

Genetic Diversity of Foodborne Pathogen Detected in Commercial Shellfish in Metropolitan Area

Jung Hun Park* and Kyu Bong Cho^{†,**}

Department of Biomedical Laboratory Science, Shinhan University, Uijeongbu 11644, Korea

This study was performed to investigate the contamination status of microorganisms that cause food poisoning in shellfish distributed in the metropolitan area of South Korea. The analyses were conducted according to the sample type, season, and region. In particular, the genotype of food poisoning viruses that explosively cause collective food poisoning was analyzed. Total 483 each of four types of shellfish (*Crassostrea gigas*, *Mytilus coruscus*, *Pectea albicans albicans*, and *Scapharca subcrenata*) were collected from four distribution sites located in the metropolitan area. We investigated foodborne pathogen by multiplex PCR and RT/Nested PCR from shellfish. As a result, *Vibrio parahaemolyticus* and *Bacillus cereus* were detected in 13 and 21 samples and *Norovirus* (NoV) GI and GII were detected in 7 and 12 samples, respectively. *V. parahaemolyticus* and NoV GI and GII showed differences in types of shellfish and seasons, and no correlation was confirmed with regional differences. Also, as a result of genotyping for the detected NoV GI and GII, they were confirmed as NoV GI.7, GI.5 and GII.3, which are causes of collective food poisoning. Therefore, cross-infection with shellfish can cause food poisoning. In particular, attention must be paid to the handling and cooking of shellfish in organizations that implement group feeding, and it is necessary to establish a management system for microorganisms that cause food poisoning in the process of shellfish farming and distribution.

Key Words: Shellfish, Foodborne Pathogen, PCR, Phylogenetic analysis

서 론

식중독은 식품에 의해 체내에 병원체가 유입되어 증식하거나 생성된 독소를 섭취하였을 때 발생하기 때문에 감염성(infection) 또는 독소형(intoxication) 질환으로 분류된다(Kwun and Lee, 2007). 식품의약품안전처에서 주요 식중독 원인 미생물로 지정한 *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus* 등 18종 세균과 *Norovirus* (NoV), *Sapovirus* (SV) 등 7종 바이러스는 주로 분변-구강 경로(fecal-oral route)로 감염되는데 특히 집단식중독 발생에 대한 문제가 대두되고 있다(Kang et al., 2018). 우리나라는 다양한 해산

물이 중요한 식재료로 사용되어져 왔으며 회와 같이 생 식으로도 많이 섭취되어 어류에 대한 식중독 원인 미생물에 대한 연구가 많이 진행되었다(Koo et al., 2012; Kim et al., 2016; Ahn et al., 2016; Kang et al., 2018). 외국의 경우에도 다양한 어패류에 대하여 채취부터 섭취까지 식중독 원인 미생물에 대한 많은 연구와 철저한 관리가 이루어지고 있다(Bellou et al., 2013; Elmahdi et al., 2016; Dumen et al., 2020). 반면 국내에서 기초 연구가 미비한 패류는 주로 연안해역에서 서식하며 인근 주거지, 가축사육지, 야생동물서식지, 선박계류장 등에서 배설된 분변 등이 강우 등의 영향을 받아 체내에 식중독 원인 미생물과 독성 물질들이 축적되어 보다 엄격한 관리가 필요하다(Oh et al.,

Received: May 11, 2022 / Revised: June 14, 2022 / Accepted: June 16, 2022

* Graduate student, ** Professor.

[†]Corresponding author: Kyu Bong Cho. Department of Biomedical Laboratory Science, Shinhan University, Uijeongbu 11644, Korea. Tel: +82-31-870-3712, Fax: +82-31-870-3719, e-mail: kbcho@shinhan.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

2012; Lee et al., 2010; Choi et al., 2012). 특히 식중독 원인 미생물 중 *V. parahaemolyticus*, *B. cereus*는 국내 집단식중독 발생의 주요 원인으로 다수의 환자가 발생하였으며, NoV는 국내뿐만 아니라 해외에서 굴을 매개체로 한 집단식중독의 원인으로 보고되었다(Park et al., 2014; Chiu et al., 2020). 또한 SV는 국내에서 연구가 전무 할 뿐만 아니라 국내외 학교, 요양시설 및 병원 등 다수의 기관에서 식중독 원인체로 확인되었다(Becker-Dreps et al., 2019; Lee et al., 2021). 이러한 문제들이 대두됨에 따라 국내에서 생식하는 패류에 대한 식중독 원인 세균과 바이러스의 오염실태에 대한 연구의 중요성이 높아지고 있다. 우리나라는 참굴뿐만 아니라 홍합, 가리비, 피조개 등 다양한 패류를 생식하는 식문화가 있어서 그로 인한 식중독이 발생되고 있을 것으로 예측되지만 역학조사의 부족으로 이에 대한 보고가 미흡하다. 또한 국내 패류 생산지역과 남부지역 유통현장의 참굴에서 NoV 오염에 대한 연구보고는 일부 있으나(Seo et al., 2012; Shin et al., 2014), 다량 유통되는 수도권 지역 유통현장에서의 식중독 원인 세균 및 바이러스에 대한 연구는 보고된 바가 없다. 따라서 분자적 진단을 통한 패류 생산지역과 유통현장의 식중독 원인 미생물 오염 현황에 대한 정확한 파악이 필요한 실정이다. 본 연구에서는 수도권 지역에 유통되고 있는 패류에 대한 식중독 원인 미생물의 오염 현황을 파악하고 폭발적 집단 감염을 유발하는 식중독 원인 바이러스의 오염여부 및 유전형질을 분석하고자 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

시료 수집

2020년 12월부터 2021년 9월까지 수도권에 소재한 4곳의 수산물도매시장에서 참굴(*Crassostrea gigas*) 152개, 홍합(*Mytilus coruscus*) 124개, 가리비(*Pectea albicans albicans*) 106개, 피조개(*Scapharca subcrenata*) 101개 등 총 483개를 구매하였으며 식중독 원인 미생물 검사를 위해 냉장상태를 유지하여 실험실로 운반하였다. 각 시료는 흐르는 물에 수세하여 표면의 불순물을 제거하였으며 냉장상태로 보관하여 24시간 내에 실험을 진행하였다.

