

## 증균배지에서의 *Listeria* Interspecies의 경쟁생육 비교

이다연 · 조용선<sup>1\*</sup>

삼성바이오로직스 품질관리팀, <sup>1</sup>한국식품연구원 식품분석센터

### Comparison of Growth Rates of *Listeria* Interspecies in Different Enrichment Broth

Da Yeon Lee and Yong Sun Cho<sup>1\*</sup>

Samsung Biologics Co., Quality Control Team, Incheon, Korea

<sup>1</sup>Korea Food Research Institute, Food Analysis Center, Jeollabuk-do, Korea

(Received August 31, 2017/Revised September 26, 2017/Accepted December 21, 2017)

**ABSTRACT** - Monitoring of *Listeria monocytogenes*, the causative agent of listeriosis, in food is important for public health. The Korean Food Standards Codex has adopted a 'zero-tolerance' policy for *L. monocytogenes*. The standard detection method of *L. monocytogenes* is based on enrichment. Thus, proper enrichment methods need to be instituted to ensure quality control of the detection procedures. In this study, the growth of *L. monocytogenes* and *Listeria innocua* as a mixed culture in *Listeria* enrichment broth (LEB) was monitored during artificial contamination of enrichment culture. We confirmed competitive growth or interspecies inhibitory activity of *L. monocytogenes* and *L. innocua*. Interspecies growth differences and the inhibitory activity of different inoculation and mixtures *L. innocua* against *L. monocytogenes* were examined. The concentration of *L. monocytogenes* must be 2.0 log CFU/mL or more than *L. innocua* to grow better than *L. innocua*. It is known that *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* show growth difference during LEB, resulting in the risk of false-negative results. The inhibition of *L. monocytogenes* by *L. innocua* was always observed when present at lower concentrations. However, it was confirmed that *L. innocua* suppressed when *L. monocytogenes* was present at a higher concentration. Therefore if a mixture of *Listeria* spp. is present, detecting *L. monocytogenes* is difficult. Thus, a new enrichment broth to improve the detection rate of *L. monocytogenes* is needed.

**Key words** : *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, Competition growth, Enrichment broth, False-negative

*Listeria monocytogenes*는 통성혐기성 gram 양성 무아포 단간균으로 30% 이상의 높은 치사율을 보이는 인수공통 감염병 Listeriosis를 유발하기 때문에 임상적으로 중요한 위해균으로 분류된다<sup>1,3)</sup>. 최소 감염량은 면역력이 약한 위험군 혹은 식품별로 차이가 있으나 일반적으로 10<sup>2</sup>~10<sup>3</sup> CFU/g로 제시되고 있어 낮은 오염수준에서도 식중독이 발생할 수 있고, 특히 면역력이 약한 임산부에게 치명적인 균이다<sup>2,4)</sup>. 토양, 물 등 자연환경에 흔히 존재하고 열, 염기, 산, 염에 강하여 식품에 쉽게 오염되며 최적 생육온도는 30~37°C이지만 0~4°C 냉장온도에서도 생육하는 저온균으로<sup>4,5)</sup> 국내에서 높은 소비량을 유지하고 있는 육류가 공품, 치즈, 우유, 훈제연어, 채소류에서 주로 검출되기 때

문에 이에 대한 관리가 중요하다<sup>2,3)</sup>. 따라서 국내 식품의약품안전처를 비롯하여 World Health Organization (WHO)와 Food and Drug Administration (FDA) 등 여러 기관은 *L. monocytogenes*의 관리기준을 불검출로 설정하여 엄격한 수준으로 관리하고 있다<sup>6)</sup>.

