

국내 시판 쇠고기의 *Listeria* spp. 오염

구동환 · 정충일 · 정동관* · 남은숙
건국대학교 동물자원 연구센터, *고신대학교 식품영양학과

Contamination of *Listeria* spp. in Market Beef

Dong-Whan Gu, Choong-Il Chung, Dong-Kwan Jeong* and Eun-Sook Nam

Animal Resources Research Center, Kon kuk University, Seoul 133-701

*Department of Food and Nutrition, Kosin University, Pusan 606-701

ABSTRACT—Highly lethal *Listeria monocytogenes*, causing bromatoxism through vegetables, dairy products, meat products and shellfish etc, was examined for possible contamination in market beef. USDA, FDA, Malthus and Modified Cold Enrichment methods were used for the detection of *Listeria* spp.. Samples of domestic and imported market beef were collected from local meat shops at Seoul, Korea. Total two hundreds and six of *Listeria* spp. were isolated and identified from beef samples. *L. welshimeri* was the most abundant *Listeria* species in market beef. Among 206 isolates, the number of *L. welshimeri* was one hundred and twenty-one(44.8%). The numbers of isolated *L. innocua*, *L. murrayi*, *L. monocytogenes*, *L. grayi*, *L. seeligeri*, and *L. ivanovii* were 49(18.1%), 14(5.2%), 12 (4.4%), 6(2.2%), 2(0.7%), and 2(0.7%), respectively. Detection rates of *Listeria* spp. varied among four methods. The highest detection rate of *Listeria* spp. in market beef was found at USDA method and that of *L. monocytogenes* was found at Malthus method.

Key word □ *Listeria monocytogenes*, Market beef, Contamination, USDA, FDA, Malthus.

농, 축, 수산식품등 다양한 경로를 통해 식중독을 일으키는 *Listeria monocytogenes*는 1980년대 중반 이후 발생 빈도가 높아진 신세대 식중독균이다. 이 균은 Murray 등 (1926)에 의해서 실험 동물에 대한 병원성균으로서 처음으로 소개된 이래 식품 산업과 공중 위생 분야에서 중요하게 인식되었고, 특히 이균은 열에 비교적 저항력이 강하며 또한 냉장고의 온도에서 성장 할 수 있어 안전하다고 생각되는 냉장 저장 식품을 통해 식중독을 발생시키면서 건강한 사람에게는 치사율이 30%, 노약자와 면역이 약해진 사람에게는 70%로써 상당히 독성이 강한 균주로서 알려져왔다.²⁾

이 균은 인수공통질병균(Zoonosis)으로서 주로 동물성 식품과 토양에서 생산되는 식품에 오염된다. 세계보건기구

(WHO)³⁾와 FDA(Food and Drug Administration)와 USDA (United States Department of Agriculture)를 비롯한 여러 선진국들이 육제품을 포함하여 더이상 열처리를 하지않고 먹을 수 있는 식품속에 한마리의 *L. monocytogenes*도 허용하지 않겠다는 무균수준(Zero tolerance level)의 강제조항을 설정하여 이 균에 오염된 많은 식품들이 회수(Recall) 되고 있다. 식품 원료로부터 가공된 제품으로 이 균이 오염되는 것을 방지 할 수 있는 최선의 방법은 식품 원료에 대한 이 균의 오염을 최대한 방지 하는 것이다.^{4,5)}

본 실험의 목적은 현재 국내에서 시판되고 있는 수입 쇠고기를 포함한 쇠고기속에 존재할지도 모르는 *Listeria* spp.를 분리하여 균종과 오염정도를 살펴며 이 균을 분리해내는 여러 방법을 비교 검토하여 신속하고 효과적인 분리방

법을 발견하는데 있다.

재료 및 방법

시약 및 기구

본 실험을 위해 사용된 시약들 중 *Listeria* enrichment broth, University of Vermont Modified *Listeria* Enrichment Broth (UVM *Listeria* enrichment broth), *Listeria* pre-enrichment broth, tryptic soy agar, yeast extract, Fraser broth, Fraser broth supplement, *Listeria* selective supplement, Lithium Chloride-Phenylethanol Moxalactam agar base(LPM agar base), Oxford agar base(OXA agar base), Oxford antibiotic supplement, Moxalactam antimicrobial supplement, Motility test medium, Phenol red broth base들은 Difco회사로부터 구입하였으며, Malthus pre-enrichment broth(Polymyxin Acriflavine LiCl Cefazidime Esculine Mannitol Agar(PALCAM)), Malthus pre-enrichment supplement, Malthus selective supplement, Malthus disposable cell은 Malthus instruments회사로부터 구입하였고, Sheep blood agar base는 Oxiod회사로부터 구입하였다. Xylose, Manitol, N,N,N,N-tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride는 Sigma회사로부터 구입하였다.

