pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 39, No. 1, pp. 9~15 (2024)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2024.39.1.9

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

부산지역에서 유통되는 신선농산물 중 리스테리아균 분포에 관한 연구

옥연주* · 권영희 · 황혜선 · 변예지 · 박지영 · 김병준
부산광역시 보건환경연구원 식중독검사팀

A Study of the Distribution of *Listeria* spp. in Fresh Agricultural Products Distributed in the Busan Area, the Republic of Korea

Youn-ju Ok*, Young-hee Kwon, Hye-sun Hwang, Ye-jee Byun, Ji-young Park, Byung-jun Kim
Busan Metropolitan City Research Institute of Health and Environment, Foodborne Pathogen Inspection Team, Busan, Korea

(Received Septmeber 12, 2023/Revised December 11, 2023/Accepted January 9, 2024)

ABSTRACT - This study was performed to survey the distribution of *Listeria* spp. in fresh agricultural products in the Busan area, the Republic of Korea, from January to November 2022. We investigated the pathogenicity and epidemiological relationships by tracing isolated strains using polymerase chain reaction and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) methods. Forty cases of *Listeria* spp. were detected in the 210 samples of fresh agricultural products analyzed. Four species, *Listeria rocourtiae, L. innocua, L. grayi*, and *L. monocytogenes* were detected only in green vegetables (lettuce, perilla leaps) and the others (*L. innocua, L. monocytogenes*, and *L. grayi*) were detected in enoki and oyster mushrooms. *L. innocua* was detected in 22 samples and *L. grayi* in six samples. *L. monocytogenes*, which causes foodborne diseases, was only detected in enoki mushrooms and the strains that were isolated had genes responsible for the pathogenicity of listeriosis (*iap, prfA, inlA, inlC, inlJ,* and *hly*). To investigate the genetic similarity and contamination route of *L. monocytogenes*, serotyping and PFGE were conducted for 12 strains isolated from fresh agricultural (10 strains) and poultry (2 strains) products distributed at a market in the Busan area. Two serotypes (1/2a, 1/2b) were detected in strains isolated from the agricultural and poultry products, but serotype 1/2b was only detected in strains isolated from agricultural products. PFGE analysis showed index of similarity values of 45.7 to 100% and the same patterns were represented in isolates from some enoki mushrooms. These isolates had the same serotypes and showed significant epidemiological relationships.

Key words: *Listeria* spp., PFGE, *Listeriosis*, Pathogenicity

리스테리아균에 의한 식중독은 국내에서는 발생 빈도가 낮지만 높은 치사율 때문에 임상적으로 중요한 질병으로 분류된다[1]. 인체 감염 시 발열, 두통, 설사, 근육통 등 식중독 증상을 유발하는 그람양성, 통성혐기성 간균으로, 리스테리아균속 중 식중독을 유발하는 균주는 *Listeria monocytogenes*와 *L. ivanovii* 2종으로 알려져 있다[1]. 리스테리아 식중독은 주로 리스테리아 모노사이토제네스에 의해 발생하는데[1], 국내·외 연구에 따르면 *L. monocytogenes*가 보유한 특이 유전자에 의해 식중독이 발생하며, 대표적인 유전자는 *iap, prfA, hly* 등이 있다. 이들 유전자는 숙주세포 침습과 관련한 단백질 생산, 숙주세포 침입 및 숙주세포의 식포 융해를 통해 식중독을 유발한다[2]. *L. monocytogenes*는 총 13개의 혈청형이 있고, 식중독을 유발하는 것으로 알려진 혈청형은 1/2a, 1/2b, 1/2c, 4b으로 알려져 있다[2]. 식품의약품안전평가원에 따른 국내에서 분리된 리스테리아균 91주 중 43%가 1/2a형으로 나타났으나, 국내 식중독 사고 균주의 혈청형은 1/2b형으로 보고된 바 있다[2].

*L. monocytogenes*는 인간과 동물에 병원성을 나타내며 감염된 젖소에서 생산되는 원유 가축의 배설물로 오염된 식재료를 통해 사람에게 감염을 일으킬 수 있다[3]. 저온에

*Correspondence to: Youn-ju Ok, Busan Metropolitan City Institute of Health & Environment, Busan 46616, Korea
Tel: +82-51-309-2883, Fax: +82-51-309-2829
E-mail: mejoo1212@korea.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal 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.

서도 성장이 가능하여 냉장유통이 발달한 선진국에서 주로 발생하며[1], 우유, 치즈, 식육 등 냉장보관 식품에 분포하고 국내 유통 훈제연어에서도 검출된 사례가 있다[4].