*L. monocytogenes*의 검출방법은 증균배양을 이용한 culture-based 검출법, PCR 검출법, ELISA 검출법, DNA microarray, LAMP 검출법 등이 있지만<sup>7)</sup>, 일반 산업체에서 PCR, ELISA 등으로 검출하기에는 분석 비용, 기술력 부족 등으로 어려움이 있으며, 결과 확인을 위해 순수한 분리주를 분리 후 동정해야 하기 때문에 증균배양 시험법을 선호하고 있다. 또한, 식품공전에는 culture-based 검출법이 등재되어 있으므로<sup>8)</sup> 품질관리시 증균배양은 필수 불가결하다. 하지만 증균배양을 이용한 검출법은 *L. monocytogenes*의 초기 균수와 기타 오염균, 배지 성분 등에 영향을 받는다<sup>7,9)</sup>. 특히, 현재 사용되는 증균배지는 *Listeria* 속을 증균하는 조성이므로 여러 종이 혼합오염 된 경우

\*Correspondence to: Yong Sun Cho, Korea Food Research Institute, Food Analysis Center, 245, Nongsaengmyeong-ro, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do 55365, Korea  
Tel: 82-63-219-9242, Fax: 82-63-219-9280  
E-mail: yscho@kfri.re.kr

*L. monocytogenes* 검출을 방해 할 수 있으며<sup>9)</sup> *L. monocytogenes*를 선택적으로 증균하기 위해 첨가한 인자가 경쟁관계에 있는 다른 *Listeria* 속의 생육을 돕는 인자로 작용한다는 보고가 있다<sup>9,10)</sup>. 식품에는 다양한 *Listeria* 속이 오염될 수 있으며 생화학적, 유전학적 특성이 매우 비슷하기 때문에 이들을 구분하기가 쉽지 않다<sup>1,11)</sup>. 따라서 *Listeria* 종 간의 과성장 및 경쟁에 의해서 *L. monocytogenes*를 검출 시 *L. monocytogenes*가 존재하더라도 불검출되는 '위음성'의 가능성이 있다<sup>6,12)</sup>.

국내 식품공전은 *L. monocytogenes* 증균을 위한 1차 배지로 *Listeria* Enrichment Broth (LEB)를 규정하고 있다. 문헌 조사에 의하면 Tryptic Soy Broth (TSB), Fraser broth의 영양배지나 2차 증균배지에서의 *Listeria* 종 간의 생육에 대한 연구결과가 보고되어있으나<sup>6,10,12)</sup> 국내 식품공전에서 규정된 LEB 배지에서의 *Listeria* 종 간의 생육 연구는 보고된 바 없다. 따라서 국내 식품에서 주로 검출되는 *Listeria* 속 4종(*L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*)을 선정하여 LEB에 혼합 배양하고 생육을 확인하여 현재 검출법의 적합성을 확인해보고자 하였다.

## Materials and Methods

### 표준균주

본 시험에 사용된 균주는 *L. monocytogenes* (ATCC 15313), *L. innocua* (ATCC 33090), *L. ivanovii* (ATCC 19119), *L. seeligeri* (ATCC 35967)로 American type culture collection (ATCC, Manassas, VA, USA)에서 분양 받아 사용하였다. 사용 균주는 30% glycerol stock vial에 현탁 후 -70°C deep freezer에 냉동 보관하였으며, 필요 시 tryptic soy agar (TSA; Merck., Darmstadt, Germany)에 0.6% yeast extract (YE; Becton-Dickinson., Erembodegem, Belgium) 포함한 배지에 35 ± 2°C, 24 ± 2시간, 3회에 걸쳐 계대 배양 하여 활성화 시킨 후 사용하였다.

### *Listeria* 속 4종 혼합배양액 생육측정

*Listeria* species 4종 혼합 배양 시 각 균의 생육을 확인하기 위해 TSA+YE 0.6% 배지에서 35 ± 2°C, 24 ± 2시간 활성화 시킨 *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*를 McFarland 1.0로 맞춘 후 희석하고 동량 혼합하여 시험액을 제조하였다. LEB (Merck., Darmstadt, Germany)에 초기 균수가 100 CFU/mL 이 되도록 시험액을 접종하였다. 균주를 접종한 배지는 35 ± 2°C, 70 rpm 진탕 배양하면서 시간에 따른 각 균의 생육을 real-time PCR System (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA)로 확인하였다. 4종의 균을 단독 배양한 것을 대조군으로 하였다. 같은 방법으로 *L. monocytogenes*와 *L. innocua* (또는 *L. ivanovii*, *L. seeligeri*)을 1:1로 혼합한 2종 혼합배양액의 생육도 확인하였다.