기구로서는 Malthus-2000 (Model Malthus system V Radio meter international A/S)과 *Listeria* Disposable cell, Stomacher 400(Model Masticator, Funkegerber, Germany), VITEK(Model VITEK JR, Biorerieux, USA)을 사용하였다. 또한 실험에 사용된 쇠고기 시료는 서울 시내에 있는 정육점으로부터 구입하여 실험하였다.

사용배지

UVM modified *Listeria* enrichment broth와 *Listeria* enrichment broth를 증류수에 녹인후 삼각플라스크에 225 ml씩 분주한 다음 고압증기멸균(Autoclave 15 lb/in², 15 min)하여 실온에 냉각시켜 사용하였다. Oxford Medium Base는 증류수에 녹인후 고압증기 멸균하여 Water Bath에서 48°C로 냉각한뒤, Oxford agar(OXA)제조시에는 Oxford antimicrobial supplement를 첨가하고, Modified Oxford agar(MOX)는 Modified Oxford antibiotic supplement를 첨가하여 잘 섞은후 Clean bench에서 멸균된 Petri dish에 12~14 ml을 분주하여 Plate로 만들어 사용하였다. Fraser Broth Base는 철저히 세척한 후 고압 증기 멸균하여 실온에서 냉각한 다음 Fraser broth

supplement를 첨가하여 잘 섞은후 Clean bench 내에서 15 ml 시험관에 9.9 ml씩 분주하였다. LPM Agar Base는 위의 방법으로 멸균시킨후 48°C로 냉각한 후 Moxalactam antimicrobial supplement를 첨가하여 잘 섞은 다음 멸균된 Petri dish에 12~14 ml을 분주하여 Plate로 만들어 사용하였다. Sheep Blood Agar Base도 위의 같은 방법으로 멸균한 뒤 50°C로 냉각한 후 5%의 Sheep Blood를 무균적으로 첨가하여 사용하였다.

시료 채취 방법 및 실험 방법

시료 채취

1994년 4월 부터 1994년 11월 까지 서울 시내 정육점으로 부터 쇠고기 시료를 10개씩을 구입하여 6차에 걸쳐서 총 60개의 시료로 실험을 실시하였다. 매 시료 구입 후 즉시 밀봉한 아이스 박스에 담아 실험실로 신속하게 이송한 후 실험하였다.

실험방법

쇠고기에서 *Listeria* 검출을 위해 USDA방법,^{6,7)} FDA방법,⁸⁾ Modified Cold Enrichment⁹⁾방법과 Malthus방법¹⁰⁾ 4가지를 사용하였다.

USDA Method

쇠고기 시료중에서 1회용 칼을 사용하여 무균적으로 25 g을 취하여 멸균된 Petri-dish에 담았다. 그리고 삼각 플라스크 속에 들어있는 225 ml의 UVM Modified *Listeria* enrichment broth와 Petri dish에 담겨있는 쇠고기 시료를 멸균된 Stomacher bag에 주입하여 Stomacher기에서 2분 동안 철저히 분쇄한 후 그 분쇄물을 밀봉하여 30°C에서 24시간 배양하였다. 9.9 ml의 Fraser broth가 들어있는 시험관에 0.1 ml의 배양액을 넣어 다시 35°C에서 48시간 배양한 다음 Esculine을 가수분해한 것을 *Listeria* 양성으로 판정하여 Modified Oxford Agar(MOX)상에 Streaking하여 35°C에서 48시간 배양하였다. 검정색인 특유의 *Listeria* colony를 골라 0.6% yeast extract가 첨가된 tryptic soy agar(TSA-YE)에 Streaking하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 그 후 Biochemical test를 실시하여 *Listeria* spp.를 분리 동정하였다.

