

수산가공품에서 분리한 *Listeria* sp.에 대한 구아바(*Psidium guajava*)잎과 현초(*Geranium thunbergii*) 추출물의 항균활성

김양호 · 김태용 · 김진수 · 최재우 · 이수정 · 차소영 · 신소담 · 전미현 · 노다인 · 이은우*

동의대학교 공과대학 바이오응용공학부 바이오의약공학전공

Anti-bacterial Effect of *Psidium guajava* and *Geranium thunbergii* Extracts on *Listeria* sp. Isolated from Fishery Products

Yang-Ho Kim, Tae-Yong Kim, Jin-Su Kim, Jae-Woo Choi, Su-Jeong Lee, So-Young Cha, So-Dam Shin, Mi Hyeon Jeon, Da-In Noh and Eun-Woo Lee*

Biopharmaceutical Engineering Major, Division of Applied Bioengineering, College of Engineering, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea

Listeria sp. is one of the pathogenic bacteria causes the infection listeriosis, through mainly raw food such as fishery food, dairy food and vegetables. *Listeria* sp. is a Gram-positive, non-spore-forming, motile, and facultative anaerobic bacterium. Because of the tolerance of *Listeria* sp. to low temperature and high salt concentration, it is very difficult to prevent them contaminated in the food, which do not require heating, especially, such as raw fishery products. So prevention and removal of bacterial contamination at the food manufacturing stage is the best method. In this study, therefore, several natural products including *Psidium guajava* and *Geranium thunbergii* were screened to investigate the antibacterial activity against *Listeria* sp., with expectation of fewer side effects and fewer resistance problems. Significant effects of two extracts were confirmed by well diffusion assay, MIC assay, and growth inhibition assay. *P. guajava* and *G. thunbergii* showed MIC values at 64-256 µg/mL meaning strong antibacterial activities against 6 kind of *Listeria* sp. tested. And the growth of *Listeria* sp. in the liquid media was actually inhibited by the addition of these two extracts.

Keywords: *Listeria* sp., *Psidium guajava*, *Geranium thunbergii*, Antibacterial activity

서론

Listeria 속 세균은 환경, 물, 토양, 하수, 야채와 사람 및 동물의 분변 등에 광범위하게 존재하며 아포를 형성하지 않는 통성 혐기성 그람양성 간균으로 자연계에 흔히 존재하고 15개의 종으로 분류된다(den Bakker et al., 2014). 이 중 *Listeria ivanovii*는 동물에서만 병원성을 가지며, *L. monocytogenes*는 사람과 동물에서 병원성을 나타내는 병원성 식중독 세균으로 알려져 있다(Camejo et al., 2011). *L. monocytogenes*는 0-45°C의 광범위한 생육온도를 가지고 있어 냉동과 건조에 비교적 잘 견디며, pH 5 이하의 산과 높은 염도, 진공 또는 질소충전 환경에서도 생장이 가능한 것으로 보고 되고 있다(Gandhi and Chikindas,

2007; Allerberger and Wagner, 2010). 또한 biofilm 형성으로 생물체와 무생물체 표면에 용이하게 부착하여 열악한 조건에서도 생존이 가능한 세균이다(Skowron et al., 2018).

*L. monocytogenes*에 의한 식품 매개 질병인 리스테리아증(listeriosis)은 이 세균이 만들어 내는 독성 단백질들이 주요 인자로 알려져 있다. 음식물을 통해 장관을 침습하여 혈관을 통해 각종 기관 조직으로 이동하여 패혈증, 중추신경계 감염, 간농양, 뇌수막염, 유산, 사산과 같은 심각한 증상을 일으킬 수 있다. 주로 임신부, 신생아 및 노인 뿐만 아니라 당뇨병, 알코올 중독자 및 후천성 면역 결핍증 환자에게 쉽게 발병되며 감염된 환자는 30%의 높은 치사율을 보인다(Barreiro et al., 2018). 가열하지 않고 섭취하게 되는 훈제연어와 치즈, 우유 등의 유제품,