### Real-time PCR 분석을 위한 DNA 추출

4종의 *Listeria* 균주를 200 µL를 HiYield™ Genomic DNA Mini Kit (RBC Bioscience Co., Taipei, Taiwan)를 사용하여 추출하였다. 추출방법은 매뉴얼에 따라 proteinase K 30 µL를 처리하고, 60°C, 15분 배양 후 GB buffer 200 µL 혼합하여 70°C에서 15분 배양하여 cell lysis를 하고 ethanol 처리 후 GB column으로 옮겨 원심 분리하여 DNA를 binding시키고 wash buffer로 세척하였다. 70°C에서 15분 동안 pre-heating한 elution buffer로 DNA를 추출하였다.

### Real-time PCR 분석

PCR mixture는 template DNA 2 µL, taqman fast advanced master mix (Applied biosystems) 10.0 µL에 *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*와 *L. seeligeri*, *L. innocua* 각 primer를 0.2 µL, taqman probe 0.2 µL를 넣고 nuclease-free water 6.8 µL로 하여 전체 20 µL로 하여 ABI 7500 (Applied biosystems)을 사용하여 2종씩(1set: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, 2set: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, 3set: *L. mono-*

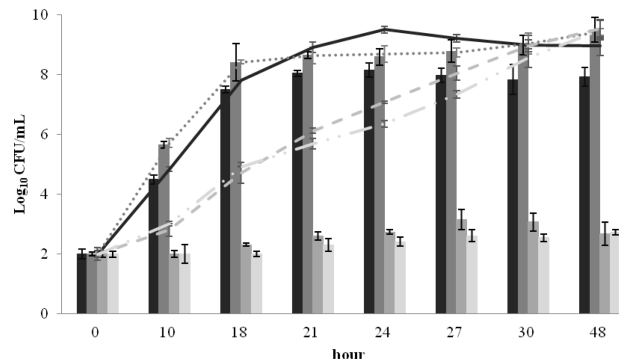
**Table 1.** Primers and probes used for the real time PCR assay to identify *Listeria* species<sup>18)</sup>

Strain	Target gene (accession number)	Primer and Probe (5'-3')
<i>L. monocytogenes</i>	Phosphatidyl inositol phospholipase C (HG421741.1)	F: CGGCGCACCTAACCAAGTAA R: CAGTCTGGACAATCTCTTTGAATTTT P: FAM-TCAAGATGACTACAATGGTCCGAGTGTGAAAA-QSY
<i>L. seeligeri</i>	Putative internalin (AY626261)	F: CTGATTTTGTCTGTTAAATCTTCAG R: GTTAAATTAATTTGAACGAAATGAGGG P: VIC-CAGTTGTTTCTCCGCGACGGCTAAAG-QSY
<i>L. ivanovii</i>	N-acetylmuramidae like protein gene (AY542872)	F: CAGGGATTATTATACTCATTGTGG R: GCTGCGAACTTAACTCAACTTG P: FAM-CCTGATTATCACCCGTTTCTGCTCCAAC-QSY
<i>L. innocua</i>	Inhibitor of Apoptosis protein (M80349.1)	F: CTACAAGTAAACGAGGTTGCTAC R: GGAAGTAAGAATGCTGTGGTC P: VIC-CTCCAGCGCCAGAACGTACATTAAGCC-QSY

*cytogenes*, *L. seeligeri*) duplex real-time PCR을 수행하였다. PCR primer는 Table 1과 같으며 50°C, 2분, 95°C, 20초 hold 후 denature 95°C, 2초, anneal/extend 60°C, 30초 과정을 40 cycle 반복하였다. 정량 분석을 위해 표준 균주에 대한 standard curve는 PCR 3회 반복의 각 시료에 대한 Ct 평균값 ± 표준편차 값으로 작성 후 회귀분석을 통해 계산식을 산출하였다. 증폭 효율성(amplification efficiency, AE)은  $AE = 10^{-1/s} - 1$  (s: slope of standard curve)으로 산출하였다. 각 균은 35 ng DNA를 양성 대조구로 nuclease-free water를 음성 대조구로 사용하였다.

