

Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)를 이용한 *Listeria monocytogenes*의 molecular typing

채희선*, 김주영, 김연하, 양윤모, 진경선, 신방우, 이정학

서울특별시 보건환경연구원

(접수 2007. 8. 28. 게재승인 2007. 9. 22)

Molecular typing of *Listeria monocytogenes* using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

Hee-Sun Chae*, Ju-Young Kim, Yoen-Ha Kim, Yun-Mo Yang,
Kyong-Sun Jin, Bang-Woo Shin, Jung-Hark Lee

Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health & Environment,
Seoul 427-070, Korea

(Received 28 August 2007, accepted in revised form 22 September, 2007)

Abstract

A total of 1,354 samples was collected from bovine and porcine carcass from January 2005 to December 2006 in a slaughter house. Twenty five strains(1.8%) of *Listeria monocytogenes* were isolated from 1,354 samples using selective media. Ten(1.4%) *L. monocytogenes* were isolated from the 677 of bovine carcasses, and 15(2.2%) were isolated from the 677 of porcine carcasses. Among 15 *L. monocytogenes* from porcine, 11 isolates were serovars 1/2c, followed by 1/2b (3 strains, 20.0%) and 1/2a(1 strain) Out of 10 bovine samples, positive cases in 1/2a were 9 strains (90.0%), 1/2b were 1 strains(10.0%). PCR primers were selected to amplify a 520-base pair(bp) DNA fragment from the listolysin O gene (*hlyA*) of *L. monocytogenes*. A 520-bp product was detected in PCR with DNA from *L. monocytogenes*, but not from the other *Listeria* species tested.

*Corresponding author:

Phone: +82-2-570-3437, Fax: +82-2-570-3043

E-mail : heedoogy@hanmail.net

A total of 25 *L monocytogenes* strains were analysed by PFGE after digestion with *Apa*I. PFGE analysis of genomic DNA showed the 14~18 fragments ranging in size from 30 to 550 kb, resulting in 14 patterns.

Key words : *Listeria monocytogenes*, Serovar, PFGE

서 론

Listeria spp는 저온성, Gram 양성의 비아포성 단간균으로서 *L monocytogenes*, *L innocua*, *L ivanovii*, *L seeligeri*, *L welshimeri*, *L gray* 및 *L murrayi*의 7군종으로 분류되며 이들 중 *L monocytogenes*는 리스테리아병의 원인균으로 대단히 중요시되고 있다¹⁻³. 이 병원체는 건강한 사람에게는 잘 발생하지 않으나 임산부, 태아, 노인 그리고 면역억제처치를 받거나 면역결핍환자, AIDS나 암같은 질병으로 약해진 환자에서 발생한다⁴. 주로 신생아의 뇌척수막염, 임산부의 유산 및 성인에서 면역결핍증 등을 일으키며 동물에서는 뇌척수막염, 패혈증, 유산 및 유방염의 원인이 된다⁵. *L monocytogenes*는 감염 동물로부터 사람에게 전파가 가능하며 또한 이 균에 오염된 동물성 식품을 섭취함으로써 사람에게 전파된다⁶.

*L monocytogenes*는 O와 H항원에 따라 혈청형이 13가지 이상이 나뉘며 모두 리스테리아증을 일으키는 것으로 알려져 있으나, 감염된 사람과 동물에서 주로 분리되는 혈청형은 단 세 가지 혈청형(1/2a, 1/2b 그리고 4b)만이 질병을 일으킨다고 보고된바 있다⁷. 혈청형 1/2a는 식품에서 가장 흔하게 분리되지만, 최근 세계적으로 발생하는 리스테리아증의 원인 균으로 혈청형 4b의 보고가 증가되고 있다. 세계적인 sellotape 분포를 보면 4b는 유럽각국에서, 1/2a, 1/2b 및 4b는 캐나다와 미국 등지에서 높은 편이나 지역적 편차가 있는 것으로 보고되어 있으며 한편, 질병발생 특성과 혈청형과는 직접적인 관계는 없지만 1/2b, 3b 및 4b 간에는 역학적인 관계가 있는 것으로 보고되어 있다⁸.