FDA Method

1회용 칼을 이용하여 쇠고기 시료 25 g을 무균적으로 잘라서 무게를 측정후 멸균된 Petri dish에 담았다. 그리고

이 쇠고기 시료를 삼각플라스크속에 들어있는 225 ml의 *Listeria* enrichment broth와 함께 멸균된 Stomacher bag에 담고 Stomacher기에서 2분 동안 철저히 분쇄한 후 그 분쇄물을 밀봉하여 30°C에서 48시간 배양하였다. 이 배양액을 LPM agar¹¹⁾에 Streaking하여 30°C에서 48시간, 그리고 OXA agar에 Streaking하여 35°C에서 48시간 동안 배양하였다. LPM agar에서 성장한 *Listeria*를 Henry's oblique Light system¹²⁾으로 관찰하여 전형적인 집락 형태를 이루는 집락 1개를 선발하고, OXA agar에서는 전형적으로 Dark colony를 형성하는 집락 1개를 선발하여 TSA-YE에 Streaking하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 그 후 Biochemical test를 실시한 후 *Listeria* spp.를 분리 동정하였다.

Malthus Method

Malthus방법으로 쇠고기에서 *Listeria* spp.를 검출하기 위해서 *Listeria* Pre-enrichment Broth을 잘 녹인 후 고압 증기 멸균한 다음 50°C로 냉각한 후 Pre-enrichment Supplement를 첨가하여 혼합하였다. 1회용 칼을 이용하여 쇠고기 시료 25 g을 무균적으로 잘라서 중량을 측정 한 후 멸균된 Petri dish에 담았다. 225 ml의 *Listeria* Pre-enrichment Broth(PALCAM)를 멸균된 Stomacher bag에 담고 Petri dish에 담겨있는 쇠고기 시료를 넣어 Stomacher기에서 2분동안 철저히 분쇄한 후 그 분쇄물을 밀봉하여 30°C에서 24시간 배양하였다. 이 배양액을 *Listeria* disposable cell에 접종하기전에 *Listeria* disposable cell을 98°C에서 30분간 멸균한 다음 30~60분 동안 실온에서 방냉한 후 *Listeria* selective supplement를 첨가하였다. 그 후 멸균 Pipette으로 배양액 0.1 ml를 채취하여 *Listeria* disposable cell에 접종하였다. 접종된 Cell은 Malthus system에서 배양하였다. 이 분석장치에서 Presumptive positive(Prespose)와 Suspect로 나타난 것은 Subculture하였고 Negative로 나타난 것은 Subculture하지 않았다. Subculture는 MOX agar에 35°C에서 48시간 배양 하였다. 배양된 것 중 색이 변한 균주를 TSA-YE에 Streaking하여 35°C에서 24시간 동안 배양한 후 Biochemical test를 실시하여 *Listeria* spp.를 분리 동정하였다.

Modified Cold Enrichment Method

1회용 칼을 이용하여 쇠고기 시료 25g을 준비하여 Petri dish에 담은 후, 멸균된 225 ml의 Tryptic Soy Broth와 함께 Stomacher bag에 담고 쇠고기 시료를 넣어 Stomacher기

Table 1. Incidence of *Listeria* in beef samples by USDA method (Sample No.=60)

| Species | No. of positive | Positive % |
|-------------------------|-----------------|------------|
| <i>L. welshimeri</i> | 37 | 61.6 |
| <i>L. innocua</i> | 15 | 25.0 |
| <i>L. murrayi</i> | 5 | 8.4 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 0 | 0 |
| <i>L. grayi</i> | 3 | 5.0 |
| <i>L. seeligeri</i> | 0 | 0 |
| <i>L. ivanovii</i> | 0 | 0 |
| Total | 60 | 100 |

에서 2분 동안 철저히 분쇄한 후 그 분쇄물을 밀봉하여 7°C에서 7일 동안 배양하였다. 이 배양액 0.1 ml을 UVM modified *Listeria* enrichment broth 10 ml에 접종한 후 32°C에서 48시간 배양하였다. 이것을 OXA agar상에 Streaking하여 35°C에서 48시간 배양하였다. OXA배지상에서 *Listeria* 특유의 형태를 나타낸 집락 1개를 선발하여 TSA-YE에 Streaking하여 35°C에서 24시간 배양한 후 Biochemical test를 실시한 후 *Listeria* spp.를 분리 동정하였다.

실험 결과 및 고찰

본 실험은 쇠고기 시료 60개를 4가지의 방법을 이용하여 *Listeria* spp.를 검출, 분리 동정하였다. 국내 시판 쇠고기의 *Listeria* spp.의 오염을 조사한 결과는 다음과 같다.

