

식중독균 *Listeria monocytogenes*의 특성과 식품에서의 문제점

정동관

건국대학 동물자원연구소

가공식품속에서의 미생물의 오염과 오염수준은 국민건강과 식품의 보존기간 그리고 부패의 유형 등에 연관된 중요한 결과를 초래한다. 오염된 식품을 섭취함으로써 발생하는 식중독은 현대에 전세계에서 가장 널리 퍼져있는 건강문제일 것이며 경제 생산성을 감소시키는 중요한 원인이 될 것이다. 열 가공처리와 다른 보존방법들이 원료 식품들(Raw food products) 속의 미생물을 제거시키거나 감소시키기 위해 사용되어져 왔으며 새로운 방법이 개발되었지만 부패성 미생물과 병원성 미생물이 가공처리된 식품속에서 계속적으로 발견되어지며 또한 식품으로 인한 식중독도 계속적으로 발생하고 있는 실정이다. 가공식품속의 미생물존재의 주요인은 미생물이 열 처리 등의 가공처리 등에 살아남기 보다는 주로 식품의 가공처리 후 오염이 주원인이라고 세계보건기구 (World Health Organization, 1988)와 미국 식품과 약품국(United States Food and Drug Administration)은 발표하고 있다. 특히 냉장고의 온도에서 살아남으며 성장할 수 있는 냉온성 병원성 균들 (Psychrotrophic pathogens)과 냉온성 부패성 균들 (Psychrotrophic spoilage microorganism)은 냉장고 저장 식품을 통해 각각 질병을 일으키거나 또는 식품의 부패를 일으키는 주 원인이 되고 있다. 1980년대에 들어와 전세계에 걸쳐 연속적으로 냉장 저장 식품 등으로 인해 집단 식중독을 일으키고 있는 냉온성 병원성균인 *Listeria monocytogenes* 균의 갑작스런 등장은 전세계의 정부기관과 국민들 그리고 특히 식품제조업체에 큰 관심과 우려를 불러 일으키고 있다. 한국에서도 이전에 잘 알려져 있지 않던 *Listeria* 균이 수입된 뉴질랜드산 홍합숙과 국내 홍합숙에서 검출되어 유통금지가 되는 등 점차 사회 문제가 되고 있다. 현재 미국을 비롯한 세계 여러 선진국의 식품미생물 연구실과 식품위생 연구실에서

이 *L. monocytogenes* 균에 대한 연구가 활발히 진행되고 있고 또 연구에 대한 결과발표가 계속되고 있는 실정이다. 본 고에서는 현재까지 알려진 *L. monocytogenes* 균의 일반특성과 문제성과 그리고 실험에 따른 몇몇 결과를 정리하고자 한다.

L. monocytogenes 균의 일반특성

Listeria monocytogenes 균은 토양미생물로서 식물, 토양, 지표수 등 자연계에 널리 분포한다(Kempelmacher, 1990, Weis & Seeliger, 1985 and Alexander, 1977). 또한 사일리지(silage), 오물, 먼지, 원유, 곤충, 사람, 새, 야생 및 가축 등의 동물, 도살장과 식품제조공장 등에서 발견되고 있다(Brackett, 1988 and Jeong, 1992). *Listeria*는 Corynebacteriaceae과 (family)에 속하는 미생물 屬(genus)이다. 이 속에서는 *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seelingeri*, *Listeria welshimeri*, *Listeria innocua*, *Listeria grayi*, 그리고 *Listeria murrayi*의 7가지의 種(species)이 있다(Seeliger and Jones, 1987). 하지만 최근에 미생물의 여러 유전적 연구를 통하여 *L. murrayi*와 *L. grayi*가 새로운 *Murraya* 屬으로 분리가 되려고 제출 중에 있다. *L. monocytogenes*는 그람양성균으로서 facultative anaerobe이며 20~25°C에서 motility를 갖으며 포자와 capsule을 형성하지 않으며 짧은 간균이다. 어린 세포에서는 diplococci나 구균처럼 보이며 또한 V와 Y form으로도 나타난다(Ryser & Marth, 1991). 일반특성은 Table 1에 나타나 있다.

*L. monocytogenes*의 병원성

Listeriosis는 *Listeria* 균에 의해 야기되는 질병

Table 1. General Characteristics of *Listeria monocytogenes*

Characteristics	Reaction
Gram stain	+
Shape	Short rod
Diameter	0.4~0.5 μ m
Length	0.5~2 μ m
Spore formation	-
Capsule formation	-
Oxygen utilization	Facultative anaerobe
Motility at 20~25°C	+
Catalase test	+
Oxidase test	-
Methyl red test	+
Voges-Proskauer test	+
β -galactosidase production	+
β -hemolysin production	+
CAMP reaction with <i>S. aureus</i>	+
CAMP reaction with <i>R. equi</i>	-
Acid from L-rhamnose	+
Acid from α -methyl-D-mannoside	+
Acid from D-xylose	-
Acid from D-mannitol	-

(Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, 1986)

으로서 가축과 사람에게 모두 질병을 일으키는 인수공통질병(Zoonosis)이다. 여러가지 *Listeria* 종 중에서 *L. monocytogenes*가 Listeriosis를 일으키는 주된 병원균으로 알려져 있으며 일반적으로 동물에게만 질병을 일으키는 *L. ivanovii*도 때에 따라 사람에게 질병을 일으키며 *L. seeligeri*와 *L. welshimeri*도 사람에게 질병을 일으킨 적이 있다고 보고된 적이 있다(Gellin & Broome, 1989 and Farber & Peterkin, 1991). *L. monocytogenes*는 적어도 16가지 이상의 serotype을 갖고 있으며 그 중에서 serotype 4b, 1/2a, 그리고 1/2b가 인간 전체 질병의 90% 이상을 차지하고 있다. 리스테리오시스의 발생은 전세계적으로 증가하는 추세에 있고 특히 유럽과 미국을 비롯한 북아메리카에서 많이 증가하고 있다. 미국의 질병통제센터(Centers for Disease Control: CDC)의 발표에 의하면 매년 미국에서만 약 1600