역학적인 연구나 분리 균의 특성조사 시 중분류 후 subtyping 방법은 매우 중요하다. *L monocytogenes*의 typing 방법으로 전통적인 방법으로는 혈청형, 파아지형, 박테리오파지 typing 등이 있으며, 최근에는 분자생물학적 방법으로 pulse field gel electrophoresis (PFGE), arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR), chromosomal DNA restriction endonuclease analysis (REA), restriction fragment length polymorphism analysis (RFLP) 등의 방법이 사용되고 있다⁹.

본 연구에서는 소와 돼지의 도체표면에서 *L monocytogenes*를 분리하고, 분리균주에 대한 혈청학적검사와 병원성 유전자 검사를 실시한 후, PFGE를 이용하여 전기 자기장상의 이동상으로 병원체 사이의 유연관계를 규명함으로써 균에 대한 감염경로 추적과 연관된 균주를 확인하여 역학적 연구에 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료

표준균주 *L monocytogenes* 1/2a, 1/2b, 4a 그리고 4b는 국립수의과학검역원에서 분양받아 사용하였으며, *L monocytogenes* 분리를 위한 재료는 2005년 1월부터 2006년 12월까지 서울시 소재 도축장에 출하되는 소와 돼지의 도체 표면으로부터 채취하여 사용하였다.

*L monocytogenes*의 분리 및 동정

1) 선택배양 및 순수분리

멸균된 거즈로 swabing한 BPD액 1 ml를

9 ml의 Fraser 및 LEB broth에 접종하여 37°C에서 24~48시간 및 4°C에서 7일간 cold enrichment하였다. Broth에서 esculin을 분해한 것을 선택배지인 PALCAM agar나 Oxford agar에 37°C, 48시간 배양하여 black halo를 가진 grey colony를 분리하여, 최소한 5개의 colony를 blood agar에 24시간 배양하여 β -hemolysis를 확인하였다.

2) 생화학적 성상검사

Blood agar에서 β -hemolysis를 나타낸 집락을 tryptic soy agar에 계대배양한 후, API Listeria (biomerieux, France)에 접종하여 37°C에서 18~24시간 배양하여 arylamidase, esculin의 hydrolysis, α -mannosidase, D-arabitol, xylose, rhamnose, α -methyl-D-glucoside, ribose, glucose-1-phosphate, tagatose 8종에 대한 효소 활성과 당분해, 기질생산 등의 생화학적 성상검사와 CAMP test, catalase test 등을 실시하였다.

3) 혈청학적 검사

*L. monocytogenes*로 분리 동정된 24주의 O와 H항원에 대한 응집반응은 Denka Seiken(Tokyo, Japan)에서 제조된 Listeria O antisera (I/II, I, IV, V/VI, VI, VII, VIII, IX)와 Listeria H antisera(A, AB, C, D)를 사용하였다.

O항원은 슬라이드 응집반응법을 이용하여 검사하였다. Brain heart infusion agar에서 배양된 균을 0.2% NaCl용액에 부유시킨 뒤 121°C, 30분간 가열하고 3000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 원심 후 침전물을 소량의 0.2% NaCl용액으로 부유한 후 슬라이드 응집반응을 실시하였다.

H 항원은 시험관 응집반응을 이용하여 검사하였다. 분리균을 0.2% agar가 첨가된 BHI 반유동배지에 3회 이상 계대 후 BHI broth에 실온에서 1일간 배양하였다. 배양액에 1% 포르말린을 동량 첨가한 것을 사

용하였다. 시험관에 0.5 ml의 항원액을 분주 후 H 항혈청을 넣어 잘 혼합한 뒤 50°C 항온수조에서 1시간 방치한 후 응집유무를 판독하였다.

Polymerase chain reaction

1) 사용균주

소, 돼지도체에서 분리된 *L. monocytogenes* 25주와 국립수의과학검역원에서 분양 받은 *L. monocytogenes* 표준균주를 양성 대조 균주로 사용하였으며 음성 대조로는 멸균 증류수를 사용하였다.

2) Genomic DNA 추출

순수 분리한 분리주를 brain heart infusion broth에 접종하여 37°C에서 18시간 배양시킨 후 1 ml를 microtube에 분주하였다. 그리고 12,000 rpm에서 2분간 원심 분리하여 상층액은 버리고 남은 pellet을 PBS 500 μ l로 2회 washing한 후 DW 200 μ l에 재부유시켰다. 부유액이 들어 있는 튜브를 100°C에서 5~7분간 가열한 후 12,000 rpm에서 2분간 원심 시켜서 상층액을 DNA template로 사용하였다.