Lomonaco 등[5]은 최근 유럽에서 샌드위치, 샐러드와 같은 식품 섭취로 리스테리아 식중독이 증가하고 있다고 보고한 바 있으며, 2020년에는 미국으로 수출된 한국산 팽이버섯에서 *L. monocytogenes*균이 검출되었고, 이 균에 오염된 팽이버섯 섭취로 4명이 사망하고 2명이 유산하는 사고가 발생한 것으로 보고된 바 있다[6]. 국내에서는 팽이버섯을 일반적으로 가열 조리 후 섭취하여 식중독 발생사례가 없으나, 미국 등 일부 국가에서 샐러드 형태로 섭취하여 리스테리아균에 의한 식중독 사례가 보고되고 있다[7]. 네덜란드에서 2014년부터 2017년까지 한국산 팽이버섯 조사결과 총 5건의 *L. monocytogenes* 검출사례가 보고되었는데[8], 유럽에서는 팽이버섯이 샐러드용으로 분류되어 즉석섭취식품의 기준을 적용하며, *L. monocytogenes*는 100 CFU/g 으로 관리되고 있다[9]. 리스테리아균은 70°C 이상 가열할 경우 사멸한다고 알려져 있어[10], 식재료에 균이 생존한다면 생식으로 섭취할 경우 식중독 발생 위험이 높다. 한국에서도 최근 대형마트, 편의점 등에서 샐러드류의 판매가 증가하고 있고 건강한 식문화 선호에 따른 채식인구 증가로 상추, 깻잎 등 쌈채소나 새싹채소, 샐러드 등 신선채소류 소비가 증가하고 있어 이에 따른 식품 위생상 안전성이 요구된다.

본 연구는 부산시에서 유통되는 신선농산물을 대상으로 품종에 따른 리스테리아균 분포현황을 알아보고 *L. monocytogenes* 등 식중독을 유발하는 균종을 분리하여 병원성 유전자 보유현황을 확인하고자 한다. 또한 분리균주에 대한 혈청형검사 및 유전자지문분석(pulsed field gel electrophorisis, PFGE)을 통해 분리균주의 유전학적 특성을 파악하여 식중독 예방을 위한 연구자료로 활용하고자 한다.

Materials and Methods

검사대상 시료

본 연구에 사용한 검체는 부산지역에서 유통 중인 농산물 중 단순가공 처리 후 섭취할 수 있는 채소류와 버섯류를 대상으로 하였다. 2022년 1월부터 11월까지 부산시 관내 마트 및 농산물시장에서 채소류 43건, 버섯류 167건 등 총 210건을 수거하여 검사하였다. 세척 후 바로 섭취하거나 샐러드 재료로 사용하는 품목으로 상추 17건, 깻잎 5건, 쌈배추 8건 및 치커리 3건, 토마토 5건, 오이 3건, 당근 2건을 수거하였다. 송이, 표고버섯 등 생식으로 섭취할 수 있는 버섯류 34건, 찌개나 전골요리에 자주 사용하는 새송이, 느타리 등 53건, 식중독 발생사례가 있는 팽이버섯 80건을 수거, 검사하였다.

또한 부산지역 식재료에 분포하는 리스테리아균의 유전적 특성 및 역학적 연관성 분석을 위해 2022년 부산지역 유통 가금류에서 분리 한 *L. monocytogenes*균 2종을 본 조사에 사용하였으며 신선농산물 분리균주와 비교 분석하였다.

리스테리아균의 분리 동정

식품의약품안전처의 식품공전 미생물시험법 중 리스테리아 모노사이토제네스항을 참고하였다[11]. 검체 25 g을 취하여 225 mL의 리스테리아 증균배지(Listeria Enrichment Broth, LEB; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)를 가한 후 30°C에서 48시간 배양하였다. 증균배양액을 Oxford 한천배지(Oxoid, Basingstoke, England)에 접종하여 35-37°C에서 24-48시간 배양한 후 리스테리아균의 전형적인 집락이 확인되면 0.6% yeast extract가 포함된 tryptic soy agar (TSA, Becton Dickinson)에 접종하여 30°C에서 24-48시간 배양하여 실험을 위한 균주로 사용하였다. 분리된 균주는 *Listeria* 16s rRNA gene 확인을 통해 리스테리아균으로 분류하였으며, 분석에 사용한 primer 서열 및 조건은 Table 1과 같다. Polymerase chain reaction (PCR) 검사결과 리스테리아로 확인된 균주에 대해 VITEK GP (BioMerieux, Craponne, France)를 이용하여 최종 동정하였다.