USDA방법에 의한 *Listeria* spp.의 검출율은 총 시료 60개 중에 60개 모두(100%)가 *Listeria* 양성으로 나타났다. 이 중에서 *L. welshimeri*가 37/60로 모든 *Listeria*균 중 가장 높은 61.6%를 보였으며, *L. innocua*는 시료 60개 중에 15개 (25.0%), *L. murrayi*는 5개(8.4%), *L. grayi*는 3개(5.0%)의 검출율을 보였다. 그러나 본 방법의 실험에서는 *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*는 검출되지않았다 (Table 1).

FDA방법에 의한 *Listeria* spp.의 검출율을 조사한 결과 다른 방법과 달리 2가지의 배지(OXA agar, LPM agar)를 이용하여 실험을 진행하였다. 이 방법에서 LPM agar는 73.3%(44/60)의 검출율을 나타내었고, OXA agar(39/60)는 다소 떨어진 65%를 보였다. *L. welshimeri*는 LPM agar(27/60, 45.0%)와 OXA agar(24/60, 40.0%)에서 제일 높은 검

Table 2. Incidence of *Listeria* spp. in beef samples by FDA method

(Sample No.=60)

| Species | LPM | | OXA | |
|-------------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|
| | No. of positive | No. of positive % | No. of positive | No. of positive % |
| <i>L. welshimeri</i> | 27 | 45.0 | 24 | 40.0 |
| <i>L. innocua</i> | 6 | 10.0 | 10 | 16.6 |
| <i>L. murrayi</i> | 5 | 8.3 | 2 | 3.3 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 3 | 5.0 | 1 | 1.7 |
| <i>L. grayi</i> | 2 | 3.3 | 1 | 1.7 |
| <i>L. seeligeri</i> | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>L. ivanovii</i> | 1 | 1.7 | 1 | 1.7 |
| Total | 44 | 73.3 | 39 | 65.0 |

Table 3. Incidence of *Listeria* spp. in beef samples by Malthus method

(Sample No.=60)

| Species | No. of Positive | Positive % |
|-------------------------|-----------------|------------|
| <i>L. welshimeri</i> | 20 | 33.3 |
| <i>L. innocua</i> | 18 | 30.0 |
| <i>L. murrayi</i> | 2 | 3.3 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 6 | 10 |
| <i>L. grayi</i> | 0 | 0 |
| <i>L. seeligeri</i> | 0 | 0 |
| <i>L. ivvanovii</i> | 0 | 0 |
| Total | 46 | 76.6 |

Table 4. Incidence of *Listeria* spp. in beef samples by Modified cold enrichment method

(Sample No.=30)

| Species | No. of Positive | Positive % |
|-------------------------|-----------------|------------|
| <i>L. welshimeri</i> | 13 | 43.3 |
| <i>L. innocua</i> | 0 | 0 |
| <i>L. murrayi</i> | 0 | 0 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 2 | 6.7 |
| <i>L. grayi</i> | 0 | 0 |
| <i>L. seeligeri</i> | 2 | 6.7 |
| <i>L. ivvanovii</i> | 0 | 0 |
| Total | 17 | 56.7 |

출율을 보였다. 그리고 *L. innocua*는 LPM agar와 OXA agar상에서 두번째로 많은 10.0% (6/60)와 16.6% (10/60)를 보였다. *L. murrayi*는 LPM agar상에서 8.3% (5/60)를 나타내었고 OXA agar상에서는 3.3% (2/60)를 나타냈다. *L. monocytogenes*는 LPM agar와 OXA agar상에서 5.0% (3/60), 1.7% (1/60)를 나타냈다. 그리고 *L. seeligeri*은 LPM agar와 OXA agar상에서 하나도 검출되지 않았고 *L. ivvanovii*는 OXA agar와 LPM agar상에서 1개씩(1/60)의 검출율을 보였다(Table 2).