3) Primer

*L. monocytogenes*에 특이적인 primer는 lysteolysin O에 위치하는 *hlyA* gene을 검출하기 위하여 primer LL4와 LL5를 (주)바이오니아에 합성 의뢰하여 제조하였다 (Table 1).

4) PCR 조건

PCR 조건은 Thomas 등¹⁰⁾의 방법으로 수행하였다. 즉, PCR mixture는 1× PCR buffer (Takara), 0.2 mM dNTP, 1 μ M의 각각의 primer와 2.5U *Taq* DNA polymerase (Takara)를 사용하였으며 template로 2 μ l를 넣어 PCR을 실시하였다. PCR 반응조건은 94°C 1분간 denaturation, 55°C 1분간 annealing, 72°C 2분간 extension과정을 30

cycle 실시하였으며, 최종 cycle의 extension은 4분으로 하였다. PCR 반응산물 5 μ l

을 1.2% agarose gel에 전기 영동하여 특이 밴드를 확인하였다.

Table 1. Nucleotide sequence of primers used in this study

Primers	Nucleotide sequence (5'-3')	G+C content (%)	Target	PCR products (bp)
LL4	CGCCACACTTGAGATAT	47	<i>hlyA</i>	520
LL5	AACCTATCCAGGTGCTC	53		

Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)

1) Agarose plug 준비

순수 분리한 25개의 분리주와 국립수의과 학검역원에서 분양받은 *L monocytogenes* 4주를 brain heart infusion agar에 24시간 배양시켰으며, molecular marker로는 DNA Size Standard Lamda ladder (Bio-Rad, USA)를 사용하였다. 면봉을 이용하여 cell suspension TE(Tris-EDTA) buffer(10 mM Tris, pH 8.0 and 1 mM EDTA, pH 8.0)에 colorimeter에 10%의 투명도로 조정하여 현탁하였다. 만들어진 균 현탁액 200 μ l에 동량의 1.2% seakem gold agarose를 균일하게 섞은 후, 바로 plug mold(Bio-Rad)에 넣었다. plug mold를 4°C에서 10분간 굳혔다. 준비된 plug를 10 mg/ml의 lysozyme solution에 37°C에서 2시간 반응시켰다. 멸균 증류수로 1회 세척 후 0.2 mg/ml의 proteinase K solution에 37°C에서 overnight시켰다. 처리된 plug는 실험 전에 미리 55°C로 준비해둔 멸균 증류수를 PVC 파이프에 넣고 진탕 항온수조에서 10분간 세척한 후 멸균 증류수를 제거하고 미리 55°C로 준비해둔 plug washing buffer에 넣어 55°C로 맞춰진 진탕 항온수조에서 15분간 4회 세척하였다. 세척이 끝난 plug는 washing buffer에 넣어 4°C에 바로 보관하였다.

2) Agarose plug의 처리

냉장된 plug를 꺼내어 면도날을 이용하여 1mm 두께로 자른 다음, 자른 2개의 절편을

microcentrifuge tube에 A buffer (Roche Molecular Biochemicals, Swiss) 15 μ l, 100X BSA 1.5 μ l (BioLabs, UK), 증류수 135 μ l를 넣고 37°C에서 10분간 incubation한 후, 절편을 다시 200U의 *Apa* I (Roche Molecular Biochemicals, Swiss)가 첨가된 A buffer solution에 넣은 후 다시 30°C에서 5시간 반응시켰다.

3) Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

Restriction enzyme 처리가 끝나면 반응 용액을 제거하고, 절편이 들어있는 tube에 plug wash TE buffer를 넣어 PFGE에 사용하였다. 1% agarose 용액을 gel 크기에 맞추어 녹인 후 55°C 항온수조에서 보관하고, 절편을 꺼내어 agarose gel 성형용 comb의 끝 부위에 맞추어 올려놓은 다음 여과지 물기를 제거하고 15분간 건조시켰다. 건조 후 comb을 설치하고 1% agarose gel 용액을 틀에 부어 30분간 gel을 굳혔다. comb에 의해 만들어진 well은 남은 agarose 액을 넣어 채웠다. Gel은 CHEF Mapper PFGE (Bio-Rad, USA)를 이용하여 gradient 6.0 V/cm, included angle 120°C, initial time 4초, final time 40초의 조건으로 14°C에서 19시간 전기영동 하였다. 전기영동이 완료되면 ethidium bromide 용액(0.5 μ g/ml)에 gel을 넣어 30분간 염색하고, 증류수에서 24시간 탈색하였다. PFGE 결과는 Tenover 등¹¹⁾의 방법에 따라 각 균주의 DNA 위치가 다른 절편의 수에 따라서 group을 결정하였고, BioNumerics software (Appliedmath, Bel-

gium)를 이용하여 dendrogram을 작성하여 균주간의 유연관계를 비교분석하였다.

