

# 도계장 유래 닭고기와 부산물 및 환경재료에서 *Listeria* spp의 분리 및 분리균의 특성

## II. 분리한 *L monocytogenes*의 혈청형과 항균제에 대한 감수성

손 원 근 · 강 호 조  
경상대학교 수의과대학  
(1991. 3. 16 접수)

### Characteristics and isolation of *Listeria* spp from poultry meat, products and environmental specimens in chicken slaughterhouse

#### II. Serotype and antimicrobial susceptibilities of *L monocytogenes* isolates

Won-geun Son, Ho-jo Kang

College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University

(Received Mar 16, 1991)

**Abstract:** To investigate the epidemiological aspects of listeriosis, serotypes of *L monocytogenes* and antimicrobial susceptibilities of *Listeria* spp isolated from chicken carcasses and chicken slaughter house environmental specimens were determined.

Of 28 *L monocytogenes* strains, 12 strains(42.9%) were serotype 4, and the remaining 16 strains were untypable.

Peak distributions of minimum inhibitory concentration( $\mu\text{g/ml}$ ) of the isolates were 0.78 $\mu\text{g/ml}$  for ampicillin, 0.39 $\mu\text{g/ml}$  for erythromycin and penicillin G, 1.56 $\mu\text{g/ml}$  for tetracycline and 6.25 $\mu\text{g/ml}$  or 12.5 $\mu\text{g/ml}$  for chloramphenicol, and 3.13 $\mu\text{g/ml}$  to >100 $\mu\text{g/ml}$  for kanamycin and neomycin.

Most of 214 isolates were sensitive to ampicillin and erythromycin, but 20.1~78.0% of the strains were resistant to tetracycline, kanamycin, penicillin-G and neomycin. Single or double drug resistance were observed in 75.8% of the resistant strains. The most common resistance patterns were Nm P-G(37.4%) in double pattern and P-G(23.7%) in single pattern.

**Key words:** Chicken, *L monocytogenes*, serotype, antimicrobial susceptibilities.

### 서 론

리스테리아병은 반추동물에서 신경증상을 주증으로 하여 각종 신경 장애를 일으키는 질병으로 알려져 왔으나<sup>1</sup> 최근 미국, 캐나다, 스위스 등에서 *Listeria monocytogenes*가 오염된 양배추 샐러드<sup>2</sup>, 저온살균유<sup>3</sup>

치즈<sup>4</sup> 등에 의한 식중독 환자가 발생하여 높은 사망률을 나타냄으로써 *L monocytogenes*는 식품위생학의 입장에서 주요한 병원균으로 부각하게 되었다.

*L monocytogenes*의 serotype은 Paterson<sup>5</sup>의 분류체계를 근거로 하여 Donker-Voet<sup>6</sup>와 Seeliger<sup>7</sup>는 7가지의 serotype으로 분류하였다. 이들 중 type 1-4의

subgroup과 type 7이 병원성과 관계되며, 특히 type 1과 4가 *Listeria* 감염동물로부터 분리되는 것으로 보고되어 있다.<sup>8</sup> 그러나 몇몇 serotype은 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* 및 *Corynebacteria* 등 일부의 세균과 교차반응을 일으키는 사례가 있으므로<sup>9</sup> 분리균의 serotype을 분류하여 병원성 여부를 검토하는 것은 리스테리아병을 진단하는 기초자료로서 대단히 중요하다.

