종합하면 환경형 유방염의 관리를 위하여 특별한 주의와 관심을 가져야할 시기에 와있다는 점을 인식해야하며 coagulase positive *Staphylococcus aureus* 중에는 enterotoxin 생산 가능한 균주가 많아 이들이 원유에 오염되어 증식될 때 생산되는 독소에 의하여 식중독 사고발생의 원인이 된다는 사실에 유의하여 유우의 건강관리 차원에서의 중요성뿐만 아니라 우유 소비자에게도 건강위해요소가 되고 있다는 사실을 감안하여 특별한 주의를 목장의 우유생산 관리자가 하지 않으면 안될 것이다.

나. 유방염 원인균의 동정과 genotyping의 결과 활용

대상: 가축방역 및 위생관리 지도(가축위생시험소 담당공무원)
연구담당 공무원 및 연구자
목장 위생관리자

일반적으로 사람이나 동물에 질병을 야기시키는 병원성 세균은 그 genome type이 매우 다양하여 여러 가지 방법으로 병원균에 대한 동정 및 typing이 시도되어 왔다.

유방염 원인균인 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* 및 *Streptococcus dysagalactiae*의 경우에도 그 분리균주를 genome 특성에 따라 분류하고 균주에 대한 동정을 정확히 하는 것은 효과적인 질병의 관리와 치료를 위하여 필요한 과제이다. Genomic DNA의 특성분석과 이에 근거한 균주의 동정 및 균주 간의 근연성

분석(dendrogram)과 genotyping을 pulsed field gel electrophresis에 의하여 수행되었다. Genotyping 결과로부터 원유 중의 유방염 원인균의 오염경로를 추적하였다.

1) PFGE 분석을 위한 genomic DNA 절편 생성을 위한 제한효소로 *Sma*I이 가장 적합한 것으로 분석되었고, 전기영동 조건으로 최적조건은 pulse time은 5-40sec, 전기영동 시간은 22시간이 가장 적합한 것으로 확인되었다. *Staph. aureus*의 genomic DNA는 2.0Mb에서 3.0Mb의 크기를 가지며 genome 구조는 매우 다양한 형태로 이루어 진 것으로 확인되었으며, *Streptococcus* spp.의 genome의 크기도 2.0-3.0Mb이었다. 절편크기 분포에 따른 typing 결과 *Staph. aureus, Str. uberis* 및 *Str. dysagalactiae*는 각각 19, 7 및 11개의 genotype으로 분류 가능하였다.

2) Genotype의 목장환경 중의 분포와 우유 중의 분포를 고려하여 우유 중에 오염경로 추적이 가능하였다. 오염경로 중에서 오염원으로 확인된 시료를 정확히 파악하여 이에 대한 위생적인 관리수준을 높이는 것이 확산방지를 위한 주요 대책으로 활용되어야 한다.

3) *Staphylococcus aureus*의 type 별 분포상태 및 그 source를 참작하여 우유 생산환경에서 우유로 오염경로를 추정하였다. a Type의 경우 유우의 축사바닥과 체표면인 비경부위와 유두부위에 동일 type이 존재해 있을 뿐 아니라 착유기내에서도 분리되고 원유 중에서도 분리되는 것을 근거로 하여 환경요인으로부터 오염가능성을 보여주고 있다. b Type의 분포상황을 보면 목장에서 사육되는 개, 사료 및 축사바닥에서 동일 균주가 발견되며 질 부위, 사료 및 원유에서 동일 genotype의 균주가 나타나고 있다. c Type은 체표면 즉 직장, 질 및 비경 등과 원유에서 나타나고 있으며 d type은 목장에서 사육되는 개에서 분리되었으며 유우의 체표면의 비경와 유두 및 사료 등에서 존재하는 동일 type이 원유에도 존재하고 있음을 제시하고 있다.

4) *Streptococcus uberis*의 경우 a type은 동일한 목장의 사료, 직장 및 질에서 분리되고 있고 소의 체표면과 사료에서 분포되고 있다. 유두와 착유기 내부에서 동일한 type이 발견되어 오염경로의 추정이 가능하였다.
b Type의 분포를 보면 그 오염경로의 추적이 더욱 분명하게 되며 질과 직장에서 분리된 시료에서 분리된 동일 부류의 균주가 동일 목장의 원유에

서 분리되어 소의 신체 일부에 존재하던 병원균이 우유에까지 오염될 수 있음을 보여 주었다. d Type의 경우 직장과 질에서 채취된 시료에 존재하는 균주가 유두와 착유기 내에서 채취된 시료 중에 존재한다는 시험결과는 병원균의 오염경로에 대한 적절한 관리의 중요성을 제시해주고 있다.

5) 모든 *Str. dysagalactiae* 균주는 pulsed field gel electrophoresis에 의하여 typing이 가능하였다. a Type은 동일한 목장의 축사의 바닥과 원유에서 분리되고 있어 환경으로부터 오염된 오염원 확인의 근거가 되고있다(Cassandra 와 Condemine, 1990). b Type의 분포를 보면 그 오염경로의 추적이 더욱 분명하게 되며 취급자의 손에서 분리된 동일부류의 균주가 원유 중에서 분리되었고 c Type의 경우 비경에서 채취된 시료에 존재하는 균주가 원유 시료 중에 존재한다는 시험결과는 병원균의 오염경로에 대한 적절한 관리의 중요성을 제시해주고 있다.

6) 구체적인 활용결과

가) 본 연구 결과을 활용하기 위하여 연구자 중 김창수 가축위생시험소 남부지소장에게 이 data를 제시하고 이 후의 관리에 참고하고 지도사업에도 활용토록 조치되었음

나) 본 연구결과를 일반연구자들이 활용토록 하기 위하여 한국축산학회지에 투고하여 (논문번호 99-74) 연구에 활용토록 조치되었음

다. 분리균주에 대한 항생제 감수성 및 소독제 감수성 시험결과에 대한 활용

대상: 가축방역 및 위생관리 지도자(각도 가축위생시험소 및 지소 담당공무원) 및 개업 수의사
연구담당 공무원 및 연구자
목장 위생관리자

유방염의 원인균인 *Staph. aureus* 37 균주와 streptococci 49 균주에 대해 항생제와 소독제에 대한 감수성 실험을 실시하여 다음 결과를 얻었다.

1) 균주에 따른 항생제 감수성의 차이가 크게 나타났다. 따라서 균주의 항생제 감수성에 대한 특이성이 있으므로 개별 균주에 대한 감수성을 확

인한 후에 투약하는 것이 가장 바람직한 방법으로 확인되었다.

2) *Staph. aureus*는 ampicillin-sulbactam과 vancomycin에 대하여 가장 높은 감수성을 보였고 trimethoprim-sulfamethoxazole과 imipenem 순서로 높은 감수성을 보였다.

3) *Str. dysagalactiae*은 trimethoprim-sulfamethoxazole, imipenem, ampicillin-sulbactam 순서로 강한 감수성을 보였다.

4) *Str. agalactiae*는 amoxicillin-clavulanic acid와 ampicillin-sulbactam 및 imipenem 등에 강한 감수성을 보였다.

5) *Str. uberis*의 경우 amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, imipenem 및 trimethoprim-sulfamethoxazole 순서로 높은 감수성을 보였다. 모든 균주가 항생제에 대한 감수성 면에 있어서 여러 약제에 대한 다중 저항성을 나타내었다.

6) *Staph. aureus*의 소독제에 대한 감수성은 4급암모늄제인 Germex에 대하여 가장 높은 감수성을 보였고, *Str. dysagalactiae*는 요오드제인 Betadin에 높은 감수성을 보였으며 또한 *Str. agalactiae*의 경우에도 Betadin이 높은 감수성을 보였고, *Str. uberis*는 FarmfluidS에 대하여 높은 감수성을 나타내었다.

7) Chloramphenicol에 대한 최소억제농도를 Bioscreen 장치로 측정한 결과 *Staph. aureus* 30㎍/㎖, *Str. agalactiea*와 *Str. uberis*는 50㎍/㎖ 이며 *Str. dysagalactiea*는 50㎍/㎖에도 억제가 되지 않았다.

8) 목장별 항생제 감수성 성향

항생제에 대한 감수성의 성향 분석결과를 종합하여 유방염 원인균주로 각 목장에서 분리 동정과 genotype 까지 분류된 type 명칭과 감수성이 높은 항생제 명칭을 선별하여 표로 제시한 것이 Table 2 이다. 임상형 유방염과 준임상형의 유방염 어떠한 종류의 경우를 막론하고 목장에서 분리동정 된 유방염 원인균주가 나타내는 감수성 표를 근거로 하여 각 목장별로 강한 감수성을 나타내는 항생제의 명칭을 표에 제시하였다.

대상목장 9개 목장에서 분리된 병원균주에게 강력하게 억제효과를 나

타내는 항생제는 목장에 따라 효력을 나타내는 항생제가 4개로부터 8개까지로 나타났다.

Table 2. Genotypes and recommended effective antibiotics for strains isolated from dairy farms

Farms	Genotypes(PFGE)			Antibiotics * (Recommended)
	Staph. aureus	*Str. uberis*	*Str. dysagalactiae*	
중앙			a, d	Am, SAM, C, IPM, S, Va
초야	c, d, f, h	b, c		Am, SAM, C, IPM, S
영오	a, h	a, d, c	a, d	Am, SAM, C, IPM, S
패랙스	s		a, b	Am, SAM, C, Va
세공주	a, d, f, i, p		c, f	Am, SAM, C, S, Va
건천	g			Am, SAM, C, S
웅수	b, f, n			Am, SAM, C, IPM, S, Va
오현경		d, g		Am, SAM, C, IPM, S, Va
성원			a	Am, SAM, C, IPM, S, Va, Te, CIP

* amoxicillin-clavulanic acid(Am), ampicillin sulbactam(SAM), chloramphenicol(C), Imipenem(IPM), trimethoprim-sulfamethoxazole(S), vancomycin(Va), tetracycline(Te), ciprofloxacin(CIP)

중앙목장의 경우 amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, chloramphenicol, imipenem, trimethoprim-sulfamethoxazole 및 vancomycin 등이 강력한 생장억제 및 살균효과를 나타내며 따라서 이 범위의 항생제 중에서 가격면이나 현실적으로 구입가능한 약제를 이용할 수 있을 것이다. 성원목장의 경우는 8개의 항생제 즉 amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, chloramphenicol, imipenem, trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin, tetracycline 및 ciprofloxacin가 유효한 것으로 확인된바 있다. 9개 목장에서 분리된 모든 균주에게 감수성을 가지는 항생제는 3종으로서 amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam 및 chloramphenicol

이었다.