에서 1800 건의 Listeriosis가 발생하며 이로 인해 약 400명이 매년 사망한다고 보고하고 있다(Gellin *et al.*, 1987). *Listeria* 원로 연구자인 Seeliger에 의하면 10,000건 이상의 Listeriosis가 오늘날 올바로 진단되어 보고되지만, 이 숫자는 전체발생하는 질병의 아주 작은 일부분일 것이라고 말하고 있다(Seeliger, 1990). 실제로 올바른 검출법에 의한 전문적 검출이 전 세계적으로 미약한 실정이며 또한 이 병원균의 발생이 검출방법이 발달한 북미나 유럽 등 선진국에서 주로 발견되는 이유가 될 것이다. 이 병의 증상으로는 유행성 감기가 걸린 것 같으며 미열이 생기는 증상으로부터 시작하여 뇌막염, 뇌염, 유산, 사산, 패혈증 등으로 나타나며 심하면 사망하게 된다. 이 질병으로 인한 사망율은 약 30% 정도로 매우 높으며 치료가 늦거나 급성인 심한 경우에는 약 70%나 된다(Lovett, 1989). 이 질병은 건강한 성인에게는 잘 나타나지 않고 임산부, 태아, 신생아, 노인, 그리고 면역적으로 약하거나 AIDS나 암 같은 다른 질병으로 약해진 환자 등 특정한 group에게 주로 발생한다. 정상적인 성인은 *Listeria*에 의해 영향을 받을 때 T-cell에 연관된 면역으로 심하지 않은 증상으로 나타나거나 전혀 증상이 없는 등 Listeriosis를 극복할 수 있다. 하지만 이 질병에 약한 위 그룹의 사람들은 T-cell에 연관된 면역 억압 등으로 인해 생명까지 잃게 된다(Marth, 1988 and Farber & Peterkin, 1991). 또한 이 질병에 의한 경제손실도 매우 커서 미국에서만 *Listeria monocytogenes*로 인하여 1년에 약 2500억원(\$313,000,000)이 식중독과 식품회수 등으로 손실되고 있다고 보고되고 있다(Todd, 1989).

집단식중독 발생균으로서의 *L. monocytogenes*

1980년도 전까지만 해도 Listeriosis는 대부분 간헐적으로 나타났다. 하지만 1980년도 이후부터는 집단적으로도 나타나고 있다. 그 이유는 확실하게 밝혀져 있지는 않으나 식품산업이 발달하면서 식품이 대량 생산되고 위생상태가 좋지 않은 생산공장에서부터 병원균이 생산 식품으로 오염된 후 그 식품의 섭취를 통한 집단 Listeriosis가 원인으로 사료되고 있다. 식품속에서 질병을 일으키는 병원

균의 숫자는 사람의 면역성과 감염성에 따라 다르며 병원균의 serotype에 따라 서로 다르게 나타난다. 1980년대에 들어와서 *L. monocytogenes*가 북미와 유럽에서 연속적으로 집단식중독을 일으킴으로서 원료식품에 대한 병원성균의 오염과 식품의 공장처리 시 위생상태에 대하여 큰 분제와 의문점을 불러 일으켰다. 이 균이 세계의 이목을 집중시키게 만든 것은 1980년대에 연속적인 집단식중독 돌발사건들 (Foodborne outbreaks) 때문이었다. 연속된 3대 집단 식중독 사건 중 첫번째 것은 1981년 3월에서 9월 사이에 캐나다의 Maritime Provinces에서 양배추 식품인 Coleslaw를 통해 41명의 환자가 발생하였고 그 중 17명이 사망한 사건이다. 사망율은 41%로 상당히 높았다. 한 환자의 냉장고 속에 있던 Coleslaw에서 *L. monocytogenes serotype 4b*가 발견되었다. 이 식진을 조사한 결과 Coleslaw를 만드는 재료로 사용한 양배추가 *L. monocytogenes*로 오염된 것으로 밝혀졌다. 그 양배추 농장에서 주의 생기름을 양배추 재배를 위해 사용하였는데 그 농장에서 Listeriosis로 양 2마리가 사소한 사망한 것으로 밝혀졌다. 따라서 사소한 원인이 Listeria 균으로 감염된 동물의 배출물을 사용한 거름으로 밝혀졌다. 이 사건이 발생되기 2년 전인 1979년 가을에도 미국 Boston에서 celery, tomato와 lettuce 등으로 인하여 20건의 Listeriosis가 발생하였으나 Boston 병원에서 원인분석을 못하다가 캐나다의 양배추 집단식중독 사건발생 후 원인을 밝혀 후에 Listeriosis로 보고하였다(Ho *et al.*, 1986).

두번째 사건은 미국 Massachusetts에서 1983년 여름에 발생한 사건으로 살균한 우유를 통한 사건이다. 이 사건은 한 우유가공 처리장에서 생산한 살균우유속에 존재하는 *L. monocytogenes serotype 4b*로 49명이 Listeriosis로 감염되어 그 중 14명이 (사망율 29%) 사망하였다. 그 원인으로서는 그 당시 Listeriosis에 감염된 짐승을 통한 것으로 알려졌는데 우유가공 처리장에서의 살균처리과정에 이상은 발견되지 않았다. 이 사건으로 인하여 *Listeria monocytogenes*의 열처리 과정에서의 저항성이 문제시 되었으며 미국내 우유 가공처리장에 큰 관심과 우려를 불러 일으키고 있고 또한 우유의 저온살균시 살아 남는다는 보고도 있어 현재 이에 따른 연구가 계속 진행되고 있다.

세번째 사건은 Listeriosis의 가장 큰 사건의 하나로 1985년 미국 California주 Los Angeles에서 발생하였다. 한 제조공장에서 제조한 멕시코식 soft cheese에 *L. monocytogenes serotype 4b*가 오염된 것으로 인하여 142명이 감염되어 이 중 49명이(사망율 34%) 사망한 사건이다. 사망자 중 30명이 태어나 신생아이며 18명은 임신하지 않은 성인으로 밝혀졌다. 49건의 성인환자 중에서 48명이 노인이거나 면역억압 상태의 사람이거나 만성질환을 갖고 있는 환자로 밝혀졌다. 이 식품제조 공장의 여러 환경에서 병원성 *L. monocytogenes*가 발견되었다. 공장의 여러 환경 주변과 잘 씻은 cheese vat, 그리고 공장직원의 몸에서 *L. monocytogenes*가 발견되었으며 심지어는 공장에서 기어다니는 개미의 몸에서도 발견되어 작은 곤충들도 *L. monocytogenes*를 전파하는 것으로 확인되었다(Listeria conference, 1986). 이 사건으로 말미암아 미국 식품제조 공장과 미국 정부가 식품제조 공장의 환경오염에 큰 관심과 우려를 불러 일으키게 되어 현재 이에 대한 산업체, 학계, 정부의 공장환경 위생실태와 개선방안 마련을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이 3가지 사건 외에도 유럽에서도 많은 Listeriosis가 발생하고 있다. 특히 스위스 서부지방인 Canton de Vaud에서 soft cheese를 통하여 1983년과 1987년 사이에 122건의 Listeriosis가 발생하여 그 중 31명이 사망하였다. 또한 뉴질랜드에서는 1980년에 수산물을 통한 Listeriosis가 발생하여 사람이 사망하는 등 수산물을 통한 감염도 확인되었다. 또한 1993년에도 다시 홍합을 통한 *Listeria monocytogenes*의 감염으로 사람이 사망하여 국내에 수입된 뉴질랜드산 홍합이 수거되고 또한 국산 홍합속의 세균발견으로 인해 국내산 홍합도 수거되는 일이 발생하였다. 이러한 사건에 따라 국내 농, 축, 수산식품과 그 가공 식품에 대한 오염도 우려되나 국내에서는 *L. monocytogenes*에 대한 연구와 자료가 부족한 실정이다. 또 세계 여러나라에서의 경우와 같이 1980년도 이전에 식품과 환자에서 *L. monocytogenes*의 검출방법의 취약과 전문가 부족이 이 균으로 인한 환자검진이 안된 원인이 되었듯이 한국에서도 발생도가 낮은 이유가 될 수 있다. 기타의 *L. monocytogenes*에 의한 집단 식중독 사건은 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Food-borne outbreaks due to *Listeria monocytogenes*