한편 리스테리아병의 치료약제로서는 ampicillin,<sup>10-12</sup> cephalothin,<sup>10</sup> chloramphenicol,<sup>10</sup> gentamicin,<sup>13</sup> penicillin-G,<sup>11-14</sup> sulfonamides<sup>14,15</sup> 및 tetracycline<sup>16</sup> 등을 단독 또는 복합사용하는 것이 효과적이라고 보고하고 있으나 이들 약제에 대한 내성균주가 점차 증가하고 있는 것으로 보고되어 있다.<sup>17</sup>

본 연구에서는 리스테리아병의 역학적 현상을 검토할 목적으로 도계과정에서 분리한 *L monocytogenes*의 형태형을 분류하는 한편 *Listeria* spp의 시판 항균물질에 대한 감수성을 조사하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

**공시균주 :** 공시균주는 도계장의 도계 및 환경재료에서 분리한 *L monocytogenes* 28주와 *L innocua* 186주를 TSA-YE(0.6% yeast extract가 첨가된 tryptic soy agar[Difco])배지에 계대 배양하여 사용하였다.

***L monocytogenes*의 serotyping :** *L monocytogenes*로 동정한 균은 Seeliger<sup>7</sup> 또는 Lovett<sup>18</sup>의 방법에 따라 serotype을 분류하였다. 즉 *L monocytogenes* 28주를 각각 TSA-YE 사면배지에 2회에 걸쳐 계대배양한 다음 TSA-YE 평판배지에 접종하여 35°C에서 24시간 동안 배양하였다. 이 시험균에 3ml의 FA 완충용액(Difco)을 가하여 screw cap 시험관에 집균한 후 80°C에서 1시간 동안 가열하였다. 다음 약 2.2ml의 상층액을 버리고 나머지 용액에 균을 다시 부유시킨 후 *Listeria* O antiserum poly, type 1 및 4(Difco)를 사용하여 평판 응집반응에 의하여 serotype을 분류하였다.

**항균제감수성시험 :** 분리한 *L monocytogenes* 28주와 *L innocua* 186주에 대한 항균제 감수성시험은 Bryant,<sup>19</sup> Lorian<sup>20</sup>, Steers et al<sup>21</sup>의 한천평판 회석법에 따라 실시하였다. 배지로는 Mueller Hinton agar를 사용하였고, 항시약제는 ampicillin(Ap), chloramphenicol(Cp), erythromycin(Em), kanamycin(Km), neomycin(Nm), penicillin-G(P-G) 및 tetracycline(Tc) 등 7종류의 항균제를 사용하였다. 감수성 시험은 점종균의 발육 유무로서 최소발육억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 결정하였으며, 균의 내성도는 통상의 판정기준에 따라 P-G 0.2µg/ml, Cp와 Tc는 12.5µg/ml, 그외의 약제는 25µg/ml의 농도에서 발육하는 것을 내성균으로 나타내었다.

### 결과 및 고찰

***L monocytogenes*의 serotype :** *L monocytogenes*로 동정한 균주에 대하여 *Listeria* O antiserum type 1과 4를 사용하여 평판 응집반응으로 serotype을 분류한 결과는 표 1에서와 같다. 28균주 중 12주(42.9%)가 type 4로 분류되었고 16주(57.1%)는 형별할 수 없었으며, 시료별 serotype 분포의 차이는 인정할 수 없었다.

Kwantes와 Isaac<sup>22</sup>은 51주의 조류에서 *L monocytogenes* 27주(53.0%)를 분리한 결과 type 1이 23주였고 type 4가 4주였다고 하였으며, 영국의 보고<sup>23</sup>에 의하면 시판 육계 68집체중 10에서 *L monocytogenes*가 분리되어 전 균주가 type 4 또는 1/2이라고 하였다. 또한 Fletcher et al<sup>24</sup>은 도계에서 분리된 *L monocytogenes* 33주 중 type 1/2b가 21주(64.0%), type 1/2c가 6주(18.0%)로서 type 1과 4는 분리되지 않았다고 하였다.

지금까지 보고된 *L monocytogenes*의 serotype중 질병재료로부터 가장 흔히 분리되는 serotype은 type 1과 4로 알려져 있으며<sup>8</sup> 이들 두 type만이 (Difco 제품) 시판되고 있다. 따라서 본 연구에서는 Seeliger<sup>7</sup>의 분류방법에 따라 serotype 1과 4를 사용하여 serotype을 분류한 바 분리균의 약 반수가 type 4로 분류되었다.