시료 전 처리

시료 전 처리 과정은 식품의약품안전처 2021년 식중독 원인조사 시험법 가이드라인에 따라 진행하였다. 주요 식중독 원인 세균인 *V. parahaemolyticus*, *B. cereus* 등 8종을

분리하기 위해 시료 총 25 g과 Tryptic soy Broth Soybean-Casein Digest Medium (Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA), Listeria Enrichment Broth (Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA) 225 mL를 Bag-mixer로 mix 후 24, 48시간 동안 36°C에서 배양하여 DNA 추출을 위한 시료로 사용하였다.

주요 식중독 원인 바이러스인 NoV, SV를 분리하기 위해 패류 중장선 3~6 g에 3 mL의 Proteinase K (Sigma-Aldrich, Missouri, USA)를 분주하고 Tissue Homogenizer를 사용하여 균질화 하였으며 Shaking Incubation에서 37°C, 25 g로 60분간 반응 후 Water Bath에서 60°C로 15분간 추가로 반응시켰다. 이후 4,000 g로 원심분리하여 상층액은 RNA 추출을 위한 시료로 사용하였다.

Multiplex PCR에 의한 주요 식중독 원인 세균 검사

증균된 시료는 DNA Extraction Kit (Kogenebiotech, Seoul, Korea)에서 제공하는 방법에 따라 추출하였으며 시료 1 mL에 Lysis buffer A와 B를 각각 400 µL, 40 µL, Proteinase K와 RNase A를 10 µL씩 넣은 후 65°C로 60분간 항온수조에서 반응시킨 후 binding buffer 400 µL를 혼합하여 원심분리하였다. 상층액을 DNA binding column에 옮겨 14,328 g로 원심분리 후 washing buffer 600 µL로 세척하였다. 이후 elution buffer 100 µL를 넣고 3분 동안 6,368 g로 원심분리하여 DNA를 회수하였으며 Microvolume Spectrophotometer (PhileKorea, Seoul, Korea)로 순도와 수율을 측정 후 Multiplex PCR의 주형 핵산으로 사용하였다. 주요 식중독 원인 세균의 특이적 프라이머와 양성대조군은 Multiplex (8-plex) Pathogen Detection KIT (Kogene biotech, Seoul, Korea)에서 제공되는 혼합물을 사용하였다.

Multiplex PCR을 수행하기 위하여 Primer Mix 5 µL, 2X Premix 10 µL, 주형 핵산(total DNA 또는 양성대조군) 및 멸균증류수를 총 volume 20 µL로 반응하였다. 95°C에서 10분간 초기 변성단계 이후 95°C에서 30초간 변성, 60°C에서 30초간 결합, 72°C에서 30초간 신장의 단계를 35회 반복하였고 72°C에서 10분간 최종 신장하여 세균 종류별로 다른 Size의 특이적 유전자 단편을 증폭하였다. PCR 증폭산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동하여 결과를 분석하였다.

RT/Nested PCR에 의한 주요 식중독 원인 바이러스 검사

각 시료는 Universal RNA Extraction Kit (Bioneer Corporation, Daejeon, Korea)에서 제공하는 방법에 따라 추출하

Table 1. RT/Nested PCR primer sets of *Sapovirus* and *Norovirus* GI · GII

Virus	Target gene	Type	Name	Sequence (5'→3')	Polarity	Location	Size (bp)	Remark
<i>Sapovirus</i>	NS7-VP1	RT-PCR	SV-F13	GAY YWG GCY CTC GCY ACC TAC	+	5074~5094	803	KP298674.1
		RT-PCR	SV-R13	GGT GAN AYN CCA TTK TCC AT	-	5857~5876		
		Nested PCR	SV-F21	ANT AGT GTT TGA RAT GGA GGG	+	5157~5177	435	
		Nested PCR	SV-R2	GWG GGR TCA ACM CCW GGT GG	-	5572~5591		
<i>Norovirus</i> GI	VP1	RT-PCR	GI-F1M	CTG CCC GAA TTY GTA AAT GAT GAT	+	5339~5362	330	JQ388274.1
		RT-PCR	GI-R1M	CCA ACC CAR CCA TTR TAC ATY TG	-	5646~5668		
		Nested PCR	GI-F2-U	¹⁾ AAT ACG ACT CAC TAT AGA TGA TGA TGG CGT CTAAGG ACG C	+	5355~5377	314	
		Nested PCR	GI-R1M	CCA ACC CAR CCA TTR TAC ATY TG	-	5646~5668		
<i>Norovirus</i> GII	NS7-VP1	RT-PCR	GII-F1M	GGG AGG GCG ATC GCA ATC T	+	5058~5076	341	KX356908.1
		RT-PCR	GII-R1M	CCR CCI GCA TRI CCR TTR TAC AT	-	5376~5398		
		Nested PCR	GII-F3M	TTG TGA ATG AAG ATG GCG TCG ART	+	5088~5111	311	
		Nested PCR	GII-R1M-U	²⁾ GCG GAT AAC AAT TTC ACA CAG GCC RCC IGC ART ICC RTT RTA CAT	-	5376~5398		