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 890. 1537 Fax: +82. 505. 182. 6871

E-mail address: ewlee@deu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0237>

Korean J Fish Aquat Sci 53(2), 237-243, April 2020

Received 28 January 2020; Revised 4 March 2020; Accepted 6 April 2020

저자 직위: 김양호(대학원생), 김태용(대학원생), 김진수(대학생), 최재우(대학생), 이수정(대학생), 차소영(대학생), 신소담(대학생), 전미현(대학원생), 노다인(대학생), 이은우(교수)

샐러드 등 즉석섭취 편의식품(ready-to-eat food) 등이 리스테리아 식중독의 주요원인이다(Benabbou et al., 2018). 이러한 식품을 통해 대규모 식중독 사건이 발생하여 1970년대 후반부터 미국을 포함한 여러 나라에서 사람에서의 리스테리아 감염증 발생 보고가 증가하기 시작하였고, 공중보건학적으로 중요한 균으로 주목 받고 있다. 미국에서는 2000년 이후 매년 100여 명의 리스테리아증 환자가 발생하고 있으며, 식품 매개 감염증의 8번째 원인균으로 높지 않은 발생 빈도에도 불구하고 리스테리아증으로 입원하는 비율은 가장 높다고 알려져 있다(Dewey-Mattia et al., 2018).

리스테리아가 가장 높은 비율로 검출되는 단일 식품은 수산물인 훈제연어이다. 국외의 경우, 아일랜드에서 판매되는 5개 브랜드의 진공 포장된 훈제연어 120개의 시료를 조사한 결과 *L. monocytogenes*가 21.6%로 검출되었다(Esmail et al., 2016). 또한 유럽 12개국에서 생산된 훈제연어 774개 제품을 조사한 결과, *L. monocytogenes*가 20.2% (157개 제품)에서 검출되었으며, 그 중 26개 제품(3.3%)은 >100 CFU/g 이상으로 분석되었다(Eva et al., 2015).

국내에서는 *L. monocytogenes*에 의한 식중독 사례가 거의 없으나, 세균 검출은 이따금씩 보고되고 있는 상황이며, 이에 따라 훈제연어 등 수산물을 포함한 비가열 즉석 식품의 소비가 증가하고 있는 추세에서는 언제든지 이 세균에 의한 질병 사례가 발생할 수 있을 것으로 예상된다.

냉장온도에서 성장 가능하며, 낮은 pH나 염농도에서도 견딜 수 있는 *L. monocytogenes*의 특징에 따라 저온 유통과 비가열 처리 및 섭취가 많은 수산물의 가공공정에서 이 세균의 오염을 제어하는 것이 수산 식품의 안전성 측면에서 중요한 포인트가 되고 있다. 하지만, 수산물에 있어서의 *L. monocytogenes*의 위해요소를 가식성 천연물로 제어하고자 하는 연구 사례는 충분히 보고되어 있지 않다. 본 연구에서는 식용으로 사용하는 천연 식물 9종의 추출물로부터 *L. monocytogenes*를 저해하는 활성을 확인하였으며, 이에 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

사용 균주 및 배지

L. monocytogenes 균주들은 총 6종의 균주를 사용하였다. 표준 균주는 *L. monocytogenes* KCTC 3569를 생물자원센터(Korean collection for type cultures, KCTC, Daejeon, Korea)에서 구입하였으며, 분리균주 5종(*L. monocytogenes* DEU1-DEU5)은 수산가공품에서 분리 동정하여 실험실에서 보관 중인 균주들을 사용하였다. 분리균주는 16S rRNA 서열분석과 listeriolysin 검출을 위한 PCR 동정방법(Jung et al., 2003; Osman et al., 2014)으로 *L. monocytogenes*로 동정 및 검증 후 사용하였다. 사용 균주들은 Brain Heart Infusion (BHI, Difco Co., New Jersey, NJ, USA) 배지에 접종하여 37°C에서 배양하였다.