9). *Streptococcus uberis*에서 genotyping을 통한 항생제 및 소독제 감수성 추적 예

현장에서 활용할수 있는 주요 기술정보로서 목장별 분리되는 주요 유방염 원인균에 대하여 genotype 별 항생제와 소독제에 대한 감수성 data base를 보관하고 있는 경우에는 genotyping에 따라 적절한 항생제 및 소독제선택을 할수 있는 예로 Table 3의 자료를 활용할수 있다.

Table 3. Genotypes and antibiotic susceptibility in *Streptococcus uberis*

	Drug susceptibilities*	
Genotype(PFGE)	Susceptible antibiotics	Disinfectant
a	C, CIP, IPM, S	L, F
c	AmC, SAM, IPM, S	L, F, B
d	AmC, SAM, IPM,	F, G, B
e	AmC, AM, C, CIP, IPM, S, Va	L, F, G, B
f	AmC, SAM, C, CM, IPM, S, Va	L,F, G, B
g	AmC, SAM, C, CIP, IPM, Te, S, Va	L, F, G, B

* amoxicillin-clavulanic acid (Am), ampicillin-sulbactam(SAM), chloramphenicol(C), imipenem(IPM), trimethoprim-sulfamethoxazole(S), vancomycin(Va), tetracycline(Te), ciprofloxacin(CIP),

L: Long life(1:250) F: Farmfluid(1:500) G: Germex(1:1000) B: Betadin(1:10)

위의 표에서 PFGE 시험 data를 *Str. uberis*에 국한된 자료를 sample로 제시하였다. 그러나 가축보건위생연구소 분소가 각도에 3-4개 설치되어 있는 현실이고 또 상당수준의 시험장비가 구비되어 있는 현실을 감안한다면 권역 내의 유방염 원인균 typing을 본 절에서 제시한바대로 간략화된 기법인 RAPD방법에 근거하여 genotyping을 하여 기초자료를 확보해두면 농가에서 유방염에 대한 치료 또는 예방을 위한 소독제 선택에 대하여 매우 과학적인 지도활동을 할수 있을것으로 사료된다. 목장 자체에서 긴급하게 투약해야하는 상황에서 혹은 수의사에 의한 치료가 진행되는 경우에도 감수성 pattern을 알고 활용하면 좋은 결과를 기대할 수 있을 것이다.

라. 유방염 원인균의 genotyping 신속 간편화를 위한 RAPD의 적용가능성

대상: 1) 가축방역 및 위생관리 지도자(각 도 가축위생시험소 및 지소 담당공무원) 및 개업 수의사
2) 연구담당 공무원 및 연구자

유방염의 원인균인 *Staphylococcus aureus*와 *Streptococcus* spp.의 genotyping 방법 중에서 PFGE 방법을 대체할 수 있는 신속 정확한 대체 방법으로 genotype의 판별능력과 적정 primer의 선택 및 재현성을 검토한 결과

1) RAPD 방법을 적용 할 수 있는 것으로 확인되었다.

2) 선정된 절차는 Genomic DNA purification kit를 이용하여 DNA를 분리하고 본 연구에서 고안된 KIK 1 primer(TGCACTGATG)를 사용하여 PCR을 수행하며, RAPD에 있어서의 cycler 조건은 최초 denaturation 93℃에서 3분에서 하고 denaturation 93℃에서 1분, annealing 37℃에서 1분 및 extension 72℃에서 1분의 1 cycle을 35회 반복하였고 마지막 extension은 72℃에 4분간 수행한다. 전기영동은 1.5% agarose gel을 이용하여 100V에서 2시간 수행하는 방법으로서 genotyping과 균주동정에 유효하게 활용될 수 있다.

3. 유방염에 관한 기본이해

가. 원인균

유방염은 외상이나 생리적인 장애 등 미생물이 관여되지 않고 일어날 수도 있으나 통상 하나 혹은 그 이상의 미생물이 유방에 감염된 결과로 일어나는 질병이다. 세균이 주 원인 미생물이지만 곰팡이, mycoplasma, algae 혹은 다세포의 기생충에 의하여 발생하는 경우도 있다..

유방염의 95% 이상은 포도상 구균(*Staphylococcus aureus*)와 연쇄상구균(*Streptococcus* spp.)에 의하여 발생한다. *Streptococcus* spp.중에는 *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae* 및 *Str. uberis* 등이 관여되는 것으로 알려졌다. 그 이외의 유방염 원인균으로 중요한 세균 중에는 대장균군(coliforms), *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycoplasma bovis* 및

Corynebacteria 등이 있다.

나. 분류

1) 전염성 유방염 원인균 (Contageous mastitis bacteria)

전염성 유방염 원인균으로 분류되는 것은 *Staphylococcus aureus*와 *Str. agalactiae, Mycoplasma* spp. 및 *Corynebacterium bovis* 등이 포함된다. 이들 세균은 유선조직에서 증식하며 이환된 유우에서 건강한 유우로 전염되는 특징을 가지며 체표, 비강 및 구강등에 생존하고 있다가 감염을 일으키고 때로는 장시간 동안 준임상형 유방염을 일으킨다. 따라서 이 세균은 우유내에 존재하게 되며 주로 착유시 다른 젖소로 확산되게 된다. 전염성 유방염의 원인균은 주로 *Staph. aureus*와 *Str. agalactiae* 이다.

가) *Staphylococcus aureus*

모든 국가에서 일어나는 준임상형 유방염의 주 원인균이 되고 있으며 임상형 유방염에서도 자주 분리되고 있다. 젖소의 감염된 유선조직과 유두관 및 감염된 유두 병변부위 등이 감염원이 되고 있고 착유과정에서 착유자의 손, 유방닦는 수건등을 통하여 이 세균은 건강한 유구가 감염된 유구로부터 전염된다. 유방조직 이외의 감염원으로는 질과 송과선이 있으나 이 감염원은 감염의 병원성으로 볼 때 중요하지 않다. *Staphylococcus aureus*에 의한 유방염은 착유시 전염을 방지하고 도태방법과 항생제 치료방법을 이용하여 완전히 제거할 수 있었다는 보고가 있다.

*Staphylococcus aureus*는 급성으로 나타나는 경우가 매우 드물고 통상 오랜 기간동안 지속되는 만성형으로 나타난다. 젖소의 연령이 늙은소나 전에 유방염 병력이 있는 경우에는 임상형의 경우에 항생제 치료를 하더라도 치유 되지 않는 경우가 있으며 착유중이나 건유중에 준임상형인 경우에는 그 치유 효과가 높은 것으로 확인되었다.

나) *Str. agalactiae*

Str. agalactiae 유방염은 그 감염원과 전염경로에 있어서 *Staph. aureus* 감염의 경우와 유사하다. 이 경우에도 유방이외의 감염원은 중요하지 않고 위생적인 관리와 항생제 치료를 하면 쉽게 완치할 수 있는 형의 유방염을 일으킨다. 염증이 확실히 제거된 상태에서 유방이외의 감염

원에 의하여 재오염된 경우도 간혹 나타난 경우가 있는 것으로 보고되어 있다. 급성의 임상형 증상을 보이거나 준 임상형으로 오래 지속되는 경우도 있으나 일반적으로 감염의 지속기간은 *Staph. aureus* 유방염의 경우보다 짧은데 그 이유는 유방 내 주입항생제를 사용하면 빨리 완치되기 때문이다.

2) 환경형 유방염 원인균(Environmental mastitis bacteria)

Str. uberis, Str. dysagalactiae. Str. equinus(*Str. bovis*), *Enterococci. Echerichia coli, Klebsiella* spp 및 *Enterobacteri* spp. 등이 환경형 세균으로 분류된다. 이들 환경형 세균은 토양, 사료 및 분뇨 등에 존재한다. 따라서 이들 세균은 젖소의 환경에서 제거할 수 없으므로 유두 끝에 오염물이 접촉되지 않도록 할 것이며 이를 최소화시키기 위해서 축사소독 등 위생적 축사 관리가 예방을 위한 최선책 일 것이다. 환경형 유방염 원인균 중에서 가장 그 발생 빈도가 높은 것은 *Str. uberis* 인 것으로 알려져 있다.

근래에 이루어진 여러 조사 연구결과를 보면 전염성 유방염 원인균은 현저하게 감소되었으나 크게 문제를 야기하는 것은 환경형 원인균에 의한 임상형 혹은 준임상형 유방염인 것으로 알려지고 있다. 가장 주의해야할 환경형 유방염 원인균은 *Str. uberis*와 *Str. dysagalactiae*이며 이들을 중심으로 특징과 동정 및 병원성에 관하여 살펴보면 다음과 같다.

가) *Str. uberis*

Str. uberis 유방염은 임상형 유방염의 14%에서 검출되는 것으로 보고되었으며 이 병원균은 송과선, 생식기, 직장, 표피, 혀 및 복부에서도 분리된다. 젖소에 사용하는 깔짚에서도 높은 수까지 증식이 가능하다. *Str. uberis*의 유방조직 이외에서 생존하고 증식이 가능한 능력은 *Str. agalactiae*와 비교할 때 감염의 병원성에서 현저한 차이를 보이는 근거가 된다. *Str. uberis*에 의한 임상형 유방염은 건유기에 있는 유우의 새로운 감염을 일으키는 공통적인 원인균으로 알려져 있다. *Str. uberis*에 의한 임상형 유방염은 급성일 경우도 있고 드물게는 심급성인 경우도 있으며 완치되는 율은 *Str. agalactiae, Str. dysagalactiae*에 의한 유방염의 경우보다 떨어지고 *Staph. aureus*의 경우보다는 치유율이 높다.