Location (yr)	No. of cases (No. of deaths)	No. of prenatal No. of nonprenatal	Foods associated
Boston, USA (1979)	20 (5)	0/20	Raw celery, tamato, lettuce
New Zealand (1980)	29 (9)	22/7	Shellfish, raw fish
Marritime Provinces, Canada (1981)	41 (17)	34/7	Coleslaw
East Cambria, England (1981)	11 (NK ¹)	NK	Cream
Massachusetts, USA(1983)	49 (14)	7/42	Pasteurized milk
Saxony, West Germany (1983)	25 (NK)	NK	Unknown
California, USA (1985)	142 (48)	93/49	Jalisco soft cheese
Canton de Vaud, Switzerland (1983~1987)	122 (31)	63/59	Raw milk, cheese
Denmark (1985~1987)	35 (NK)	NK	Unknown
Linz, Austria (1986)	20(NK)	NK	Raw milk, vegetables
Los Angèles, USA (1986~1987)	33 (NK)	NK	Raw eggs
Los Angeles, USA (1987)	11 (NK)	NK	Butter
Philadelphia (1986~1987)	36 (16)	4/32	Ice cream, salami
Connecticut (1989)	9 (1)	2/7	Shrimp
United Kingdom (1987~1989)	>300 (NK)	NK	Pate

¹UK: Not known

(Farber and Peterkin, 1991 and Ryser and Marth, 1991)

*L. monocytogenes*의 성장조건

*L. monocytogenes*의 성장온도 범위는 -0.4°C 에서 50°C 까지 상당히 넓으며 최적 성장온도는 배지에서 영상 30°C 에서 37°C 사이이다. 산소가 적은 조건에 잘 성장하기 때문에 실험관 배양액의 윗 표면 부분은 항상 맑은색으로 나타난다. 37°C 에서 24시간 배양했을 때 colony 크기는 지름의 $0.3\sim 1.5\text{ mm}$ 정도 되며 희미한 빛을 비출 때 푸르며 녹색을 띤 광택을 내는 특이한 colony 색을 낸다. 이 균은 glucose, fructose, mannose, galactose, cellobiose, trehalose와 rhamnose 등을 이용할 수 있으나 gas를 형성하지 않는다(Shelif, 1989 and Seeliger & Jonse, 1987). Pine *et al.*(1989)의 보고에 의하면 혐기 조건일 때 hexoses와 pentoses 등만이 성장에 이용이 되며 호기 조건일 때에는 maltose와 lactose가 이용되지만 sucrose는 성장에 이용이 되지 않았다고 한다.

*L. monocytogenes*의 성장에 반드시 필요한 성장 필수 물질에 관한 여러 연구도 있었는데 Ralovich (1984)가 15 strain의 *L. monocytogenes*를 연구한 바에

의하면 최저 성장요구물질(minimal growth requirements)은 glucose, riboflavin 그리고 biotin, isolenic acid, leucine, valine 그리고 cysteine이라고 보고하고 있다. 또한 무기질인 Fe^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , PO_4^{-3} 등도 성장에 필요하다고 보고하고 있다. Citrate는 chelating agent로서 필요하다고 보고하고 있다. Thiamine은 적절한 크기의 colony를 형성하기 위해서 필요했지만 반드시 필요한 vitamin은 아닌 것으로 보고되고 있다. Chau와 Shelf(1989)의 보고에 의하면 *L. monocytogenes*의 성장이 riboflavin의 첨가에 의해 촉진되었으며 biotin이 첨가되었을 경우에는 특별히 더 촉진된 것으로 나타났다.

*L. monocytogenes*는 미생물의 성장 억제를 위해 사용하는 여러 항미생물질들(antimicrobial agents)에 대한 저항성이 강한 것으로 밝혀졌다. 특히 phenylethanol, glycine anhydride, lithium, tellurim 그리고 thallium salt 등의 물질에 강한 저항성을 나타냈으며 항생물질인 cyclohexamine, acriflavine, moxalactam, polymyxin, nalidixic acid, acitracin, cefolaxime, penicillin G 그리고 sulfonamides 등에

도 강한 저항성을 나타내고 있는 것으로 밝혀졌다. 또한 이러한 물질들은 *L. monocytogenes*의 선택배지를 만드는 데 이용되고 있다(Shelef, 1989). 이러한 저항성은 항생물질 저항유전자(antibiotic resistance genes)를 갖고 있는 plasmid가 세포속에 존재하는 것으로부터 기인한다고 알려져 있다(Perez-Diaz *et al.*, 1982). 그 원인은 일반적으로 다른 미생물보다 *L. monocytogenes*에서 cryptic plasmid의 출현이 0~20% 정도로 적게 나타나는데 이것은 plasmid 치료 물질로 알려진 acriflavin의 역할 때문인 것으로 알려져 있다(Fistrovici & Collins-Thompson, 1990). 1990년 Poyart-Salmerom 등의 보고에 의하면 병원성 *L. monocytogenes* 속의 37-Kbp plasmid carrying genes이 chloramphenicol, erythromycin, streptomycin과 tetracycline에 대해 저항력이 있는 것으로 관찰되었으며 이 plasmid는 self-transferable characteristics을 갖고 있는 것으로 나타났다.

*L. monocytogenes*는 또한 6.5% NaCl을 함유한 배지속에서도 성장할 수 있으며 bile salt의 함량이 높은 배지속에서도 성장할 수 있는 특성을 갖고 있다. 이 균은 또한 glucosides esculin과 salicin를 분해하여 glucose와 catechol를 생성할 수 있는데 이 catechol이 iron salt와 반응하여 검은 침전물을 형성하므로 이 특성을 이용하여 현재 *Listeria* 배지에 이용되고 있다.