천연물 추출물의 제조

실험에 사용한 천연물들은 Table 1에 정리하였다. 그람 양성 세균에 활성이 보고 되었거나 항균활성이 있다고 보고 된 가식성 천연식물 소재 중에서 *Listeria sp.*에 대한 항균활성 탐색이 아직 보고되지 않은 소재들을 문헌검색을 통하여 선정하였다. 사용한 부위는 생리활성물질이 많이 포함되어 있다고 보고된 부분을 사용하였다. 재료는 대한생약제품(주) (Busan, Korea)에서 검정된 소재를 건조된 형태로 구입하였으며, -80°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 건조된 재료를 세절하고 잘게 부수어 여러 농도의 ethanol (70%, 80%, 90%, 100%)과 열수 추출을 실시하여 사전 실험을 실시한 결과, 가장 높은 추출수율을 나타낸 80% ethanol을 본 추출실험에 사용하였다(결과 미제시). 3배(v/v)의 80% ethanol에 24시간 실온에서 침지한 후, 여과지(No.2, Whatman, Maidstone, UK)로 2회 여과하였다. 추출액은 rotary vacuum evaporator (Eyela, Japan)로 90°C에서 진공 감압 농축하여 용매를 완전 제거하였으며, 각각의 농축물을 다시 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 200 mg/mL의 농도로 용해시켜 -20°C에 보관하면서 각 세균별 항균활성 측정을 위

Table 1. Used parts of natural products and extraction yields

Common name	Scientific name	Korean name	Used part	Extraction yield (%)
Balloon flower	<i>Platycodon grandiflorum</i>	도라지	roots	19.6
Chinese plum	<i>Prunus mume</i>	매실	fruits	16.2
Chinese twinleaf	<i>Jeffersonia dubia</i>	깽깽이풀	roots	13.6
Fish mint	<i>Houttuynia cordata</i>	약모밀	whole	14.9
Guava	<i>Psidium guajava</i>	구아바	leaves	15.2
Japanese plum	<i>Prunus salicina</i>	자두	fruits	3.8
Magnolia-vine	<i>Schizandra chinensis</i>	오미자	fruits	19.6
Melia	<i>Melia azedarach</i>	먹구슬나무	roots	2.4
Thunberg's geranium	<i>Geranium thunbergii</i>	현초	whole	7.6

한 stock solution으로 사용하였다. 추출 수율은 용매가 완전 건조된 시료의 무게를 측정하여 중량법을 이용하여 계산하였다. 실험에 사용된 기타 시약들은 분석용 grade를 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

추출물의 항균활성 측정

항균활성은 clinical and laboratory standards institute (CLSI, 2019)의 표준방법에 따라 well diffusion method를 사용하여 측정하였다. 즉, 적정배지에서 하룻밤 배양한 대상균주 배양액 200 µL를 한천 배지 상에 멸균된 면봉으로 3회에 걸쳐 고르게 도말하고 지름 8 mm의 well을 한천배지 상에 만든 후, 각 추출물을 100 µL씩 흡수시켜 37°C의 incubator (Emtech, Changwon, Korea)에서 18시간 배양 후 well 주위의 생육 저해환의 크기를 측정하였다. 양성 대조군으로는 ampicillin (10 mg/mL, Oxoid Ltd., UK)을 이용하였다.

추출물의 최소 생육저해 농도(MIC) 측정

추출물의 최소 생육저해 농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 96-well plate와 Muller-Hinton 배지(Difco Co., USA)를 이용한 표준 2배 희석 방법으로 측정하였다(Lee et al., 2003). 37°C에서 24시간 배양한 후 대상 세균의 생육이 저해된 최저 농도를 MIC로 결정하였다. 양성 대조군으로는 ampicillin을 이용하였다.

추출물의 Time-kill curve assay

액체배지 상에서 추출물을 처리 시 미생물 균주가 사멸하는 양상은 time-kill curve assay (Al-Ani et al., 2015)방법을 변형하여 측정하였다. 미생물 균주를 BHI (brain heart infusion) 배지에 배양하고(37°C, 24시간) BHI 배지를 이용하여 개체수를 10⁵-10⁶ cell/mL로 보정하였다. 배양액에 최종농도 1 mg/mL로 추출물을 처리하고 진탕배양하였다(37°C, 160 rpm). 배양 시작 후 1시간 간격으로 시료를 수집하여 660 nm에서 분광광도계(Amersham Biosciences, UK)로 *L. monocytogenes*의 증식 정도를 측정하였다.