***L. monocytogenes*와 *L. innocua* 초기 균수 비율에 따른 비교**

TSA+YE 0.6% 배지에서 35 ± 2°C, 24 ± 2시간 활성화시킨 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*를 McFarland 1.0로 맞춘 후 희석하고 초기 균수를 비율 별 혼합하여 시험액을 제조하였다. 각 시험액의 균의 비율은 *L. monocytogenes*:*L. innocua* (1:1, 2:1, 10:1, 100:1)로 제조하였고, LEB에 초기 균수가 100 CFU/mL이 되도록 접종하였다. 35 ± 2°C, 70 rpm 진탕 배양하면서 0, 24, 48시간에 Agosti & Ottaviani Listeria Agar (ALOA; Biomérieux, Marcy L’Etoile, France)에 도말하고 35 ± 2°C에서 24시간 배양하여 각 균의 전형적인 집락을 계수하였다. 결과값은 log값으로 변환하여 분석하였으며 2종의 균을 단독 배양한 것을 대조구로 하였다.

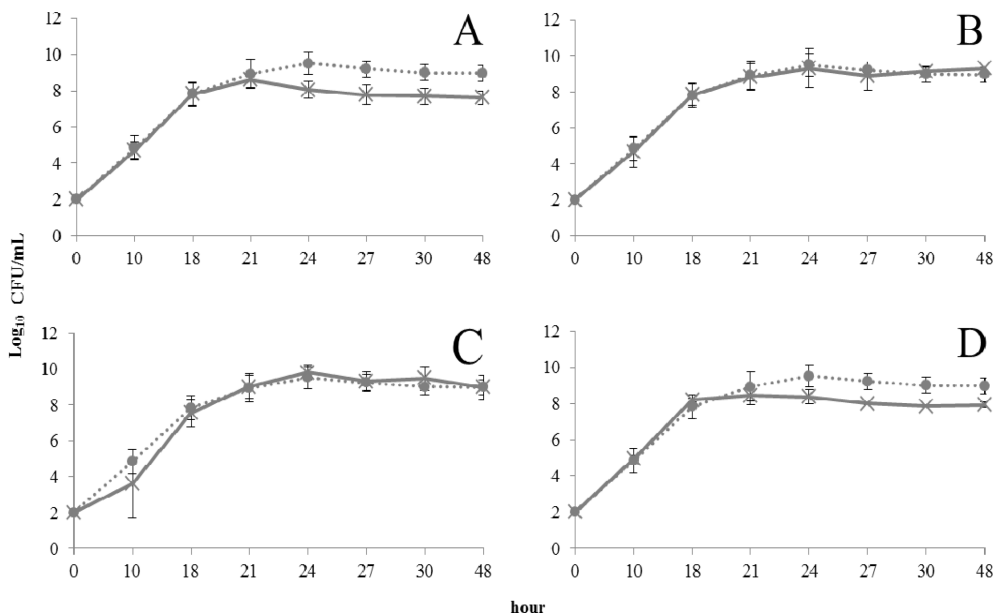


**Fig. 1.** Growth curves of pure and mixed cultures of *Listeria* spp. in LEB measured by RT-PCR. Growth pure cultures (Line graph) and as a mixed culture (Bar graph). Symbols are as follows: *L. monocytogenes* (■, —), *L. innocua* (●, · ·), *L. ivanovii* (□, - -) and *L. seeligeri* (□, - · - ·).

