

# 수거 축산물내 *Listeria* 屬菌의 분리율 조사

이우원 · 진주은 · 정경태 · 이강록

축산물위생검사소

## 수거 축산물내 *Listeria* 屬菌의 분리율 조사

### 축산물위생검사소

이우원 · 진주은 · 정경태 · 이강록

#### I. 서 론

*Listeria* spp.는 Gram 양성의 비아포성 단간균으로서 *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. dentrificans* 및 *L. murrayi*의 8균종으로 분류되며, 이들 중 *Listeria monocytogenes*는 리스테리아병의 원인이 된다.

리스테리아병은 반추동물에서 신경증상을 주증으로하여 각종 신경장애를 일으키는 질병으로 알려져 왔으나 최근 미국, 캐나다, 스위스 등에서 *L. monocytogenes*가 오염된 양배추 샐러드, 저온살균유, 치즈 등에 의한 식중독 환자가 발생하여 높은 사망률을 나타냄으로써 *L. monocytogenes*는 식품위생학의 입장에서 주요한 병원균으로 부각하게 되었다.

*L. monocytogenes*는 많은 동물을 포함하여 자연계에 널리 분포되어 있으므로 이들 동물로부터 유래되는 식품은 오염될 수 있는 기회가 대단히 많으나 식육을 통한 인체감염 예는 보고된 바 없다. 그러나 식육 및 계육에 있어서 *Listeria* spp.의 분리율을 보면 Lee와 McClain은 마쇄한 쇠고기의 70.0%, 돼지고기 소세지의 43.0% 및 계육의 48.0%에서 *L. monocytogenes*가 분리되었다고 하였고, Kwantes와 Issac은 신선한 계육 및 냉동계육에서 57.0%, Gitter는 시판 계육의 15.0%와 냉동계육의

10.7%에서 *L. monocytogenes*가 오염되어 있었다는 보고 등 *L. monocytogenes*는 식육 및 계육 등에서 높은 분리율을 보이고 있으며 5℃ 이하의 저온보존에서도 증식하는 점으로 미루어 볼 때 *L. monocytogenes*의 인체감염은 오염된 식육, 계육 등의 동물성 식품이 주요한 전염원이 될 것으로 추측된다.

이에 따라 여러 가지 원인식품으로부터 *L. monocytogenes*의 분리를 시도하고 있으나 식품내의 다른 오염균으로 인하여 *L. monocytogenes*의 분리에 어려움이 있어 식품내에서 *Listeria* spp.를 효과적이고 신속한 분리를 위한 방법들이 연구되고 있다.

*L. monocytogenes*의 serotype은 Seeliger의 분리기준에 따라 7종류의 serotype로 나누고 있으나 이들 중 type 1-4의 subgroup과 type 7이 병원성과 관계되며, 특히 type 1과 4가 *Listeria* 감염동물로부터 분리되는 것으로 보고되어 있다.

본 연구는 시중에서 유통되고 있는 축산물에 대하여 *Listeria* spp.의 분리율을 조사하고, 분리균의 생화학적 특성을 파악함으로써 오염경로를 차단하여 리스테리아 균증 예방의 기초자료로 활용하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시재료

공시재료는 1999년 2월부터 11월에 걸쳐 시중에서 유통되고 있는 축산물 205건을 공시재료로 사용하였다. 공시재료의 축산물별 종류는 냉장축산물 107건(유가공품 41, 식육가공품 66), 냉동축산물 98건(유가공품 21, 식육가공품 25, 식육 52건)이었다.

### 2. *Listeria* spp.의 분리배양

*Listeria* spp.의 분리는 축산물의 가공기준 및 성분규격 및 USDA의 분리방법에 따라 실시하였다. 즉, 멸균된 stomach bag에 실험재료 25g과 PALCAM broth 225ml를 첨가하여 stomacher로 균질화 시킨 후 30℃에서 24시간 증균 배양하였다. 이 배양액을

PALCAM agar에 희선도말하여 35℃에서 48시간 배양 후 리스테리아균의 전형적인 집락 모양인 진한 갈색 또는 검은색 환으로 둘러싸인 집락을 선택하여 0.6% yeast extract가 함유된 tryptic soy agar(TSA-YE)에 도말하고 35℃에서 24시간 배양한 다음 생화학적 성상검사를 실시하였다.