나) *Str. dysagalactiae*

*Str. dysagalactiae*의 전염은 주로 착유과정에서 착유위생처리가 잘 지켜지는 상태에서 일어난다. 감염은 건유기의 젖소나 송아지 상태에서도 일어나므로 이는 착유 과정과는 무관함을 나타낸다. 왜 *Str. dysagalactiae*에 의한 유방염발생이 *Str. agalactiae*의 경우보다 착유와는 무관하게 발생하는지는 의문점이 남아있으나 이 세균이 유방 이외의 부위에서 광범하게 나타나기 때문이라고 생각된다. 경우에 따라서는 곤충에서도 자주 분리된다는 이유도 제기되고 있다. *Str. dysagalactiae* 유방염의 근치가 가능한지는 의문점이 남아있으나 새로이 발생한 *Str. dysagalactiae* 유방염은 위생상태를 철저히 한 상태에서 치료함으로 치료가 가능하다는 주장이 있다.

4. 유방염의 분류

가. 임상형 유방염

유방이 붓고 열이 나며 통증 및 유방의 기능장애를 일으키고 유즙은 강한 산성을 나타내며 유즙의 상태가 누렇거나 혈액상태와 같은 이상 상태를 보이는 경우도 있으며 화농이 심한 경우에는 고름이 섞여 나오는 경우도 있다. 병적인 증상의 정도에 따라 급성, 만성 및 괴저성 유방염으로 구분된다.

1) 급성 유방염

원발성 감염에 의하여 나타나는 경우도 있고 만성 유방염이 진행과정에서 급성화 하는 경우도 있다. 분만 때에 자주 발생하며 유두 및 유방에 손상이 있을 때 발생한다. 증상이 돌발적으로 발생하고 유즙이 누렇게 변화하거나 비유량이 감소하고 우유에 삼출액이 포함된다. 대표적인 원인균은 포도상구균 (*Staphylococcus aureus*)이며 이 세균은 유두의 표피주위에 생존하며 착유자의 손이나 착유기를 통하여 유두관으로 침입한다. 고열 등의 전신증상을 나타내며 유방의 표피가 멍든 것같이 푸른색으로 보이고 냉감을 나타내며 혈액이 우유와 혼합된 상태로 분비된다.

2) 만성 유방염

급성 유방염이 오래 지속되면 만성 유방염으로 될 수 있고 만성 유방염의 경과중에 급성화할 수 있으므로 명확히 구분되지는 않으나 만성 유

방염은 유선동의 경화를 특징적인 증상으로 하며 전 착유시 젖이 물과 같이 변화하고 탈락 조직편과 젖의 응고된 덩어리가 착유전에 나타난다. 원인균으로 가장 자주 확인된 세균은 *Str. agalactiae*이며 유방안에 딱딱한 덩어리가 생긴다.

3) 괴저성 유방염

병의 경과가 급격하며 유방이 종창하며 체온이 상승한다. 1-2일간 자가치료 하는 사이에 증상이 악화되며 독혈증 탈수증 등 위급한 전신증상이 나타나는 경우도 있다. 원인균으로 자주 나타나는 것은 대장균에 기인되는 경우가 많다. 대장균은 변에 존재하므로 착유기를 통한 감염이 많으며 전 비유기간중에 발생하나 분만 후에 발생이 많고 유방이 붓고 열이 난다.

나. 준임상형 유방염

유방염에 감염되어 있으나 육안적으로 확인할 수 없는 상태를 말하며 유즙을 CMT 방법이나 유방염 원인균의 세균배양법등 실험실 진단에 의해서만 판정할 수 있는 유방염이다. 준임상형 유방염은 치료하지 않은채 방치하면 임상형으로 돌변할 가능성이 높으며 평소에도 유량 감소 등 경제적인 손실을 가져오게 한다. 임상형 유방염보다 그 발생율이 15-40배 높으며 우리나라의 경우 전체 유우의 30% 정도 감염된 것으로 추산하고 있다. 감염 유우의 유량 감소율은 10% 수준에 이르며 임상형 유방염으로 진전될 수 있다.

5. 유방염의 발생요인

유방염의 발생 요인은 젖소 자체에 있는 내적 요인과 외부 환경 및 착유 위생관리 등의 외적요인으로 대별할 수 있다.

가. 내적요인

1) 유전적요인

유전적으로 감수성이 높거나, 유두의 형태, 유두의 부착위치 및 유두괄약근의 허약 상태 등 유방염에 감염될 가능성이 높은 개체가 있다.

2) 호르몬의 불균형

발정홀몬(estrogen)이 필요 이상으로 분비되거나 황체호르몬(progestrone)이 너무 적을 경우 자궁이나 유선조직에서 모세혈관의 투과성을 증가시켜 유방감염을 용이하게 한다.

3) 질병

젖소가 부제병, 번식장애, 유열 및 하리 등 각종 질병에 감염되면 호르몬 균형이 깨어지고 저항력이 떨어져서 유방염에 잘 감염될 수 있다.

나. 외적요인

1) 유방 관리

불결한 유방세척수 및 세척수건의 사용, 착유자 손의 위생상태 불량, 착유 후 다량의 잔유 및 착유 전후의 부적절한 침지 소독 등 부적절한 유방 관리가 원인이 된다.

2) 착유기의 사용 방법

착유기의 장착 및 제거 잘못, 라이나의 교체 부적합, 불완전한 착유기 소독 및 불규칙한 진공압 등 부적절한 착유 방법에 기인되는 경우이다.

3) 환경 관리

운동장, 고온과 과습, 밀집사육 및 소독 등 부적합한 환경관리가 유방염 발생의 외적요인으로 작용할 수 있다.

4) 사료 관리

농후사료 과다 급여로 인한 사료 불균형, 사료의 급변과 변질 및 비타민과 무기물질의 부족 및 불균형 등에 기인되는 경우이다.

5) 스트레스

수송 및 환경에 의해 젖소가 스트레스를 받으면 부신피질 호르몬의 균형이 깨어져 염증유발 물질이 유선에 작용하여 유방 감염이 쉬워진다.

6) 외상

유두가 밟히거나 상처를 입게 되면 유방염이 발생하기 쉽다.

6. 유방 감염의 단계

유방 내 감염의 생성에 있어서 전제되어야 할 사항

1) 유두말단에 병원성 미생물의 오염
2) 유두관을 통과하여 병원균의 침투
3) 유선의 유선포와 유선포관에 병원균의 정착

우군에서 유방 감염이 치유(제거)되기 위하여 요구되는 사항

1) 유방의 방어기구가 병원균을 제거(자연치유)
2) 비유기간 중 혹은 건유기에 치료가 성공적인 경우
3) 감염된 동물을 축군에서 도태

유방염 퇴치 과정은 위의 하나 혹은 그 이상의 단계에 작용하는 것이다. 위의 단계는 분명하게 연관되어 있지 않은 독립적인 것이 아니며 유선에 세균이 정착하는데 영향을 미치는 조치 혹은 치료의 성공은 축군이 병원균에 노출되는 단계에도 자동적으로 영향을 미치게 된다.

가. 병원성 미생물에 대한 노출

유두에 병원균의 오염으로 인하여 유방 감염이 일어나며 유방염으로 진행될 수 있다는 사실에 대한 실험적인 증명이 되어진 바 있다. 유두와 접촉하게 되는 미생물의 양과 접촉 빈도와 유방내의 감염 가능성간에는 직접적인 연관성이 있는 것으로 확인되었다.

1) 유두와 접촉하는 병원성 미생물의 양에 영향을 미치는 요인들은 새롭게 발생하는 유방염 감염율에 영향을 미친다.
2) 유두 병변부위에 staphylococci 혹은 streptococci의 균락 생성이 되면 유방염으로 진전되는 빈도가 높아진다.
3) 착유 기간 중의 위생적인 처치법은 매우 효과적이며 이는 병원균의 유두 오염을 감소시키기 때문이다.
4) 효과적으로 퇴치하기 위한 조치를 취하던가 혹은 도태함으로서 축군에 감염율을 감소시킨다. 왜냐하면 병원균을 배출시키는 유구의 비율이 감소되었기 때문이다.
5) 인공적인 유두에 대한 감염 시험에서의 시험오염액의 병원균 농도와 유방염 생성율은 연관성이 매우 높다는 것이 증명되었다. 그러나 유두에 접촉되는 미생물의 수가 다수임에도 유방 감염율은 낮은 수준을 유지할

수 있으며 이는 미생물의 침입능력과 숙주의 방어기구의 효율성등에 영향을 받기 때문이다.

착유 과정에서 유두 부위에 병원균이 노출되는 것을 통제하기 위하여 여러 가지 위생적이 조치가 취해질 수 있다.

1) 감염된 동물을 건강한 동물에서 분리시킨다.
2) 소독제를 첨가한 물로 유두를 세척하고 깨끗한 수건으로 건조시킨다.
3) 착유기의 teat cup 부위를 사용하기 이전에 적절하게 소독하거나 저온살균한다.
4) 착유 이후에 유두 소독을 실시한다.

이러한 조치를 취한 결과 흔히 일어나는 *Staph. aureus* 유방염이나 *Mycoplasma* 유방염의 퇴치를 위하여는 매우 좋은 효과를 나타내었다. 그러나 환경형 유방염 원인균에 의한 *Str. uberis, Pseudomonas* 및 coliform에 의한 유방염의 확산 예방에는 뚜렷한 효과를 나타내지 못하였다. 그 이유는 환경형 유방염 원인균의 감염원이 다양하게 분포되어 있다는 점과 이들이 전염 과정에서 착유 과정과는 무관하게 전염이 가능하다는 점으로 분석되고 있다.