통계처리

데이터의 통계처리는 각 시료에 대한 평균±표준편차를 나타내었다. SPSS Ver. 23 (SPSS Inc., IL, USA)을 이용하여 분산분석(ANOVA test)하였고, 각 처리구간의 유의성은 Duncan의 다중위검정법으로 P<0.05 수준에서 실시하였다.

결과 및 고찰

천연물 추출물의 항균활성 탐색

에탄올 추출 후 동결건조하여 분말화 한 추출물을 DMSO에 녹여 stock solution을 만들고, BHI 한천 배지로 well-diffusion assay를 실시한 결과는 Table 2에 나타내었다. 활성정도는 *L.*

*monocytogenes*가 자라지 못하는 저해환의 직경을 측정하여 일정간격으로 나누어 상호비교하여 표기하였다. 표준균주 1종과 분리균주 5종의 *L. monocytogenes*를 대상으로 항균활성을 측정한 결과를 양성대조군인 ampicillin의 활성과 비교한 결과, 사용한 천연물 9종 중 3종(Balloon flower, Fish mint, Melia)에서는 항균활성이 전혀 나타나지 않았으며, 다른 6종(Chinese plum, Chinese twinleaf, Guava, Japanese plum, Magnolia-vine, Thunberg's geranium)에서는 항균활성을 나타내었다. 표준균주와 분리균주 사이의 활성의 차이나 균주별 활성차이는 크지 않은 것으로 관찰되었다. 추출물의 제조 과정 중에 진공 감압 농축을 90°C에서 실시하였으나, 결과적으로 추출물의 활성이 유지되는 것으로 볼 때, 본 추출물의 활성성분은 어느 정도 내열성을 가질 것으로 추측된다. Chinese plum과 Magnolia-vine의 에탄올 추출물이 *L. monocytogenes*에 활성을 나타내었다는 보고(Lee and Lim, 1997; Kim et al., 2008)가 있으나, 그 밖에 다른 4종은 이 세균에 대한 항균활성의 보고를 찾을 수 없었다.

추출물의 최소 생육저해 농도(MIC) 측정

추출물의 최소 생육저해 농도(MIC)를 측정한 결과는 Table 3에 나타내었다. MIC 농도는 각 추출물을 측정된 농도로 사용하였을 경우에 대상 세균의 성장을 저해시킬 수 있는 최소의 농도를 의미하므로 수치가 작을수록 강한 활성을 의미한다. 앞선 well-diffusion assay에서의 결과(Table 2)에서 활성을 나타내지 않은 3종의 추출물은 여전히 최고값 이상의 MIC를 나타내어 항균활성이 없음을 재확인하였다. 활성을 나타내었던 6종 중에서는 각각 서로 다른 MIC 값을 나타내었는데, 그 중에서 구아

Table 2. Anti-Listeria activity of extracts by well-diffusion assay

Common name	<i>Listeria monocytogenes</i>					
	KCTC 3569	DEU1	DEU2	DEU3	DEU4	DEU5
Balloon flower	-	-	-	-	-	-
Chinese plum	+++	+++	++++	+++	+++	+++
Chinese twinleaf	++	++	+++	+++	++	++
Fish mint	-	-	-	-	-	-
Guava	+++	+++	++++	++	++	++
Japanese plum	+	+	+	+	+	+
Magnolia-vine	+++	+++	+++	+++	+++	++
Melia	-	-	-	-	-	-
Thunberg's geranium	++	++	+++	++	++	++
Ampicillin	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Clear zone: +++++, ≥21 mm; +++, 17-20 mm; ++, 13-16 mm; +, 8-12 mm; -, No effect. KCTC, Korean collection for type cultures; DEU, Dong-Eui Univ.

