pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 29, No. 1, pp. 26~30 (2014)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2014.29.1.026

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

식품에서 분리된 리스테리아 모노사이토젠스의 분포 및 항생제 내성

정효원 · 박상훈* · 이집호 · 김수진 · 류승희 · 송미옥 · 박선희 · 조정윤 · 박건용 · 최성민
서울특별시 보건환경연구원 미생물관리팀

Prevalence and Antibiotic Resistance Patterns in *Listeria Monocytogenes* Isolated from Food

Hyo-won Jeong, Sang-hun Park*, Jib-ho Lee, Soo-jin Kim, Seung-hee Ryu,
Mi-ok Song, Sun-hee Park, Jeong-yun Jo, Geon-yong Park, and Sung-min Choi
Microbiological control Team, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health & Environment, 30, Janggunmaeul 3-gil, Gwacheon-si, Gyeonggi-do, Korea
(Received June 10, 2013/Revised August 12, 2013/Accepted February 19, 2014)

ABSTRACT - *Listeria monocytogenes* continues to be a important food safety concern. The aims of the present study were to investigate the prevalence and antimicrobial susceptibility of *L. monocytogenes*. A total of 1,042 samples was collected from 2010 to 2011 in Seoul and twelve *L. monocytogenes* were isolated. Isolation rate was Gimbap (0.8%), Beef (yukhoe) (2.6%), Pork (cooked) (5.9%), Fish(cooked) (6.3%), and Salmon (11.1%), respectively. In this study, most of the isolates were susceptible to antibiotics. The most common resistance was cefotetan on 11 isolates, followed by cefotaxime on 7 isolates, cepefime on 6 isolates and tetracyclin on 3 isolates.

Key words : *L. monocytogenes*, Antibiotics, Tetracyclin

Listeria 속은 아포를 형성하지 않는 통성 혐기성 그람양성 간균으로 자연계에 흔히 존재하며 *Listeria denitrificans* 등 10개의 종으로 분류되고 *L. monocytogenes*와 *L. ivanovii* 만이 병원성이고 그 중 *L. monocytogenes*가 사람에게 감염을 일으킨다. *L. monocytogenes*는 1ºC에서 44ºC의 광범위한 생육온도를 가지고 냉동과 건조에 비교적 잘 견디며, 또한 pH 5 이하의 산과 높은 염농도에서도 생육이 가능한 것으로 보고되고 있다[1,2,3].

*L. monocytogenes*는 기회감염으로 리스테리아증을 일으키고 수막뇌염, 유산, 패혈증 같은 임상증상이 나타내며, 발병률은 높지 않지만 발병하면 사망률이 30%에 육박할 정도로 위험하여 지정전염병으로 지정되어 있다[4,5]. 2011년까지 국내 식품의 *L. monocytogenes*가 식중독을 일으킨 경우는 없지만[6] 유럽과 미국에서는 육류와 치즈에 오염된 *L. monocytogenes* 때문에 식중독이 종종 발생되며 사망자도 나오고 있다[7]. 특히 2011년 발생한 미국 Rocky Ford Cantaloupes 사태에서 147명 감염에 33명이 사망하였고 임산부 1명이 유산하였으며 감염자의 평균나이가 81세에 이를 정도로[8] 신생아, 임산부, 노약자, 면역이 저하되어 있거나 억제되어 있는 사람이 위험군이다[3].

리스테리아증 치료에는 ampicillin이나 penicillin의 단독요법 혹은 gentamycin과의 병용요법이 사용된다[9]. *L. monocytogenes*는 흔히 penicillins, aminoglycosides, tetracycline 등 다양한 항생제에 대해 감수성을 가지고 있으며 sulfomethoxazole, cephalosporins에는 저항성을 가지고 fluoroquinolones을 제외한 quinolones에도 저항성을 가진다[10,11].

국내 식품에서 *L. monocytogenes*는 다른 식중독균에 비해 많은 연구가 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 국내 식품중 *L. monocytogenes*에 대한 기초자료를 제공하고자 2010년에서 2011년 동안 서울소재 재래시장과 백화점 그리고 대형마트에서 수거된 식품을 대상으로 *L. monocytogenes*의 오염도와 분리주에 대한 항생제 감수성 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

시료채취

본 실험에 사용된 시료는 총 1,042건으로 2010년에서 2011년까지 서울지역 25개 구청에서 무작위로 수거하였고

*Correspondence to: Sang-hun Park, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health & Environment 30, Janggunmaeul 3-gil, Gwacheon-si, Gyeonggi-do, Korea
Tel: 82-2-570-3252, Fax: 82-2-570-3272
E-mail: sanghun93@seoul.go.kr