Table 1. Serotype of 28 *L monocytogenes* isolates

Sample	No. of isolates	Serotype of <i>L monocytogenes</i> isolates(%)		
		Type 1	Type 4	Untypable
Skin	12	0	5(41.7)	7(58.3)
Liver	8	0	3(37.5)	5(62.5)
Environment	8	0	4(50.0)	4(50.0)
Total	28	0	12(42.9)	16(57.1)

**Table 2.** Antibiotic susceptibilities of 214 *Listeria* spp isolates

Antimicrobial drugs	Con. ( $\mu\text{g/ml}$ )	No. of sensitive strains(%)	
		<i>L. monocytogenes</i> (28)	<i>L. innocua</i> (186)
Ampicillin(Ap)	25.0	28(100)	183(98.4)
Chloramphenicol(Cp)	12.5	24(85.7)	140(75.3)
Erythromycin(Em)	25.0	27(96.4)	172(92.5)
Kanamycin(Km)	25.0	26(92.9)	137(73.7)
Neomycin(Nm)	25.0	22(78.6)	25(13.4)
Penicillin-G(P-G)	0.2	5(17.9)	94(50.5)
Tetracycline(Tc)	12.5	25(89.3)	146(78.5)

**Table 3.** Drug resistance patterns of *Listeria* spp isolates

<i>L. innocua</i> (n=166)			<i>L. monocytogenes</i> (n=24)		
Resistance patterns	No. of isolates	Total (%)	Resistance patterns	No. of isolates	Total (%)
Ap Em Km P-G Tc	3	Quintuple(12.1)	Em Km Nm P-G Tc	1	Quintuple(4.2)
Cp Em Km Nm P-G	2				
Cp Km Nm P-G Tc	10				
Cp Em Km P-G Tc	3				
Em Km Nm P-G Tc	2				
Cp Em Km P-G	4	Quadruple(10.8)	Km Nm P-G Tc	1	Quadruple(4.2)
Cp Km Nm P-G	6				
Cp Km Nm Tc	1				
Cp Km P-G Tc	3				
Km Nm P-G Tc	4				
Cp Km P-G	2	Triple(3.6)			
Km Nm P-G	1				
Km Nm Tc	3				
Cp P-G	6	Double(30.7)	Cp P-G	1	Double(25.0)
Nm P-G	40(24.1)		Nm P-G	5(20.8)	
Nm Tc	2				
P-G Tc	3				
Cp	3	Single(42.8)	Cp	2	Single(66.0)
Nm	10		P-G	14(58.3)	
P-G	57(34.3)				
Tc	1				

이와같은 결과는 북미에서 발생한 *Listeria* 식중독의 주요한 원인균이 *L. monocytogenes* serotype 4b와 1/2a 라는 보고<sup>25</sup>와 식육을 통한 *Listeria* 식중독은 기록상의 보고가 없을 뿐 반복되고 있다고 지적한 Hird<sup>26</sup>의 보고를 감안할 때 비위생적으로 처리된 닭고기 역시 리스테리아병의 주요한 감염원이 될 수 있을 것으로

인정된다.

**항균물질에 대한 감수성 :** 분리한 *L. monocytogenes* 28주와 *L. innocua* 186주의 각종 항균물질에 대한 MIC 분포는 그림 1에서 보는 바와 같다. 약제별 MIC분포를 보면 두균종 다 같이 ampicillin에 대하여는 0.78  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서, erythromycin과 penicillin-G에 대