바(*Guava Psidium guajava* L.)와 현초(*Thunberg's geranium Geranium thunbergii*)에서 64-256 $\mu\text{g/mL}$ 의 MIC를 나타내어 강한 항균활성을 나타내었다. 이후 실험에는 이 2종의 추출물의 활성을 측정하였다.

추출물의 Time-kill curve assay

BHI 액체 배지에 같은 농도의 *L. monocytogenes*를 접종하고 구아바와 현초 추출물을 최종농도 1 mg/mL로 접종하여 실제 배양과정에서 항균활성을 나타내는지 확인하였다(Fig. 1). 1 시간 간격으로 측정된 균수의 변화에서 표준균주인 *L. monocytogenes* KCTC 3569와 분리균주 5종 등 총 6종의 대상 균주들은 배양 대수증식기에서 7시간 내에 성장 정체기에 들어가는 성장곡선을 보였다. 정체기는 측정된 24시간까지 지속되었으며, DEU1과 DEU2, 그리고 DEU3 균주는 20시간 이후부터 추출물이 포함된 실험구에서 약간의 사멸현상을 나타내었다. 전체적으로 추출물이 포함된 모든 실험구에서 성장 저해활성을 나타내었다. 상대적으로 현초 추출물 보다 구아바 추출물에서 더 강한 저해활성을 나타내었다. 24시간 째 측정된 수치를 대조구의 성장 정도를 100% 기준으로 환산해 보았을 때, 구아바 추출물은 DEU3 균주에서 최고 37.3% 저해하였고, DEU1 균주에 대해 최저 18.6% 저해하였다. 또한 현초 추출물은 DEU3 균주에서 최고 21.1% 저해하였고, DEU1 균주에 대해 최저 5.1% 저해하였다. 24시간 동안의 성장저해활성은 균주에 따라 차이를 나타내었으나, 실험한 6종의 모든 *L. monocytogenes*에 대해 구아바와 현초 추출물은 성장저해활성을 가지고 있음을 확인하였다.

구아바는 도금양목 도금양과의 쌍떡잎 식물로 원산지는 아메리카 열대지방 및 남부 아시아이며 아열대지역에 널리 분포하는 식물이며 우리나라에는 제주도에서 자생하고 있다(Yang et al., 2008). 열매와 뿌리, 잎은 예로부터 급성위장염, 설사, 이질, 당뇨, 항염증 등의 치료에 민간처방으로 활용되고 있다(Lozoya

et al., 2002). Terpenoid, flavonoid, tannin 등과 같은 유효성분들을 가지고 있는 구아바는 음료나 차 형태로 소비되고 있을 뿐만 아니라, 활성 성분으로 quercetin, kaempferol, gallic acid, catechin 등 천연 생리활성물질을 이용한 당뇨, 암, 동맥경화, 항산화 등 의약적 기능에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다(Olajide et al., 1999; Jin et al., 2006; Park and Onjo, 2008; Park, 2010). 현초는 쥐손이풀과에 속하는 우리나라 전국에 자생하는 다년생 식물로 이질풀로도 불리며 전초가 약용으로 이용되어 온 식물이다. 현초는 동아시아에서 설사, 변비 등 위장관장애에 처방되어 온 한약재의 일종으로 최근에는 geraniin, pyrogallol, epicatechin, gallic acid, ellagatannin, quercetin, kaempferol, succinic acid 등의 tannin과 flavonoid가 많이 함유되어 있다는 것이 밝혀지고 있으며, 항균활성, 항산화 활성, 항염증 등의 기능성이 많이 보고 되고 있다(Liu, 2006; Lee and Park, 2008; Liu and Woo, 2008; Lee et al., 2009).