냉온성 미생물로서 *L. monocytogenes*

*L. monocytogenes*의 냉온도에서 성장하는 특성은 매우 중요한 의미를 갖는다. 여러 방부제에 대해 저항성을 갖고 병원성 식중독균으로서 낮은 온도에서 성장하는 능력은 국민의 건강을 위협하는 심각한 문제가 되고 있다. 실험배지에서 *L. monocytogenes*의 성장은 1°C에서 매우 낮으나 온도가 조금 높은 3~6°C에서는 성장율이 크게 증가하여 약 10⁸까지 자랄 수 있다(El-Shenawy & Marth, 1988). 냉온도에서의 *L. monocytogenes*의 성장율은 배지와 식품의 종류에 따라 다르게 나타난다. 실험배지인 Tryptose phosphate broth를 이용했을 경우에는 2배로 증가하는데 소요되는 세대기간(generation time)이 영상 4도, 10도, 그리고 15도에서 각각 12시간, 5시간 그

리고 2.63 시간으로 성장속도가 매우 빠른 것으로 각각 나타났다(Bojsen-Møller, 1972). 실험배지가 아닌 식품에서 영상 4~5°C에서 2배로 증가하는데 걸리는 시간은 우유와 크림에서는 1.5~2일, 두유에서는 1.6일, 날계란 노른자에서는 1.7일, 조리된 계란에서는 1.9~2.4일 정도로 나타나고 있다(Shelef, 1989). 또한 최저 성장온도에 관한 연구로서 Walker 등(1990)은 chicken broth와 살균 우유속에서 *L. monocytogenes*가 -0.4°C와 -0.1°C 사이에서도 성장했다고 발표했다. 연구자들 간에 조금씩의 최저와 최고 성장온도의 차이가 나타나는데 이것은 아마도 균이 성장하는 영양배지의 차이와 *L. monocytogenes*의 다른 serotype에 의한 것으로 생각되고 있다.

병원성과 비병원성의 *L. monocytogenes*에 대한 냉온도에서의 성장도 Junttila *et al.*(1988)에 의해 관찰되었는데 병원성 *L. monocytogenes*가 낮은 온도에서 비병원성보다 더 높은 저항성을 갖으며 나쁜 환경조건에서도 높은 생존율을 갖는 것으로 보고되고 있다. 또한 낮은 온도에서 *L. monocytogenes*의 독성(virulence)이 오히려 크게 증가한다는 여러 보고가 있다. Durst(1975)의 관찰에 의하면 낮은 독성을 보인 36가지 *L. monocytogenes* 균들을 6개월 동안 4°C에서 매주 계대배양한 후 쥐에 주사한 결과 7가지 균이 맹독성을 나타낸 균으로 변화되었다고 보고하고 있다. 또 Wood와 Woodbine(1979)의 보고에 의하면 37°C보다 4°C에서 *L. monocytogenes* 균의 독성이 훨씬 높았다고 발표하고 있다. 이런 발표들로 인해서 비 냉장고 저장식품보다 냉장고에 저장하고 있는 여러 냉장식품에서의 *L. monocytogenes*의 성장과 독성이 우려되고 있는 실정이다.

*L. monocytogenes*의 선택배지

수많은 방법과 배지들이 *Listeria*의 연속적 식중독 사건이 발생한 지난 10여년 동안 식품과 여러 환경에 존재하는 *L. monocytogenes*를 분리하고 계수하기 위해 미생물 연구가들에 의해 경쟁적으로 개발되어 왔다. 지금까지 연구되고 개발된 *L. monocytogenes*의 분리, 검출, 동정, 그리고 typing하는 방법에 대한 좋은 종합 논문이 최근에 Slade박사에 의해 출판되었다(1992a, 1992b, and 1992c).

현재까지 개발되어 사용하고 있는 선택 부유 배양액(selective enrichment broth)으로서는 Fraser broth(FB), *Listeria* enrichment broth(LEB), University of Vermont(UVW) broth, UVM with extra acriflavin(UVMA) broth, 그리고 L-Palcamy broth 등이 있으며 선택 배지(Selective agar)로서는 LiCl-phenylethanol-moxalactam(LPM) agar, McBride agar(MA), modified McBride agar(MMA), Oxford agar(OA), modified Oxford agar(MOX), Dominguez-Rodriguez배지, PALCAM, modified Vogel Johns agar(MVJA) 그리고 Al-Zoreky와 Sandine *Listeria* medium(ASLIM) 그리고 Enhanced hemolysis agar(EHA) 등이 있다. 이러한 *Listeria* 선택배지들은 다른 경합 미생물의 성장을 억제하면서 *Listeria*의 성장에는 큰 지장을 주지않는 여러 방해화학 물질들(inhibitory chemicals)을 사용하고 있다. 사용되고 있는 화학물질들은 acriflavine, bacitracin, cefotetan, ceftazidime, colistin, cycloheximide, fosfomycin, furacin laxamoxef, lithium chloride, moxalactam, nalidixic acid, phenylethanol, polymyxin B, potassium tellurite, potassium thiocyanate, propolis, rivanol, thallosacetate, 그리고 tryptaflavine 등이다.

미국의 FDA와 USDA에서도 그 동안 식품과 환경속에서 *L. monocytogenes*를 분리해 내기 위한 여러 방법들을 독자적으로 개발하여 각각 FDA method와 USDA method로 현재 사용해 오고 있다. 또한 효과적 분리를 위해 개발된 선택배지와 방법들을 비교한 연구도 계속되어 왔다. 1989년에 Lammerding과 Doyle은 여러가지 유제품속에서 *Listeria*를 분리해 내기 위해 6가지 부유 배양액 방법과 5가지 배지 방법을 혼합해서 실험한 연구결과를 발표했다. 그들은 LPM agar를 이용한 USDA방법(Lovett, 1988 a)이 가장 효과가 높았다고 보고했고 FDA에서 사용해 왔던 KOH방법은 *L. monocytogenes*를 분리하는데 효과가 없다고 발표했다. 현재 FDA에서는 KOH처리를 뺀 방법을 이용하고 있다. 원료식품들(raw foods)에서 *Listeria*를 직접 분리해 내기 위한 방법으로서 여러식품이 행해졌다. 원유(raw milk)속에 존재하는 *Listeria*를 검출하기 위해서 어느 한 방법만으로는 효과적으로 분리할 수 없었다는 보고가 있었다(Farber *et al.*, 1988 and Slade & Collins-