유우의 유두는 이들 환경형 유방염 원인균에 의하여 착유가 이루어지지 않는 기간중이나 혹은 건유기에 오염될 수 있다. 이러한 오염은 분변이 오염되거나 혹은 질 분비물과 접촉하여 또는 오염된 깔짚에 누워있어 개체간에 신체 접촉등의 경로를 통하여 오염된다.

특정 조건에서는 여름철 유방염이라는 증상이 건유기에 있는 유우에서 나타나며 병인체의 전염과정에 곤충 vector가 작용하여 전염이 일어난 경우도 있다. 젖소의 우사 환경을 바꾸어줌으로서 coliform 유방염 발생을 감소시킬 수 있었다는 보고도 있고 깔짚의 종류를 바꾸거나 우분제거 회수를 늘리거나 유우의 운동공간의 설계를 바꾸는 등 환경개선 노력이 유방염의 발생빈도를 감소시키는데 영향을 미친다고 보고된바 있다.

또한 *Str. uberis* 유방염 발생이 깔짚과 연관성이 있었다는 보고가 있고 또한 소화기관에 *Str. uberis*의 균락형성이 되어있음은 물론 생식기내에도 존재하여 쉽게 분리가 가능한 것으로 알려져 있다.

이러한 연구결과는 특정 병인체가 유방조직 이외에 어떠한 부위에 존재하는지에 관한 건전한 상식이 없이는 병원균과의 노출을 감소시키는 것이 불가능하다는 점에 착안할 때 중요성이 있다.

나. 병원균의 유두관 침투

소에 있어서 유두관은 유방내부 염증발생에 대한 주요 방어기구로서 작용한다. 비록 유두말단에 대한 병원균의 오염은 보편화된 상태에 있더라도 유방내의 감염은 비교적 흔히 일어나지 않고 일년 중 1~2회정도만 발생한다. 병원균이 유두관을 거쳐 유방조직 내부까지 침투하는 것도 흔히 일어날 수 있으나 질병이 발생되는 것은 간혹 있게 된다. 병원균이 유두관 내에서 이동 가능성 여부와 이동 빈도에 영향을 주는 요인은 질병예방에 있어 매우 중요한 것으로 확인되었다.

다. 유방 내 감염으로의 정착 과정

침투한 병원균이 유선조직에 정착가능성에 영향을 주는 요인은 침입하는 미생물의 특성 요인과 숙주인 유우 요인에 따라 결정된다.

1) 병원균의 특성

일반적인 유방염 병원균은 우유 중에 잘 생장한다. 이들의 일반적인 특성은 탄소원으로서 유당을 이용할 수 있는 능력이 있어야하고 casein을 가수분해하여 질소원으로 적절히 공급할 수 있는 단백질 분해능력이 있는 세균들이다. 일단 염증이 생성된 이후 혈장이 우유로 누설되고 우유 중의 단백질분해 능력의 증가된 상태가 되면 우유의 화학성분조성의 변화가 생기게 되고 이러한 상태는 미생물이 급속하게 이용할 수 있는 질소를 공급해 줌으로서 미생물 증식을 촉진하게 된다.

세균의 vitamin 요구성도 우유 중에 생장 가능성을 결정하는 요인으로 작용할 수 있고 이는 병원성과 연관된다. 특히 병원균이 평상시에 얻을 수 없는 vitamin을 우유 중에 존재하는 단백질과 결합되어있는 vitamin을 요구하는지 여부는 중요한 요인이 된다.

Str. dysagalactiae, Staph. aureus 및 coliform이 각각 감염성에 있어서 차이를 보인다는 결과가 보고된바 있다. 특히 병원균이 상피세포의 표면에 흡착할 수 있는 능력은 병원성을 결정하는데 중요한 요인이 되는 것으로 알려지고 있다. 유방염의 경우 Frost 등 (1975)의 연결과 *Str. agalactiae*와 *Staph. aureus*는 유선조직의 상피세포에 결착능력이 있는 것으로 밝혔으며 이 능력은 세균이 착유과정 중에 제거되는 힘에 저항하게 하여 그대로 남아있어 정착할 수 있게 도와준다는 제안을 한바 있다. *E. coli*는 상피세포 표면에 대한 접착 능력이 매우 약한데도 불구하고 노

출되는 수와 그 정도가 높은 경우에는 감염은 광범하게 일어나고 있다는 점은 고려할 필요가 있다.

유선조직에 감염 가능성에 관한 실험결과는 매우 제한된 상태이나 유방에서의 병원균이 병원성 요인 즉 coagulase, α와 β toxin 및 staphylococci의 capsule 등에 관한 연구결과는 제시되어 있다. *E. coli*의 endotoxin 생성과 동정되지 않은 coliform에 의하여 생성된 독소는 유선조직에서 손상을 일으키는데 중요한 작용을 하는 것으로 알려져 있고 또한 streptococci의 hyaluronidase 생산 능력과 capsule 생성 능력도 중요한 요인으로 인정된다.

2) 숙주와 연관된 요인

여러 가지 미생물 억제 체계가 우유 중에 존재해 있음에도 불구하고 유선조직에 미생물이 감염하는 것을 방지함에 있어서는 비교적 비효율적인 상태이다.

유선에 작동되는 체계 중에서 탐식작용과 병원균을 다형태성 백혈구(PMN)에 의하여 사멸시키는 작용은 가장 중요하다. PMN 체계는 격리된 상태에서는 작동하지 않는다. 탐식작용이 일어나기 전에 세균에 의한 촉진작용이 요구되기 때문이다. 일반적으로 다형태성 백혈구는 혈액과 비교할 때 우유 중에서는 비효율적으로 작용한다 왜냐하면 백혈구가 세균과 함께 지방과 casein 까지 섭취하기 때문이다.

여러 가지 비유 중이거나 혹은 건유 중의 유선에 작용하는 비특이적인 살균 혹은 정균체계가 작동하며 lactoferrin과 lactoperoxidase 체계 및 lysozyme 등이 포함된다. 일반적인 이들의 유방을 보호하는 작용은 증명되어 있지 않다. 건유 중의 유우에서 lactoferrin의 작용으로 인하여 *E. coli*의 감염을 방지할 수 있다는 보고가 있다.

7. 환경형 streptococci 유방염의 위해요소

환경형 steptoccocci는 유방 내 감염증 및 임상형 유방염의 중요한 원인이 되며 이 병원균을 적절히 통제하는 방법은 현재로서는 미흡한 상태에 있다.

병원균의 종류에 상관없이 유방염 예방의 기본 원칙은 유두말단에 주요 병원균의 노출을 감소시켜야하고 혹은 유우로 하여금 이 감염증에 대하여 저항성을 증대시키는 것이라고 단적으로 말할 수 있을 것이다.

역으로 유두말단에 병원균에 대한 노출을 증대시키는 요인과 유우가

감염에 대하여 그 저항성이 저하되는 요인은 축군 중의 유방염 발생이 증대되게 하는 위해 요소라고 할 수 있다. 여기에서는 환경형 streptococci에 의하여 발생되는 유방염과 연관된 것으로 알려진 몇 가지 위해 요소가 어떠한 것이며 이에 관하여 설명하고자 한다.

가. 노출

감염되지 않은 유두에 환경형 streptococci에 의하여 노출이 일어나는 것은 착유 과정, 착유와 착유사이, 건유기간 및 초산우에 있어서 분만 직전에 일어나게 된다. 이러한 사실은 전염성 유방염의 경우는 주로 그 노출이 착유 과정에서 일어난다는 사실과 대조적이다.

환경형 streptococci와 *Str. uberis*는 특히 그 분리원을 보면 깔짚, 흙, 제4위, 분변, 질, 혀, 유선과 유두 등이며 silage와 같은 사료자원도 이 병원균의 오염원이며 번식기관의 감염은 환경적 오염에 영향을 미치게 된다. 깔짚은 환경형 steptococci가 유두말단 노출에 일차적인 노출원이 되며 왜냐하면 유두와 유방은 깔짚과 직접 접촉하기 때문이다. 일반적으로 유기성의 깔짚 물질은 모래와 같은 무기성의 깔짚에서 미생물수가 낮게 오염되어 있는 상태이다. 환경형 streptococci의 모래 깔짚 중의 수는 모래중에 존재하는 흙의 양과 분변의 오염정도에 따라서 세균수 차이가 심하며 세척한 모래는 적절한 깔짚 역활을 할 수 있으며 깔짚 중의 병원균수를 낮게 유지함에 있어서 중요하다.

환경형 streptococci가 유기성 깔짚 중에 존재하는 수를 보면 그 종류에 따라 큰 차이를 보인다. 일반적으로 톱밥과 목재 산물은 그람음성균과 coliform 박테리아의 오염도가 높고 볏짚 등에는 환경형의 streptococci 오염도가 높은 것으로 지적된다. 볏짚은 *Str. uberis*의 좋은 오염원이 된다. 유기성 깔짚의 세균오염도 조사결과를 보면 환경형 streptococci가 가장 오염도가 높은 것이 볏짚이었고 톱밥에는 매우 낮은 수준이었다고 한다. 톱밥을 깔아준 상태에서의 유두에 오염된 수가 대패밥을 깔았을 때 유두에 오염된 수보다 낮은 것으로 조사되었고 긴 볏짚이 깔짚으로 사용되었을 때 환경형 streptococci의 유두에 노출이 심한 상태를 조성했다고 한다.

축사내의 시설과 관리요령은 깔짚에 오염도에 영향을 미치게되며 따라서 환경형 streptococci에 노출정도와 관계가 있다. 설계가 부적절하게된 우사시설은 환경형 streptococci에 의한 유방염 발생율이 높다. 우사 설비는 유우가 편안함을 최대화한 상태가 되도록, 일년 중 어떠한 계절이건

간에 stress와 물리적인 상해를 최소화하도록 설계되어야 한다. 실내환기 상태는 건조한 상태를 유지하기 위하여 필수적이며 오래된 우사 시설에는 환기설비가 불량한 경우가 많다. 오래된 우사의 환기설비를 개선하기 위하여 많은 예산이 소요되거나 혹은 개선이 불가능한 경우도 있다.