¹⁾Universal Primer (T7), AATACGACTCACTATAG (17 bp); ²⁾Universal Primer (M13R), GCGGATAACAATTTACACAGG (22 bp)

였으며 시료 500 µL에 RB buffer 500 µL를 넣어 혼합한 후 19,502 g로 3분간 원심분리하였다. 상층액을 99% Ethanol 200 µL와 혼합하여 RNA를 침전하였으며 binding column으로 옮겨 원심분리 후 700 µL의 RWA1 buffer와 500 µL의 RWA2 buffer로 세척하였다. 이후 ER buffer 100 µL를 넣어 RNA를 회수하였으며 순도와 수율을 측정 후 RT/Nested PCR의 주형 핵산으로 사용하였다. NoV와 SV의 특이적 프라이머는 Table 1과 같이 제작하였으며, 양성대조군은 NoV GI (NCBI accession number JQ388274.1 기준 5,283~5,673), NoV GII (KX356908.1 기준 5,011~5,403) 및 SV (KP298674.1 기준 4,440~6,436)의 염기서열을 수집 후 (주)Macrogen (Seoul, Korea)에 의뢰하여 핵산을 합성하였다.

RT PCR을 수행하기 위하여 AccuPower[®] RT-PCR PreMix (Bioneer Coporation, Daejeon, Korea), 25 pmol 농도의 정방향·역방향 프라이머 2 µL, 주형 핵산(total RNA 또는 양성대조군) 1 µL 및 멸균증류수 17 µL로 총 volume 20 µL로 반응하였다. 45°C에서 60분간 역전사, 94°C에서 5분간 초기 변성단계 이후, 94°C에서 30초간 변성, 55°C에서 30초간 결합, 72°C에서 1분 30초 동안 신장단계를 35회 반복하였고 72°C에서 7분간 최종 신장하였다. Nested PCR을 수행하기 위하여 AccuPower[®] HotStart PreMix with UDG (Bioneer Coporation), 25 pmol 농도의 정방향·역방향 프라이머 2 µL, 주형 핵산(RT PCR 산물) 1 µL 및 멸균증류

수 17 µL로 총 volume 20 µL로 반응하였다. 94°C에서 5분간 초기 변성단계 이후, 94°C에서 30초간 변성, 55°C에서 30초간 결합, 72°C에서 1분 30초간 신장단계를 35회 반복하였고, 72°C에서 7분간 최종 신장하였다. PCR 증폭산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동하여 결과를 분석하였다.

주요 식중독 원인 바이러스의 염기서열 분석

전기영동 결과에서 단일 밴드가 확인된 시료의 경우 Total Fragment DNA Purification Kit (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea)의 PCR purification Protocol에 따라 정제하였다. Nested PCR 산물을 5X BNL Buffer와 혼합 후 column으로 옮겨 11,000 g로 30초간 원심분리하였다. 750 µL의 washing Buffer (added EtOH)를 사용하여 세척 후 elution buffer를 첨가하여 DNA를 정제하였다. 멀티 밴드가 확인된 시료의 경우 gel extraction 방법에 따라 정제하였다. 염기서열 분석이 필요한 밴드 위치의 agarose gel을 UV 상에서 잘라내어 500 µL의 BNL buffer와 혼합한 후 항온수조에서 55°C에서 10분간 반응시켰다. 이후 column에 옮겨 11,000 g로 30초간 원심분리 후 washing buffer와 elution buffer를 사용하여 DNA를 정제하였다.

정제된 DNA는 (주)Macrogen (Seoul, Korea)에 염기서열 분석을 의뢰하였으며, 유전형 분석을 위해 NoV GI.1~9 염기서열 28개, NoV GII.1~NA2 염기서열 36개와 대조군으로 *Sapovirus* (SV), *Human Rotavirus* (HuRV), *Hepatitis A*

