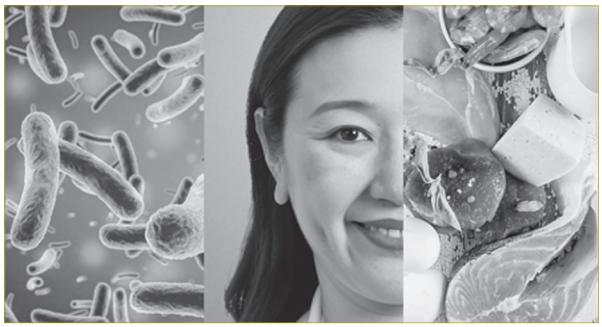
Listeria monocytogenes 검출 솔루션 : 비오메리으 코리아



Listeria monocytogenes 에 의한 식중독

최근에 식중독균 중의 하나인 *Listeria monocytogenes* 에 의한 국내외 식품 오염 사례가 증가하고 있다. 식품의 수출입이 활발해짐에 따라 작년 미국에서는 한국산 팽이버섯을 먹고 4명이 사망하는 식중독 사고가 발생하기도 했으며, 최근에는 국내 유통되는 훈제연어에서도 *L. monocytogenes*가 검출되어 판매 중단, 회수되는 경우가 있었다.

일반적으로 *L. monocytogenes*는 살균하지 않은 유제품(우유, 치즈), 아이스크림, 어류, 식육, 채소류 등 다양한 제품에서 오염이 발생하는 것으로 알려져 있다. 최근 국내 오염 사례를 볼 때 주로 즉석섭취, 편의식품에 집중되어 있으며, 오염 경로는 원재료 자체의 오염보다는 제조, 가공 공정 중에서 식품으로 오염되는 것으로 알려져 있다.

따라서 식품 제조, 가공업체에서는 *L. monocytogenes* 에 의한 오염을 사전에 방지하고 오염 발생시 신속하고 정확한 결과를 확인하고자 검증된 검출법을 사용하는 것이 중요하다. 비오메리으에서는 식품, 공정 과정 및 환경에서 *L. monocytogenes*를 정확하게 검출할 수 있는 솔루션을 소개하고자 한다.

Listeria monocytogenes 신속 검사 솔루션

일반적으로 식품 및 환경 샘플에서 *L. monocytogenes* 검출 시 식품공전상 배지 방법을 사용하면 최소 3일에서 5 일까지 소요된다. 하지만 이는 실험 소요 시간이

표1. 리스테리아 신속 검사 검출 방법

	식품공전	ALOA ONE DAY	VIDAS	GENE-UP
Day 0	전배양	전배양	선택배양	선택배양
Day 1	선택배양	ALOA 배지	결과확인	결과확인
Day 2	분리 (ALOA)	결과확인		
DAY 3	결과확인			
확인시험	미생물 동정 (VITEK MS, VITEK 2 , API)			

길고 사용자의 수작업이 많아 번거로움이 있으며, 사용하는 배지 및 실험 방법 따라 검출 결과의 정확도 및 신뢰성이 낮아지는 경우가 있다.

기존 실험 방법의 한계를 극복하고자 최근에는 *L. monocytogenes*신속 검출 기법이 개발 되고 있으며, 비오메리으에서도 이를 극복하고자 *L. monocytogenes* 신속 검출을 위한 솔루션이 개발되었다.

(1) GENE-UP LMO 2 : NEXT DAY 검출 방법

GENE UP System은 기존의 Real time PCR의 한계를 극복하고자 비오메리으에서 개발한 Real-time PCR System이다. FRET (Frster Resonance Energy Transfer) 원리로 2개의 PROBE를 이용하며 Ct (Cycle time) 값과 Tm(Melting Curve)값을 함께 분석한다. Ct와 Tm, 두 개의 값을 동시에 분석 하므로 정확도가 높은 뿐만 아니라 오염도가 낮은 샘플의 위음성 판정에 대한 위험성도 낮다.

사용 방법이 간편하여 2번의 피펫팅으로 실험을 진행할 수 있어 누구나 쉽게 실험이 가능하다. DNA 추출 과정의 경우, 가열처리 없이 5분 정도Vortex mixer를 이용하여 mixing하면 DNA 를 추출할 수 있다. Lysis kit의 Magic cap은 튜브를 열고 닫는 과정을 없애주어 실험과정에서 생길 수 있는 교차 오염의 위험성을 줄였다.

또한 샘플의 배양과정부터 DNA 추출, 검출과정이 모두 인증된 검사 방법으로 전처리 과정부터 결과확인까지 최적화된 프로토콜을 제공한다. AOAC, ISO등 공인인증 받은 방법으로 국제공인인증을 요구하는 실험실에도 적합하다.