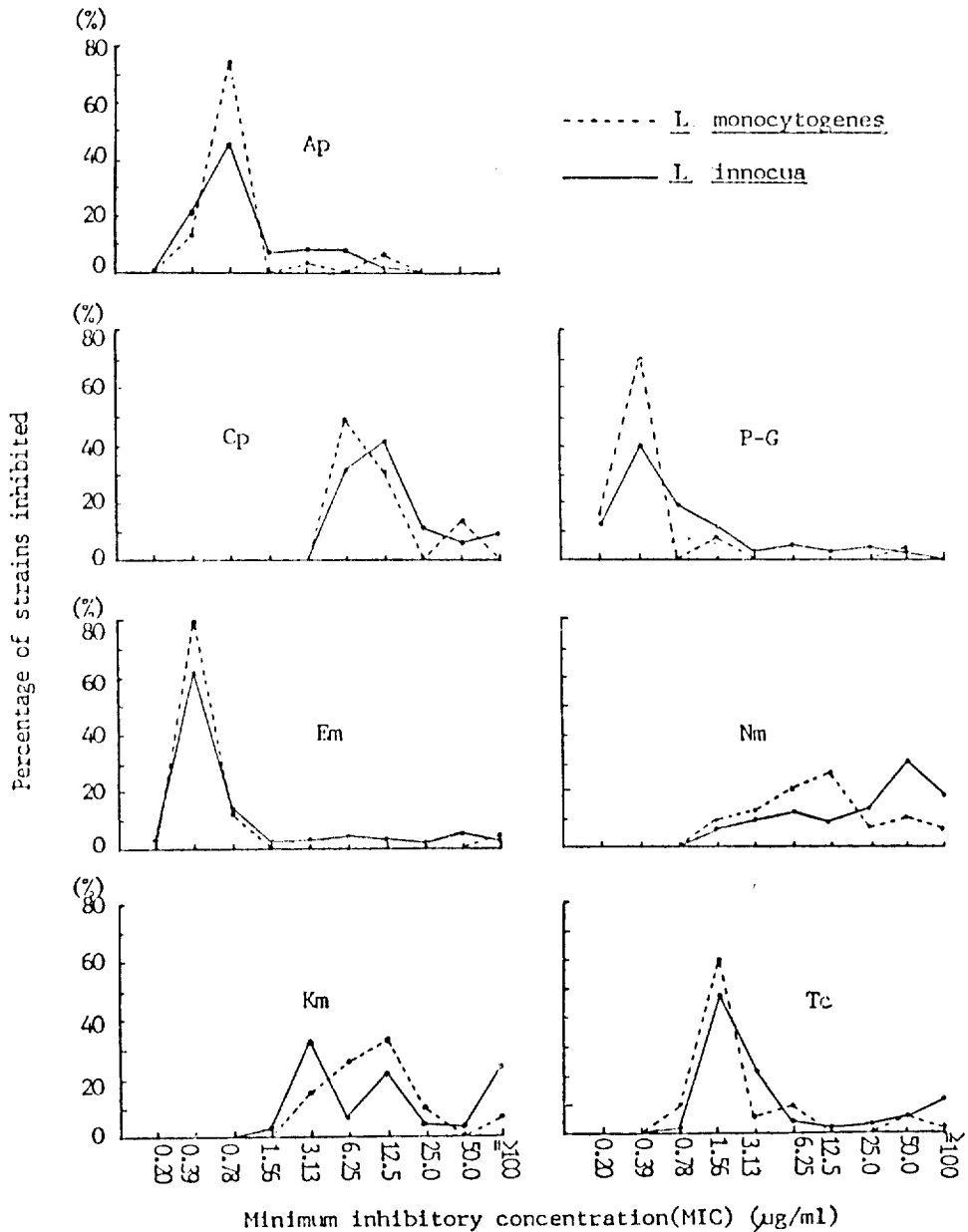


Fig 1. Distribution of minimum inhibitory concentration of anti-biotics to *L. monocytogenes* and *L. innocua* isolated from chicken slaughterhouse: Ap ; ampicillin, Cp ; chloramphenicol, Em ; erythromycin, Km ; kanamycin, Nm ; neomycin, P-G ; penicillin-G, Tc ; tetracycline.