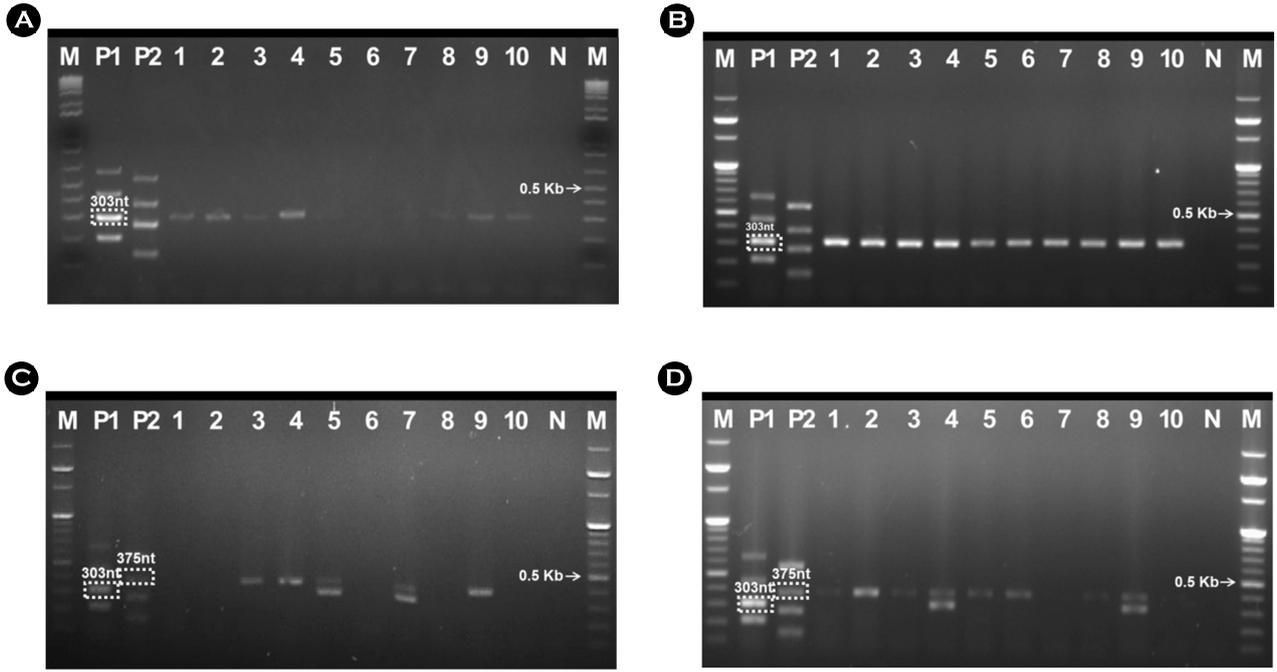


Fig. 1. Multiplex PCR of Foodborne Bacteria from Shellfish. M, 100 bp Ladder maker; P1, Positive Control DNA 1(*B. cereus*, amplicon size 303 nt); P2, Positive Control DNA 2 (*V. parahaemolyticus*, amplicon size 375 nt); Pannel A, Lane 1~10, *Crassostrea gigas* (Tongyeong) Sample 1~10; Pannel B, Lane 1~10, *Mytilus coruscus* (Tongyeong) Sample 1~10; Pannel C, Lane 1~10, *Mytilus coruscus* (Goheung) Sample 1~10; Pannel D, Lane 1~10, *Pectea albicans albicans* (Goheung) Sample 1~10; N, Negative Control.

virus (HAV) 및 Human *Astrovirus* (HuAstV)의 염기서열을 수집하였다. 양방향으로 분석된 염기서열과 수집한 염기서열을 합쳐 Bioedit ver.7.2.6으로 multiple sequence alignment를 진행하였다. 이후 NCBI BLAST를 사용하여 유사성을 분석하였으며, RIVM *Norovirus* Genotyping tool ver.2.0을 이용하여 세부 유전형을 확인하였다. 최종적으로 MEGA software ver.3으로 Neighbor-joining기반 phylogenetic tree를 제작하여 분석하였다.

결 과

주요 식중독 원인 세균 조사

식중독 원인 세균을 조사하기 위해 multiplex PCR을 수행하여 패류 종류별로 분석한 결과 Fig. 1과 같이 참굴, 홍합 및 가리비에서 각각 50개 중 7개(14%), 100개 중 12개(12%) 및 80개 중 2개(2.5%)에서 *B. cereus*가 검출되었으며, 또한 홍합 100개 중 5개(5%), 가리비 80개 중 8개(10%)에서 *V. parahaemolyticus*가 검출되었다. 이외의 패류에서는 식중독 원인 세균이 검출되지 않았다. 원산지별로 분석한 결과 Fig. 1과 같이 통영이 원산지인 패류 80개 중

17개(21.2%)의 시료에서 *B. cereus*가 검출되었으며 고흥이 원산지인 패류 90개 중 4개(4.4%)에서 *B. cereus*가, 13개(14.4%)에서 *V. parahaemolyticus*가 검출되었다. 이외의 원산지에서는 식중독 원인 세균이 검출되지 않았다. 계절별로 분석한 결과 Table 2, Fig. 1과 같이 12월~2월(겨울~봄)에 수집한 참굴 50개 중 7개(14%)에서 *B. cereus*가 검출되었다. 7월~9월(여름~가을)에 수집한 홍합, 가리비에서 각각 100개 중 17개(17%)의 *B. cereus*와 80개 중 10개(12.5%)의 *V. parahaemolyticus*가 검출되었다. 이외의 시료에서는 식중독 원인 세균이 검출되지 않았다.

주요 식중독 원인 바이러스 조사

식중독 원인 바이러스 조사를 위해 RT/Nested PCR을 수행하여 패류 종류별로 분석한 결과 모든 패류에서 SV는 검출되지 않았으며, 참굴 102개 중 7개(6.8%)에서 NoV GI, 12개(11.7%)에서 NoV GII가 검출되었다. 원산지별로 분석한 결과 참굴 102개 중 통영이 원산지인 1개(0.9%) 시료에서 NoV GI이 검출되었으며, 고흥이 원산지인 1개(0.9%) 시료에서 NoV GII가 검출되었다. 또한 참굴 102개 중 여수가 원산지인 3개(2.9%)의 시료에서 NoV GI이 검