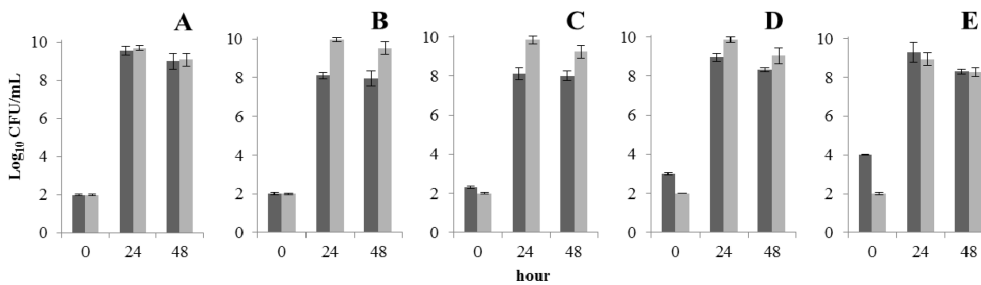
**Results and Discussion**

***Listeria* 속 4종 혼합배양액 생육측정**

*Listeria* 속 4종 혼합 배양 시 각 균의 생육을 확인한 결과 *L. innocua*의 균수가 가장 최고치에 도달한 21시간에서 단독배양액 대비 혼합배양액에서 97.95% 생육하여 거의 동일하였던 반면, *L. monocytogenes*는 24시간에 87.86%, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*는 48시간에 28.06%, 25.13%로 단독배양액에 비해 혼합배양액에서의 생육이 저해되었다. 따



**Fig. 2.** Growth curves of pure and mixed cultures based on *L. monocytogenes* in LEB by RT-PCR. Growth pure cultures of LM<sup>1</sup>, mixed culture of LM and LIN<sup>2</sup> (panel A). Growth pure cultures of LM, mixed culture of LM and LV<sup>3</sup> (panel B). Growth pure cultures of LM, mixed culture of LM and LS<sup>4</sup> (panel C). Growth pure cultures of LM, LM, LIN, LV and LS mixed culture (panel D). Symbols are as follows: pure culture of LM (●, · ·), *Listeria* spp. mixed culture (×, -). <sup>1</sup>*L. monocytogenes* <sup>2</sup>*L. innocua* <sup>3</sup>*L. ivanovii* <sup>4</sup>*L. seeligeri*.



**Fig. 3.** Monitoring the number of *L. monocytogenes* (LM■) and *L. innocua* (LIN■) viable cells in LEB. Panel A: LM 10<sup>2</sup> CFU/mL LIN 10<sup>2</sup> CFU/mL culture. Panel B: mixed culture (LM 10<sup>2</sup> CFU/mL and LIN 10<sup>2</sup> CFU/mL) Panel C: mixed culture (LM 2.0 × 10<sup>2</sup> CFU/mL and LIN 10<sup>2</sup> CFU/mL). Panel D: mixed culture (LM 10<sup>3</sup> CFU/mL and LIN 10<sup>2</sup> CFU/mL). Panel E: mixed culture (LM 10<sup>4</sup> CFU/mL and LIN 10<sup>2</sup> CFU/mL).

라서 *Listeria* 종 간의 혼합 배양 시 생육차이가 존재하는 것을 알 수 있었다(Fig. 1).

본 연구과제에서 검출을 목적으로 하는 균이 *L. monocytogenes*이므로 이를 기준으로 각 균이 *L. monocytogenes*의 생육에 어떤 영향을 미치는 지 확인해 본 결과 Fig. 2와 같다. Panel A는 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*를 혼합 배양한 배양액에서의 *L. monocytogenes* 생육과 *L. monocytogenes* 단독배양액에서의 *L. monocytogenes* 생육을 확인한 결과로 단독배양액에 비해 혼합배양액에서의 *L. monocytogenes*의 생육이 24시간부터 1.46 log CFU/mL 저해된 것을 확인하였다. 반면, panel B와 C는 단독배양액과 혼합배양액에서의 *L. monocytogenes*의 생육이 동일하여 차이가 없었다. Panel D에서는 단독배양액에 비해 혼합배양액에서의 *L. monocytogenes*의 생육이 24시간부터 1.24 log CFU/mL 저해된 것을 확인하였다. 따라서 *L. innocua*에 의해서 *L. monocytogenes*가 생육이 저해되었다(Panel. A, D). 이는 *Listeria* 종 간의 혼합 배양 시 생육의 차이가 있다는 보고와 일치하였다<sup>6,10,12-15</sup>). 반면, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*는 *L. monocytogenes*의 생육에 영향을 주지 않는다는 것을 알 수 있었다. *L. innocua*의 생육은 *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*의 영향을 받지 않으며 *L. ivanovii*, *L. seeligeri*는 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*에 의해 생육이 저해된 결과를 얻었다.