본 연구에서는 표준균주와 분리균주 등 6종의 *L. monocytogenes*를 대상으로 구아바와 현초의 추출물로 항균활성을 확인하였다. *Listeria* sp.는 internaline A와 internaline B 등의 단백질을 이용하여 숙주세포의 장 상피세포의 tight junction을 우회하여 세포 속으로 침투 후 성장 번식 하며, 균체외독소 listeriolysin과 같은 용혈독소 등의 독성물질을 생산하여 세포사를 유도하는 것으로 알려져 있다(Lamond and Freitag, 2018). 치명율이 높은 이 세균의 감염증에 대한 억제물질이나 억제기작은 아직까지 구체적으로 알려져 있지 않다. 특히, *L. monocytogenes*가 가장 많이 검출되는 단일 제품인 훈제연어를 비롯한 수산물 및 수산물 가공품에 대한 천연물 유래 소재의 항리스테리아 활성을 보고한 연구는 많지 않다. GRAS 균주인 *Lactobacillus* sp.가 생산하는 bacteriocin을 이용하여 훈제연어 표면에 접종한 *L. monocytogenes*를 감소시키는 것이 가능하였다는 보고(Jang, 2011)와 갈조류 대항의 ethyl acetate 분획물에서 분리되는 phlorotannines의 일종인 fucofuoeckol-A (Kim et al., 2018)

Table 3. MIC values of each extracts against *Listeria monocytogenes* ($\mu\text{g/mL}$)

Common name	<i>Listeria monocytogenes</i>					
	KCTC 3569	DEU1	DEU2	DEU3	DEU4	DEU5
Balloon flower	>20,480	>20,480	>20,480	>20,480	>20,480	>20,480
Chinese plum	2,560	1,280	1,280	2,560	2,560	2,560
Chinese twinleaf	1,280	640	640	1,280	1,280	1,280
Fish mint	>20,480	>20,480	>20,480	>20,480	>20,480	>20,480
Guava	128	128	128	128	64	64
Japanese plum	5,120	5,120	10,240	5,120	5,120	5,120
Magnolia-vine	2,560	2,560	1,280	5,120	2,560	5,120
Melia	>20,480	>20,480	>20,480	>20,480	>20,480	>20,480
Thunberg's geranium	128	256	256	128	64	128
Ampicillin	32	32	16	32	16	32

KCTC, Korean collection for type cultures; DEU, Dong-Eui Univ.