많은 free-stall 형 우사는 그 설계상태가 부적절하여 환경형 유방염 발생빈도가 높다. 잘 설계된 free-stall 형 우사에서는 유우들이 사료를 취식 중인 경우도 있고 누워서 쉬고있는 유우도 있다.

부적절한 착유위생상태와 착유기 기능으로 인하여 환경형 streptococci 유방염이 발생할 수 있다. 가장 중요한 핵심이 되는 것은 적절하게 기능을 하고있는 착유기를 이용하여 청결하고 건조된 상태의 유두와 유방상태에서 착유해야 한다는 것이다. 부적절하게 작동하는 착유기 혹은 착유자의 부적절한 기계작동은 유우균중에 환경형 streptococci 유방염 생성을 증대시킬 수 있고 이러한 문제를 다 시정하더라도 유우군 중에서 환경형 streptococci 유방염 문제를 완전히 해결할 수는 없다.

유두를 착유에 앞서 소독제에 침지하는 기법은 어떤 우군에서는 효과가 뚜렷이 나타나지 않았다고 보고된 경우도 있으나 환경형 streptococci 유방염의 발생을 현저하게 감소시킬 수 있다고 보고되고 있으며 어떤 우군에서는 50% 수준까지 줄일 수 있었다고 한다. 살균제를 이용하여 착유 이후에 유두 침지를 하는 방법은 환경형 streptococci 유방염 예방에는 큰 도움이 되지 않는 것으로 알려져 있다. 그러나 여러 연구를 종합해볼 때 환경형 streptococci 유방염의 발생은 유두침지를 실시하지 않은 유우군보다 유두침지 소독된 경우 그 발생율이 현저하게 낮은 것으로 분석되고 있다.

나. 저항성

환경형 streptococi 유방염이 새로이 발생함에 있어서는 유두말단에 병원균과의 노출기회를 높이는 요인 이외에 유우의 비유기, 분만, 영양상태 및 면역 등에 영향을 받는다. 환경형 streptococci 유방염을 예방함에 있어서는 건유기의 중요성은 매우 강조되어야 한다. 건유기의 유방염 발생율은 비유기의 경우보다 5.5배 높은 것으로 보고되어 있다.

건유기의 새로운 유방염 발생율은 건유기 전반에 걸쳐 나타나지는 않으며 건유 이후 약 2주간동안과 분만 전 2주간에 발생율이 높아진다. 건유기 치료법은 환경형 streptococci 유방염 발생율을 감소시킨다. 건유 직후에 새로운 감염증이 상승하는 것은 착유로 기인되어 일어나는 씻어내

리는 작용이 결핍되기 때문이며 유방조직에서 streptococci의 생장을 촉진시키는 것으로 알려진 유선분비물 화학성분 조성의 변화와 유두관에 keratin plug가 상실되는 점등이 그 이유로 제기되고 있다. 분만직전 2주간기간 중에 유방감염에 있어서 감수성이 증가되는 것은 유선이 액체로 축적된 상태에서 착유가 이루어지지 않고 유두관에서 keratin plug가 상실된 상태로 유지되며 분만기간 중에 나타나는 면역억제 상태와 연관된 것 같다. 재래식의 건유기 치료는 분만이전 유방염 감염율에 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 판단되며 분만이전의 유두침지 방법도 큰 효과를 나타내지 못해했다는 보고가 있다. 환경형 streptococci는 초산우에 있어서 유방염을 일으키는 원인균으로 작용하며 초산우에 있어서는 분만이전에 감염된 경우도 분만과정에서 감염된 것처럼 보인다.

비유기간중의 유방염 발생율은 비유기간 중에 균일한 발생율로 나타나지는 않으며 비유초기에 가장 발생율이 높고 비유기간이 진행에 따라 점차 발생율은 감소되는 성향을 보인다. 환경형 streptococci 유방염 발생율 조사결과를 보면 비유이후 첫 번째 달에 발생율은 그 이후의 경우보다 높은 것으로 조사되었다.

분만회수도 환경형 streptococci 유방염 발생의 주요원인이 되며 분만회수가 증가될수록 유방염 발생율도 증가하는 것으로 알려졌다. 비유기간 중의 환경형의 임상형 유방염 발생율은 2산 혹은 3산의 유우와 비교할 때 초산 유우에서 그 발생율이 높다. 비유 말기에서 환경형 streptococci 유방염 발생율은 초산이나 2산 유우의 경우보다 연령이 높은 유우에서 발생율이 높았으며 4산 이후에서 그 발생율이 가장 높았다.

10여 년간 계속적인 연구결과는 유우의 사료가 유방염 감염에 대한 저항성에 영향을 미칠 수 있다는 결과를 보여주었다. 사료 중에 존재하는 성분 중에서 vitamin E, vitamin A, β carotene, selenium, 구리 및 zinc등 미량성분이 중요한 것으로 나타났다. vitamin E와 selenium은 탐식세포의 작용에 분명한 효과를 미치는 것으로 판명되었고 두 가지 성분이 결여된 사료를 섭취한 소에서 환경형의 streptococci 유방염 생성율이 높았다. Vitamin E와 selenium의 혈액 및 조직내의 농도가 낮아질 가능성은 분만기간에 가장 낮아질 가능성이 높으며 이 기간 중에 환경형 유방염 생성율도 높게 나타난다.

환경형의 streptococci 유방염을 예방하기에 적합한 상업적인 vaccine은 개발되지 못하고 있다. 영국에서 *Str. uberis* 에 대한 vaccine 생산이 시도된바 있고 그 효과가 기대되고 있다. 환경형 streptococci 유방염 발생 가능성은 유두말단이 병원균에 노출되는 기회와 유우의 감염 저항성

에 따라 결정된다. 유우의 저항성은 환경형의 streptococci 유방염 예방에 있어서 매우 중요하며 건강한 유두말단을 유지하는 것과 적절하게 활성이 있는 면역체계는 유구에 감염된 병원균수를 낮게 유지하며 감염을 제거시키는데 필수적이라는 데는 의심의 여지가 없다.

유우를 유생산량이 증가하도록 육종 노력을 지속해나감에 따라 유방염에 대한 감수성은 점차 증가되는 것으로 알려져 있다. 유우의 저항성 기작을 조정하는 것은 많은 연구 노력이 필요하며 그 진척정도는 매우 느린 상태에 있다. 그러나 유두말단이 환경형 streptococci 유방염 원인균에 노출되는 정도는 대부분의 경우 양호한 면역조건을 압도할 수 있다. 환경형 streptococci의 효과적인 방제를 단기간 유지하는 것은 유두말단에 노출가능성을 줄여줌으로서 가능하다. 지속적으로 노력해야할 부분은 유우를 청결하고 건조하며 시원하고 편안하게 해주는 방법을 찾아야 할 것이다.

8. 유방염 예방 대책

유방염발생을 억제시키며 경제적인 손실을 막을 수 있는 방법으로서 그 중요성이 강조되며 모든 유우에서 새로운 감염을 예방하고 기존의 유방염 감염우를 호과적으로 감소시키기 위한 대책을 다음과 같이 요약될 수 있다.

가. 위생적으로 착유한다.

1) 착유 위생관리에서 가장 중요한 것은 유두를 청결하게 유지하고 건조시키는 것이다. 착유자의 손은 착유 전에 50%, 착유 후에 100% 오염되어 있으므로 유방염을 옮기는 중요한 원인이 된다. 따라서 소독수에 씻어가며 착유하는 것이 바람직하다.

2) 유방의 세척과 건조는 개체별로 실시하고 유방전체를 씻지 말고 유두만을 씻고 말리는 것이 필수적이다

3) 유두에 물기가 있거나 라이너에 물이 흘러들면 라이너가 미끄러짐으로 우유가 유방 내로 역류하여 유방염의 원인이 된다.

4) 착유환경이 불결하거나 유방염 발생이 많으면 착유 전 소독액으로 유

두를 침지소독한 후 닦아내고 착유하며 가능한 한 물이나 소독수의 사용량은 적게 해야한다.

나. 착유 전 유즙 검사를 실시하여 유방의 건강상태를 확인한다.

1) 유방을 세척하기 전에 짜서 스트립컵 검사나 CMT 검사를 실시하여 유즙의 이상여부를 관찰한다.

2) 착유 전 첫 젖을 짜내는 일은 유질 향상에도 도움을 준다.

다. 착유 전후 유두의 침지소독을 실시한다.

1) 체세포가 전체 우군에 걸쳐 높고 주위환경이 불결하여 대장균등 환경오염균의 감염위험이 많을 때는 착유 전에 유두를 침지소독하면 효과가 크다. 첫젖을 짜낸 후 소독하고 약액을 깨끗이 마른 수건으로 닦아낸 다음 착유한다.

2) 착유 후 유두공은 바로 닫히지 않고 4-6시간동안 열려 있으므로 착유 직후 곧 바로 유두침지 소독을 하고 산전유방염을 예방하기 위해서는 건유 후 2주 동안 그리고 분만 2주전부터 계속해 주어야 한다.

3) 착유 후 유두 침지 혹은 분무소독은 새로운 유방염 감염을 50% 이상 줄일 수 있다.

4) 침지소독액은 매회 새로 희석하여 사용하는 것이 원칙이며 적어도 3일을 넘기지 말아야 한다.

5) 혹한기(-12℃이하) 특히 바람이 많이 불 때는 유두가 얼거나 갈라지므로 유두 침지소독을 실시하지 않는 것이 좋다.

6) 침지소독을 할 때는 유두 끝만 적시고 다른 곳은 닦아내며 우사나 착유실을 나갈 때는 반드시 건조시켜야 한다. 소독액을 데워서 침지하면 빨리 마른다.

라. 착유기의 기능을 잘 알고 올바로 사용한다.