***L. monocytogenes*와 *L. innocua* 초기 균수 비율에 따른 비교**

*L. monocytogenes*와 *L. innocua*의 초기 오염 비율이 생육에 영향을 미치는 정도를 확인하기 위해 초기 접종량을 비율별로 조절하여 배양해 보았다. 배양 결과에 사용한 ALOA 선택배지는 *L. monocytogenes*는 β-glucosidase 활성에 의해 녹색 집락이 형성되며 phospholipase활성에 의해 집락주변에 opaque white halo가 형성되며, *L. innocua*는 녹색 집락이 형성되지만 opaque white halo는 나타나지 않아 육안으로 구분이 가능하다<sup>3,5</sup>). 2균을 단독 배양한 결과

는 접종량에 따른 두 균의 생육은 동일하였다. 그러나 2균을 동량 접종하여 혼합 배양한 결과 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*의 차이는 24시간에 1.9 log CFU/mL, 48시간에 1.5 log CFU/mL으로 *L. monocytogenes*가 *L. innocua*에 비해 1.0 CFU/mL 이상 적게 생육하였다. *L. monocytogenes*의 초기 접종량이 *L. innocua*보다 2배(0.3 log CFU/mL) 이상 오염된 경우 *L. monocytogenes*는 *L. innocua*에 24시간에 1.7 log CFU/mL, 48시간에 1.2 log CFU/mL 적게 생육하였고, 10배(1.0 log CFU/mL) 이상 오염된 경우도 마찬가지로 24시간에 0.9 log CFU/mL, 48시간에 0.7 log CFU/mL 적게 생육하였다. 100배(2.0 log CFU/mL) 이상 오염된 경우에는 *L. monocytogenes*가 *L. innocua*보다 24시간에 0.4 log CFU/mL 많이 생육하였지만 48시간에 균수는 동일하였다(Fig. 3, Table 2). 그러나 식품에서 *L. monocytogenes*가 보다는 다른 *Listeria* spp.에 의한 오염이 많이 되어 있으므로<sup>17</sup>) 두 균주의 혼합오염이 있을 경우 현재 검출 방법으로는 *L. monocytogenes*가 검출되기 어려워 검출률이 낮아질 것으로 생각된다. 이와 같은 결과는 *L. mono-*

**Table 2.** Monitoring the number of viable cells in LEB (48 h at 35 ± 2°C)

		log CFU/mL	0 h	24 h	48 h
pure	1.0 × 10 <sup>2</sup> LM <sup>1)</sup>		2.0 ± 0.04 <sup>3)</sup>	9.6 ± 0.22	9.0 ± 0.43
	1.0 × 10 <sup>2</sup> LIN <sup>2)</sup>		2.0 ± 0.03	9.7 ± 0.13	9.1 ± 0.33
	1.0 × 10 <sup>2</sup> LM		2.0 ± 0.05	8.1 ± 0.17	8.0 ± 0.38
	1.0 × 10 <sup>2</sup> LIN		2.0 ± 0.04	10.0 ± 0.10	9.5 ± 0.32
mixed	2.0 × 10 <sup>2</sup> LM		2.3 ± 0.06	8.1 ± 0.31	8.0 ± 0.24
	1.0 × 10 <sup>2</sup> LIN		2.0 ± 0.05	9.8 ± 0.21	9.2 ± 0.32
	1.0 × 10 <sup>3</sup> LM		3.0 ± 0.05	9.0 ± 0.21	8.3 ± 0.32
	1.0 × 10 <sup>2</sup> LIN		2.0 ± 0.01	9.9 ± 0.13	9.0 ± 0.41
	1.0 × 10 <sup>4</sup> LM		4.0 ± 0.03	9.3 ± 0.52	8.3 ± 0.12
	1.0 × 10 <sup>2</sup> LIN		2.0 ± 0.07	8.9 ± 0.12	8.3 ± 0.23