Table 2. Characteristics of the *L. monocytogenes* isolated from carcasses

Isolate number	Animal species	PFGE type	Serotype
B-1	bovine	D	1/2a
B-2	bovine	C	1/2a
B-3	bovine	D	1/2a
P-1	porcine	F	1/2c
P-2	porcine	J	1/2a
P-3	porcine	B	1/2c
P-4	porcine	G	1/2c
P-5	porcine	I	1/2c
P-6	porcine	H	1/2c
P-7	porcine	H	1/2c
P-8	porcine	H	1/2c
B-4	bovine	D	1/2a
B-5	bovine	D	1/2a
B-6	bovine	D	1/2a
P-9	porcine	H	1/2c
P-10	porcine	H	1/2c
P-11	porcine	A	1/2c
P-12	porcine	H	1/2c
B-7	bovine	E	1/2a
P-13	porcine	K	1/2b
P-14	porcine	N	1/2b
P-15	porcine	L	1/2b
B-8	bovine	M	1/2b
B-9	bovine	D	1/2a
B-10	bovine	D	1/2a

결과 및 고찰

L. monocytogenes 분리

2005년 1월부터 2006년 12월까지 총 1,354건의 소 도체표면과 돼지 도체표면에서 25주(1.80%)의 *L. monocytogenes*를 분리하였다

(Table 2). 소 도체표면에서는 총 677건 중 10건(1.4%)이 분리되었으며, 돼지도체표면에서는 총 677건 중 15건(2.2%)이 분리되어 돼지가 더 분리율이 높게 나타났다. 1997년 허등³⁾은 도축처리 단계별 *L. monocytogenes*의 분리율을 조사하였는데, 해체 전에는 소, 돼지에서 분리되지 않았고, 해체 후에는 각각 3.3%와 8%로 도축과정이 진행됨에 따라 분리율이 증가한다고 보고하였다. 이는 본 연구에서 해체 후에 소와 돼지에서 각각 1.4%와 2.2%를 분리하여 분리율이 다소 차이를 보였다. 1998년 강 등¹²⁾에 의한 한우 사육장내 분변 및 음수에서 *L. monocytogenes*의 분리율은 0%이었으며, 2000년 이 등¹³⁾에 의하면 가축사육장에서는 분리되지 않았으며, 도축장 폐수로부터의 분리율은 31.8%이었다. 이와 같이 국내에 식육 및 계육작업장에서 *L. monocytogenes*를 분리한 보고는 있으나, 가축사육장 등에서 분리한 보고는 찾아볼 수 없었다¹²⁾. 이와 같이 균이 작업장의 환경을 통해 오염이 성립된다는 것을 추정할 수 있었다.

생화학적 및 혈청학적 검사 결과

분리된 25주의 *Listeria* spp를 API *Listeria*를 이용하여 생화학적 정상검사를 한 결과 arylamidase, xylose, ribose, glucose-1-phosphate, tagatose에서는 음성을 esculin hydrolysis, α -mannosidase, D-arabitol, rhamnose, α -methyl-D-glucoside에서는 양성을 나타내었다. 이와 같은 특성은 Doyle, Genigoergis, Seeliger와 Jones의 분리기준과 일치하였고¹⁴⁾, Fujisawa 등¹⁵⁾, Beumer 등¹⁶⁾이 보고한 결과와도 동일하여 분리된 균주 모두가 *L. monocytogenes*임을 확인할 수 있었다.