(2) VIDAS LISTERIA : NEXT DAY 검출방법

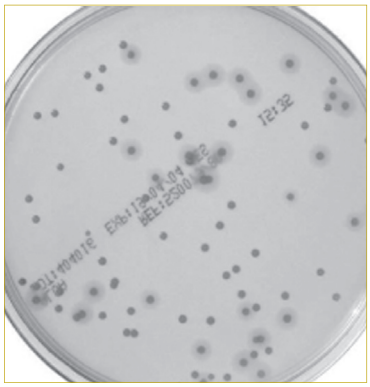
VIDAS System은 국내외 5,000개 이상의 실험실에서 사용되고 있으며, 식중독균 신속 검출에 주로 사용한다. 식품, 환경 샘플에서 *L. monocytogenes*를 ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) 원리를 이용하여 검출하며, Listeria 검출을 위한 키트로는 LMX(*Listeria monocytogens*), LPT (*Listeria spp.*)가 상용화 되어 있어, 실험자의 검출 타겟에 맞게 선택이 가능하다.

VIDAS LMX의 원리는 SPR 표면에 *L. monocytogenes*만 특이적으로 결합할 수 있는 항체가 코팅되어 있으

며, 샘플에 있는 항원과 결합하여 검출된다. 이로 인해 기존 배지 방법보다 *L. monocytogenes*검출 정확도가 높아지고 위양성률을 현저히 낮출 수 있게 된다.

VIDAS 키트는 1개의 액체배지, 1개의 스트립을 이용하여 간편하게 실험 가능하며, 1일 배양 후 바로 다음 날 결과를 확인할 수 있다. 또한 모든 키트는 AOAC, ISO 등의 국제 공인 인증을 받았으며 98% 이상의 높은 정확도를 가진다.

(3) ALOA 배지 : 48시간 검출 방법



ALOA는 크로모제닉 배지로 *L. monocytogenes*의 선택성이 높고 콜로니 구별이 쉬운 장점이 있다. 또한 식품공전 및 BAM에 등재된 배지로 국내외 공인 시험방법이다.

ALOA배지의 경우, 크로모제닉 기질을 이용하여 Beta-glucosidase 활성에 따라 청록색 콜로니를 나타내며, Phoshpolipase 활성 여부에 따라 불투명한 환을 생성하거나 생성하지 않는다.

따라서 *L. monocytogenes*의 경우 전형적으로 불투명한 환을 가진 청록색의 원형 콜로니를 가지게 된다.

ALOA 검출 방법은 48시간 이내에 검출이 가능하며, 샘플 24시간 액체 배지 배양 후 ALOA 배지에서 24시간 배양하면 쉽게 결과 확인이 가능하다. ISO 16140와 AOAC인증을 받았으며, 국내 공인시험법에도 등재가 되어 많은 실험자가 사용하는 방법이다.

(4) 확인(동정)시험 : VITEK 2, API, VITEK MS

Listeria 확인시험에는 생화학적인 방법을 이용한 VITEK 2 COMPACT System과 API 동정 방법과 질량분석원리를 이용한 VITEK MS 동정 방법이 있다.

VITEK 2 COMPACT과 API는 생화학적인 기질을 이용한 미생물 동정 방법의 대표적인 방법으로 키트 내부에 생화학기질이 건조된 형태로 들어 있고 이를 탁도를 맞춘 균주를 넣어 배양하면 기질 이용성 결과를 확인하여 최종 동정한다. 리스테리아 동정을 위해서는 VITEK® 2 GRAM POSITIVE 카드 또는 API LISTERIA 키트가 사용된다. VITEK 2 COMPACT의 경우 자동으로 배양 후 결과를 확인하며 균주에 따라2~8시간이 소요되며, API LISTERIA는 매뉴얼 방법으로 배양 24시간 이후 결과를 육안으로 확인하게 된다.

VITEK MS는 질량분석원리를 이용하여 동정하는 방법이며, 리스테리아를 동정할 수 있는 가장 빠른 방법으로 시료 하나당 1분 이내로 결과를 확인할 수 있다.

결론

*Listeria monocytogenes*는 식중독균으로 식품, 환경 등에서 오염 사례가 늘어나고 있다. 이에 따라 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 실험 방법 등이 개발되고 있으며, 실험방법의 신속성 뿐 아니라, 정확도, 신뢰도도 중요한 요소가 되고 있다.

비오메리으 리스테리아 솔루션인 GENE UP, VIDAS, ALOA를 이용해 실험하면 증균에서 동정까지 1~2 일 이면 *L. monocytogenes* 의 검출 결과를 확인할 수 있을 뿐만 아니라, 국제 공인 기관 및 세계 각국의 실험자로부터 결과의 정확도 및 민감도를 인정 받았기 때문에 신뢰성 있는 결과를 도출할 수 있다.

신속성, 정확도 및 결과 신뢰성을 모두 인정 받은 비오메리으 *L. monocytogenes*솔루션이 국내외 유통 제품의 품질관리, 환경모니터링 그리고 연구 등에 활발하게 이용되기를 기대해본다.