하여는 0.39 $\mu$ g/ml에서, tetracycline은 1.56 $\mu$ g/ml에서, chloramphenicol은 6.25~12.5 $\mu$ g/ml에서 peak를 나타내는 1봉성의 MIC 분포를 나타내었으나 kanamycin과 neomycin에 대하여는 3.13~100 $\mu$ g/ml 이상으로 넓은 범위에 걸쳐서 MIC가 분포하고 있었다.

각종 항균제에 대한 감수성도는 표 2에서와 같이 ampicillin(98.6%)과 erythromycin(93.0%)에 대하여는 높은 감수성을 나타내었으나 tetracycline(20.1%), kanamycin(28.8%), penicillin-G(53.7%) 및 neomycin(78.0%)에 대하여는 많은 균이 내성을 가지고 있

었다. 그리고 대부분의 약제에서 *L monocytogenes*와 *L innocua*의 두균종 간 약제 감수성의 차이는 인정할 수 없었으나 penicillin-G와 neomycin에 대하여는 다소 간의 차이가 있었다.

약제 내성유형 : *Listeria* spp의 내성유형을 보면 분리균 214주 중 190주 (88.8%)가 1제 혹은 그 이상의 약제에 대한 내성을 가지고 있었다. 균종별로 보면 7종류의 항균제에 대하여 *L innocua*(166주)는 21종, *L monocytogenes*(28주)는 6종의 내성유형으로 분류되었다. 두 균종 모두 1-2제 내성 유형이 70.0% 이상으로서 3제 또는 다제 내성유형에 비해서 현저하게 높은 분포를 나타내었고 이들 내성유형 중 비교적 높은 분포를 나타낸 유형은 Nm P-G 내성형(37.4%)과 P-G 내성형(23.7%)이었다(표 3).

Armstrong<sup>10</sup>은 리스테리아병의 치료제로서 ampicillin과 penicillin을 추천하였고, 특히 erythromycin은 2차 선택약제로 효능이 있는 것으로 보고 하였으나 본 실험 결과에서 공시한 균주의 반수 이상이 penicillin-G에 대하여 높은 내성을 나타내고 있는 점으로 미루어 볼 때 리스테리아병의 예방 및 치료를 위한 효과에 대해서는 재고해야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

리스테리아병의 역학적 현상을 연구할 목적으로 닭에서 유래한 *L monocytogenes*의 serotype을 분류하는 한편 *Listeria* spp의 시판 항균물질에 대한 감수성을 조사한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 분리한 *L monocytogenes*의 serotype은 28균주 중 type이 분류된 12균 주(42.9%) 모두가 type 4였고 16균주(57.1%)는 형별할 수 없었다.

2. *Listeria* spp의 감수성 시험에서 MIC 분포는 ampicillin에 대하여는 0.78 $\mu$ g/ml, erythromycin과 penicillin-G는 0.39 $\mu$ g/ml, tetracycline 1.56 $\mu$ g/ml, chloramphenicol 6.25~12.5 $\mu$ g/ml에서 각각 peak를 나타내었고, kanamycin과 neomycin에 대하여는 3.15~100 $\mu$ g/ml 이상의 넓은 범위에 걸쳐 MIC가 분포하였다.

3. 공시한 214 균주는 ampicillin(98.6%)과 erythromycin(93.0%)에 대해서는 높은 감수성을 나타내었으나, tetracycline, kanamycin, penicillin-G 및 neomycin에 대하여는 20.1~78.0%가 내성을 가지고 있었다.

4. 각종 항균제에 대한 내성유형은 1-2제 내성유형이 전 내성균주의 75.8%를 점하였으며, 이들 중 Nm P-G 내성형(37.4%) 및 P-G 내성형(23.7%)이 비교적

높은 분포를 나타내었다.