### 3. *Listeria* spp.의 생화학적 성상검사

분리균은 Seeliger Jones 또는 Lovett의 방법에 따라 생화학적 성상을 검사하였다. 즉, Gram염색, 운동성, beta-hemolysis, catalase, urea, MR/VP, nitrate 환원시험과 esculin, glucose, maltose, mannitol, rhamnose 및 xylose 분해시험을 실시하였다. Hemoysin 산생시험은 37℃에서 48시간 동안 배양한 TSA-YE 배양균을 면양혈액 한천배지에 한 장당 15-20균주를 천자배양하여 37℃에서 48시간 동안 배양한 다음 양성과 음성 대조균을 참고로하여 용혈성의 여부를 판정하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. *Listeria* spp.의 분리율

최근 외국에서는 *L. monocytogenes*는 우유, 치즈와 같은 유제품과 상치, 양배추와 같은 식물성 식품은 물론 계육과 식육 등의 동물성 식품에서 높은 분리율을 보이고 있다. *Listeria* spp.의 분리율은 표 1에서와 같이 총 205검체 중 3검체에서 분리되어 1.5%의 분리율을 나타내었다. 시료별로 보면 냉장축산물107건(유가공품 41, 식육가공품 66) 및 냉동축산물인 유가공품 21건, 식육가공품 25건에서는 리스테리아 속균이 분리되지 않았고, 냉동축산물인 식육 52건(쇠고기 17, 돼지고기 19, 닭고기 16)중 쇠고기와 돼지고기에서는 리스테리아 속균이 분리되지 않았으나 닭고기 16예중 3예에서 분리되어 18.8%의 분리율을 보였다. 공시재료 205건으로부터 *Listeria grayi* 2주(1.0%), *Listeria ivanovii* 1주(0.5%)가 분리되었다.

Table 1. Isolation rates of *Listeria* spp. in meats, meat and dairy products

Source	Samples	No. of samples	<i>Listeria</i> spp.(%)	
			<i>Listeria grayi</i>	<i>Listeria ivanovii</i>
Refrigeration foods	Meat product	66	0	0
	Dairy product	41	0	0
Freezing foods	Meat	52	2(3.8)	1(1.9)
	Meat product	25	0	0
	Dairy product	21	0	0
Total		205	2(1.0)	1(0.5)

이와같은 결과는 시판 닭고기에서 Genigeorgis 등이 40.6%, Farber등이 56.3%, 도계육으로부터 Fletcher등이 38.0%의 *L. monocytogenes*를 분리보고하였으나, 본 실험에 공시된 재료에서 *L. monocytogenes*는 한건도 분리되지 않았고 닭고기에서 *L. grayi* 2주, *L. ivanovii* 1주가 분리되어 상이한 차이를 나타내었다. 이러한 차이점은 식육에 리스테리아 속균의 오염도가 낮다고 볼 수 있으며, 또한 축산물가공품에서 리스테리아 속균이 단 한건도 분리되지 않는 것으로 보아 가공 공정상 멸균 또는 살균에 의하여 리스테리아 속균이 사멸된 것으로 추측된다.

일반적으로 병원성 세균의 분리율은 시료의 종류에 따라서 결과가 달라질 수 있음은 물론 분리방법, 시료의 상태, 분리지역에 따라 많은 변화가 있기 때문에 향후 리스테리아 속균을 비롯하여 식중독균 분리에 많은 관심을 가져야 할 것으로 판단된다.

## 2. *Listeria* spp.의 생화학적 특성

분리된 *Listeria* spp.의 생화학적인 특성은 표2에서 보는 바와 같다. 전균주가 운동성, catalase, MR/VP 시험에서 양성이었다. TSI 시험에서 acid slant/acid butt를 나타내었으나 H<sub>2</sub>S 음성이었고, dextrose, esculin, maltose를 분해하였으며, urease,

Table 2. Cultural and biochemical properties of *Listeria* isolates

Test	No. of positive	
	<i>L. grayi</i> (n=2)	<i>L. ivanovii</i> (n=1)
Motility	2	1
Hemolysis	0	1
Catalase	2	1
TSI(A/A, no H <sub>2</sub> S)	2	1
MR	2	1
VP	2	1
Urea	0	0
Nitrate reduction	0	0
Dextrose	2	1
Esculin	2	1
Maltose	2	1
Mannitol	2	0
Rhamnose	0	0
Xylose	0	1
CAMP for <i>S. aureus</i>	0	0
Indole	0	0

indole, nitrate 환원시험 및 rhamnose 분해시험에서 음성이었다. 또한 면양 혈액 한천배지상에서 *Staphylococcus aureus*와의 CAMP 시험에서 음성이었다.