Thompson, 1988). 또한 Doyle와 Schoeni가 개발한 선택부유배지를 이용한 방법과 McBride *Listeria* agar에 직접 배양한 방법으로서는 50개의 원유 samples에서 *L. monocytogenes*를 분리할 수 없었다는 보고가 있었다(Doyle & Schoeni, 1986). 그러나 이듬해 그들은 냉온부유배양법(cold enrichment procedure)이 치즈에서 *L. monocytogenes*를 분리하는데 FDA방법보다 더 효과가 있었다고 보고했다. 실질적으로 식품속에 존재하는 적은 수의 *L. monocytogenes*를 직접 배양법으로 검출한다는 것은 어려운 일이다. 따라서 전통적인 방법인 냉온부유배양법이 현재도 계속해서 식품과 환경 sample에서 *L. monocytogenes*를 검출하는데 이용되고 있다. 1948년 Grey *et al.*에 의해 처음 개발된 이 방법은 4°C에서 비선택배지인 tryptose broth를 이용해 배양하는 것이다. 이 배지의 일부분을 매주 꺼내 선택배지에 35°C에 24시간 배양함으로써 3개월 동안 *L. monocytogenes*의 존재를 검출하는 방법이다. 이것은 *L. monocytogenes*의 냉온성장 특성을 이용한 것으로 대부분의 미생물들이 4°C에서 성장을 못하거나 억제되는 동안 상대적으로 빠른 세대기간을 갖고 있는 *Listeria* 균들이 배양액에서 성장한 것을 검출해내는 방법이다. Ryser와 Marth에 의하면 이 방법은 Cheddar(1987a), Camembert(1987b), 그리고 Brick(1989) 치즈속에 존재하는 적은 수의 *L. monocytogenes*를 검출하는데 큰 효과를 나타냈다고 보고하고 있다. 하지만 이 방법은 시간이 많이 걸리는 단점을 갖고 있어 현재에는 상대적으로 효율이 낮지만 시간을 줄이는 FDA와 USDA 방법을 많이 이용하고 있다. 현재 *Listeria*를 검출하기 위해 여러 생화학 그리고 면역학을 이용한 여러방법이 개발되어 이용되고 있는데 그 중 Enzyme-linked Immunosorbent Assay(ELISA) 방법을 이용한 자동 검출기로서 Vidas system 등이 상품으로 개발되어 이용되고 있다. 전통적인 방법을 응용한 시간을 줄이는 방법으로서 냉온부유배양법과 Warm selective enrichment 방법의 2단계 분리법이 1990년 Varabioff에 의해 고안되어 이용되고도 있다. 선택배지와 분리방법을 위한 여러 연구들이 진행되고 있지만 어떠한 한가지 방법으로는 *Listeria*가 존재하는 모든 식품을 직접 배양법으로 검출하는데 적절하지 않다고 알려져 있다. Slade

박사는 특정 식품속에서 *Listeria*를 검출하기 위해서는 일반적으로 1가지 이상의 방법이 필요하다고 말하고 있다(1992). 그러나 일반적으로 알려진 가능한 직접배양 검출방법으로는 우유와 아이스크림인 경우에는 gum base nalidixic acid tryptone soya medium이고 양배추, brie 치즈, country- and dirured hams인 경우에는 LiCl phenylethanol moxalactam agar이며 생굴(raw oyster)인 경우에는 Dominguez Rodriguez 방법이다(Brackett *et al.*, 1990).

식품제조공장에서의 *L. monocytogene*의 오염

*L. monocytogenes*를 포함한 수많은 미생물이 현재 유가공장의 표면이나 공기 속에서 발견되고 있다. 이러한 제조공장 속에서 발견되는 부패성과 병원성 미생물들은 공장위생설비와 위생조건이 부실할 때마다 가공된 식품에 오염되어 제품을 부패시키거나 사람에게 식중독을 일으키는 등 문제가 되고 있다. 특히 *L. monocytogenes*는 1983년 미국 Messachusetts주에서의 살균유 사건과 1985년 California주에서의 멕시코식 soft cheese사건을 통한 집단 Listeriosis가 발생하기 이전까지는 심각한 냉온성 병원균으로 간주되지 않았다. 그러나 북아메리카와 유럽에서의 연속된 식중독 돌발사건(outbreak)이 소비자나 업체, 정부 모두에게 *Listeria*의 심각성을 일깨워 주었다. 1986년에 미국 FDA의 관리들은 유가공업체의 설비에 대한 감독을 위해 Dairy Safety Initiative Program을 시작하였다(Kozak, 1986). 그 결과로서 1986년도에 357개의 유제품생산 유가공업체 중에서 약 9업체가 *L. monocytogenes*에 오염이 된 것으로 밝혀졌다(FDA center, 1986). 미국의 각 주에서 타 주로 이송되는(Interstate Milk Shipment) 유제품 중에는 604의 제품 중 11개가 *L. monocytogenes*오염이 되었으며 그 주에서 소비되는 제품(非-IMS) 412제품 중 18제품이 *Listeria* 특히 *L. monocytogenes*에 오염된 것으로 밝혀졌다(Anonymous, 1987a).

미국 FDA는 살균처리된 유제품 속에서 *L. monocytogenes*가 오염되는 것이 가공처리공장에서 살아 남으며 성장했던 균이 살균처리 후 오염(Post pas-

teurization contamination)되는 것이라고 발표하고 있다. *Listeria*가 발견되는 장소로는 공장바닥, 나무 벽, 천정, 나무 pallets, 우유포장용기 표면, 살균판에서 흘러나오는 냉장액 등이다. 따라서 U. S. FDA와 Milk Industry Foundation International Ice Cream Association(1988)은 유제품 가공공장에서 *Listeria*의 오염을 방지하기 위한 지도기준(guideline)을 발표하였다. 이 지도 기준에서 살균, 살균 후 오염, 반송제품의 이용과 재생이용처리, 공기오염, 공장환경, 인부의 위생, sample 수집과 실험분석에 따른 여러지도 지침을 제시하고 있다.

고기제품으로의 부패성균과 병원성균의 오염은 살아있는 동물의 내부감염과 도살 후 외부오염으로 크게 나누어질 수 있는데 일반적으로는 도살 후 외부오염이 큰 요인으로 나타나고 있다. 오염가능한 원인으로서는 동물가죽 표면과 동물에 붙어있는 흙속, 동물세척에 사용되는 물과 dressing에 사용되는 기구들과 사람들에 있는 미생물이 고기제품으로 오염되는 것이다(Lawrie, 1991). 특히 *L. monocytogenes*는 토양미생물이기 때문에 고기제품 속으로의 오염이 우려되고 있다. Johnson 등(1990)은 review 논문에서 *Listeria*의 read meat의 오염은 거의 막을 수 없는 것이라고 결론을 내리고 있다. 특히 *L. monocytogenes*가 토양미생물이긴 하지만 고기를 가공 처리하는 육가공장(meat processing plant)의 환경 속에서도 발견이 된다. 미국 전역에서 광범위하게 실시된 육가공장내에서 *Listeria*의 오염 실태 조사에서 40개의 육가공장 설비에서 수집된 2300개의 환경 sample 중에서 14개의 공장들이 *L. monocytogenes*나 다른 *Listeria* spp.에 의해 오염이 되었고 수집된 sample의 21%가 *Listeria*에 의해 오염된 것으로 밝혀졌다(Anonymous, 1987b). 본인의 미국의 상업육가공장에서 수집한 sample속에서 *Listeria*의 존재 실험에서도 약 23%가 *Listeria*의해 오염된 것으로 밝혀졌다(Table 3).