*Listeria*의 serotype은 처음 Paterson이 type 1에서 4까지 분류하였으나, 그 이후 13종의 혈청형으로 나뉘었으며, 리스테리아병으로부터 분리되는 대부분의 serotype이 1/2a, 1/2b 그리고 4b라고 보고하였다¹⁷⁾. 본 실험에서 분리된 25주는 모두 type 1이었으며, 1/2c가 11

주(44.0%), 1/2a가 10주 (40.0%), 그리고 1/2b가 4주(16.0%)로 나타났다(Table 3). 본 실험에서 나타난 혈청형은 미국이나 캐나다에서 1/2b, 1/2a, 4b가 유사한 빈도로 나오는 양상이나 일본, 유럽에서 4b의 분리율이 가장 높은 빈도로 나오는 양상^{18, 19)}과도 전혀 다른 혈청형 분포양상을 나타내었다. 그러나 허 등³⁾은 도축장에서 도체와 환경재료에서 동정된 27주 모두 type 1으로 분류되었다고 보고하였으며, Jang 등²⁰⁾은 계육에서 1/2 serotype이 95%이상 나타났다고 보고한 바 있어, 본 연구와 비슷한 혈청형의 분포를 나타냈다.

Table 3. Serotype of *L monocytogenes* isolates

Year	Source	No of isolates	Serotype		
			1/2a	1/2b	1/2c
2005	Beef	6	6		
	Pork	8	1		7
2006	Beef	4	3	1	
	Pork	7	0	3	4
Total (%)		25 (100.0)	10 (40.0)	4 (16.0)	11 (44.0)

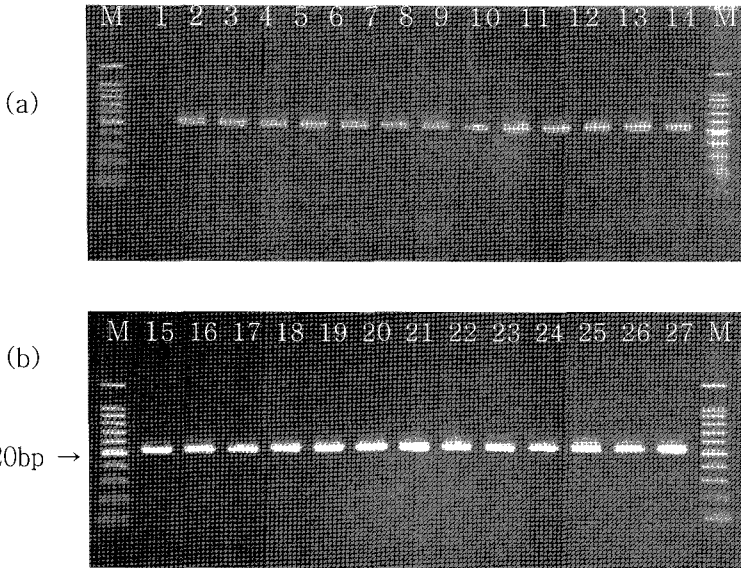


Fig 1. DNA products amplified from *Listeria monocytogenes* by PCR assay with primers LL4 and LL5.

M: 100bp ladder, 1; negative control (D.W) 2; *L. monocytogenes* 3-27; *L. monocytogenes* field isolates

PCR 결과

*L. monocytogenes*의 검출에 필요한 primer는 listolysin O gene (hlyA)으로부터 LL4와 LL5 primer를 합성하여 사용하였으며, PCR 결과는 Fig 1과 같다. *L. monocytogenes* 및 야외분리주 25주 모두에서 520 bp의 특이적인 증폭산물이 나타났다.

본 연구에서는 LL4 및 LL5 primer를 사용하여 *L. monocytogenes*의 hlyA 유전자를 신속하고, 특이적으로 검출하고자 하였고, 실

험에 사용된 *L. monocytogenes* 표준균주 및 야외 분리주를 제외한 다른 세균에서도 증폭된 산물이 나타나지 않았다.

Niederhauser 등²¹⁾, Bubert 등²²⁾, 그리고 Jatou 등²³⁾은 *L. monocytogenes*의 iap gene을 이용하여 PCR을 수행하였으나 Jatou 등²³⁾이 보고한 iap gene을 이용한 실험법에서의 primer는 *L. monocytogenes*에만 특이성을 갖지 않기 때문에, PCR을 한 후 dot blot hybridization을 하여 *L. monocytogenes*임을 확인하였다. Fitter 등²⁴⁾, Bansal²⁵⁾, Hsieh

등²⁶⁾ 그리고 Bessesen²⁷⁾은 Listerolysin O gene (*hlyA*)을 이용한 PCR법을 보고한 바 있다. 그 외 16S rRNA를 이용한 PCR법이 Wang 등²⁸⁾에 의해서, *Fbp* gene을 이용한 PCR법이 Gilot²⁹⁾에 의해 보고 되었다.