착유기의 기능이 정확히 유지되고 있는지를 세심한 주의를 기울여 관찰해야 한다. 착유기는 항상 청결히 유지하고 소독해야 함은 기본이다.
1) 착유 중 클로우 내의 진공압이 28-30cm/Hg(진공게이지는 38-40cm/Hg 전후) 수준이어야 한다.

2) 착유 중 유두컵이 올라붙거나 미끄러져 내리지 않도록 한다..

3) 착유 후 유두컵을 유두에서 떼어내기 전에 반드시 클로우의 진공압을 끄고 뗀다.

4) 착유기에 의한 유방감염의 최대원인은 역류현상과 맥동의 부조화이다. 갑자기 진공압에 큰 변동이 있으면 역류현상이 일어나고 유두안으로 작은 우유방울이 급속하게 빨려 들어간다.

마. 모든 젖소의 분방을 건유기에 치료한다.

모든 젖소의 분방을 건유기에 치료하는 것은 유방염 관리 종합 프로그램에서 가장 중요한 요소이다. 건유기는 준 임상형 유방염을 치료하기에 가장 적합한 시기이다. 건유기 치료의 이점은 일반적으로 비유기 치료보다 치료 효과가 높고 효능이 장기간인 항생물질을 사용해도 안전하며 건유 중 새로운 유방염 발생율을 줄일 수 있다는 이점이 있다 또한 손상받은 유선조직을 분만 전에 재생시킬 수 있다는 점과 산전 유방염 즉 분만 직후의 임상형 유방염의 발생을 감소시킬 수 있다는 이점도 지적될 수 있다.

바. 임상형 유방염은 신속하게 발견하여 치료한다.

유방 내 치료는 침입하는 미생물에 대해 젖소가 본래 가지고 있는 자연저항력을 도와주는데 목적이 있다. 따라서 유방염에 걸린 소는 신속히 발견해서 신속히 치료해야만 치료 효과를 높일 수 있다. 그러나 원인균은 매우 많기 때문에 어떤 항생제를 어떻게 선택해야할지 알 수 없으므로 치료이전에 약제 감수성 검사를 실시하여 적절한 약제를 선택하여 치료해야 치료효과를 높일 수 있다.

사. 만성 유방염 유우는 도태한다.

도태는 대부분의 경우 만성 감염우를 우군에서 제거하는 유일한 현실적 방법이다. 또한 반복하여 유방염이 발병하는 소는 도태를 고려해야 한다. 이와 같은 젖소가 우군에 있으면 병원균 전파의 온상이 되고 최종적으로는 다른 건강한 젖소에까지 원인균을 전파시키기 때문이다.

9. 항생제 치료

가. *Staphylococcus*에 기인된 전염성 유방염 치료

처음으로 유우의 유방염에 대한 개선된 치료법으로 소개된 것은 sulphonamide제를 비경구적으로 투여하는 방법이었다. 설파제 투여방법은 1945년 penicillin이 수의용으로 사용 가능하면서부터 대치되었다. Penicillin의 투여 방법은 24시간 내지 48시간동안 2회 내지 3회 유방 내로 주입하는 방법이 추천되었고 어떤 경우에는 비경구적인 투여로 그 효과를 촉진시킨다. 이 방법의 치료효과는 이전에 사용한 방법보다 탁월했으므로 여러 가지 다른 항생제도 penicillin과 함께 혼합된 상태로 사용하거나 다른 약과 같이 투여하기도 한다. 광범한 연구문헌이 항생제의 유방염 치료 및 여러 항생제의 성질에 관하여 발표되어 있다.

대부분의 경우 임상적 유방염증상이 나타난 유방의 치료에 항생제로 치료하면 1일 혹은 2일 이내에 효과가 나타나며 대부분의 경우 미생물감염증은 제거된다. 이러한 pattern에서 예외의 경우로 나타나는 것은 staphylococcus 감염이며 임상적인 반응은 좋은 결과를 보이나 감염증의 35% 이하만이 제거되어 치료된다.

항미생물 화학치료의 가장 중요한 목적은 적절한 양의 약제를 침입부위까지 운반해줌으로서 미생물을 제거시키는 것이다. 광범위한 항미생물제가 유방염 치료를 위하여 유방 내로 혹은 간혹 혈관 내 주사목적으로 이용 가능하다. 축군의 적절한 치료제로서 선택은 축군에 존재하는 절대적 우위를 차지하는 병원균의 항생제 감수성에 따라 결정된다.

지난 10년동안 유방염 치료에 사용되는 약의 약리적인 활성에 관하여 광범하게 설명하고 있다. 치료에 성공하기 위하여 적절한 기간동안 효과적인 약 농도(용량)즉 병원균에 대한 최소억제농도 이상을 유지시켜야 한다. 일정한 기간동안 효과적인 농도를 유지하는 것은 지용성이고 우유 중

에 이온화되지 않거나 미량만이 이온화되는 물질이나 유단백질 혹은 혈청 단백질과 빨리 결합되지 않은 화학물질을 이용함으로서 잘 성취될 수 있다. 한 종류의 항생제가 이러한 목적을 모두 충족시킬 수는 없으며 약리적인 작용이 우수한 polymixin B, gentamicin 및 chloramphenicol 등은 구하기가 어렵거나 너무 고가이거나 또는 사람의 질병치료를 위하여 보관중인 약제이다.

그람양성과 그람음성세균에게 광범하게 강하게 작용하는 약제의 필요성이 있어서 항생제를 혼합하여 사용하게 되는데 그 혼합예는 penicillin/streptomycin, ampicillin/cloxacillin, streptomycin/framframycetin/penethamate hydriodide를 들 수 있다.

포도상구균 감염증에 대하여 항생제 치료의 성공가능성은 현존하는 염증의 정도에 반비례한다는 확증이 있다. 이러한 이유로 corticosteroid는 천연적인 방어기구를 억제하므로 이를 처방전에 포함시키는 경우도 있다. 그러나 그 효과는 확증되지 않은 상태이다.

유방염 치료효과에 대한 주요 제한점이 되는 것은 임상형 유방염이건 혹은 건유기에 있건 간에 *Staphylococcus* 감염에 대한 효과가 크지 않다는 점이다. 이는 항생제에 대한 저항성 생성이나 내성 증가와 주로 연관된 것이 아니라 세균이 생존할 수 있다는 감염증에 의하여 유도되는 병리학적 변화에 기인된 것이다. *Staph. aureus*는 neutrophil 림파구 내에서 생존 가능하며 호중구 내에 있는 *Staph. aureus*는 주위의 액체에 녹아있는 항생제에 대하여 보호받거나 영향을 받지 않기 때문이다. Rifampicin이나 rifamycin SV는 세포 내에 존재하는 미생물에 대하여 활성이 높으며 쥐에서 staphylococci의 제거율이 높은 것으로 나타났으며 다른 항생제와 복합하여 투여될 경우 유우에게 감염되는 포도상구균 유방염 제거에 효과적일 것으로 예측하고 있다.

대부분의 유방염 치료의 경우 병원균의 종류에 관한 시험은 하지 않은 채 임상증상에 대한 치료가 시행되는 경우가 많다. 이러한 상태에서는 cloxacillin을 사용할 때 *Str. agalactiae*와 *Str. dysagalactiae*에 의한 감염증의 80% 이상의 치유율을 나타내었으며 *Str. uberis* 유방염 치유율은 75%로 나타났고 *Staph. aureus*에 대한 치유율은 25% 수준으로 나타났다.

임상형 유방염의 치유가 항생제 치료에 의하지 않고 일어나는 경우가 있다. 이러한 경우는 coliform에 의한 유방염에서 자주 있으며 이런 유형의 경우는 자연 치유율이 80%를 초과하지만 기타의 유방염에서는 매우 드물다.

준임상형 streptococci에 의한 유방염 경우 병원균 제거율은 임상형의 경우보다 5-10% 높은 수준을 보이며 staphylococci에 의한 준임상형 유방염의 병원균 제거율은 50%를 초과하는 수준에 이르고 있다. 가장 높은 수준의 병원균 제거율은 비유기간이 종료된 이후에 감염된 분방을 높은 약용량을 투여하여 치료할 때 나타나는 것으로 보고된바 있으며 준임상형의 유방염에 대한 치료효과가 우수하게 나타난다.

*Streptococcus*에 의한 유방염에 대한 항생제 치료효과는 유우 개체간 혹은 목장간에 큰 변화 폭을 나타내지 않고 일정하게 나타나지만 *Staphylococcus*에 의한 유방염 치료 효과는 변화 폭이 크게 나타난다.

합성 penicillin으로 시험실 감수성 시험에서는 감수성이 높은 *Staphylococcus* 균주에 대한 치료를 유우군에 치료하더라도 평균 치유율은 10% 이하로부터 70% 까지 광범한 변화 폭을 나타낸다. 이러한 치유율 차이의 원인은 균주 차이에 기인된 것이 아니라 유우 자체가 갖는 잘 알려지지 않은 요인과 관리방법의 결과로 판단된다. 체계적으로 항생제 치료가 시행될 경우 치료를 받은 유우 중에서 병원균 제거율이 높게 나타나지만 중요한 문제는 *Staphylococcus* 감염증에 대하여는 그 치료 효과가 매우 낮다는 것이다.

가장 간단한 수준으로 종의 수준까지만 동정하는 것이 충분할 경우도 있으나 그 작업도 간단하지는 않을 경우가 흔히 있다. 유우는 언제나 유방염 원인균에 의하여 노출되어 있고 유방염에 대한 저항 기작은 자연적인 선발에 의하여 오랜 기간에 걸쳐 생성되어 왔다. 급성 유방염으로 사망한 소나 우유 생산을 거의 하지 못하는 유우는 후대를 생산하지 못한다. 생성 되어있는 방어기구는 유두관과 연관되어 있으며 아직 많이 알려져 있지 않으나 매우 효율적이다. 유우는 오랜 기간동안 유방 병원성 세균과 노출되어왔으나 아직 그 감염은 줄어들지 않고 있다.