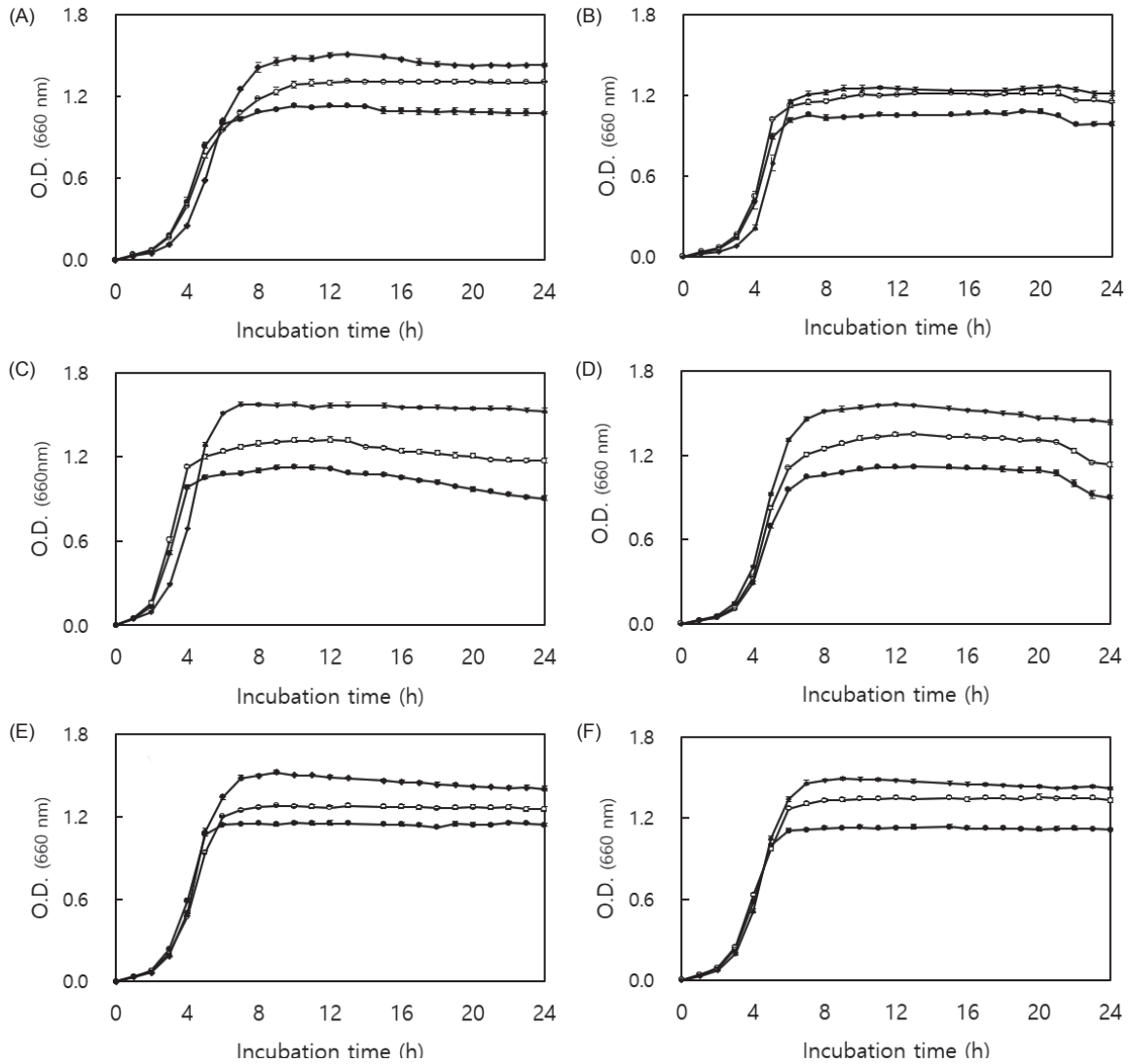


Fig. 1. Growth inhibition of extract against *Listeria monocytogenes* strains (A) KCTC 3569, (B) DEU1, (C) DEU2, (D) DEU3, (E) DEU4, (F) DEU5. ▲, control; ○, Thunberg's geranium; ●, Guava leaves. KCTC, Korean collection for type cultures; DEU, Dong-Eui Univ.

이나 겨자씨 추출물(Lee et al., 2012)의 항리스테리아 활성, 그리고 가식성 항균필름에 nisin 이나 chitosan, lysozyme 등 기능성 바이오소재를 결합시켜 포장에 활용하는 연구(Pavli et al., 2019) 등이 보고되고 있다. *Listeria* sp.의 검출 빈도가 높은 혼제연어는 제조과정에서 잔뼈를 제거하는 등의 수작업이 많고, biofilm의 존재 가능성이 있는 수산물 가공 시설과의 접촉면이 많은 가공 공정상의 특성에서 교차오염의 가능성을 가지고 있다. 또한 저온의 혼제과정과 냉장 및 냉동의 유통과정, 가열처리 없는 섭취 등 생산에서 소비까지 열처리가 거의 없는 식품적 특성 또한 리스테리아 감염의 위험성을 높이는 이유로 지적되고 있다(Leong et al., 2015). 이에 따라 혼제연어 가공 공정에

사용할 수 있는 리스테리아 억제 물질이나 방법의 개발이 필요하다고 판단된다.

본 연구에서 발견한 구아바와 현초의 항리스테리아 활성성분을 분리 정제, 구조동정 등을 통해 확인하고, 혼제연어 등 수산물의 표면에서 항균활성을 나타내는지에 대한 연구가 필요하다고 사료된다. 또한 향후 병원성 세균으로 새로운 문제가 될 수도 있다고 보고되고 있는 *L. ivanovii*와 *L. innocua* 등에 대한 항균활성 연구도 시도되어야 한다고 판단한다.