*Listeria*가 발견되는 장소로서는 바닥, 흙, 하수구, 배기관, 스펀지, 빗, 호스, 걸레, 그리고 고기와 직접 접촉하는 깍질 벗기는 기계, 콘베이어, 그리고 slicer의 표면들과 세척장 등이다. 또한 Sliced luncheon meat와 집했던 표면에서 처리 전, 처리하는 도중, 그리고 처리 후에 얻은 sample 중 각각 9.3,

Table 3. Identification of *Listeria* spp. in sponge samples from a commercial meat processing plant

Origin	food contact surface	environment surface
Sample No.	15	15
No. of positive	3	3
<i>L. monocytogenes</i>	3	3
Others	0	1 (<i>L. welshimeri</i>)

(Jeong, 1992)

32.3, 그리고 23.6%가 *Listeria*에 의해 오염된 것으로 밝혀졌다. 특히 미국의 고기연구소(American Meat Institutes)의 조사보고에 의하면 *Listeria*균이 육가공공장의 환경에 전국에 걸쳐 퍼져 있는 것으로 나타내며 문제의 심각성을 더해 주고 있다. 그들이 조사한 41개 육가공장의 열처리 후 장소(post-heat-processing areas)에서 얻은 환경 sample 중 *Listeria*가 존재하는 장소와 존재율은 바닥에서 37%, 하수구에서 37%, 세척도구에서 24%, 세척장에서 24%, sausage peeler에서 22%, food contact surface에서 20%, condensate에서 7%, 벽과 천정에서 5%, 그리고 compresses air 속에서도 4%로 나타났다. 미국의 USDA의 Food Safety Inspection Services(FSIS)에 의해 1990년에 78개 육가공장에서의 *Listeria* 오염실태 조사가 이루어졌다. 이 조사에 의하면 78개 공장 중에서 14, 16, 그리고 12개의 공장이 *Listeria*에 오염된 cooked beef, cooked sausage, cooked poultry, 그리고 ready-to-eat salads/spreads를 각각 생산해내는 것으로 밝혀져 충격을 주고있다. 특히 이러한 제품은 더 이상의 가공처리 없이 즉시 먹는 식품(ready-to-eat)이며 냉장고에 저장하는 식품이기 때문에 소비자 건강위생에 문제성을 심각하게 제시하고 있다.

식품위생에서 Biofilm의 중요성

일반적으로 미생물은 액체 속에 담겨진 물질 대부분의 표면에 잘 붙을 수 있다. 이렇게 붙은 미생물들은 그 표면에서 번식하면서 체외방출물(extracellular polymer), 주로 체외 다당류(extracellular

polysaccharide)를 생산한다. 이러한 물질들과 미생물이 얽혀서 탄수화복합물질(Glycocalyx)을 형성하며 이 속에서 미생물들이 자라서 microcolony를 형성하며 이것이 자라서 유기물질로 얇은 막이 형성되는데 이것을 biofilm이라고 한다(Characklis & Marshall, 1990). 이러한 glycocalyx나 biofilm 막은 그 속에 존재하는 미생물이 위생세제, 항생물질, 그리고 항체의 공격에 영향을 받지 않거나 적게 받게 하는 방패 역할을 하게 되어 위생세제 등의 항미생물질들의 효력을 크게 저하시킨다. 특히 biofilm 속에 존재하는 *L. monocytogenes*가 여러 공장 위생세제에 대해 저항력을 갖고 있다고 현재 보고되고 있다(Wirtanen & Mattila-Sanholm, 1992 and Frank & Koffi, 1990). 또한 염소계통의 위생세제로 세척한 Stainless Steel 표면에서 glycocalyx가 세척되지 않고 계속 잔존 한다는 보고도 있다(Wirtanen & Mattila-Sanholm, 1992).

미생물들은 아주 낮은 영양성분을 갖고 있고 염소로 처리된 수도물에서도 biofilm을 생성한다(Le-Chevallier *et al.*, 1987 and 1988). 또한 도살장에서 물청소한 그 오물에서도 *L. monocytogenes*가 성장한다는 보고가 있다(Boyle *et al.*, 1990). 또한 앞서도 언급했듯이 식품제조공장에서 *L. monocytogenes*가 여러 환경 속에서 계속 발견되고 있는 실정이다. 실제적으로 이러한 보고를 통해 *L. monocytogenes*가 다른 미생물들과 같이 식품제조 공장내의 표면에서 biofilm을 형성하며 이 형성된 것이 표면 접촉을 통해 식품속으로 오염이 된다고 생각되고 있다. 실험에 의하면 *L. monocytogenes*가 식품제조공장의 환경에서 분리된 여러 다른 미생물들과 함께 영양성분이 낮은 배양액속에 담겨진 stainless steel 표면에서 biofilm을 형성한다는 것이 관찰되었다(Jeong, 1992). 또한 *L. monocytogenes*에 대해 항미생물질(antilisterial agents)을 생성하는 몇몇 미생물들이 배양액에서는 *L. monocytogenes*의 성장을 억제시켰지만 biofilm속의 성장을 억제시키지 못해 biofilm이 항미생물질에 대해 보호막의 역할을 감당한다는 것도 관찰되었다. 또한 stainless steel 표면에서 배양액 속으로 *L. monocytogenes*가 잘 분리되며 그 배양액 속에서 잘 성장한다는 것이 관찰되었다(Jeong, 1992). 이러한 biofilm 속에서 경쟁

미생물들과 함께 잘 성장하는 *L. monocytogenes*의 특성과, 항미생물질에 대한 biofilm속의 *L. monocytogenes*의 저항과 biofilm으로부터 배양액 속으로의 쉬운 *L. monocytogenes*의 이전들이 공장위생처리 후에 살아 남은 *L. monocytogenes*가 가공처리된 식품속으로 오염이 되는 원인에 기여할 것이다.