Thomas 등¹⁰⁾은 선택적인 증균배양 후 PCR을 수행했을 경우 1 CFU의 수준까지 검출할 수 있었으며, PCR을 수행하기 전 선택 증균배지의 사용은 target cell 즉, target DNA를 증가시키는 반면 non-listeria DNA를 줄이고 시료내 증폭억제물질들을 줄일 수 있다고 보고하였다.

분리균의 subtyping 방법으로 현재까지 가장 변별력이 좋은 것으로 알려진 PFGE로 분리균의 genotyping을 실시한 결과 *Apa* I으로 25개의 균주를 처리했을 때 전체 band size는 30~550kbp를 나타냈으며, 각 균주의 fragment 수는 14~18개로 다양하게 나타났다. 90% 이상의 상동성을 기준으로 PFGE dendrogram을 작성한 결과 14개의 pulsotypes(A~N)으로 분류하였다. 이를 혈청형별로 비교하였을 때 1/2a와 1/2c는 유사한 양상을 보였으나, 1/2b형은 유사성이 53.0%로 나타나 1/2a와 1/2c와는 전혀 다른 group으로 나뉘었다(Fig 2).

PFGE

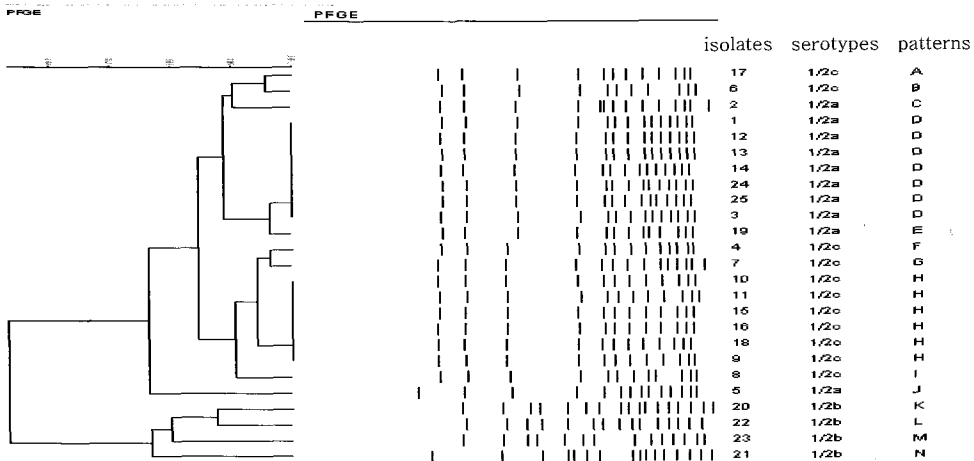


Fig 2. Dendrogram showing the clustering of PFGE patterns for 25 isolates of *L. monocytogenes* from the carcasses

Vela 등³⁰⁾은 PFGE를 실시한 결과 전체 band size는 20~557kbp를 나타냈으며, 11~16개 fragment가 보인다고 보고하였고, Nakama 등¹⁹⁾은 50~500kbp의 band size를 나타냈으며, 12~17 fragment를 보였다고 보고하였다. *Listeria* spp의 PFGE analysis에 여러 가지 종류의 restriction enzyme이 쓰인다고 보고된 바 있지만, 그 중 가장 많이 쓰이는 효소는 *Apa* I이며, 이 효소는 리스테리아균의 DNA profiling에 높은 변별력을 보이는 것으로 알려져 있으며 *Asc* I과 *Sma* I enzyme도 많이 쓰이는 제한효소로 보고된

바 있다^{31, 32)}. Jang 등²⁰⁾은 *Apa* I enzyme이 PFGE에서 1/2a와 1/2b는 변별력이 매우 우수하게 나타났지만 1/2c 혈청형의 분리주들은 모든 분리균이 거의 유사한 PFGE pattern을 나타내었다고 보고하여 본 연구의 결과와 비슷한 양상을 보였다. 이는 1/2c 혈청형 균들이 유전적 변이가 거의 없었다는 Christian carriere 등³²⁾의 논문과는 일치되는 결과였으나, Kerouanton 등³³⁾이 PFGE 실험에서 다양한 pulsotype으로 분류가 가능하였던 것과는 차이를 보였다.