상업적인 유우관리방법은 유방 내 감염을 증가시킬 것으로 보이며 유두부위에 대한 병원성 세균과의 노출이 증대됨은 물론 유두관을 통과할 가능성을 높임으로 기인된다.

축군으로 관리되는 유우는 집합된 상태에서 착유하게 되며 최대한 위생관리상태를 엄격하게 준수한다고 해도 유우간의 병원균 전염은 쉽게 일어나게 된다. 착유작업을 손으로 하건 착유기를 이용하건 간에 유두표피를 손상케 할 가능성이 높고 병변 부위에는 병원균으로 균락을 형성하게 된다.

동절기에 축사에 수용하게 됨으로서 유우의 밀집화가 불가피하게 되고 분변 중의 병원균과 깔짚 중에서 증식 가능한 병원균에 대한 노출이 증가

하게 된다.

상업적인 우유생산 체계의 대형화로 인하여 여러 가지 유방염 생성증가 요인이 증대되는 결과로 나타나며 이는 사람이 작은 촌락에서 살다가 대도시로 이주해 살 경우 건강위해요소가 증대되는 것과 유사한 현상으로 이해될 수 있다. 사람들이 비교적 서로 격리되어있는 여건에서 식품과 음용수를 공급하는 방법과 오물처리 체계는 대도시에서는 적합치 않게 된다. 유방염 예방에 있어 최초의 조치는 병원균과의 노출되는 수준을 감소시키는 것이며 자연적인 방어기구에 대하여 도전을 감소시키는 것이 될 것이다. 적절히 대처 하지 못할 경우 효과적인 약물요법에 의지할 수밖에 없다.

이와 같은 상업적인 규모의 낙농목장에서 유방염 문제에 대한 접근방법은 유두 침지법과 건유기 치료법을 포함하는 예방 체계를 개발하는 연구의 근원이 되고 있다. 우유생산도 사업으로서 유방염을 예방에 대한 이유도 주로 경제적인 면에 치중되어야 한다는 것이다. 예방과 연관된 비용이 여기에서 얻어지는 이익을 초과해서는 안 된다는 것이다. 따라서 유방염 연구의 목적은 유방염에 있어서 적은 경비로서 경비를 감소시킬 수 있는 방법을 발견하는데 있다는 것이다.

유두소독과 건유기의 항생제 치료에 집중된 유방염 관리 대책이 과거 10여 년간 광범하게 실험되고 또한 적용되었으므로 상업적인 대규모 낙농조건에서 이 대책의 경제적인 실효성을 평가할 필요가 있으며 또한 방향의 변화를 모색해야 할지 여부를 결정해야 할 것이다. 유방염 관리 대책은 새로운 감염의 생성율과 감염지속기간에 영향을 미쳐야만 한다. 급속한 발전을 이루기 위하여 감염율 및 감염지속기간이 감소되어야 하며 staphylococci와 streptococci에 기인된 유방염의 경우에는 유두소독과 건유기 치료법이 이 목표를 성취할 수 있었다. 또한 건유기의 항생제 치료는 *Str. uberis* 유방염과 하절기 유방염에 있어서 좋은 치료효과를 나타내었다.

Coliform과 *Str. uberis*에 의한 유방염 관리기법이 개발되어야 할 필요성에 대하여 강조되어왔다. Coliform 유방염 문제는 주로 우사에 수용되는 소에서만 한정되어 일어나며 근래에 와서 유우를 우사에 사육하는 성향이 강조되면서 중요성이 커져 있다. 유두침지 소독법과 건유키 치료법이 관리상태를 양호하게 하는 것의 대안이 된다고 생각된 적은 결코 없다.

영국의 경우 농무부의 보고자료를 보면 유우의 1/3과 전체유구의 15%는 유방감염이 일어난 상태이고 연간 유방염 발생율은 34%로 보고되었다.

우유유통위원회의 집계를 보면 임상형 유방염의 추정치가 70%로서 보다 심각한 양상을 나타내고 있다.

SCC, CMT 및 전도도 시험 및 임상 병력조사 등 여러 가지 기법들이 감염우를 검색하기 위하여 test 된 바 있다.

대용 체계가 개발되지 않는 한 착유 이후 유두 소독방법은 유방염 관리에 있어 주요 핵심 방법으로 남게 될 것으로 보인다. 이 방법에 의하지 않고 유두부위의 병변부위는 감염원이 되며 *Staph. aureus* 100CFU 정도로서 유두관 내에 균락 형성이 가능한 것으로 알려졌다. 만일 유두 소독을 중단하면 staphylococci와 streptococci에 의한 유방염 발생은 증가할 것이다.

근래에 와서 인정되고 있는 유방염 제어 체계는 동정 후 치료 혹은 분리 방법의 활용이다. 유방염 치료에서 비교적 성공을 거둔 유방염은 *Staph. aureus*와 *Str. agalactiae* 유방염의 경우이다. 이는 많은 비용을 지불하여 이루어진 결과이며 아직 환경형 유방염인 *Str. uberis* 및 coliform 유방염에서는 별다른 진보를 성취한 증거는 없는 상태이다.

장기적인 유방염 관리를 위한 연구 노력은 유방의 면역 체계에 대한 연구와 유방염 감수성의 유전성과 연관되는 이다. 효과적인 면역학적 혹은 유전학적 기법은 장점을 가지며 제어는 주로 소독과 항생제에 의하여 가능하다.

나. 환경형 Streptococci 유방염의 치료 예

과거 약 20년간 전염성 유방염 제어에는 많은 진전이 있었음에도 불구하고 유방염은 낙농가에게 가장 경제적인 부담을 주는 질병으로 계속남아 있다. 유방염은 유우에서 항생제를 사용하는 이유 중에 제 1위를 차지하는 질병이다. 미국의 Wisconsin 주의 통계를 보면 1991년에 있었던 항생제 검출유 중의 82%는 그 원인이 유방염치료에 기인된 것으로 분석되었다.

착유 후의 유두 침지와 전체 건유우에 대한 치료를 시행함으로서 주요 전염성 유방염의 병원균인 *Str. agalactiae*와 *Staph. aureus* 유방염 치료에는 뚜렷한 진전을 보였다. 그 결과 낙농산업이 발전된 수준에 있는 여러 나라의 경우 집유조에서 채취한 우유시료의 체세포수(BTSCC) 가 현저하게 저하되는 결과를 나타내었다.

광범위한 연구결과는 집유탱크 우유의 체세포수 저하는 우유 생산 기법과 유질 개선과 직결된 결과임을 제시하였다. 그러나 많은 낙농가들은

집유조 체세포수가 개선됨에 수반하여 임상형의 유방염발생은 저하되지 않고 있다는 점에서 실망하고 있다. 사실상 체세포가 저하된 유우군들도 임상형 유방염의 높은 발생율 문제는 그대로 지속되고 있다.

*Str. agalactiae*와 *Staph. aureus*에 의한 유방염은 적절히 제어해온 목장에서도 대부분의 임상형 유방염은 유우의 환경에서 발견되는 병원균에 의하여 발생한다. 대부분의 유방염 원인균은 환경형 streptococci (streptococcus non-agalactiae라고도 부름)와 coliform에 의하여 발생한다. 1990년대부터 유방염 원인균의 변천 성향이 나타나기 시작하여 전염성 병원균으로부터 환경형 원인균으로 점차로 변천이 일어나는 것이 관찰되어 왔다.

전염성 병원균이 극적인 저하를 보인 반면 임상형 유방염 발생건수는 약간의 변화 성향만을 보이고 있다. 유우군의 체세포수는 매우 높은 수준으로부터 150,000/ml 이하 수준으로 감소하였으나 임상형 유방염의 발생건수는 약간 감소하는 수준에 머물고 있다. Erskin등의 조사결과를 보면 축군의 평균체세포수가 150,000/ml을 나타내어 전염성 유방염은 적절히 치료하였으나 임상형 유방염 발생건수는 월간 100두 당 4.23건을 초과하여 심한 전염성 유방염상태를 제시하는 원유의 체세포수 평균이 700,000/ml을 나타낼 때의 유방염 발생율(2.91건/100두/월) 보다 높아졌다는 사실을 주시해야 한다. 근년에 이루어진 캐나다의 유방염 발생사례에 관한 2,840두를 대상으로 한 조사 결과를 보면 유방염 발생율은 19.8%에 이르는 것으로 조사되었다. 이 결과로 보아 낙농가들이 임상형 유방염 발생에 대하여 민감한 상태에 있는지 이해할 수 있다. 임상형 유방염 문제를 이해하고 관리함에 있어서 보다 어려운 문제는 적절한 형태의 사고기록이 없으므로 기인되어 문제가 발생한다. 임상형의 유방염 환축으로부터 우유시료를 수집하고 병원균의 동정 체제를 사용함에 있어서 보다 정확한 기록의 유지가 필요하다.

농장의 수준에서 전에 발생했던 유방염 환축의 발생 예를 역학적인 조사를 통하여 적절한 수준의 기록이 유지되면 위해요소를 동정해 내는데 도움이 된다. 지난 10년간 일어난 유방염 역학적인 면에서 가장 중요한 변화는 환경유래 병원균의 중요성이 커졌다는 사실이며 이들은 주로 임상형 유방염을 유발한다는 것이다.

임상형 유방염은 경제적으로 중요한 질병이다. 준임상형 유방염이 유방염 연관 손실의 70%를 차지한다는 전통적인 주장이 있으나 감염상태의 성향변화로 인하여 이 손실율 수치는 의문점을 제기한다. 체세포수가 감소한 것으로 증명되어지는 전염성 유방염을 적절히 대처한 농가에서도 임

상형의 유방염은 경제적인 측면에서 중요성이 크다. 미국의 경우 임상형 환축 건당 손실액을 107$로 산정하고 있다. 이러한 손실의 내역은 6가지 부문으로 구분되며 이는 우유 생산량 감소, 우유 판매량 감소, 조기도태, 노동력 손실, 치료비 지불 및 수의사 비용, 유전적 개량성능 감소 등으로 구분된다.