Warburton(1991)등은 OXA agar와 LPM agar가 *L. monocytogenes*를 분리하는데 Modified McBried agar (MMA)보다 더 좋았으며, OXA agar와 함께 LPM이나 MOX 중 둘 중에 하나를 같이 사용하면 *Listeria* spp.를 회복시키는데 훨씬 더 좋았다고, 몇몇의 Plating Media를 사용함으로 인하여 *L. monocytogenes*의 회복이 46% 이상

이나 더 많은 실질적인 개선을 보였다고 하였다.¹³⁾ 그리고 Tiwari(1990) 등에 의하면 OXA agar가 LPM agar보다 더 *L. monocytogenes*를 분리하는데 좋은 능력을 가졌다고 했지만,¹⁴⁾ van Netten(1989) 등은 *L. monocytogenes*의 분리를 위해 사용되는 좋은 배지는 LPM이 OXA보다 더 좋았다고 하였다.¹⁵⁾ 따라서, 본 실험에서 사용한 FDA방법의 Plate 배지는 LPM, OXA 두가지를 사용한 결과, LPM이 OXA보다 더 *Listeria* spp.의 회복력을 향상 시키는 것으로 나타났다.

Malthus 방법에 의한 쇠고기속의 *Listeria* spp.의 검출율은 시료 60개 중에 46개가 양성으로 나타났으며 76.6%의 검출율을 보였다. 이 방법에서도 마찬가지로 *L. welshimeri*가 제일 높은 33.3%(20/60)의 검출율을 나타내었으며, *L. innocua*는 30%(18/60)이었고, *L. murrayi*는 3.3%(2/60)를 나타냈으며, *L. monocytogenes*는 10.0%(10/60)로 나타났다.

L. grayi, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*는 하나도 검출되지 않았다 (Table 3).

Malthus에 의한 *Listeria* spp.의 Detection원리는 Disposable Cell내에 *Listeria* spp.가 생육하면서 이 균의 대사활성에 의해 낮은 전하를 가진 물질이 높은 전하를 가진 물질로 분해되면서 배지내에서 일어나는 Conductance의 변화를 측정하는 것으로서 이 방법은 *Listeria* spp.를 검출하기 위해 사용했던 재래 방법 보다 시간을 단축시키는 효과가 있을 뿐만 아니라 *Listeria*를 검출하기 위해서 여태껏 사용해왔던 USDA방법과 비교했을 때 검출율에 차이가 없었다고 한다.¹⁰⁾

Modified cold enrichment method를 이용하여 *Listeria* spp.의 검출율을 조사하였다. *L. welshimeri*는 30개의 시료중에 13개(43.3%)의 검출율을 보였으며, *L. monocytogenes*와 *L. seeligeri*는 각각 6.7%(2/30)의 검출율을 보였다. 그러나 *L. innocua*, *L. murrayi*, *L. grayi*는 검출되지 않았다. 이 방법은 OXA agar를 사용하여 *Listeria* spp.의 검출율이 56.7% 정도로 나타났지만 다른 방법에 비해 검출율이 떨어졌고 또한 때 회 실시시 검출율에 큰차이를 보였고 균분리 시간이 많이 소요되어 3차에 걸쳐서만 실시하였다(Table 4).

Shelf(1989)에 의하면 이 균은 냉동 조건하에서도 잘 살아 남으며 특히 건조한 조건에도 저항이 강한것으로 나타났으며 소금, 아질산염등의 식품보존제에 대하여 저항성이 강하다고 한다.¹⁶⁾ Carosella(1990)에 의하면 USDA의 산하기구인 FSIS (Food Safety and Inspection Service)의 Microbiology Division이 미국 전역에 쇠고기속에 *L. monocytogenes*와 *Salmonella*의 검출율을 조사하였는데 시료 658개 중 41개와 2151 중 36개가 *L. monocytogenes*와 *Salmonella*에 오염된 것으로 나타났다고 한다.¹⁷⁾ 또한 Cottin(1985) 등은 27마리의 병든 소를 포함하여 총 514개의 도살된 소를 근육과 폐, 지라로부터 *Listeria* spp.를 조사했는데 건강한 소의 3%와 병든소의 44%로 부터 *L. monocytogenes*가 발견되어¹⁸⁾ 도살장에 *L. monocytogenes*의 오염율을 증가시키고 있고 그 도살장에서 생산된 생육들은 각각의 정육점 오염을 증가시켜, 결과적으로 국민의 공공 건강에 위협을 주게된다. Luppi(1988) 등에 의하면 이탈리아에서 113개의 생육 시료 중 13개(12%)가 *Listeria*균에 오염되었다고 한다.¹⁹⁾