<sup>1)</sup>*L. monocytogenes*, <sup>2)</sup>*L. innocua*, <sup>3)</sup>mean ± standard deviation (n = 9)

*cytogenes*가 존재함에도 불구하고 *L. innocua*의 성장이 빨라서 불검출로 판정이 된 식품이 시중에 유통 될 경우 식중독을 일으킬 수 있다고 판단된다. 따라서, 본 연구에서는 현재 국내 식품 관리 기준 규격으로 설정된 LEB 배지에서 *L. monocytogenes*를 검출하는데 한계가 있음을 확인하였다. Dahshan 등<sup>1)</sup>에 따르면 *L. innocua*를 28.5%, *L. monocytogenes*를 1.0%, Jamali 등<sup>16)</sup>은 *L. innocua*를 57.8%, *L. monocytogenes*를 21.7% 검출하였는데, *L. innocua*에 비해 *L. monocytogenes*의 prevalence가 매우 낮은 것을 볼 수 있다. 이는 *L. monocytogenes*의 오염이 실제로 적을 수도 있지만 *L. innocua*에 의해 생육이 저해되어 검출되지 않을 가능성도 예상된다. 선행연구에 따르면 생육저해의 원인은 growth rate의 차이 때문에 *L. innocua*가 우위를 형성하기 때문이거나<sup>10,14)</sup>, monocins, listeriocins, bacteriophage와 같은 bacteriocin-like agent이 생산된 결과라는 보고<sup>15)</sup>, 또는 일정수준의 균이 증식하면 신호를 보내 다른 균이 더 이상 증식하지 못하게 하는 quorum sensing 때문이라는 등 다양한 발표가 있지만 현재까지 정확한 이유는 알려져 있지 않다<sup>6,12)</sup>.

따라서 향후 *Listeria* interspecies 간의 생육의 차이의 원인을 규명할 필요가 있으며, *L. monocytogenes*의 검출률을 높이기 위해 *L. monocytogenes*만을 선택적으로 증균할 수 있는 새로운 증균배지의 개발이 필요하다고 생각된다. 또한 *L. monocytogenes* 검사 시 배양시간을 반드시 지켜야 하며 *L. innocua*가 검출되었을 때는 반복 실험을 통해서 *L. monocytogenes* 검사를 비교 분석하여야 한다. 본 연구는 결과는 *L. monocytogenes* 검출률을 높여 국내 식품의 식품 안전에 기여 할 수 있으며 국내 식품 관리 규격 개정 시 기초가 되는 참고 자료로 활용 할 수 있을 것으로 생각된다.

### Acknowledgement

이 논문은 2016년도 미래창조과학부 재원으로 한국식품연구원의 지원(E0152202-02)을 받아 수행된 연구성과입니다.

### 국문요약

*L. monocytogenes*는 Listeriosis를 일으키는 중요한 식중독 균으로 현재 국내 식품공전에서는 증균배양을 기초로 검출하며, 규격은 불검출로 관리하고 있다. 그러나 *Listeria* 종 간의 혼합오염시 증균 과정에서 경쟁생육이 존재하여 *L. monocytogenes* 위음성의 가능성이 있다고 보고되고 있다. 국내 식품공전은 *L. monocytogenes* 증균을 위한 1차 배지로 규정되어 있으나 LEB 배지에서의 *Listeria* 종 간의 생육 연구는 보고된 바 없다. 본 연구는 식품에서 주로 검출되는 *Listeria* 속 4종(*L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L.*

*ivanovii*, *L. seeligeri*)을 LEB배지에 혼합배양하며 증균과정에서 생육의 차이가 존재하는 것을 확인하였다. 특히, *L. innocua*에 의해 *L. monocytogenes*의 생육이 저해되며, *L. monocytogenes*가 *L. innocua*보다 초기균수가 2.0 log CFU/mL 이상 오염이 되어있어야지만 *L. innocua*보다 생육이 잘 되는 것을 확인하였다. *Listeria* 종 간의 혼합오염이 있을 경우 현재 검출법으로는 *L. monocytogenes*의 검출이 어려울 수 있다고 판단된다. 따라서 *L. monocytogenes* 검출율을 높이는 새로운 증균배지 개발의 필요성을 확인하였다.