결 론

냉온성 병원성균인 *L. monocytogenes*는 자연계에 널리 존재함과 동시에 야채, 과일, 원유, 쇠고기, 돼지고기, 닭고기, 조개, 생선류 등의 원료 농축산물에서 발견될 뿐만 아니라 그 가공식품 속에서도 발견되며 그 제품을 가공처리하는 식품제조 공장의 환경에서도 발견되고 있다. 또한 일단 식품처리공장에 *L. monocytogenes*가 한번 오염이 되면 그 곳에서 살아남으며, 적당한 조건이 갖추어지면 성장하며 번식할 수 있어 오염된 그 균을 제거하기가 어렵다는 보고도 있다(Palumbo & Williams, 1990). 한 공장의 다른 여러환경에서 분리해 낸 *L. monocytogenes*의 genomic species가 매우 비슷하다는 보고도 있어 한마리가 공장에 오염되면 그것이 전체 공장환경으로 퍼질수 있다는 것을 증명하고 있다(Feresu & Jones, 1988). 미생물에 의해 생성된 biofilm은 *L. monocytogenes*가 위생세제와 식품방부제에 영향을 받지 않도록 도와주고 있다. 비록 식품제조 공장에서 여러 노력을 하고 있지만 미국의 USDA와 FDA에 의해 설정된 가공식품 속에서의 한마리의 *L. monocytogenes*도 허용하지 않겠다는 강조조항인 무균수준(zero tolerance level)을 지키는 것을 어렵게 하고 있다. 현재 제품생산공장마다 식품속으로의 오염과 그 수준이 각각 다르게 나타나는데 이러한 것은 아마도 식품가공 공장의 설계, 위생기준, 그리고 가공식품을 다루는 기준들 차이때문으로 생각되고 있다(Vickers, 1986). 이러한 모든 어려움에도 불구하고 식품제조공장 환경에서 존재하는 *Listeria*의 미생물 생태에 대한 연구들이 가공식품으로 오염이 가능한 원인을 밝히는데 도움을 줄 것이다. 또한 이러한 결과가 더 효과적으로 *Listeria*를 비롯한 다른 병원성과 부패성 미생물을 식품으로부터 제거하는데 뒷바침할 것이다. 또한 앞으로의 위생설비와

위생세제의 개발과 그 이용, 그리고 식품제조 공장의 개성과 특이성에 입각한 체계적인 Good Manufacturing Practice(GMP)와 Hazard Analysis of Critical Control Point(HACCP)의 개발과 연구들이 효율적으로 *Listeria*를 비롯한 다른 여러 미생물들이 식품속으로 오염되는 것을 막거나 줄이는데 기여할 것이며 궁극적으로는 한마리의 세균도 생산제품에 허용하지 않는 무균수준까지 달성하는데 크게 이바지 할 것이다.

참고문헌

- Alexander, M.: *Introduction to soil microbiology*. John Wiley & Sons Inc., New York (1977).
- American Meat Institute: *Interim guideline: Microbial control during production of ready-to-eat meat products. Controlling the incidence of Listeria monocytogenes*. American Meat Institute, Washington, DC. (1987).
- Anonymous: FDA convinced dairy industry can avoid *Listeria* contamination. *Food Chem. News*. **29**(39), 3-4 (1987).
- Anonymous: Meat industry research show *Listeria* widespread, control difficult. *Food Chem. News*. **29**(17), 27-29.
- Bojsen-Møller, J.: Human listeriosis-diagnostic, epidemiological and clinical studies. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. b. Suppl.* **229**, 1-157 (1972).
- Boyle, D.L., J.N. Sofos and G.R. Schmidt: Growth of *Listeria monocytogenes* inoculated in waste fluids collected from a slaughterhouse. *J. Food Prot.* **53**, 102-114 (1990).
- Brackett, R.E.: Presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in food and water. *Food Technol.* **42**, 162-164, 178 (1988).
- Characklis, W.G. and Marshall, K.C.: Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. In *Biofilms* (Characklis W.G. and K.C. Marshall eds.). A Wiley-Int. Pub., New York. Chapter 1 (1990).
- Chau, M.Y. and Shelef, L.A.: Nutritional requirements of *Listeria* spp. *Abst. Ann. Mtg. Amer. Soc. Microbiology*. New Orleans, LA, May 14-18, Abst. I-133 (1989).
- Doyle, M.P. and Schoeni, J.L.: Comparison of procedure for isolation of *Listeria monocytogenes* in soft, surface-ripened cheese. *J. Food Prot.* **50**, 4-