육가공장 혹은 도살장의 여러기구들에 의한 *Listeria*의 오염이 대단히 높은 것으로 알려졌고, Kerr(1993) 등은 99명의 음식을 만드는 사람의 손에 의해서 전염되는 *Listeria* spp.의 검출율을 조사했는데 10%의 *Listeria* spp. 중 7%가 *L. monocytogenes*라고 보고하고 있어²⁰⁾ 식품의 조

Table 5. Incidence of *Listeria* spp. in beef samples by four different method (Sample No.=270)

| Species | No. of Positive | Positive % |
|-------------------------|-----------------|------------|
| <i>L. welshimeri</i> | 121 | 44.8 |
| <i>L. innocua</i> | 49 | 18.1 |
| <i>L. murrayi</i> | 14 | 5.2 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 12 | 4.4 |
| <i>L. grayi</i> | 6 | 2.2 |
| <i>L. seeligeri</i> | 2 | 0.7 |
| <i>L. ivanovii</i> | 2 | 0.7 |
| Total | 206 | 76.1 |

리 및 위생 상태에 대한 경각심을 심어주는것으로 생각된다. Jeong(1992)은 미국의 육가공장에서 수집한 환경 샘플 시료의 *Listeria* spp.의 오염율이 23%가 된것으로 나타났고 특히 이 균은 낮은 온도에서 *L. monocytogenes*가 육가공장의 환경에서 분리된 여러 다른 미생물들과 함께 영양 성분이 낮은 배지속에 담겨진 Stainless steel 표면에서 Biofilm을 형성해 항 미생물질에 대한 보호막의 역할을 하는 것으로 보고하고있어,²¹⁾ 이 균의 오염에 대한 심각성과 예방의 필요성을 더욱 더 증가 시키고 있다.

Tiwari(1990)와 van Netten(1989) 등은 2단계의 선택 증균 절차는 낙농제품과 같은 식품에서 *Listeria* spp.의 검출율을 개선하는데 큰 도움을 준다고하여^{14,15)} 본 실험의 USDA방법 중 2단계 증균 단계에서 Fraser broth를 사용한 결과 다른 방법보다 더 높은 *Listeria* spp.의 검출율을 보였다. 또한 Kornacki(1993) 등은 유, 육가공장으로부터 환경 시료와 육제품으로부터 *L. monocytogenes*의 검출율은 총 시료 Positive 중에 76.7%를 나타내었고 Fraser broth에 24, 48시간 배양한 결과 33, 35개로 검출되었으며, *L. monocytogenes*가 포함되어있는 모든 Fraser broth는 48시간에 Blackened 되었으므로 Fraser broth내에서 48시간 배양하도록 권장하고있다.²²⁾

균 분리를 위해 사용한 USDA, FDA, Malthus, MCE의 4가지 방법들은 검출율과 검출된 균종에 따라 다소간 차이를 냈다. 대체적으로 USDA 방법은 Red Meat와 Poultry를 분석하는데 쓰이는 경향이 있고²³⁾ FDA 방법은 다른 식품을 분석하는데 쓰이는 경향이 있다.⁸⁾ USDA방법이 가장 높은 *Listeria* spp.의 검출율을 보여주었고 그 다음은 Conductance를 이용한 자동 검출장치인 Malthus방법, LPM과 OXA를 이용한 FDA방법, 그리고 MCE순으로 나

타났지만 USDA방법과 Malthus 방법은 식품속의 *Listeria* spp.를 신속하고 정확하게 분리하기위하여 FDA 방법보다 약 24~36시간 더 많이 소요되었다. 이 방법 중 *L. monocytogenes*는 Malthus방법에서 6개의 시료가 검출되어 가장 높은 검출율을 나타내었으며 FDA방법에서 4개, MCE방법에서는 2개의 검출율을 나타내었다. 그러나 쇠고기 시료에서 100%의 *Listeria* spp.의 검출율을 나타낸 USDA방법에서는 *L. monocytogenes*가 검출되지 않아 USDA방법은 *L. monocytogenes*보다 다른 *Listeria* 균종 분리에 더 효과적인 것으로 생각된다.