Table 1. The kinds and number of samples

kinds of samples		Number of samples (%)
Ready-to-eat food (RTE)	Gimbap	498 (47.8)
	Sandwich & Burger	96 (9.2)
	Dosirak	49 (4.7)
Meat product	Beef (yukhoe)	152 (14.6)
	Duck & chicken (cooked)	118 (11.3)
	Pork (cooked)	17 (1.6)
Fish product	Sliced raw fish	41 (3.9)
	Sushi	37 (3.6)
	Salmon	18 (1.7)
	Fish(cooked)	16 (1.5)
	Total	1042 (100)

모든 시료는 식품의약품안전청(KFDA) 식품공전 규격[12,13] 기준에 따른 미생물 시험을 실시하였다. 그 중 643건은 즉석섭취식품, 287건은 육류함유식품, 112건은 어류함유식품이었다(Table 1).

*Listeria monocytogenes*의 분리 및 동정

시료를 무균적으로 채취하여 UVM-modified Listeria broth (Becton Dickinson)에서 30ºC, 24시간 배양하고 배양액 0.1 mL를 취하여 Fraser Listeria broth (Becton Dickinson)에 37ºC, 24시간 2차 배양하였다. 선택배지인 Oxford agar (Oxoid)에 2차 배양액을 획선 도말하여 30ºC, 24~48시간 배양하고 집락모양이 진한 갈색 또는 검은색 환으로 둘러싸인 집락을 선발하여 Brain Heart Infusion agar (Becton Dickinson)에 배양해서 API Listeria 키트(BioMerieux)를 이용하여 동정하였다.

항생제 감수성 시험

본 연구에 사용한 항생제 디스크는 β-lactam계 중 Penicillin계 penicillin (PEN: 10 IU), ampicillin (AMP: 10 μg), amoxicillin/clavulanic acid (AMC: 30 μg), ampicillin/sulbactam (SAM: 10/10 μg), Cepalosporin계 cephalothin (CEF: 30 μg), cefotetan (CTT: 30 μg), cefotaxime (CTX: 30 μg), cefepime (FEP: 30 μg)이고 aminoglycoside계 gentamicin (GEN: 10 μg), streptomycin (STR: 10 μg), neomyicn (NEO: 30 μg), quinolone계 norfloxacin (NOR: 10 μg), ciproploxacin (CIP: 5 μg), glycopeptide계 Vancomycin (VAN: 30 μg), Tetracycline계 tetracycline (TET: 30 μg), 그 외 trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT: 1.35/23.75 μg), erythromycin (ERY: 15 μg), chloramphenicol (CHL: 30 μg)의 총 18종을 사용하였으며 모두 Becton-Dickinson 사의 BBL 제품을 사용하였다.

항생제 감수성 시험의 방법과 기준은 Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)의 디스크 확산법[14]를 준용하였다.

결 과

Listeria monocytogenes 검출률

2010년에서 2011년까지 다양한 식품으로부터 분리한 *L. monocytogenes* 검출률은 0%부터 11.1%까지 다양한 분포를 보였다(Table 2). 총 1,042건의 시료 중 12건에서 *L. monocytogenes*가 검출되어 1.2%의 검출률을 나타냈다. 검체의 종류별로는 김밥과 육회에서 각 4건씩, 연어제품에서 2건, 돈육식품과 조리된 생선에서 각 1건씩 검출되었으나 검출률에서 는 연어제품이 18건의 시료에서 2건이 검출되어 11.1%로 가장 높은 검출률을 나타냈다. 샌드위치와 햄버거, 도시락, 오리고기와 계육식품, 생선회, 초밥에서는 검출되지 않았다(Table 2).

항생제 감수성 테스트

항생제 감수성 테스트 결과는 Table 3과 같다. Penicillin계 항생제에는 대부분 내성이 없었지만 같은 β-lactam계인 cephalosporin계는 1세대 항생제인 cephalothin을 제외한 2,3,4세대인 cefotetan (11 균주), cefotaxime (7 균주),

Table 2. Prevalence of *L. monocytogenes* isolated from samples

Samples	Number of samples	Antimicrobial	Number (%) of isolates
Gimbap	498	CTT, CTX, FEP, TET	4(0.8)
Sandwich & Burger	96		0(0.0)
Dosirak	49		0(0.0)
Beef (yukhoe)	152	CTT, CTX, FEP	4(2.6)
Duck & chicken (cooked)	118		0(0.0)
Pork (cooked)	17	FEP	1(5.9)
Sliced raw fish	41		0(0.0)
Sushi	37		0(0.0)
Salmon	18	CTT, CTX, FEP, TET	2(11.1)
Fish (cooked)	16	CTT	1(6.3)
Total	1042		12(1.2)