이상의 연구결과 분리주의 혈청형은 1/2a,

1/2b, 1/2c의 3가지 type으로 나뉜 반면 PFGE를 이용한 genotyping에서는 14가지의 subtype으로 나뉘어 같은 혈청형이라도 분석 방법에 따라 서로 유전자형이 일치하지 않을 수도 있다는 것을 알 수 있었으며, 앞으로도 유전자분석법에 대한 다양한 연구가 필요하다고 사료된다.

결 론

*L. monocytogenes*의 여러 병원성 인자가 밝혀졌으며, 분자생물학적 그리고 생물학적 수준에서 광범위하게 동정되고 특성화되어지고 있다. 본 연구에서는 서울시 도축장에서 도축되는 소와 돼지의 도체표면에서 2005년 1월부터 2006년 12월까지 총 1,354두 중 25주(1.8%)의 *L. monocytogenes*를 분리하였다. 소 도체표면에서는 총 677건 중 10건(1.4%)이 분리되었으며, 돼지도체표면에서는 총 677건 중 15건(2.2%)이 분리되어 돼지가 더 분리율이 높게 나타났다. 분리주에 대하여 혈청학적검사와 PCR을 이용하여 *hlyA* gene을 검출하였다. 분리된 25주에 대하여 혈청학적 검사를 실시한 결과 세 가지의 혈청형 1/2a, 1/2b 그리고 1/2c로 나뉘었다. 1/2c가 11주(44.0%), 1/2a가 10주(40.0%), 그리고 1/2b가 4주(16.0%)로 나타났다. PCR 결과 *L. monocytogenes* 분리주 25주에서 *hlyA* 유전자가 모두 검출되었다. 분리균의 PFGE subtype 결과 *Apa I*으로 25개의 균주를 처리했을 때 14개의 pulsotypes으로 분류하였으며, 전체 band size는 30~550 kbp를 나타내었다. 각 균주의 fragment 수는 14~18개로 다양하게 나타났다.

참고문헌

1. 손원근, 강호조. 1990. 도계장 유래 닭고기 및 부산물 및 환경재료에서 *Listeria* spp의 분리 및 분리균의 특성 II. 분리한 *Listeria monocytogenes*의 혈청형과 항

- 균제에 대한 감수성. 대한수의학회지 31 : 279-284.
2. 조중숙, 김유정, 김성숙. 2000. 경북지역에서 수거된 식육의 *Listeria* sp 오염실태조사. 한가위지 23 : 341-348.
3. 허정호, 손성기, 이주홍. 1997. 도축처리 단계별 도체 및 환경재료에서 *Listeria monocytogenes*의 분리. 한가위지 20 : 69-78.
4. 이재용, 강호조. 1994. 가열조건이 *Listeria monocytogenes*의 손상에 미치는 영향. 한국수의공중보건학회지 18 : 1-13.
5. 박재림, Marth EH. 1989. 리스테리아증과 *Listeria monocytogenes*. 한국산업미생물학회지 17 : 634-643.
6. 이우원, 강호조. 1992. 보존료가 *Listeria monocytogenes*의 생존성에 미치는 영향. 한국수의공중보건학회지 16 : 185-195.
7. 박상구, 손원근, 이후장 등. 2004. 축산물 및 작업장 유래 *Listeria monocytogenes*의 혈청형, 약제감수성 및 plasmid profile. 대한수의학회지 44:89-97.
8. Gellin BG, Broome CV, Bibb WF. 1991. The epidemiology of listerioses in the United States-1986. *Am J Epidemiol* 133 : 392-401.
9. 하승열, 최원상, 박경진 등. 2005. RAPD를 이용한 돈육 가공장의 *Listeria* 오염양상분석. 대한수의학회지 45:359-367.
10. Thomas EJG, King RK, Burchak J. 1991. Sensitive and specific detection of *Listeria monocytogenes* in milk and ground beef with the polymerase chain reaction. *Appl Envir Microbiol* 57:2576-2580.
11. Tenover FC, 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 33 : 2233-2239.
12. 강호조, 김종수, 석주명. 1998. 한우사육