Table 2. Seasonal difference of Foodborne Bacteria in Shellfish

Season	December ~ February				July ~ September				Total
Sample	<i>Crassostrea gigas</i>	<i>Mytilus coruscus</i>	<i>Pectea albicans albicans</i>	<i>Scapharca subcrenata</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	<i>Mytilus coruscus</i>	<i>Pectea albicans albicans</i>	<i>Scapharca subcrenata</i>	
Bacteria									
<i>Salmonella</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	7 (14)	-	-	-	-	12 (12)	2 (2.5)	-	21 (6.7)
<i>Escherichia coli</i> O157	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-	5 (5)	8 (10)	-	13 (4.1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Shigella</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	7 (14)	-	-	-	-	17 (17)	10 (12.5)	-	34 (10.9)

Table 3. Seasonal difference of Sapovirus and Norovirus GI · GII in Shellfish

Season	December ~ February				July ~ September				Total
Sample	<i>Crassostrea gigas</i>	<i>Mytilus coruscus</i>	<i>Pectea albicans albicans</i>	<i>Scapharca subcrenata</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	<i>Mytilus coruscus</i>	<i>Pectea albicans albicans</i>	<i>Scapharca subcrenata</i>	
Virus									
Sapovirus	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Norovirus GI	7 (6.8)	-	-	-	-	-	-	-	7 (6.8)
Norovirus GII	12 (11.7)	-	-	-	-	-	-	-	12 (11.7)
Total	19 (18.6)	-	-	-	-	-	-	-	-

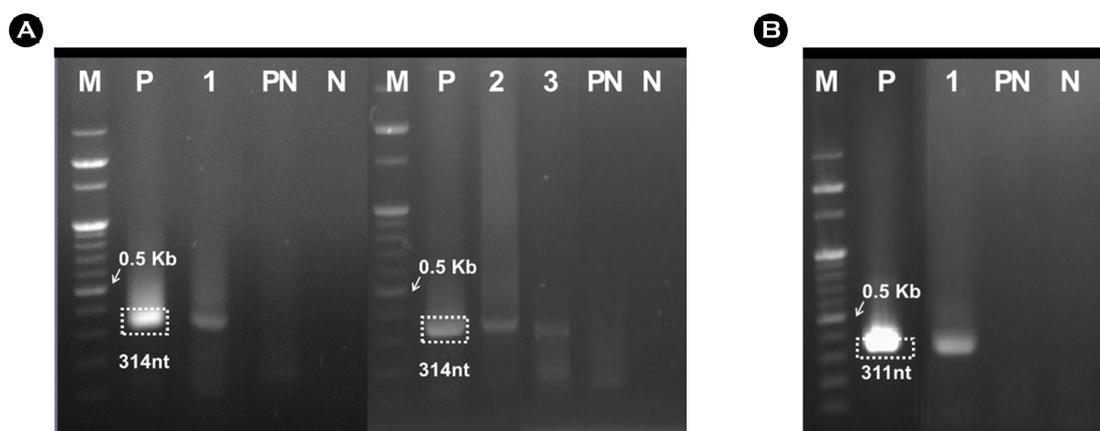


Fig. 2. Nested PCR of *Norovirus* GI · GII from Shellfish. M, 100 bp Ladder maker; Pannel A, P, Positive Control (*Norovirus* GI Plasmid); Lane 1, *Crassostrea gigas* (Tongyeong) sample; Lane 2~3, *Crassostrea gigas* (Incheon) sample; Pannel B, P, Positive Control (*Norovirus* GII Plasmid); Lane 1, *Crassostrea gigas* (Incheon) sample; PN, RT PCR Negative Control; N, Negative Control.

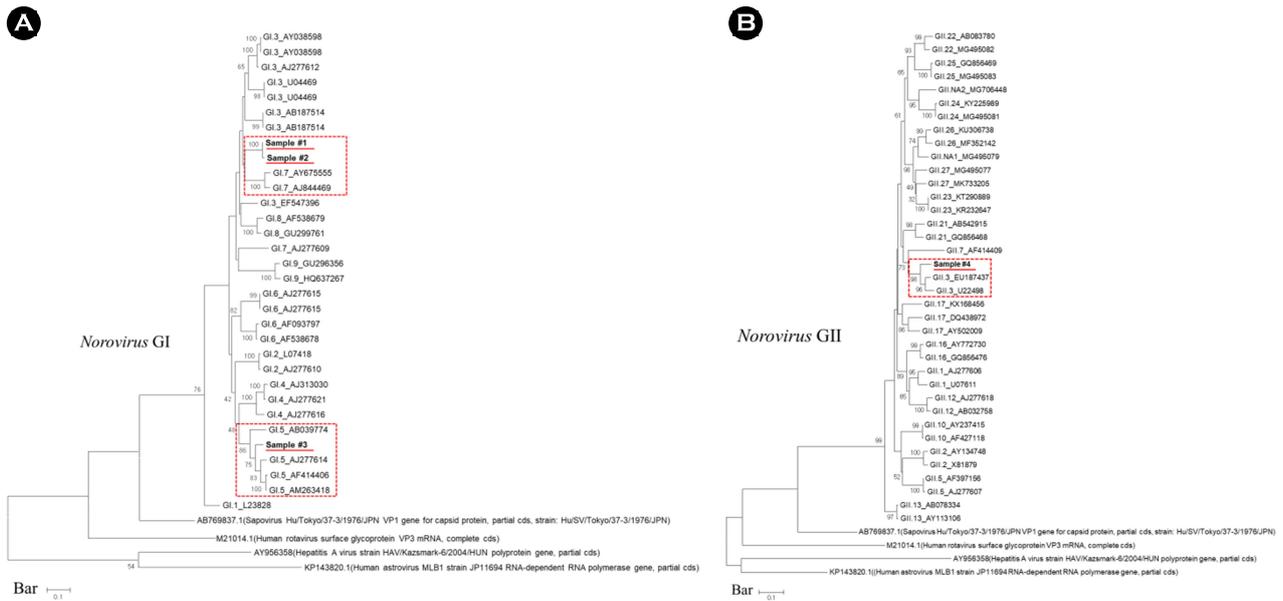


Fig. 3. Phylogenetic tree of *Norovirus* GI · GII in Shellfish. Pannel A, Sample #1, *Crassostrea gigas* (Tongyeong); Sample #2~3, *Crassostrea gigas* (Incheon); Pannel B, Sample #4, *Crassostrea gigas* (Incheon).