*Listeria*는 대부분의 육류(Red meat)나 가공육에서 *L. welshimeri*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*가 많이 검출되며, Johnson(1990) 등은 가공육에서 *L. monocytogenes*보다는 다른 *Listeria* spp.가 더 많이 검출되어²⁴⁾ *L. monocytogenes* 이외에 다른 균에 의한 오염이 많이 되고 있다. 여태까지 *L. monocytogenes*가 *Listeriosis*를 발생시키는 주된 병원성 균으로 인식하고 있으나 Farber(1991)와 Gellin(1989) 등에 의하면 *L. seeligeri*, *L. welshimeri*와 *L. ivanovii*도 인간에 질병을 유발시킨다고 보고하고있다.^{25,26)} 본 실험에서도, 270개의 쇠고기 시료에서 *L. welshimeri*가 121개(44.8%)로 가장 높은 검출율을 보였으며 *L. innocua*는 18.1% (49/270), *L. murrayi* 5.2%(14/270), *L. monocytogenes* 4.4%(12/

270), *L. grayi* 2.2%(6/270), *L. seeligeri*과 *L. ivanovii*는 각각 0.7%(2/270)를 나타냈다(Table 5). 그러나 270개의 쇠고기 시료 중 206(76.1%)시료에서 *Listeria*가 검출되고, 64(23.9%)시료가 검출되지 않았을지라도, 시료로 선택한 모든 쇠고기가 *Listeria* spp.에 오염된 것으로 나타났다. 왜냐하면 비록 각각의 시료가 어떤 다른 방법들(Malthus, FDA, Modified cold enrichment method)에 의해서 *Listeriae*가 검출되지 않았을지라도, 단 하나의 방법(USDA)에 의해서 *Listeriae*가 검출되면 *Listeriae*균이 존재하는 것으로 간주하기 때문이다.

본 실험에서 나타난 *Listeria* spp.의 검출율은 외국의 검출율에 비해 크게 높은편이었고 독성이 있는 *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*의 검출율은 외국과 거의 비슷한 검출율을 보였다. 이 균은 건강한 사람이 적은 양의 균을 섭취하면 큰 증상 없이 지나가지만 임산부, 노인과 면역이 떨어진 사람들에게는 적은 양의 세균도 치명적일 수 있기 때문에 도살장에서 부터 시작하여 유통과정, 판매소의 위생에 대해 HACCP방법 등을 이용한 체계적인 연구가 실시되어야하며, 또한 특히 우리나라 사람들 처럼 쇠고기 육회를 선호하는 상태에서는 이 균에 대한 국가적인 홍보와 *Listeriosis*에 대한 역학 조사와 함께 이에 대한 위생 대책이 마련되어야 할 것으로 생각된다.

국문 요약

야채, 유제품, 육제품, 조개류를 통해 식중독을 일으키면서 높은 치사율을 나타내는 *Listeria monocytogenes*가 국내 시판 쇠고기에 오염 되었는지 여부를 조사하였다. USDA, FDA, Malthus, Modified Cold Enrichment 방법 4가지를 이용하여 *Listeria* spp. 검출하기 위한 실험을 실시하였다. 국산 쇠고기 시료와 수입산 쇠고기 시료가 서울 시내 정육점으로부터 구입되었다. 총 206개의 *Listeria* 균종들이 쇠고기 시료에서 분리 동정되었는데 *L. welshimeri*가 121개(44.8%)로 가장 많이 검출되었으며 *L. innocua* 49개(18.1%), *L. murrayi* 14개(5.2%), *L. monocytogenes* 14개(4.4%), *L. grayi* 6개(2.2%), *L. seeligeri* 2개(0.7%), *L. ivanovii* 2개(0.7%)로 나타났다. 4가지 방법으로 인한 *Listeria* spp. 검출율은 다양하게 나타났으며, 쇠고기속에서 가장 높은 *Listeria* spp. 검출율을 나타낸것은 USDA방법(검출율 100%)이었고, *L. monocytogenes*를 가장 높게 검출한 방법은 Malthus방법(10%)이었다.

참고 문헌

- Murray, E.G.D., Webb, R. and Swann, M.B.R.: A disease of rabbits characterized by large mononuclear leucocytosis caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes*(n. sp.). *J. Path. Bact.*, **29**, 407-439 (1926).
- Seeligeri, H.P.R. and Finger, H. pp. 264-289. In J.S. Remington and J.O. Klein (eds.): *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 2nd ed. W.B. Saunders,