다산우의 경우 초산우 경우보다 유방염에 의한 산유량 손실은 2.06배 정도 많은 것으로 분석되었으며 분만 후 150일 이내의 소가 150일 경과된 유우보다 그 산유량 손실량이 1.4배 가량 많은 것으로 보고되어 있다.

임상형 유방염에 기인되어 그 산유량 감소가 유우 두 당 540kg 감소한다는 보고가 있고 23건의 환경형 streptococci 유방염에 의하여 감염이후 60일간 평균 351kg의 산유량 감소와, 정체량에 의한 감소량이 146kg으로 보고되었다. 일반적으로 연구자들의 일치된 견해는 임상형 유방염에 이환된 이후 60일간에 산유량 감소가 현저히 일어나고 그 이후에는 비유량은 이환 이전 수준을 나타내는 것으로 보고되어 있다.

고산유량 상태가 다산우에서는 임상형 유방염의 원인으로 작용될 수 있으나 초산우에서는 연관성은 없다.

임상형 유방염의 적절한 치료는 논쟁의 대상이 되고 있다 항생제의 임상형 유방염치료에 효용성에 관하여는 의문점이 있다. 유방염 치료에 이용되는 몇 가지 항생제는 우유 내에서 nutrophil의 기능을 변화시키고 탐식작용을 손상시키는 것으로 보고되었다.

환경형 streptococci의 시험관내 감수성은 매우 높은 것으로 알려졌으며 *Str. uberis* 18 분리균과 *Str. dysagalactiae* 11 분리균주는 시험관내에서 penicillin-novobiocin에 대하여 감수성이 높은 것으로 밝혀졌다. 140 균주의 streptococci를 이용한 민감도 시험결과 ampicillin, cephlothin, novobiocin 및 penicillin에 대하여 100%가 감수성을 보였으며 tetracycline에 대하여는 96%의 감수성을 보였으며 aminoglycoside에 대한 감수성은 이보다 훨씬 낮은 것으로 밝혀졌다.

Hickley가 1985년도에 조사한 결과를 보면 7개 축군에서 조사한 결과 streptococci가 penicillin에 대한 감수성은 60-100%, erythromycin에 대한 감수성은 50-90%, cephalothin에 대하여는 70-90%, ampicillin에 대하여는 60-100%의 감수성을 보였다. 시험관 내의 결과와 생체 내의 시험결과 간의 연관성은 매우 높은 것으로 확인되었다.

환경형 streptococci에 대한 치유율은 감수성 시험결과에 나타난 수준으로 높지는 않았다. 대부분의 임상형 유방염은 유방 내 주입용 항생제로 치료하는 것으로 알려졌으며 유방 내 주입경로는 유선중의 유선관 공간

에 제한적으로 기생하는 것으로 알려진 streptococci와 같은 병원균에 대하여 특별한 효과를 나타내는 것으로 확인되었다. 근래에 연구된 결과에 의하면 *Str. uberis* 야생균주는 상피세포를 침범하여 정착할 수 있는 것으로 알려졌으며 어떤 치료의 효과가 만족스러울 정도로 나타나지 않는 것은 이러한 사실이 일부 설명해준다.

준임상형 환경형 streptococci를 건유기에 치료하는 방법은 효과적인 것으로 알려지고 있다. 건유기에 치료된 유우는 환경형 streptococci에 감염율이 낮으며 전염성 유방염 감염율이 낮은 유우 군에서 건유기 치료의 주요 가치는 건유 초기에 환경형 streptococci감염을 예방할 수 있다는 것이다.

다. 환경형 streptococci 유방염 발생율 저하를 위한 전략 개발

Str. agalactiae 유방염에 대한 진단, 치료 및 예방방법은 연구와 야외 목장 실험을 통하여 잘 정립되어 있는 상태이다. 유사하게 보다 더 복잡한 질병이기는 하지만 *Staph. aureus*에 의한 유방염에 관하여도 많은 것이 알려진바 있다. 착유 이후 유두소독과 비유말기에 모든 유우에 대하여 항생제치료를 실시하는 방법은 낙농가들이 유방염 원인균을 적절히 통제하는데 강력히 추천되고 있는 방법이다. 유방염 방제법이 정확하고 완전하게 실행하기만 하면 광범위한 유우의 사양조건하에서도 일정한 결과를 도출해내는 것으로 확인되었다.

환경형 유방염 즉 streptococci와 coliform 세균에 의한 유방염은 훨씬 복잡하고 혼란스럽게 하는 면이 있다. 목장 관리자가 재래식의 유방염 제어 program을 실행하는 동안 유우군은 새로운 유형의 유방염에 감염을 당하는 것이다. 이러한 환경형 유방염은 임상적인 증상을 나타내며 유우군 평균 체세포수 또는 개체별 체세포수는 낮으나 경영주에게는 유방염으로 인한 큰 문제점을 야기하는 것이 흔히 나타난다.

유우군 중에서 유방염의 세균학적인 원인은 진단하는 것은 어려운데 그 이유는 환경형 streptococci 혹은 *E. coli*에 의한 유방감염증이 단기간 내에 나타나기 때문이다. 분명한 임상적인 유방염 증상을 나타내면서도 우유 중에 원인균은 배양이 안 되는 경우가 흔히 나타난다. 적절한 시료를 채취하는 것이 어렵고 병인균이 나타내는 작용도 측정하기가 어렵다.

연구자 혹은 유우 관리 advisor들은 환경형 유방염을 예방하고 치료하기 위하여 전염성 유방염에서 적용하는 것과 같은 수칙을 제시하는 시

도를 한바 있다. 그러나 환경형 유방염원으로 작용하는 요인이 복잡하여 모든 여건 하에서도 공통적인 특정한 절차를 제시하는 것이 불가능한 상태이다. 대신 환경형 유방염 문제와 연관하여 표준 문제해결 방안을 개발하는 것이 더 현실적인 것으로 이해되고 있다.

환경형 유방염이 발생한 유우의 경우 도움이 요청된다. 축주는 유방염을 감소하려는 의지가 강함에도 불구하고 지속적으로 집합유 체세포수가 상승하는 것이 하나의 문제로 대두되며, 법정 기준수치도 초과하는 수준에 이를 경우도 자주 나타난다.

10. 맺는말

유방염 원인균인 *Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Streptococcus agalactiae* 및 *Streptococcus dysagalactiae*은 우유생산에 있어 양과 질적인 면에 크게 영향을 미치는 병원균으로서 적절한 관리와 그 피해를 감소시키기 위하여 많은 관심을 요구하는 미생물이다.

특히 *Staphylococcus aureus*는 위생적인 품질 면에서 위해를 미칠 수 있는 병원균으로서 그 독소에 의한 식중독을 일으킬 수 있다. 본 연구에서 시도된 분포 현상을 이해하고 우유생산장의 위생 관리에 적용함으로써 그 확산을 방지하는데 효과를 나타내게 될 것으로 보이며, 세균을 분리하고 동정하여 그 특성에 적합하게 대응하며 치료할 수 있도록 분류를 위한 기초 data를 잘 활용함으로서 유전적인 유형 파악에 근거한 효과적인 치료를 할 수 있을 것이며 항생제의 내성균주가 출현하여 치료에 어려움을 당하고 있는 현실 여건에서 감수성에 대한 정보를 적절히 파악하여 퇴치에 도움되는 자료로 활용되기를 기대하며 또한 소독제의 정확한 선택을 통하여 균주의 특성에 적합한 경제적이며 효과적인 생산 현장의 위생관리를 통하여 유방염 원인균의 관리를 할 수 있을 것이다. 균주 분류에 있어서 활용되는 간편화된 방법이 활용되어 보다 효과적인 관리체계를 확립할 수 있게 되기를 기대한다.

11. 참고 문헌

1. Batish, V. K., and Harish Chander. 1987. Occurrence of *Staphylococcus aureus* and Their Preformed Enterotoxins in Frozen Dairy Products. Austrlian J. of Dairy Technology, 32:22-24.

2. Charles, R. C., L. S. Cassandra, K. M. Mathew. 1988. Pulse-Field Gel Electrophoresis of very large DNA Molecules. Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem., 17:287-304.

3. Eberhart, R. J., P. L. Levan, and L. C. Griel. JR. 1983. Germicidal Teat Dip in a Herd with Low Prevalence of Streptococcus agalactiae and Staphylococcus aureus Mastitis. J. Dairy Sci., 66:1390-1395.

4. Fred, C. T., B. D. Nancy, 1995. Eradication of Endemic Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Infections from a Neonatal Intensive Care Unit. J. Infectious diseases, 171:614-624.

5. Jung, C. H. and H, J, Kang. 1993. Antimicrobial Susceptibilties and β-lactamase Production of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bulk Milk and Domestic Animals. Kor. J. Vet. Publ. Hlth., 17:281-293.

6. Jeffrey, L. W., 1988 Characterization and Identification of Streptococci Isolated from Bovine Mammary Glands. J. Dairy sci., 71:1616-1624.

7. Kang, H. J., H. G. Choe and W. G. Son. 1990. Production of Enterotoxin and Coagulse Typing of *Staphylococcus aureus* Isolated from Raw Milk. Kor. J. Vet. Publ. Hlth., 14:15-19.

8. Michel, G. B., and O. Marc. 1998. Prevent Antibiotic Resistance through Rapid Genotypic Identification of Bacteria and of Their Antibiotic Resistance Gene in the Clinical Microbiology Laboratory. Journal of Clinical Microbiology, 36:2169-2172.

9. Poyart, C., C. Pierce, G. Quesne B. Pron, P. Berche, and P.Trieu-Cuot, 1997. Emergence of vancomycin resistance in the genus Streptococcus: Characterization of vanB transferable determinant in streptococcus bovis Antimicrob. Agents Chemother., 41:24-29

10. Wallet, F., M. Roussel-Delvallez and R. Courcol. 1996. Choice of a routine method for detecting methicillin-resistance in staphylococci. J. Antimicrob. chemotherapy., 37: 901-909