병원성 유전자 및 혈청형 검사

연구대상 균주 중 *L. monocytogenes*균으로 최종 확인된 균주에 대해 병원성 유전자 확인 및 혈청형 검사를 진행하였다. 리스테리아 식중독은 병원성을 유발하는 특이유전자가 원인으로 알려져 있으며 *prfA, inlA, inlB, vip, iap, ami, llo, actA, bsh* 등이 있다[12]. 본 연구에서는 분리된 균주를 대상으로 리스테리아 식중독을 유발하는 특이유전자인 *iap, hly, inlA, inlC, inlJ* 및 *prfA* 등 6종의 보유여부를 확인하였다. 우선 DNA 추출을 위해 순수 분리한 균을 멸균 증류수에 현탁하여 100°C에서 10분간 끓인 후 4°C, 12,000 rpm에서, 5분간 원심분리한 후 상층액을 분리하여 사용하였다. 분석에 사용한 primer 서열 및 실험조건은 Table 1과 같으며 PCR 결과는 자동전기영동장치(QIAxcel Advenced, QIAgen, Germantown, MD, USA)로 확인하였다.

혈청형 확인시험은 분리 된 *L. monocytogenes*균의 O-항원 및 H-항원을 검사하였으며, 분석에 사용한 시약은 *Listeria* antisera set (Denka-Seiken, Tokyo, Japan)로 제조사 방법에 따라 수행하였다.

유전자지문 분석

신선채소류에서 분리한 *L. monocytogenes* 균주들 간의 유전학적 유사도를 비교하기 위해 유전자지문분석(PFGE)을 실시하였다. 또한 신선채소류 분리균주와의 비교분석을 위해 2022년 부산지역에서 유통되는 닭고기 및 오리고

Table 1. Primers and PCR cyclic conditions used for detection of *Listerira* spp. and pathogenic genes

Target genes	Primer sequences(5`→3`)	Product size (bp)	References	PCR cyclic conditions
16s rRNA	(F) CTC CAT AAA GGT GAC CCT (R) CAG CMG CCG CGG TAA TWC	938	Tang et al.[12], 2017	95°C 5 min, [95°C 45 sec, 55°C 1 min, 72°C 90 sec]-35 cycles, 72°C 5 min
prfA	(F) CTG TTG GAG CTC TTC TTG GTG AAG CAA TCG (R) AGC AAC CTC GGT ACC ATA TAC TAA CTC	1060	Notermans et al.[14], 1991	95°C 2 min, [95°C 15 sec, 60°C 30 sec, 72°C 90 sec]-30 cycles, 72°C 10 min
hly	(F) GAC CTT CCA GAT TTT TCG GC (R) CAC AAG TGG TAA GTT CCG	719	MFDS[10], 2022	95°C 5 min, [94°C 1 min, 56°C 1 min, 72°C 1 min]-35 cycles, 72°C 10 min
inlA	(F) ACG AGT AAC GGG ACA AAT GC (R) CCC GAC AGT GGT GCT AGA TT	800	Liu et al.[15], 2007	94°C 2 min, [94°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 1 min]-30 cycles, 72°C 10 min
inlC	(F) AAT TCC CAC AGG ACA CAA CC (R) CGG GAA TGC AAT TTT TCA CTA	517		
inlJ	(F) TGT AAC CCC GCT TAC ACA GTT (R) AGC GGC TTG GCA GTC TAA TA	238		
iap	(F) ACA AGC TGC ACC TGT TGC AG (R) TGA CAG CGT GTG TAG TAG CA	131	Furrer et al.[16], 1991	95°C 2 min, [95°C 15 sec, 60°C 30 sec, 72°C 90 sec]-35 cycles, 72°C 10 min

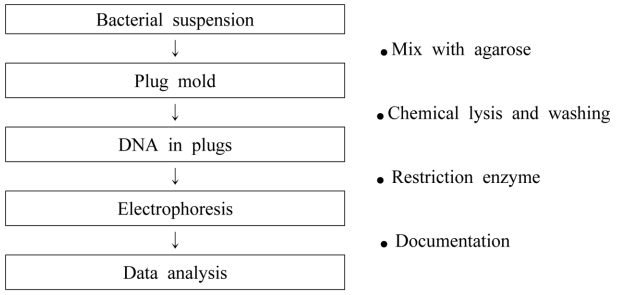

Fig. 1. Flow chart of PFGE.