## 참 고 문 헌

1. Marth EH. Disease characteristic of *Listeria monocytogenes*. *Food Technol, Overview* 1988; 165-168.
2. Schlech WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, et al. Epidemic listeriosis, evidence for transmission by food. *New Eng J Med* 1983;308:203-206.
3. Fleming DW, Cochi SL, MacDonald KL, et al. Pasteurized milk as vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *New Eng J Med* 1985; 312:404-407.
4. Anonymous. Listeriosis warning from Switzerland. *Newsletter No 14*. Institute of Veterinary Medicine-Robert von Ostertag-Institute, Berlin 1984.
5. Paterson JS. Experimental infection of the chicken embryo with organisms of the genus *Listeria*. *J Pathol Bacteriol* 1940;51:437-440.
6. Donker-Voet J. In: Gray ML(ed), *Second symposium on listeric infections*. Montana State College, Bozeman MT 1962;135-139.
7. Seeliger HPR. Modern taxonomy of the *Listeria* group: relationship to its pathogenicity. *Clin Invest Med* 1984;7:2117.
8. Walter F, Schlech III MD. Virulence characteristics of *Listeria monocytogenes*. *Food Technology, Overview* 1988;176-178.
9. Lovett J. *Listeria monocytogenes*. In: Doyle M(ed) *Bacterial Foodborne Pathogens* 1989; 283-310.
10. Armstrong D. *Listeria monocytogenes*. In: Mandell GL, Douglas RG, Jr, et al. "*Principles and practices of infectious diseases*," 2nd ed, New York 1985;1177.
11. Macnair DR, White JM, Graham JM, Ampicillin in the treatment of *Listeria monocytogenes* meningitis. *Lancet* 1968;1:16-18.
12. Medoff G, Kunz LJ, Weinberg AN. Listeriosis in humans: An evaluation. *J Infect Dis* 123: 274-250.
13. Morgan JH. Infectious keratoconjunctivitis in cattle associated with *Listeria monocytogenes*. *Vet Rec* 1977;100:113-114.

14. Jensen R, Mackey DR. Listeriosis in cattle and sheep. *J Am Vet Med Assoc* 1949;114:420-424.
15. Olafson P. *Listeria encephalitis*(circling disease) of sheep, cattle and goats. *Cornell Vet* 1940; 30:141.
16. Bennett IL, Jr, Russel PE, Derivaux JH. Treatment of *Listeria monocytogenes*. *Antibiot Chemother* 1952;2:142-146.
17. MacGowan AP, Reeves DS, McLauchlin J. Antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes*. *Lancet* 1990;336:513-514.
18. Lovett J, Francis DW, Hunt JM. *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence and pathogenicity. *J Food Prot* 1987;50:188-192.
19. Bryant MC. *Antibiotics and their laboratory control*. 2nd ed, London: Butterworth and Co Ltd, 1972:63-65.
20. Lorian V. *Antibiotics in laboratory medicine*. Baltimore: Williams and Wilkins, Co 1980;7.
21. Steers E, Frotz EL, Graves BS. An inocular replicating apparatus for routine of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot Chemother* 1959;2:307-311.
22. Kwants W, Issaac M. *Listeria* infection in west Glamorgan. In: Woodbine M(ed), Proc 16th Inter University Press Nottingham 1974;112-114.
23. Gitter M. *Listeria monocytogenes* in "oven-ready" poultry. *Vet Rec* 1976;99:336.
24. Fletcher DL, Baltey JS, Cox NA. Recovery and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* from broiler chickens in the south-eastern United States. *J Food Prot* 1989;52:148-150.
25. Rocourt J, Seeliger HPR. Distribution des espèces du genre *Listeria*. *Zbl Bakt Hyg A* 1985; 259:317-330.
26. Hird DW. Review of evidence for zoonotic listeriosis. *J Food Prot* 1987;50:429-433.