향후 본 연구는 *L. monocytogenes* 검출률을 높여 국내 식품의 식품 안전에 기여 할 수 있으며 국내 식품 관리 규격 개정 시 기초가 되는 참고 자료로 활용 할 수 있을 것으로 생각된다.

### References

1. Dahshan H, Merwad AM, Mohamed TS. *Listeria* Species in Broiler Poultry Farms: Potential Public Health Hazards. *J. Microbiol. biotech.* **26**, 1551-1556 (2016).
2. Low J, Donachie W. A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *The Veterinary Journal.* **153**, 9-29 (1997).
3. Beumer RR, Hazeleger WC. *Listeria monocytogenes*: diagnostic problems. *FEMS Immunology & Medical Microbiology.* **35**, 191-197 (2003).
4. Chong Y, Kim H, Lee S. Bacteriological characteristics of the *Listeria monocytogenes* isolated from a blood of an SLE patient. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **8**: 29. **32**, (1973).
5. Vlaemynck G, Lafarge V, Scotter S. Improvement of the detection of *Listeria monocytogenes* by the application of ALOA, a diagnostic, chromogenic isolation medium. *J. Appl. Microbiol.* **88**, 430-441 (2000).
6. Carvalheira A, Eusébio C, Silva J, Gibbs P, Teixeira P. Influence of *Listeria innocua* on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control.* **21**, 1492-1496 (2010).
7. Churchill RLT, Lee H, Hall JC. Detection of *Listeria monocytogenes* and the toxin listeriolysin O in food. *J. Microbiol. Methods.* **64**, 141-170 (2006).
8. Ministry of Food and Drug Safty. Korea Food Standards Codex, from: <http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/index.jsp> (2016. 12.29).
9. Kim YS, Ha SD. Detection and Isolation of foodborne bacteria using conventional culture media. *Safe Food.* **1**, 5-15 (2006).
10. Beumer R, Te Giffel M, Anthonie S, Cox L. The effect of acriflavine and nalidixic acid on the growth of *Listeria* spp. in enrichment media. *Food Microbiol.* **13**, 137-148 (1996).
11. Besse NG, Audinet N, Kerouanton A, Colin P, Kalmokoff M. Evolution of *Listeria* populations in food samples undergoing enrichment culturing. *Int. J. Food. Microbiol.* **104**, 123-134 (2005).
12. Cornu M, Kalmokoff M, Flandrois J-P. Modelling the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Listeria*

- innocua in enrichment broths. *Int. J. Food. Microbiol.* **73**, 261-274 (2002).
13. Besse NG, Barre L, Buhariwalla C, Vignaud ML, Khamissi E, Decourseulles E, et al. The overgrowth of *Listeria monocytogenes* by other *Listeria* spp. in food samples undergoing enrichment cultivation has a nutritional basis. *Int. J. Food. Microbiol.* **136**, 345-351 (2010).
  14. Curiale MS, Lewus C. Detection of *Listeria monocytogenes* in samples containing *Listeria innocua*. *J. Food. Protect®.* **57**, 1048-1051 (1994).
  15. Yokoyama E, Shibusawa Y, Maruyama S, Katsube Y, Mikami T. Influence of bacteriocin-like substance, generation times, and genetic profiles of *Listeria innocua* on the isolation of *Listeria monocytogenes*. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases.* **28**, 177-186 (2005).
  16. Jamali H, Radmehr B, Thong KL. Prevalence, characterisation, and antimicrobial resistance of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk in farm bulk tanks. *Food Control.* **34**, 121-125 (2013).
  17. Gu DW, Chung CI, Jeong DK, Nam ES. Contamination of *Listeria* spp. in market beef. *J. Food Hyg. Saf.,* **10**, 89-95 (1995).
  18. Hage E, Mpamugo O, Ohai C, Sapkota S, Swift C, Wooldridge D, et al. Identification of six *Listeria* species by real-time PCR assay. *Letter. Appl. Microbiol.* **58**, 535-540 (2014).