기 가공육에서 분리한 *L. monocytogenes*균 2건을 사용하여 신선채소류 분리균주와 함께 분석하였다. 분석방법은 식품의약품안전평가원 식중독균 PFGE 검사 매뉴얼을 참고하였고[17] 전체적인 흐름도는 Fig. 1과 같다. 우선, 순수 분리된 균을 cell suspension tris-EDTA (TE) buffer (10 mM tris; 1 mM EDTA, pH 7.5)와 lysozyme solution을 넣어 현탁시키고 같은 양의 1.2% Seakem gold agarose (FMC Bioproducts, Rockland, ME, USA)를 섞어 plug를 제조하였다. 제조 된 plug는 proteinase K가 들어있는 cell lysis buffer (50 mM tris, 50 mM EDTA, pH 9.0; 1% sodium-lauroyl-sarcosin)에 넣어 균을 용균시킨 후 세척하였다. 용균 처리된 plug는 *ApaI* (New England Biolabs, NEB; Ipswich, MA, USA)에서 반응시킨 후에 CHEF mapper apparatus (Bio-Rad, Richmond, CA, USA)에서 1% agarose gel에 넣어 0.5X tris-brate-EDTA buffer, 6 V/cm, 14°C, initial time 4초에서 final time 40초 switch time의 조건으로 22시간 동안 전기영동 하였다. 분석 시 PFGE 표준균주(*Salmonella* Breanderup BAA-664)도 함께 배양하여 사용하였다. 각 PFGE 유형사이의 유사도는 BioNumeric software V5.0 (Applied Math, Kortrijk, Belgium)을 사용하여 분석하였다. Band pattern의 분석은 dice cofficient와 1.5% tolerance를 적용하였고, dendrogram은 unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA) 방법으로 작성하였다.

Results and Discussion

리스테리아균 분리 현황

부산지역 신선농산물 210건을 대상으로 리스테리아균을 분리한 결과는 Table 2와 같다. 총 40건의 리스테리아균이 검출되었으며 검출률은 19.0%로 나타났다. *L. grayi* 6건, *L. innocua* 22건, *L. monocytogenes* 10건, *L. rocourtiae* 2건으로 나타났는데 채소류에서는 들깻잎 및 쌈배추에서 *L. rocourtiae* 2건이 분리되었으며, 다른 리스테리아균은 검출되지 않았다. 버섯류에서는 38건의 리스테리아균이 검출되었으며 검출률은 22.8%로 나타났다. 송이버섯에서 *L. grayi* 2건이 검출되었으며, 느타리버섯에서 *L. grayi* 1건,

Table 2. *Listeria* spp. isolated from fresh agriculture products in Busan area

Classification	No. of samples	No. (%) of detection	*Listeria* spp. (detection rate %)			
			L. grayi	*L. innocua*	*L. monocytogenes*	*L. rocourtiae*
Vegetables	43	2(4.7)	-	-	-	2(4.7)
Lettuce	17	-	-	-	-	-
Sesame leaf	5	1(20.0)	-	-	-	1(20.0)
Cabbage	8	1(12.5)	-	-	-	1(12.5)
Chicory	3	-	-	-	-	-
Tomato	5	-	-	-	-	-
Cucumber	3	-	-	-	-	-
Carrot	2	-	-	-	-	-
Mushrooms	167	38(22.8)	6(3.6)	22(13.2)	10(6.0)	-
Shiitake mushroom	6	-	-	-	-	-
Button mushroom	28	2(6.9)	2(6.9)	-	-	-
Oyster mushroom	32	2(6.3)	1(3.1)	1(3.1)	-	-
King oyster mushroom	21	-	-	-	-	-
Enoki mushroom	80	34(42.5)	3(3.8)	21(26.3)	10(12.5)	-
Total	210	40(19.0)	6(2.9)	22(13.2)	10(4.8)	2(1.0)

L. innocua 1건이 검출되었다. 팽이버섯에서는 *L. grayi* 3건, *L. innocua* 21건, *L. monocytogenes* 10건이 분리되어 다른 버섯류 및 채소류에 비해 검출률이 높게 나타났다. 연구대상 신선농산물 중 리스테리아속의 검출률은 버섯류에서 높게 나타났는데, *L. grayi*, *L. innocua*는 느타리버섯, 송이버섯에서도 검출되었지만, *L. monocytogenes*는 팽이버섯에서만 검출되었고 검출률은 12.5%로 나타났다. *L. monocytogenes*를 제외한 *L. grayi, L. innocua, L. rocourtiae* 등은 병원성이 없다고 알려져 있는데[1], Yang[18]에 따르면 국내 소비량이 많은 표고, 느타리, 새송이, 팽이, 양송이 등 5종의 버섯을 대상으로 *L. monocytogenes* 분포 조사 결과, 팽이버섯에서만 *L. monocytogenes*균이 검출되었다고 보고하고 있어 본 연구결과와 일치함을 알 수 있었다.