출되었으며, 9개(8.8%) 시료에서 NoV GII가 검출되었다. 참굴 102개 중 인천이 원산지인 경우 3개(2.9%) 시료에서 NoV GI이 검출되었으며, 2개(1.9%) 시료에서 NoV GII가 검출되었다. 계절별로 분석한 결과 Table 3, Fig. 2와 같이 12월~2월(겨울~봄)에는 102개 중 7개(6.8%)의 참굴에서 NoV GI이 검출되었으며, 12개(11.7%)의 참굴에서 NoV GII가 검출되었다. 7월~9월(여름~가을)에는 SV 및 NoV GI, GII가 검출되지 않았다.

주요 식중독 원인 바이러스 계통수 분석

분석된 NoV 염기서열에 대한 NCBI BLAST 결과 Sample #1~2는 NoV GI.3와 99.19%, 98.58%, Sample #3은 NoV GI.5와 100%, Sample #4는 NoV GII.3와 98.99%의 유사성이 확인되었다. RIVM *Norovirus* Genotyping tool 분석 결과 Sample #1~2는 NoV GI.7, Sample #3은 NoV GI.5, Sample #4는 NoV GII.3로 나타났으며, Fig. 3과 같이 Sample #1~2는 99% 유사성인 NoV GI.3보다 100% 유사성인 NoV GI.7 (AY675555, AJ844469)과 유연관계가 높았으며, Sample #3은 NoV GI.5 (AB039774, AJ277614, AF414406, AM263418), Sample #4는 NoV GII.3 (EU187437, U22498)와 유연관계가 높음을 확인하였다. 이외의 Sample은 염기서열 분석 결과 noise signal 등 비특이적 증폭이 확인되어 계통수 분석에서 제외하였다.

고 찰

본 연구에서는 국내에서 다양한 식재료로 활용되며 주로 생식으로 많은 섭취가 이루어지는 여러 종류의 패류에 대한 미생물학적 안전성을 확인하고자 식중독 원인 미생물의 분포를 비교분석을 하였으며 특히 폭발적으로 식중독을 유발하는 바이러스의 분포 및 유전형을 분석하고자 하였다. 연구 결과, *V. parahaemolyticus*의 경우 홍합에서 5%, 가리비에서 10%가 검출되어 기존 국내 참굴을 대상으로 한 연구보다는 낮았다(Kang et al., 2016). 기타 폴란드 17.5%, 중국 33.3% 등의 국외 보고보다도 상대적으로 낮게 검출되었다(Lopatek et al., 2015; Xie et al., 2016). 최근 국내에서 보고된 어류에서의 *V. parahaemolyticus* 검출률 16.8% 보다도 낮게 분포함이 확인되었다(Lee et al., 2019). 이러한 경향은 *V. parahaemolyticus*의 낮은 검출률에도 교차 감염으로 인한 집단식중독의 가능성이 존재하기에 지속적인 모니터링이 필수적이며, 이번 연구에서 검출한 *toxR* 유전자 이외에도 빈번하게 보고되는 *trh*, *tdh* 유전자에 대한 후속연구가 진행된다면 주요 병원성 인자를 가지는 *V. parahaemolyticus*에 대한 체계적인 관리가 될 것으로 사료된다. 또한 *B. cereus*의 오염여부를 분석한 결과, 참굴에서 14%, 홍합에서 12%, 가리비에서 2.5%가 검출되어 기존 국내 참굴을 대상으로 한 *B. cereus*의 검출률보다