- 장내 분변 및 음수 중 *Salmonella* spp, *Escherichia coli* O157:H7 및 *Listeria monocytogenes*의 분리. 한국수의공중보건학회지 22:195-199.
13. 이철현, 손원근, 강호조. 2000. 가축사육장 및 작업장 폐수로부터 *Listeria monocytogenes*의 분리 및 분리균의 약재 내성. 한국수의공중보건학회지 24:9-15.
 14. 강호조, 손원근, 이제용. 1992. 동물유래 생식품, 사료 및 동물 분변중 *Listeria monocytogenes*의 분포와 분리균의 특성에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지 16:179-184.
 15. Fujisawa T, Mori, M. 1994. Evaluation of media for determining hemolytic activity and that of API *Listeria* system for identifying strains of *Listeria monocytogenes*. *J Clin Microbiol* 32:1127-1129.
 16. Beumer RR, Giffel MC, Kok MTC. 1996. Confirmation and identification of *Listeria* spp. *Lett Appl Microbiol* 22:448-452.
 17. Nadon CA, Woodward DL, Young C. 2001. Correlations between molecular subtyping and serotyping of *Listeria monocytogenes*. *J Clin Microbiol* 39:2704-2707.
 18. Jocelyne R, Jacques B. 1997. Food-borne listeriosis. *World Health Statist Quart* 50:67-73.
 19. Nakama A, Terao M, Kokubo Y. 1998. A comparison of *Listeria monocytogenes* serovar 4b isolates of clinical and food origin in Japan by pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol*, 42:201-206.
 20. Jang SS, Choo EY, Han KS. 2006. Antibiotic resistance and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken carcasses in Korea. *J Microbiol Biotechnol* 16:1276-1284.
 21. Niederhaser C, Candrian U, Hofelein C. 1992. Use of polymerase chain reaction for detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *Appl Envir Microbiol* 58:1564-1568.
 22. Bubert A, Hein I, Rauch M. 1999. Detection and differentiation of *Listeria* spp. by a single reaction based on multiplex PCR. *Appl Envir Microbiol* 65:4688-4692.
 23. Jaton K, Sahli R, Bille J. 1992. Development of polymerase chain reaction assay for detection of *Listeria monocytogenes* in clinical cerebrospinal fluid samples. *J Clin Microbiol* 30:1931-1936.
 24. Fitter S, Heuzenroeder M, Thomas CJ. 1992. A combined PCR and selective enrichment method for rapid detection of *Listeria monocytogenes*. *J Appl Bacteriol* 73:53-59.
 25. Bansal NS. 1996. Development of polymerase chain reaction assay for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *Lett Appl Microbiol* 22:353-356.
 26. Hsin HY, Tsen HY. 2001. Combination of immunomagnetic separation and polymerase chain reaction for the simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in food samples. *J Food Prot* 64:1744-1750.
 27. Bessesen MT, Luo Q, Rotbart HA. 1990. Detection of *Listeria monocytogenes* by using the polymerase chain reaction. *Appl Envir Microbiol* 56:2930-2932.
 28. Wang RF, Cao WW, Johnson MG.

1992. 16S rRNA-based probes and polymerase chain reaction method to detect *Listeria monocytogenes* cells added to foods. *Appl Envir Microbiol* 58:2827-2831.
29. Gilot P, Content J. 2002. Specific identification of *Listeria welshimeri* and *Listeria monocytogenes* by PCR assays targeting a gene encoding a fibronectin-binding protein. *J Clin Microbiol* 40:698-703.
30. Vela AI, Fernandez JF, Vazquez JA. 2001. Molecular typing of pulsed-field gel electrophoresis of Spanish animal and human *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol* 67:5840-5843.
31. Giovannacci I, Ragimbeau C, Queguiner S. 1999. *Listeria monocytogenes* in pork slaughtering and cutting plants. *Int J Food Microbiol* 53:127-140.
32. Carriere C, Allardet-Servent A, Bourg G. 1991. DNA polymorphism in strains of *Listeria monocytogenes*. *J Clin Microbiol* 29:1351-1355.
33. Kerouanton K, Brisabois A, Denoyer E. 1998. Comparison of five typing methods for the epidemiological study of *Listeria monocytogenes*. *International J Food Microbiol* 43:61-71.