병원성 유전자 분석 결과

부산지역 신선농산물에서 분리한 *L. monocytogenes* 균주에 대한 병원성 유전자 보유 여부를 분석하였으며, 분석결과는 Table 3과 같다. 지역 가금류 분리 *L. monocytogenes* 균주에 대해서도 동일한 분석을 진행하여 신선농산물과 비교하였다. 신선농산물 분리균주에서 병원성 유발 유전

Table 3. Pathogenic genes of *L. monocytogenes* isolated from mushrooms and poultry in Busan area

No.	Strains	Products	Pathogenic genes
1	2022_LM_01	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA, hly*
2	2022_LM_02	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA, hly*
3	2022_LM_03	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA*
4	2022_LM_04	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA, hly*
5	2022_LM_05	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA, hly*
6	2022_LM_06	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA*
7	2022_LM_07	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA, hly*
8	2022_LM_08	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA, hly*
9	2022_LM_09	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA*
10	2022_LM_10	Enoki mushroom	*iap, inl (A,C J), prfA*
11	2022_LM_11	Chicken	*iap, inl (A,C J), prfA, hly*
12	2022_LM_12	Duck	*iap, inl (A,C J), prfA, hly*

자 중 *iap, prfA, inlA, inlC, inlJ* 5개 유전자는 10개 균주에서 모두 확인되었으며, *hly*는 전체 10개 균주 중 6개 균주에서만 확인되었다. 가금류 분리 균주 2주에서는 *iap*, *prfA*, *hly* 유전자 및 internalin 단백질이 모두 확인되었다.

Jamali 등[19]에 따르면 *L. monocytogenes*는 대부분 병원성 유전자를 가지고 있는 것으로 보고하였고, Liu 등[15]은 *L. monocytogenes*의 식중독 발현은 균이 가지고 있는 특이 독성유전자 및 internalin 단백질과 관련이 있다고 하였다. *hly* 유전자는 숙주세포 침입 및 숙주세포 식포 용해에 관여한다고 보고된 바 있다[1]. 본 연구결과, 부산지역 신선농산물 및 가금류에서 분리한 *L. monocytogenes* 12개 균주는 병원성유전자 및 internalin 단백질을 보유한 것으로 나타나, 식중독 발생 위험이 존재함을 확인할 수 있었다.

혈청형 분석 결과

신선농산물에서 분리한 *L. monocytogenes* 10개 균주 및 가금류에서 분리한 *L. monocytogenes* 2개 균주에 대해 혈청형 분석을 실시하였고, 분석결과는 Table 4와 같다. *L. monocytogenes*는 신선농산물 중 한국산 팽이버섯에서만 검출되었으며, 혈청형은 1/2a 6균주, 1/2b형 4균주로 나타났다. 동일 기간 부산지역 가금류에서 분리 된 균주 2건은 모두 1/2a형으로 확인되었다.

Allerberger[20]에 따르면, 리스테리아 모노사이토제네스는 13개의 혈청형(1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, 7)으로 분류으로 분류된다고 보고하였고, Gwak 등[2]은 인체에 감염을 일으키는 혈청형은 1/2a, 1/2b, 1/2c, 4b형이라고 하였다. Jin 등[21]에 따르면 국내 유통 연어 제품 중 *L. monocytogenes* 혈청형 조사결과 1/2b, 1/2a 순으로 우세한 것으로 보고하였으나, 2011년에서 2018년까지 국내 식품 및 환경에서 분리한 리스테리아균에 대한 혈청형 조사[2]에 따르면 1/2a, 1/2b형이 차지하는 비율이 타 혈청형에 비해 높은 것으로 나타나, 본 연구 결과와 동일함을 알 수 있었다.

분리균주 사이의 유전학적 연관성

2022년 1월-11월 부산지역 신선농산물에서 분리 한 *L. monocytogenes* 10개 균주 및 유통 가금육에서 분리한 *L. monocytogenes* 2개 균주에 대해 PFGE를 이용한 유전자 지문분석을 실시하였다(Fig. 2). 전체 균주의 유사도는 100-45.7%로 나타났으며 90% 이상 상동성을 보인 클러스터(cluster)는 3개로 나타났다. 유사도가 100% 일치하는 클러스터는 2022_LM_09와 2022_LM_10 균주(Fig. 2A) 및 2022_LM_04와 2022_LM_05 균주(Fig. 2B)로 나타났다. 분리된 균주들의 생산지역에 따른 혈청형 및 생산농장 확인 결과(Table 4), *L. monocytogenes*균이 검출된 생산지역은 경북 5곳, 경남 2곳, 전남 3곳, 경기 1곳, 전북 1곳으로 확인되었으며, 해당 제품군의 생산농장은 모두 7곳으로, A사 1건, B사 4건, C사 1건, D사 2건, E사 1건, F사 2건, G사 1건으로 나타났다. 2022_LM_09와 2022_LM_10 균주는 동일 지역에서 생산된 팽이버섯에서 분리되었으며, 2022_LM_04와 2022_LM_05 균주는 동일 농장에서 생산된 팽이버섯에서 분리되어 오염원의 출처가 같은 것으로 사료된다. C 농장(Table 4)에서 생산된 2022_LM_04 및 2022_LM_05 균주와 다른 균주들 간의 유사도가 45.7%로 낮게 나타났는데, 이 지역에 별개의 오염원이 존재하거나 타지역과 교류가 적기 때문으로 생각된다. *L. monocytogenes* 균이 2건 이상 분리된 B사 및 D사를 대상으로 분리된 균의 혈청형 확인 결과, D사는 1/2a형으로 동일하였으나 B사는 1/2a, 1/2b 두 가지 serotype으로 나타났고, 유전자지문 분석결과 동일한 상동성을 가진 클러스터도 확인되지 않아 지속적으로 다양한 오염원이 유입되는 것으로 판단되었다. 팽이버섯에서 분리한 2022_LM_08 균주 및 국내