- Philadelphia (1983).
3. WHO: Food borne Listeriosis. Document No. WHO/WHE/FOS/88. 5. World health organization, Geneva, Switzerland (1988).
 4. 정동관: 생육과 육가공제품의 식중독균 *Listeria*의 오염과 그 문제점. 한국식육연구회지, **13**, 11-25 (1993).
 5. 정동관: 식중독균 *Listeria monocytogenes*의 특성과 식품에서 문제점 Korean *J. of Food Hygiene*, **8**, S1-11 (1993).
 6. U.S. Department of Agriculture, Food Safety Inspection Service.: Method for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from meat and poultry product. Laboratory communication No. 57. U.S. Department of Agriculture Washington, DC (1989).
 7. U.S. Department of Agriculture, Food Safety Inspection Service.: optional procedures for *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* testing. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC (1989).
 8. Lovett, J. and Hitchins, A. D.: *Listeria* isolation. Bacteriological Analytic Manual 6th ed., Supplement, 1987(Second Printing 1989), **29**, 01 (1989).
 9. Varabioff, Y.: Incidence and recovery of *Listeria* from chicken with a Pre-enrichment technique. *J. of Food Prot.*, **53**, 555-557 (1990).
 10. International Customer Support Team (ICST): Malthus Procedure for the Detection of *Listeria* in Beef sample. MR003/Ver.0.1/Sept (1992).
 11. Lee, W.H. and McClain, D.: Improved *Listeria monocytogenes* selective agar. Applied and Environmental Microbiology. 1215-1217 (1986).
 12. Larsen, H.E.: *Listeria monocytogenes*. Study on isolation techniques and epidemiology. C. Fr. Mortensen. Copenhagen (1969).
 13. Warburton, D.W., Farber, J.M., ARMSTON, A., Caldeira, R., Hunt, T., Messier, S., Tiwar, R.N.P., and Vinet, J.: A comparative study of the FDA and USDA method for the detection of *Listeria monocytogenes* in food. *Int. J. Food Microbiol.*, **13**, 105-118 (1991).
 14. Tiwari, N.P. and Aldenrath, S.G.: isolation of *Listeria monocytogenes* from Food products on Four selective plating media. *J. Food. Prot.*, **53**, 382-385 (1990).
 15. van Netten, P., Perales, I., Moosdijk, A., van de Curtis., G.D.W., and Mossel, D.A.A.: Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. *Int. J. Food Microbiol.*, **8**, 299-316 (1989).
 16. Shelf, L.A.: Listeriosis and its transmission by food. *Prog. Food Nutr.*, **13**, 363-382 (1989).
 17. Carosella, J.M.: Chapter 24. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in meat and poultry in Foodborne Listeriosis Elsevier. Amsterdam (1990).
 18. Cottin, J., Genthon, H., Bizon, C. and Carbonelle, B.: Recherche de *Listeria monocytogenes* dans la viades prelevees sur 514 bovins. *Sci. Aliments.*, **5**, 145-149 (1985).
 19. Luppi, A., Bucci, G., Maini, P. and Rocourt, J.: Ecological survey of *Listeria* in the Ferrara area(Northern Italy). *Zbl. Bakteriologie. Mikrobiologie. Hygiene A.*, **269**, 266-275 (1988).
 20. Keer, K.G., Birkenhead, D., Seale, K., Major, J. and Hawkey, P.M.: Prevalence of *Listeria* spp. on the Hand of Food Workers. *J. Food Prot.*, **56**, 525-527 (1993).
 21. Jeong, D.K.: The competitive growth in Biofilms of *Listeria monocytogenes* with cultures isolation from dairy and meat plant environment. Ph. D. Dissertation University of Georgia, Athens, Georgia, U.S.A (1992).
 22. Kornacki, J.L., Evanson, D.J., Rein, W., Rowe, K. and Flowers, R.S.: Evaluation of the USDA Protocol for *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* **56**, 441-443 (1993).
 23. McClain, D. and Lee, W.H.: FSIS method for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from processed meat and poultry product. Lab. Comm. No. 57. Revised May, 1989. U.S. Dept. of Agric., FSIS, Microbio. Div., Beltsville, Md. (1989).
 24. Johnson, J.L., Doyle, M.P. and Cassens, R.G.: *Listeria monocytogenes* and other spp., in meat and meat products. *J. Food Prot.*, **53**, 81-90 (1990).
 25. Farber, J.M. and Peterkin, P.I.: *Listeria monocytogenes*, a food-born pathogen. *Microbiol. Rev.*, **55**, 476-511 (1991).
 26. Gellin, B.G. and Broom, C.V.: Listeriosis. *J. Amer. Med. Assoc.*, **261**, 1313-1320 (1989).