Table 3. Antimicrobial susceptibility rates of *L. monocytogenes* isolated from samples

Antimicrobial		Number of isolates		
		Resistant	Intermediate	Susceptible
Penicillin	PEN	0	7	5
	AMP	0	0	12
	AMC	0	0	12
	SAM	0	0	12
Cepalosporins	CEF	0	0	12
	CTT	11	1	0
	CTX	7	4	1
	FEP	6	3	3
Aminoglycosides	GEN	0	0	12
	STR	0	4	8
	NEO	0	0	12
Quinolone	NOR	0	3	9
	CIP	0	0	12
Glycopeptide	VAN	0	0	12
Tetracyclines	TET	3	0	9
Others	SXT	0	0	12
	ERY	0	0	12
	CHL	0	0	12

PEN: penicillin, AMP: ampicillin, AMC: amoxicillin/clavulanic acid, SAM: ampicillin/sulbactam, CEF: cephalothin, CTT: cefotetan, CTX: cefotaxime, FEP: cepefime, GEN: gentamicin, STR: streptomycin, NEO: neomycin, NOR: norfloxacin, CIP: ciprofloxacin, VAN: vancomycin, TET: tetracycline, SXT: trimethoprim/sulfamethoxazole, ERY: erythromycin, CHL: chloramphenicol

Table 4. Multiresistance patterns of Listeria monocytogenes isolated from samples

Number of resistance	Number (%) of isolates	Antimicrobial resistance patterns (No. of isolates)	Samples (Number)
0	0	-	
1	5 (42)	CTT (4)	Beef (yukhoe) (3)
			Fish (cooked) (1)
		FEP (1)	Pork (cooked) (1)
2	1 (8)	CTT, CTX (1)	Salmon (1)
3	4 (33)	CTT, CTX, FEP (3)	Gimbap (2)
			Beef (yukhoe) (1)
		CTT, CTX, TET (1)	Gimbap (1)
4	2 (17)	CTT, CTX, FEP, TET (2)	Gimbap (1)
			Salmon (1)

cefepime (6 균주)은 내성이 높게 나타났다. Tetracycline계의 tetracycline도 3균주에서 내성이 발견이 되었다. 다른 항생제에서는 내성을 나타내지 않았다.

12개의 분리주 모두 하나 이상의 항생제에 내성을 보였고 2개 이상의 항생제에 내성을 보인 균주는 7주로 58%의 비율을 보였다. 단일 항생제에 내성을 보인 분리주가 5주, 3개의 항생제에 내성을 보인 분리주 4주, 4개의 항생제에 내성을 보인 분리주는 2주, 2개의 항생제에 내성을 보인 분리주는 1주가 있었으며 항생제 내성에 대한 검출률은 각각 42%, 33%, 17%, 8% 순이었다(Table 4).

고 찰

*L. monocytogenes*는 리스테리아증을 일으키는 원인균으로 다양한 환경에서 널리 퍼져있으며 극한 조건에서도 생존이 가능하기 때문에 식품 제조과정 중이나 냉장에도 살아남아 증식할 수 있다. 냉장유통으로 원유나 치즈, 육류 등 여러 식품의 장거리 이동이 자유로워지고 다시 가열하지 않아도 섭취가 가능한 식품이 늘어나고 있으며, 현대인들의 스트레스 증가 등으로 인해 면역력이 약해지고[15] 암환자의 증가[16]와 고령화로 위험군이 늘어나므로 *L. monocytogenes* 식중독 발생의 위험성은 날로 커지고 있다.