Table 4. Serotypes of *L. monocytogenes* isolated from mushrooms and poultry of cultivation area

Cultivation area	Manufacturing company	Strains	Products	Serotype
Gyeonggi province	A	2022_LM_11	Chicken	1/2a
Gyeongbuk province	B	2022_LM_01	Enoki mushroom	1/2a
Gyeongbuk province	B	2022_LM_02	Enoki mushroom	1/2a
Gyeongbuk province	B	2022_LM_03	Enoki mushroom	1/2b
Gyeongbuk province	C	2022_LM_09	Enoki mushroom	1/2b
Gyeongbuk province	B	2022_LM_10	Enoki mushroom	1/2b
Gyeongnam province	D	2022_LM_04	Enoki mushroom	1/2a
Gyeongnam province	D	2022_LM_05	Enoki mushroom	1/2a
Jeonbuk province	E	2022_LM_12	Duck	1/2a
Jeonnam province	F	2022_LM_06	Enoki mushroom	1/2b
Jeonnam province	F	2022_LM_07	Enoki mushroom	1/2a
Jeonnam province	G	2022_LM_08	Enoki mushroom	1/2a

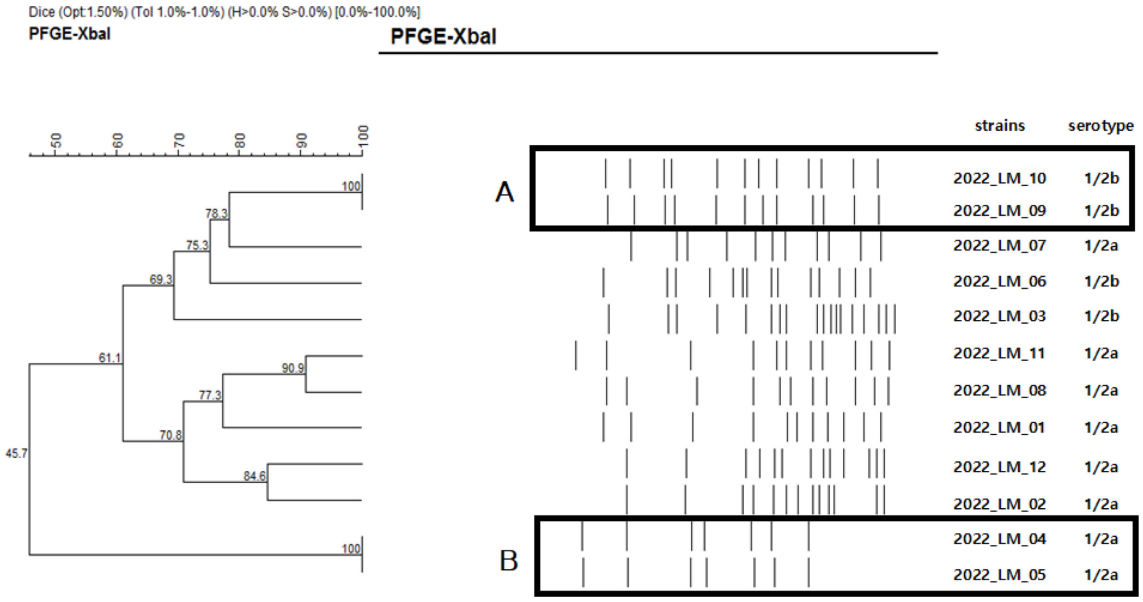

Fig. 2. PFGE analytical results of *L. monocytogenes* (A, B : Strains of 100% relationship).

산 닭고기에서 분리한 2022_LM_11 균주의 유사도가 90.9%, 팽이버섯 분리 02번 균주와 국내산 오리고기 분리 12번 균주의 유사도는 84.6%로 높은 유사도를 나타내었다. 팽이버섯 생산지역과 가금육 생산지역이 서로 원거리에 위치한 것으로 확인되어(Table 4), 두 생산시설 사이의 오염원 이동 및 교차 가능성을 추측할 수 있었다.