분리균주의 생화학적 특성의 차이점은 면양 혈액 한천배지상에서 hemolysis 유무를 검사한 결과 *L. grayi*는 음성을 나타내었으나 *L. ivanovii*는 양성이었다고, mannitol 분해시험에서는 *L. grayi*는 양성인 반면 *L. ivanovii*는 음성을 나타내었다. 반대로 xylose 분해시험에서는 *L. ivanovii*는 양성인 반면 *L. grayi*는 음성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 Seeliger와 Jones, Lovett, Doyle, Truscott, Genigeorgis 등의 분리기준과

일치하였다.

본 실험의 처음 의도는 축산물에서 리스테리아병의 원인균인 *L. monocytogenes*를 분리동정하여 생화학적 특성 파악, 혈청형 규명 및 약제감수성시험 등을 실시하여 시민의 보건향상의 기초자료로 활용할 계획이었으나 리스테리아병의 원인균인 *L. monocytogenes*가 한 건도 분리되지 않아 기대효과에 미치지 못해 아쉬운 점이 남아 있다. 한편으로는 유통 축산물 및 축산물가공품에 *L. monocytogenes*가 오염되어 있지 않았다는 점에서 다행스럽다고 판단된다. 향후 보다 다양하고 많은 시료를 통해 본 균에 대한 연구가 계속되어야 할 것으로 기대된다.

#### IV. 결 론

최근 선진국에서는 *L. monocytogenes*는 우유, 치즈와 같은 유제품과 삼치, 양배추와 같은 식물성 식품은 물론 계육과 식육 등의 동물성 식품에서 높은 분리율을 보이고 있다. 본 연구에서는 시중에서 유통되고 있는 축산물에 대하여 *Listeria* spp.의 분리율을 조사하고, 분리균의 생화학적 특성을 파악하여 오염경로를 차단하여 리스테리아균증 예방의 기초자료로 활용하고자 205건의 검체로부터 *Listeria* spp.를 분리한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 205검체 중 3검체에서 분리되어 1.5%의 분리율을 나타내었다. 시료별로 보면 축산물가공품 153건, 쇠고기 17건 및 돼지고기 19건에서는 리스테리아 속균이 분리되지 않았으나, 닭고기 16예중 3예에서 분리되어 18.8%의 분리율을 보였다. 분리균은 공시재료 205건으로부터 *Listeria grayi* 2주(1.0%), *Listeria ivanovii* 1주(0.5%)가 분리되었다.
2. 분리된 *Listeria* spp.의 생화학적인 특성은 전균주가 운동성, catalase, MR/VP 시험에서 양성하였고, TSI 시험에서 acid slant/acid butt를 나타내었으나 H<sub>2</sub>S 음성이었고, dextrose, esculin, maltose를 분해하였으며 urease, indole, nitrate 환원시험 및 rhamnose 분해시험에서 음성이었다. 또한 편양 혈액 한천배지상에서 *Staphylococcus aureus*와의 CAMP 시험에서 음성이었다.