따라서 본 연구에서는 2010부터 2011년까지 1,042 개의 시료에서 *L. monocytogenes* 균 분리를 시도하였으며 12건이 검출되어 1.2%의 검출률을 보였다. 국내 연구 결과를 살펴보면 즉석섭취・편의식품에서 *L. monocytogenes*가 검출되지 않았고[17] *L. monocytogenes*는 몇 가지 감염증예[19,20,21]가 있지만 식중독 원인균으로 밝혀진 예는 없어 국내에선 아직 다른 균종보다 위험에 대한 인식이 부족하다. 그러나 시료의 범위와 지역이 다르지만 외국의 경우는 He Yan 등이 Hebei 지방의 식품을 실험한 결과 4.13%의 검출률을 보였고[22] E.A. Martins 등은 So Paulo에서 햄을 조사하여 3.5%의 결과를 얻었으며[23] Seza Arslan 등은 수제 치즈에서 9.2%를 검출되었으며[2] 본 연구와 같이 다양한 식품에서 분리된 검출률이 2.1%정도로 비교적 낮게 검출되고 있다[18]. 또한 국내와는 달리 해외에서는 *L. monocytogenes*가 다수 발견이 되며 가끔씩 대형 식중독 사고도 일으키는 것으로 보고되고 있다[8]. 특히 김밥과 육회에서 많이 검출된 원인은 리스테리아는 전 세계적으로 원료육에 오염도가 높으며 가공중 바이오필름을 형성해서 교차오염이 발생되며[26] 김밥은 제조과정 중 미생물의 오염요인이 크며, 수분활성이 높고 미생물의 증식이 용이한 원료로 구성되어 있어 보존이 어렵고, 식품위생상의 식성병해를 일으키기 쉬운 문제점이 있다[27]. 육회는 원료육을 그대로 썰어 조미를 가해 먹는 형태이므로 원료육이 오염되어있을 가능성이 높다[18]. 원료육에서 *L. monocytogenes* 검출률이 적게는 3.32% 많게는 30%이상 검출된다고 보고하고 있다[3].

본 연구의 결과를 보면 전반적으로 항생제에 대한 내성이 높지는 않았지만 12균주 모두 cephalosporins에 내성을 나타내었다. β-lactam계 항생제 중 Penicillins보다 cephalosporins에 대한 내성을 나타냈는데 이는 다른 연구자[10,11]들의 보고에 의해서도 확인되고 있다. 일부 cephalosporins를

제외하면 Conter, M. 등[24]의 결과와 같이 본 연구에서도 *L. monocytogenes*의 항생제 내성은 비교적 낮게 나타났다. 하지만 임상치료에 많이 사용되는 penicillin, ampicillin, tetracyline과 gentamicin에 내성을 나타내는 것은 사망률이 높은 리스테리아증의 치료에서는 위험하다. 본 연구에서 tetracycline이 3균주(25%)에서 높은 내성[25]을 보였는데 다른 연구[3,4,22]에서도 다른 항생제보다 높은 내성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다. 향후 tetracycline의 내성유전자에 대한 연구가 이어져야 할 것으로 생각된다.

본 연구는 조리과정을 거치지 않고 사람이 바로 섭취하는 다양한 식품의 *L. monocytogenes* 오염도 조사와 항생제 내성의 패턴 변화에 대한 연구로서 지속적으로 감시해 간다면 공중보건학적 연구의 기초자료로서 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에서는 식품에서의 *L. monocytogenes*에 대한 기초자료를 제공하고자 2010년부터 2011년까지 서울지역에서 수거된 식품 총 1042건에서 *L. monocytogenes*를 분리하여 항생제 감수성 검사를 하였다. 김밥 4건(0.8%), 육회 4건(2.6%), 연어제품 2건(11.1%), 돈육식품과 조리된 생선에서 각 1건씩(각5.9%, 6.3%) 총 12균주가 분리 동정되었다. 분리 균주를 20종의 항생제에 검사한 결과 대다수 항생제(16종)에 감수성을 나타내었지만 cefotetan (11균주), cefotaxime (7균주), cefepime (6균주)에서 내성을 나타냈으며 3균주에서 임상치료에 자주 사용되는 tetracycline에 대해서 내성을 나타내었다.