Kang[22]은 국내 버섯 생산에 따른 폐배지가 연간 100톤 이상 배출된다고 보고하였는데, 국내 버섯 폐배지 활용사례를 조사한 결과, Cheong 등[23]에 의한 팽이버섯 균사체를 육계용 사료로 활용한 연구가 진행된 것을 확인할 수 있었다. 버섯 폐배지의 효과적인 처리를 위한 팽이버섯농장과 육계농장간 교류에 따른 오염원 이동으로 사료되어진다. 다만, 농장간의 이동에 의한 리스테리아균 오염 사례는 확인할 수 없어 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

농촌진흥청의 보도자료[24]에 따르면 팽이버섯 재배 시 *L. monocytogenes*균 오염 원인은 접종, 배양, 균 긁기, 발이, 억제(권지), 생육의 6단계 생산과정 중, 주로 균을 긁는 과정에서 사용하는 칼날의 위생불량, 버섯 성장을 억제하기 위해 고깔을 씌우는 권지 과정에서 고깔의 오염으로 발생하는 것으로 나타났다. 이 밖에 작업자 및 작업장의 위생상태 불량도 팽이버섯 위생상태에 영향을 미치는 것으로 조사되어 팽이버섯 취급 및 섭취 시 위생적인 관리가 필요할 것으로 판단된다. 팽이버섯의 경우 다발성 구조로 인해 세척과정에서 제거가 어려우므로[7], 리스테리아균 오염이 우려되는 팽이버섯류는 섭취 전 충분한 가열과 식재료 취급 시 위생관리에 주의하여 식중독 발생에 대비할 필요가 있다.

국문요약

2022년 1월부터 11월까지 부산지역에서 유통 중인 신선농산물 210건을 대상으로 리스테리아균 분포 현황 및 병원성 여부를 조사하였으며, 분리된 균주를 대상으로 혈청형 및 유전자 지문분석을 통해 역학적 연관성을 확인하였다. 조사 대상 신선농산물에서 총 40건의 리스테리아균이 검출되었으며, *Listeria monocytogenes* 등 4종의 리스테리아균이 검출되었다. 이 중 *L. innocua*가 22건, *L. monocytogenes* 10건, *L. grayi* 6건, *L. rocourtiae* 2건으로 나타났으며, 이 중 식중독을 유발하는 *L. monocytogenes*균은 팽이버섯에서만 검출되었다. *L. monocytogenes*의 병원성을 유발하는 유전자인 *iap, prfA, inlA, inlC, inlJ* 및 *hly* 6종에 대한 분석 결과, 총 10개 균주 중 6개 균주에서 *iap* 등 6종의 병원성 유발 유전자가 검출되었으며, 4개 균주에서 *hly*를 제외한 5종의 유전자가 검출되어 식중독 발생 잠재위험이 있음이 확인되었다. 지역 유통 식재료에 분포하는 *L. monocytogenes*의 유전학적 유사도 및 오염원 추이를 확인하기 위해 신선농산물에서 분리한 *L. monocytogenes* 10균주 및 2022년 부산지역 유통 가금류에서 분리한 *L. monocytogenes* 2균주를 대상으로 혈청형 분석 및 PFGE를 실시한 결과, 신선농산물 분리균주의 혈청형은 1/2a 및 1/2b 두 가지 serotype으로 확인되었으며, 가금류 분리균주는 모두 1/2a형으로 나타났다. 유전자지문분석결과, 전체 균주의 유사도는 100-45.7%로 나타났고, 이 중 100% 상동성을 보인 균주들은 동일 생산농장 또는 동일지역 유래 팽이버섯에서 분리되어 오염원의 출처가 같음을 추측할 수 있었다. 신선농산물 분리균주와 유통 가

금육 분리균주와의 유사도 확인 결과, 일부 팽이버섯 분리균주와 가금육 분리균주의 유사도가 90.9-84.6%로 나타났다. 농산물 및 축산물 생산시설간 오염원 이동 및 교차 가능성을 유추할 수 있었다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Youn-Ju Ok	https://orcid.org/0009-0007-7219-9740
Young-hee Kwon	https://orcid.org/0009-0004-7991-977x
Hye-sun Hwang	https://orcid.org/0009-0002-8581-2763
Ye-jee Byun	https://orcid.org/0009-0003-7357-7943
Ji-young Park	https://orcid.org/0000-0002-8754-8292
Byung-jun Kim	https://orcid.org/0000-0002-6753-4520