보다 낮게 검출되었으며(Kim et al., 2017), 최근 대만에서 보고한 2.5%의 검출률 보다는 국내 패류가 높게 오염되어 있음이 확인되었다(Hsu et al., 2021). 이외에도 국외의 어류, 갑각류, 두족류를 대상으로 분석된 38%로 보다는 훨씬 낮은 검출률을 나타내었다(Rahmati and Labbe, 2008). 이러한 경향은 오염된 토양의 *B. cereus*가 다양한 수산물 표면이나 체내로 축적되어 유통과정에서 교차 오염이 진행될 것으로 사료되며 작업환경에 대한 철저한 위생관리가 필요할 것으로 판단된다. SV의 경우 최근 국내에서 25세 미만과 50세 이상의 국민에서 각각 16%, 12%의 식중독 발생률이 보고되고 있으며, 국내 고등학교에서도 17건의 SV에 의한 식중독 발생이 보고되었으나 이번 패류를 대상으로 한 연구에서는 검출되지 않아 패류와의 연관성은 확인되지 않았다(Li et al., 2020; Cho et al., 2020). 이처럼 기존 국내에서 검출된 SV는 바이러스 변이로 인한 다양한 유전형이 확인되었으며 이에 따른 급성위장염이 발생할 확률이 높아짐에 따라 지속적인 모니터링이 필수적이다. 또한 NoV의 오염여부를 분석한 결과 참굴에서 18.6%가 검출되어 기존 국내 참굴을 대상으로 한 연구에서의 검출률 38%에 비하여 낮게 검출되었으며(Shin et al., 2014), 이탈리아, 스페인에서의 14.2%, 12.2% 보다는 높은 검출률을 나타내었고 싱가포르의 30%의 검출률 보다는 낮게 검출되어 양식장 및 유통과정에서의 NoV에 대한 관리가 국외보다는 잘 이루어지고 있음이 확인되었다(La Bella et al., 2017; de Oliveira-Tozetto et al., 2021; Ho et al., 2015). NoV의 관리가 잘 이루어지고 있음에도 지속적으로 식중독 발생이 보고되는데 이는 특히 바이러스로 인한 질병 확산속도가 매우 빠르기 때문에 교차 감염 등의 원인을 파악하는 게 중요하며 철저한 역학조사가 필수적이다. NoV는 GI~GX의 유전형이 존재하며 이 중 GI, GII, GIV는 인체에 감염되며 집단식중독을 유발하는데 이의 존재여부를 분석하는 것은 식중독 유발 원인 바이러스로서의 역할 여부를 판별하는데 매우 중요하다(Chhabra et al., 2019; Han and Chung, 2017). 본 연구에서 검출된 NoV에 대하여 유전형을 분석한 결과 GI.7, GI.5 및 GII.3로 확인되었다. 국외에서 분석된 유전형은 주로 GI.2, GI.3, GII.17으로 차이가 있었으며(Ho et al., 2015; Chiu et al., 2020; Cheng et al., 2017), 2013년 국내 고등학교 8명에게서 발생한 식중독의 NoV 유전형인 GII.4, GII.11 및 GII.14, 국외의 집단식중독 원인체인 NoV GII.4와도 차이를 나타냈다(Cho et al., 2016; Widdowson et al., 2004; Bull et al., 2006; Park et al., 2010). 하지만 최근 NoV GI.7, GI.5 및 GII.3

에 대한 집단식중독 발생이 보고되어 검출된 유전형이 식중독을 유발하는 주요 대상을 알 수 있었다(Marques Mendanha de Oliveira et al., 2014; Li et al., 2018; Fu et al., 2021). 이로 인하여 패류로 인한 교차 감염의 가능성이 상존하며 특히 집단 급식을 시행하는 기관, 학교 등의 패류 취급 및 조리 시 주의를 요하고 패류 양식과 유통과정에서의 식중독 유발 미생물에 대한 안전성 확보 및 체계적 관리를 위한 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

ACKNOWLEDGEMENT

None.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

REFERENCES

- Ahn SJ, Chung HY, Lim SY, et al. Complete genome of *Vibrio parahaemolyticus* FORC014 isolated from the toothfish. *Gut Pathog.* 2016. 8: 59.
- Becker-Dreps S, Bucardo F, Vinjé J. *Sapovirus*: an important cause of acute gastroenteritis in children. *Lancet Child Adolesc Health.* 2019. 3: 758-759.
- Bellou M, Kokkinos P, Vantarakis A. Shellfish-borne viral outbreaks: a systematic review. *Food Environ Virol.* 2013. 5: 13-23.
- Bull RA, Tu ET, McIver CJ, et al. Emergence of a new norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis. *J Clin Microbiol.* 2006. 44: 327-333.
- Cheng HY, Hung MN, Chen WC, et al. Ice-associated *Norovirus* outbreak predominantly caused by GII.17 in Taiwan, 2015. *BMC Public Health.* 2017. 17: 870.
- Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, et al. Updated classification of *Norovirus* genogroups and genotypes. *J Gen Virol.* 2019. 100: 1393-1406.
- Chiu SC, Hsu JK, Hu SC, et al. Molecular Epidemiology of GI.3 *Norovirus* Outbreaks from Acute Gastroenteritis Surveillance System in Taiwan, 2015-2019. *Biomed Res Int.* 2020. 4707538: 1-9.
- Choi ES, Kim NH, Lee SH, Lee MS, Rhee HJ. Seafood and Bacteria. *KoSForS.* 2012. 7: 3-13.
- Cho HG, Lee SG, Lee MY, et al. An outbreak of norovirus infection associated with fermented oyster consumption in