## Literature Cited

1. Anonymous. 1987. Listeriosis warning from Switzerland. Newsletter No. 14. Institute of Veterinary Medicine - Robert von Ostertag Institute, Berlin.
2. Armstrong, D. 1985. *Listeria monocytogenes*. In "Principles and practices of infectious diseases". 2nd ed., ed. G. L. Mandell, R. G. Douglas Jr., and J. E. Bennett. p. 1177. John Wiley and Sons, New York.
3. Bannerman, E. S. and J. Bille. 1988. A new selective medium for isolating *Listeria* spp. from heavily contaminated material. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 165-167.
4. Bryant, M. C. 1972. Antibiotics and their laboratory control. 2nd ed. London : Butterworth and Co. Ltd. 63-65.
5. Cassiday, P. K., R. E. Brackett and L. R. Beuckat. 1989. Evaluation of three newly developed direct plating media to enumerate *Listeria monocytogenes* in foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 : 1645-1648.
6. Despierres, M. 1971. Isolation of *Listeria monocytogenes* in a medium inhibitory to *Streptococcus faecalis*. *Ann. Unst. Pasteur(Paris)*. 121 : 493-501.
7. Dijkstra, R. G. 1979. *Listeria monocytogenes* in intestinal contents and feces from healthy broilers of different ages in the letter and its cattle. pp. 289 : 294. In I. Ivanov(ed.), Proc. 7th Inter. Symp. on Problems of Listeriosis. National Agroindustrial for Scientific Information, Sofia.
8. Dijkstra, R. G. 1976. Listeriosis-encephalitis in cows through litter from a broilers from Ibl. *Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B* 161 : 383-385.
9. Doyle, M. P. and J. L. Schoeni. 1987. Comparison of procedures for isolation of *Listeria monocytogenes* in soft, surface-ripened cheese. *J. Food Prot.* 50 : 4-6.
10. Doyle, M. P. and J. L. Schoeni. 1986. Selective-enrichment procedure for isolation of *Listeria monocytogenes* from fecal and biological specimens. *Appl. Environ. Microbiol.* 51 : 1127-1129.
11. Elischerova, K., S. Stupalova and J. Stepanek. 1979. Some ecological aspects of



- Listeria monocytogenes* in meat industry. pp. 148-155. In I. Ivanov(ed.), Proc. 7th Inter. Symp. of problems of listeriosis. National Agroindustrial Union, Center for Scientific Information, Sofia.
12. Elmer, H. M. 1988. Disease characteristic of *Listeria monocytogenes*. Food Technol., Overview : 165-168.
  13. Farber, L. M., G. W. Sanders and M. A. Johnston. 1989. A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. J. Food Prot. 52 : 456-458.
  14. Fleming, D. W. et. al. 1985. Pasteurized milk as vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. New Eng. J. Med. 312 : 404-407.
  15. Fletcher, D. L., J. S. Baltey and N. A. Cox. 1989. Recovery and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* from broiler chickens in the south-eastern United States. J. Food Prot. 52 : 148-150.
  16. Genigeorgis, C. A., D. Dutulescu and J. F. Garayzabal. 1989. Prevalence of *Listeria* spp. in poultry meat at the supermarket and slaughterhouse level. J. Food Prot. 52 : 618-624.
  17. Gitter, M. 1976. *Listeria monocytogenes* in "oven-ready" poultry. Vet. Rec. 99 : 336.
  18. Golden, D. A. 1988. Evaluation of selective direct plating media for their suitability to recover uninjured, heat-injured and freeze-injured *Listeria monocytogenes* from foods. Appl. Environ. Microbiol. 54 : 1451-1456.
  19. Gray, M. L. et. al., 1948. A new technique for isolating *Listellae* from bovine brain. J. Bacteriol. 55 : 471.
  20. Hayes, P. S. et. al. 1986. Isolation of *Listeria monocytogenes* from raw milk. Appl. Environ. Microbiol. 51 : 438.
  21. Heisick, J. E. et. al. 1989. *Listeria* spp. found on fresh market produce. Appl. Environ. Microbiol. 55 : 1925-1927.
  22. Hird, D. W. 1987. Review of evidence for zoonotic listeriosis. L. Food Prot. 50 : 429-433.

23. Kwants, W. and M. Isaac. 1974. *Listeria* infection in west Glamorgan. pp. 112-114. In M. Woodbine(ed.). Proc. 16th Inter. University Press. Nottingham.
24. Kwants, W. and M. Isaac. 1971. Listeriosis. Brit. Med. J. 4 : 296.
25. Lachica, R. V. 1990. Selective plating medium for quantitative recovery of food-borne *Listeria monocytogenes*. Appl. Environ. Microbiol. 56 : 167-169.
26. Lee, W. H. and McClain, D. 1987. Personal communication. Food Safety and Inspection Service, U. S. Dept. of Agriculture, Belisville, Md.
27. Liewen, M. B. and M. W. Plautz. 1988. Occurrence of *Listeria monocytogenes* from raw milk. Appl. Environ. Microbiol. 51 : 438-440.
28. Loessner, M. j. et. al. 1988. Comparison of seven plating media for enumeration of *Listeria monocytogenes* spp. Appl. Environ. Microbiol. 54 : 3003-3007.