References

1. Korea Food and Drug Administration (KFDA), 2013. An illustration of pathogenic microorganisms, Seoul, Korea, pp. 82-89.
2. Ministry of Food and Drug safety (MFDS), 2019. Food poisoning bacteria characteristics analysis report *Listeria monocytogenes*, MFDS, Cheongju, Korea, pp. 1-20.
3. Low, J.C., Donachie, W., A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Vet. J.,* **153**, 9-29 (1997).
4. Pointdaily, (2022, December 11). *Listeria monocytogene*s detected in 11 smoked salmon products. Retrieved from http://www.thekpm.com/news/articleView.html?idxno=63709
5. Lomonaco, S., Nucera, D. Filipello, V., The evolution and epidemiology of *Listeria monocytogenes* in Europe and the United States. *Infect. Genet. Evol*., **35**, 172-183 (2015).
6. DONG-A ILBO, (2022, August 20), Four killed after eating Korean enoki mushrooms in the U.S. Retrieved from https://www.donga.com/news/article/all/20200312/100133882/2
7. Lee, H.D., Yu, B.K., Seo, D.S., Kim, S.R., Lee, C.J., Kwak, K.S., Efficacy of *Listeria innocua* reduction on Enoki mushrooms by utilization of an air sterilization device. *J. Mushrooms*, **19**, 210-215 (2021).
8. Pennone, V., Lehardy, A., Coffey, A., Mcauliffe, O., Jordan, K., Diversity of *Listeria monocytogenes* strains isolated from *Agaricus bisporus* mushroom production. *J. Appl. Microbiol.,* **125**, 586-595 (2018).
9. Food Safety Authority of Ireland, (2022, December 15). 1st trimester national microbiological survey 2006 (06NS1): Microbiological safety/quality of raw mushrooms. Retrived from https://www.fsai.ie/getmedia/dcf6c81e-fa79-44f8-b106-a9baef51da52/raw_mushrooms.aspx?ext=.pdf.
10. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2022. The method for investigating the cause of food poisoning 2022, Cheongju, Korea, pp. 40-44.
11. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2022. Food control act guidelines for standard procedures for preparing food test methods, Cheongju, Korea, pp. 483-527.
12. Ray, B., Bhunia, A., 2007. Fundamental food microbiology, 4th ed, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 288-294.
13. Tang, J.Y.H., Razali, N.A.S., Jalil, L.A., Mat-sa'ad, S.H., Detection of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in vegetables by loop-mediated isothermal amplifcation (LAMP) and multiplex polymerase chain reaction (PCR), *J. Fund. Appl. Sci*., **9**, 698-714 (2017).
14. Notermans, S.H., Dufrenne, J., Leimeister-Wachter, M., Domann, E., Chakraborty, T., Phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity as a marker to distinguish between pathogenic and non-pathogenic *Listeria* species. *Appl. Envrion. Microbiol.,* **57**, 2666-2670 (1991).
15. Liu, D., Lawrence, M.L., Austin, F.W., Ainsworth, A.J., A multiplex PCR for species-and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *J. Microbiol. Methods*, **71**, 133-140 (2007).
16. Furrer, B., Candrian, U., Hoefelein, C., Luethy, J., Detection and identification of *Listeria monocytogenes* in cooked sausage products and in milk by in vitro amplification of haemolysin gene fragments. *J. Appl. Bacteriol*., **70**, 372-379 (1991).
17. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation (NIFDS), 2010. PFGE manual for food poisoning bacteria, NIFDS, Seoul, Korea, pp. 3-23.
18. Yang, C.W., Inspection of *Listeria monocytogenes* in Enoki mushrooms distributed in Korea. Master Thesis, Korea University, Seoul, Korea (2021).
19. Jamali, H., Paydar, M., Ismail, S., Looi, C.Y., Wong, W.F., Radmehr, B., Abedini, A., Prevalence, antimicrobial susceptibility and virulotyping of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolated from open-air fish markets. *BMC Microbiol*., **15**, 144 (2015).
20. Allerberger, F., *Listeria*: Growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*., **35**, 183-189 (2003).
21. Jin, Y.H., Ryu, S.H., Kwak, J.E., Kim, R.R., Choi, Y.H., Lee, M.S., Hwang, I.S., Prevalence, virulence characteristics and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from salmon products. *Korean J. Food Sci. Technol.* **53**, 495-500 (2021).
22. Kang, H.W., Industrial utilization of spent mushroom substrate. *J. Mushrooms*, **17**, 85-92 (2017).
23. Cheong, J.C., Jhune, C.S., Kim, S.H., Jang, K.Y., Park, J.S., Na. J.C., Chun. M.H., Effect of adding of *Flammulina velutipes* cultivation media wastes into chicken feed on the meat quality and production cost of broiler. *Kor. J. Mycol*., **34**, 29-33 (2006).
24. National Institute of Horticultural and Herbal Science, (2022, August 22). Hygiene management of export enoki mushroom cultivation. Retrieved from http://www.nihhs.go.kr/usr/nihhs/news_Press_view.do?dataNo=100000 767716/