- South Korea, 2013. *Epidemiol Infect.* 2016. 144: 2759-2764.
- Cho SR, Yun SJ, Chae SJ, et al. An Outbreak Associated with *Sapovirus* GI.3 in an Elementary School in Gyeonggi-do, Korea. *J Korean Med Sci.* 2020. 35: e281.
- de Oliveira-Tozetto S, Santiso-Bellón C, Ferrer-Chirivella JM, et al. Epidemiological and Genetic Characterization of *Sapovirus* in Patients with Acute Gastroenteritis in Valencia (Spain). *Viruses.* 2021. 184: 1-11.
- Dumen E, Ekici G, Ergin S, Bayrakal GM. Presence of Foodborne Pathogens in Seafood and Risk Ranking for Pathogens. *Food-borne Pathog. Dis.* 2020. 17: 541-546.
- Elmahdi S, DaSilva LV, Parveen S. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in various countries: A review. *Food Microbiol.* 2016. 57: 128-134.
- Fu J, Ai J, Bao C, et al. Evolution of the GII.3[P12] *Norovirus* from 2010 to 2019 in Jiangsu, China. *Gut Pathog.* 2021. 13: 34.
- Han TH, Chung JY. Recent advances in *Norovirus* infection. *Journal of the Korean Medical Association.* 2017. 60: 985-991.
- Ho ZJ, Vithia G, Ng CG, et al. Emergence of *Norovirus* GI.2 outbreaks in military camps in Singapore. *Int J Infect Dis.* 2015. 31: 23-30.
- Hsu TK, Tsai HC, Hsu BM, Yang YY, Chen JS. Prevalence, enterotoxin-gene profiles, antimicrobial resistance, and genetic diversity of *Bacillus cereus* group in aquatic environments and shellfish. *Sci Total Environ.* 2021. 758: 143665.
- Kang CH, Shin YJ, Kim WR, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from oysters in Korea. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2016. 23: 918-926.
- Kang CR, Kim YY, Lee JI, et al. An Outbreak of Scombroid Fish Poisoning Associated with Consumption of Yellowtail Fish in Seoul, Korea. *J Korean Med Sci.* 2018. 33: e235.
- Kim HW, Hong YJ, Jo JI, et al. Raw ready-to-eat seafood safety: microbiological quality of the various seafood species available in fishery, hyper and online markets. *Lett Appl Microbiol.* 2017. 64: 27-34.
- Kim SY, Chung HY, Lee DH, et al. Complete genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus* strain FORC 008, a foodborne pathogen from a flounder fish in South Korea. *Pathog Dis.* 2016. 74: ftw044.
- Koo HJ, Kwak HS, Yoon SH, et al. Phylogenetic group distribution and prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* isolates from food samples in South Korea. *World J Microbiol Biotechnol.* 2012. 28: 1813-1816.
- Kwon JW, Lee CH. Trends of Recent Food-Borne Disease Outbreaks in Korea. *Journal of the Korean Medical Association.* 2007. 50: 573-581.
- La Bella G, Martella, V, Basanisi MG, et al. Food-Borne Viruses in Shellfish: Investigation on *Norovirus* and HAV Presence in Apulia (SE Italy). *Food Environ Virol.* 2017. 9: 179-186.
- Lee S, Bae KS, Lee JY, et al. Development of Molecular Diagnostic System with High Sensitivity for the Detection of Human *Sapovirus* from Water Environments. *Biomed Sci Letters.* 2021. 27: 35-43.
- Lee TS, Oh EG, Yoo HD, et al. Impact of Rainfall Events on the Bacteriological Water Quality of the Shellfish Growing Area in Korea. *Korean J Fish Aquat Sci.* 2010. 43: 406-414.
- Lee Y, Choi Y, Lee S, et al. Occurrence of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in seafood distribution channels and their antibiotic resistance profiles in S. Korea. *Lett Appl Microbiol.* 2019. 68: 128-133.
- Li J, Gao X, Ye YL, et al. An acute gastroenteritis outbreak associated with person-to-person transmission in a primary school in Shanghai: first report of a GI.5 *Norovirus* outbreak in China. *BMC Infect Dis.* 2018. 18: 316.
- Li JY, Mai W, Tan HQ, et al. An outbreak of acute gastroenteritis caused by *Sapovirus* in a community of Guangdong province. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2020. 41: 226-230.
- Lopatek M, Wiczorek K, Osek J. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Raw Shellfish in Poland. *J Food Prot.* 2015. 78: 1029-1033.
- Marques Mendanha de Oliveira D, Souza M, Souza Fiaccadori F, César Pereira Santos H, das Dôres de Paula Cardoso D. Monitoring of *Calicivirus* among day-care children: evidence of asymptomatic viral excretion and first report of GI.7 *Norovirus* and GI.3 *Sapovirus* in Brazil. *J Med Virol.* 2014. 86: 1569-1575.
- Oh EG, Yoo HD, Yu HS, et al. Removal of Fecal Indicator Bacteria from Bivalves under Natural and Electrolyzed Water. *Korean J Fish Aquat Sci.* 2012. 45: 11-16.
- Park KS, Jeong HS, Baek KA, et al. Genetic analysis of norovirus GII.4 variants circulating in Korea in 2008. *Arch Virol.* 2010. 1550: 635-41.
- Park WJ, Ryu HY, Lim GY, Lee YD, Park JH. Microbial Prevalence and Quality of Organic Farm Produce from Various Production Sites. *Korean J Food Sci Technol.* 2014. 46: 262-267.
- Rahmati T, Labbe R. Levels and toxigenicity of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* from retail seafood. *J Food Prot.* 2008. 71: 1178-1185.
- Seo DJ, Son NR, Seo SW, et al. Seafood and Viruses. *Safe Food.*

2012. 7: 14-23.

Shin BS, Oh EG, Lee HJ, et al. *Norovirus* Quantification in Oysters *Crassostrea gigas* Collected from Tongyeong, Korea. Korean J Fish Aquat Sci. 2014. 47: 501-507.

Widdowson MA, Cramer EH, Hadley L, et al. Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus--United States, 2002. J Infect Dis. 2004. 190: 27-36.

Xie T, Xu X, Wu Q, Zhang J, Cheng J. Prevalence, Molecular Characterization, and Antibiotic Susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus*

from Ready-to-Eat Foods in China. Front Microbiol. 2016. 7: 549.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2022.28.2.83>

Cite this article as: Park JH, Cho KB. Genetic Diversity of Foodborne Pathogen Detected in Commercial Shellfish in Metropolitan Area. Biomedical Science Letters. 2022. 28: 83-91.