- 6 (1987).
11. Durst, J.: The role of temperature factors in the epidemiology of listeriosis. *Zbl. Bakteriol. Hyg. I. Abt. Orig.* **A233**, 72-74 (1975).
 12. El-Shenawy, M.A. and Marth, M.A.: Inhibition and inactivation of *Listeria monocytogenes* by sorbic acid. *J. Food Prot.* **51**, 842-847.
 13. Farber, J.M. and Peterkin, P.I.: *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.* **55**, 476-511 (1991).
 14. Farber, J.M., Sanders, G.W. and Malcolm, S.A.: The presence of *Listeria* spp. in raw milk in Ontario. *Can. J. Microbiol.* **34**, 95-100 (1988).
 15. FDA center for food safety and applied nutrition-milk safety branch: *Food and drug administration dairy product safety initiatives-preliminary status report*. Washington, DC, September 22 (1986).
 16. Feresu, S.B. and Jones, D.: Taxonomic studies on *Brochothrix*, *Erysipelothrix*, *Listeria* and atypical *Lactobacilli*. *J. Gen. Microbiol.*, **134**, 1165-1183 (1988).
 17. Fistrovici, E. and Collins-Thompson, D.L.: Use of plasmid profiles and restriction endonuclease digest in environmental studies of *Listeria* spp. from raw milk. *Int. J. Food Microbiol.* **10**, 43-50 (1990).
 18. Frank, J.F. and Koffi, R.A.: Surface-adherent growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surfactant sanitizers and heat. *J. Food Prot.* **53**, 550-554 (1990).
 19. Gellin, B.G. and Broome, C.V.: Listeriosis. *J. Amer. Med. Assoc.* **261**, 1313-1320 (1989).
 20. Gellin, B.G., Broome, C.V. and Hightower, A.W.: Geographic differences in listeriosis in the united states. *Abstracts of the 27th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. New York, Oct 5, (1987).
 21. Grey, M.L., Stafseth, H.J., Thorp, F. Jr., School, L.B. and Riley, W.F. Jr.: A new technique for isolating listerellae from the bovine brain. *J. Bacteriol.* **55**, 471-476 (1948).
 22. Ho, J.L., Shands, K.N., Friedland, G., Eckind, P. and Fraser, D.W.: An outbreak of type 4b *Listeria monocytogenes* infection involving patients from eight Boston hospital. *Arch. Intern. Med.* **146**, 520-524 (1986).
 23. Jeong, D.K.: The competitive growth in biofilms of *Listeria monocytogenes* with cultures isolated from dairy and meat plant environment. Ph. D. Dissertation. University of Georgia, Athens, Georgia, U.S.A. (1992).
 24. Johnson, J.S., Doyle, M.P. and Cassens, R.G.: *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products: a review. *J. Food Prot.* **53**, 81-91 (1990).
 25. Junttila, J., Niemela, S.E. and Hirn, J.: Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and non-hemolytic listeria. *J. Appl. Bacteriol.* **65**, 321-327 (1988).
 26. Kampelmacher, E.H.: Foodborne listeriosis facts and fiction. In "Foodborne Listeriosis". Proceedings of a symposium, Wiesbaden, FRG. Technomic Pub. Co. Inc. Lancaster, Basel (1990).
 27. Kozak, J.J.: FDA's dairy program initiatives. *Dairy Food Sanit.* **6**, 184-185 (1986).
 28. Lannerding, A.M. and Doyle, M.P.: Evaluation of enrichment procedures for recovering *Listeria monocytogenes* from dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* **9**, 249-268 (1989).
 29. Lawrie, R.A.: *Meat Science*. Pergamon Press. Oxford. pp. 101-121 (1991).
 30. LeChevallier, M.W., Babcock T.M. and Lee, R.G.: Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appl. Env. Microbiol.* **53**, 2714-2724 (1987).
 31. LeChevallier, M.W., Cawthon, C.D. and Lee, R.G.: Factors promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies. *Appl. Env. Microbiol.* **54**, 649-654 (1988).
 32. *Listeria conference*: Univ. of Wisconsin-Extension. Sponcered by Chicago Dairy Technology Society and Wisconsin Dairy Tech. Society (1986).
 33. Lovett, J.: Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes*. *Food Technol.* **42**, 172-175 (1986).
 34. Lovett, J.: *Listeria monocytogenes*. In "Foodborne bacterial pathogen". Decker Co. (1989).
 35. Marth, E.H.: Disease characteristics of *Listeria monocytogenes*. *Food Technol.* **42**, 165-168 (1988).
 36. Palunbo, S.A., and Willams, A.C.: Effect of temperatures, relative humidity and suspending menstrua on the resistance of *Listeria monocytogenes* to drying. *J. Food Prot.* **52**, 377-381 (1990).
 37. Perez-Diaz, J.C., Vicente, M.F. and Bequero, F.: Plasmids in *Listeria*. *Plasmid.* **8**, 112-118 (1982).
 38. Pine, L., Malcolm, G.B., Brooks, J.B. and Daneshvar, M.I.: Physiological studies on the growth and utilization of sugars by *Listeria* species. *Can. J. Microbiol.* **35**, 245-254 (1989).

39. Poyart-Salmeron, C., Carlier, C., Trieu-Cuot, P., Courtieu, A.L. and Courvalin, P.: Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Lancet* **334**, 1422-1426 (1990).
40. Kalovich, B.: *Listeriosis research-Present situation and perspective*. Akademiai Kiado, Budapest. (1984).
41. Ryser, E.F. and Marth, E.H.: Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of cheddar cheese. *J. Food Prot.* **50**, 7-13 (1987).
42. Ryser, E.T. and Marth, E.H.: Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of camembert cheese. *J. Food Prot.* **50**, 372-378 (1987).
43. Ryser, E.T. and Marth, E.H.: Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of brick cheese. *J. Dairy Sci.* **72**, 838-853 (1989).
44. Ryser, E.T. and Marth, E.H.: *Listeria*, Listeriosis and Food Safety. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Hong Kong. (1991).
45. Seeliger, H.P.R.: Listeriosis-avoidable risk? *In Topic in Industrial Microbiology: Foodborne Listeriosis*. (A.J. Miller, J.L. Smith and G.A. Somkuti eds.) Elsevier Science Publishers, Amsterdam-New York-Oxford. (1990).
46. Seeliger, H.P.R. and Jones, D.: *Listeria*, *In Bergey's manual of systematic bacteriology*, 9th ed., Vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 1325-1245 (1987).
47. Shelf, L.A.: Listeriosis and its transmission by food. *Prog. Food Nutrit. Sci.* **13**, 363-382 (1989).
48. Slade, P.J.: Monitoring *Listeria* in the food production environment. I. Detection of *Listeria* in processing plants and isolation methodology. *Food Res. Intern.* **25**, 45-56 (1992).
49. Slade, P.J.: Monitoring *Listeria* in the food production environment. II. Identification techniques. *Food Res. Intern.* **25**, 203-214 (1992).
50. Slade, P.J.: Monitoring *Listeria* in the food production environment. III. Typing methodology. *Food Res. Intern.* **25**, 215-225 (1992).
51. Slade, P.J. and Collins-Thompson, D.L.: Comparison of two-stage and direct selective enrichment techniques for isolating *Listeria* spp. from raw milk. *J. Food Sci.* **53**, 1694-1695 (1970).
52. Todd: Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the united states. *J. Food Prot.* **52**, 595-601 (1989).
53. U.S. FDA and Milk, Ind. Found. Int. Ice Cream Assoc: Recommended guidelines for controlling environmental contamination in dairy plants. *Dairy Food Sanit.* **8**, 52-56 (1988).
54. Varabioff, Y.: Incidence and recovery of *Listeria* from chicken with a pre-enrichment technique. *J. Food Prot.* **53**, 555-557 (1990).
55. Vickders, V.T.: Control of airborne contamination in dairy processing plant. *New Zeal. J. Dairy Sci. Technol.* **21**, 89-98 (1986).
56. Weis, J. and Seeliger, H.P.R.: Incidence of *L. monocytogenes* in nature. *Appl. Microbiol.* **30**, 29-33 (1975).
57. WHO: Foodborne listeriosis. Document No. WHO/WHE/FOS/88.5. World health organization, Geneva, Switzerland. (1988).
58. Wirtanen, G. and Mattila-Sandholm, T.: *Effect of the growth phase of foodborne biofilms on their resistance to chlorine sanitizer*. Part II. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **25**, 50-54 (1992).
59. Wood, L.V. and Woodbine, M.: Low temperature virulence of *Listeria monocytogenes* in the avian embryo. *Zbl. Bakteriол. Hyg. I. Abt. Orig.* **A243**, 74-81 (1979).
60. 상국희, 유익종: 새로운 식중독균 *Listeria monocytogenes*의 문제점. *The Korean Journal of Food Hygiene.* **3**(4), 241-250 (1988).
61. 김창민, 유성식: *Listeria*속 미생물의 특징 및 Listeriosis 감염. **24**(2), 77-86 (1992).