참고문헌

1. Vázquez-boland, J., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Domínguez-bernal, G., Goebel, W., González-zorn, B., Wehland, J. and Kreft, J.: Listeria Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants, *Clin. Microbiol. Rev.*, **14**, 584-640 (2001).
2. Arslan, S. and Özdemir, F.: Prevalence and antimicrobial resistance of Listeria spp. in homemade white cheese, *Food Control,* **19**, 360-363 (2008).
3. 이지윤: 식육에서 분리한 *Listeria monocytogenes*의 분자생물학적 특성 및 항생제내성에 관한 연구, 박사학위논문, 건국대학교대학원 (2010).
4. Jeon, S.B., Lee, S.B., and Hong, C.H.: Antimicrobial resistance of Listeria monocytogenes isolated form pork cutting plants and meat shops. *J. Prev. Vet. Med.,* **34**, 109-115 (2010).
5. Vázquez-boland, J., Domínguez-bernal, G., González-zorn, B., Kreft, J. and Goebel, W.: Pathogenicity islands and virulence evolution in Listeria. *Microbes Infect.,* **3**, 571-584 (2001).
6. http://www.kfda.go.kr/e-stat/index.do.
7. Todd, E.C.D. and Notermans, S.: Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes. Food Control,* **22**, 1484-1490 (2011).
8. http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/082712/index.html.
9. Kalstone, C.: Successful antepartum treatment of listeriosis. *Gynecol Obstet.,* **164**, 57-58 (1991).
10. Swaminathan, B. and Gerner-Smidt, P.: The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect.* **9**, 1236-1243 (2007).
11. Charpentier, E. and Courvalin, P.: Antibiotic Resistance in Listeria spp. *Antimicrob Agents Chemother.,* **43**, 2103-2108 (1999).
12. http://fse.foodnara.go.kr/residue/RS/jsp/menu_02_01_03. jsp?idx=386.
13. http://www.kfda.go.kr/index.kfda?searchkey=notice_num ber&mid=95&searchword=2009-66&division=&pageNo= 1&seq=2642&cmd=v.
14. CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI Document M100-S20. Clinical and Laboratory Standards Institute., Wayne, PA. (2011).
15. Chang, S.l., Koh, S.B., Park, J.K. and Cha, B.S.: The Effect of social Support on Chronic Stress and Immune System in Male Manufacturing Workers. *Korean J. Prev. Med.,* **35,** 287-294 (2002).
16. http://www.index.go.kr/egams/stts/jsp/potal/stts/PO_STTS_IdxMain.jsp?idx_cd=2770.
17. Kim, H.Y., Oh, S.W., Chung, S.Y., Choi, S.H., Lee, J.W., Yang, J.Y., Seo, E.C., Kim, Y.H., Park, H.O., Yang, C.Y., Ha, S.C. and Shin, I.S.: An Investigation of Microbial Contamination of Ready-to-Eat Products in Seoul, Korea. *Korean J. Food Sci. Thechnol.,* **43,** 39-44 (2011).
18. Latorre, L., Parisi, A., Fraccalvieri, R., Normanno, G., La Porta, M.C., Goffredo, E., Palazzo, L., Ciccarese, G., Addante, N. and Santagada, G.: Low prevalence of Listeria monocytogenes in foods from Italy. *J. Food Prot.,* **70**, 1507-1512 (2007).
19. 신재준, 최지영, 김선민, 이승미, 오경준, 박찬욱, 박중신, 전종관, 박성혜, 신희철: 임신 중기의 리스테리아 감염으로 인한 자궁내태아사망 1예, 대한산부인과학회지, **53**, 287-290 (2010).
20. 정언석, 이은성, 이경욱, 민주영, 이경주: 임신 제 3 삼분기 초기 리스테리아 감염증 1예, 대한산부인과학회지, **48**, 194-198 (2005).
21. 이승현, 손동우, 심소연, 서일혜, 김석영: 혈액 및 양수에서 확인된 신생아 산모 리스테리아증1예, 대한주산의학회, **19**, 388-392 (2008).
22. Yan, H., Neogi, S.B., Mo, Z., Guan, W., Shen, Z., Zhang, S., Li, L., Yamasaki, S., Shi, L. and Zhong, N.: Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005-2007. *Int. J. Food Microbiol.,* **15**, 310-316 (2010).
23. Martins, E. A. Leal Germano, P. M.: *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, sliced, cooked ham and salami products, marketed in the city of So Paulo, Brazil: Occurrence, quanti-

fication, and serotyping, Food Control **22**, 297-302 (2011).
24. Conter, M., Paludi, D., Zanardi, E., Ghidini, S., Vergara, A. and Ianieri, A.: Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*, *Int. J. Food Microbiol.,* **128**, 497-500 (2009).
25. Sakaridis, I., Soultos, N., Iossifidou, E., Papa, A., Ambrosiadis, I., and Koidis, P.: Prevalence and antimicrobial resistance of Listeria monocytogenes isolated in chicken slaughterhouses in Northern Greece. *J. Food Prot.* **74**, 1017-1022 (2011).
26. Jemmi, T., and Stephan, R.: Listeria monocytogenes: foodborne pathogen and hygiene indicator. *Rev. Sci. Tech.* **25**, 571-80 (2006).
27. Kim, D.H.. Song, H.P., Kim, J.K., Kim, J.O., Lee, H.J., and Byun, M.W.: Determination of microbial contamination in the process of rice rolled in dried laver and improvement of shelf-life by gamma irradiation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 991-996 (2003).