사 사

이 연구는 2019학년도 동의대학교 교내 연구비(과제번호:

201902230001)에 의하여 수행된 결과로 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- Al-Ani I, Zimmermann S, Reichling J and Wink M. 2015. Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens. *Phytomedicine* 22, 245-255. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.11.019>.
- Allerberger F and Wagner M. 2010. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Clin. Microbiol Infect* 16, 16-23. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03109.x>.
- Bakker HC, Warchocki S, Wright EM, Allred AF, Ahlstrom C, Manuel CS, Stasiewicz MJ, Burrell A, Roof S, Strawn L, Fortes ED, Nightingale KK, Kephart D and Wiedmann M. 2014. *L. floridensis* sp. nov., *L. aquatica* sp. nov., *L. cornellensis* sp. nov., *L. riparia* sp. nov., and *L. grandensis* sp. nov. from agricultural and natural environments. *Int J Syst Evol Microbiol* 64, 1882-1889. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.052720-0>.
- Barreiro Alonso E, Santamaría Del Tío J and Fonseca Aizpuru EM. 2018. Listeriosis during the period 2003-2016. *Rev Esp Enferm Dig* 110, 411-412. <https://doi.org/10.17235/reed.2018.5497/2018>.
- Benabbou R, Subirade M, Desbiens M and Fliss I. 2018. The impact of chitosan-divergicin film on growth of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon. *Front Microbiol* 9, 02824. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02824>.
- Camejo A, Carvalho F, Reis O, Leitao E, Sousa S and Cabanes D. 2011. The arsenal of virulence factors deployed by *Listeria monocytogenes* to promote its cell infection cycle. *Virulence* 5, 379-394. <https://doi.org/10.4161/viru.2.5.17703>.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 2019. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Approved standard-29th ed. CLSI, Wayne, PA, U.S.A., M02-M11.
- Dewey-Mattia D, Manikonda K, Hall AJ, Wise ME and Crowe SJ. 2018. Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States, 2009-2015. *MMWR Surveill Summ* 67, 1-11. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6710a1>.
- Esmail A, Mahdi OS, Hedayat H, Gholamreza I and Allah GE. 2016. Prevalence and molecular characterization of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from fish, shrimp, and cooked ready-to-eat (RTE) aquatic products in Iran. *LWT-Food Sci Technol* 73, 205-211. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.020>.
- Eva D, Ana JB, Antonio AJ, Antonia FM and Isabel E. 2015. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains isolated in ready-to-eat foods in Eastern Spain. *Food Control* 47, 120-125. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.043>.
- Gandhi M and Chikindas ML. 2007. *Listeria*: A foodborne pathogen that know how to survive. *Int J food Microbiol* 113, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.07.008>.
- Jang SH. 2011. Control of *Listeria monocytogenes* on smoked salmon by antimicrobial effect of lactic acid bacteria. *Food Ind Nutri* 16, 1-4.
- Jin YJ, Kang SH, Choi SY, Park SY, Park JG, Moon SW, Park DB and Kim SJ. 2006. Effect of fermented guava leaf extract on hyperglycemia in low dose streptozotocin-induced diabetic mice. *Korean J Food Sci Technol* 38, 679-683.
- Jung B, Lim H and Jung S. 2003. Development of differential media and multiplex PCR assays for the rapid detection of *Listeria monocytogenes*. *Korean J Vet Res* 43, 231-237.
- Kim HJ, Dasagrandhi C, Kim SH, Kim BG, Eom SH and Kim YM. 2018. In vitro antibacterial activity of phlorotannins from edible brown algae, *Eisenia bicyclis* against streptomycin-resistant *Listeria monocytogenes*. *Indian J Microbiol* 58, 105-108. <https://doi.org/10.1007/s12088-017-0693-x>.
- Kim MR, Woo HC and Son WG. 2008. Survival of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in retail mandarin orange, *Prunus mume* (Maesil) and Kiwi extracts. *J Fd Hyg Saf* 23, 62-67.
- Lamond NM and Freitag NE. 2018. Vertical transmission of *Listeria monocytogenes*: probing the balance between protection from pathogens and fetal tolerance. *Pathogens* 7, E52. <https://doi.org/10.3390/pathogens7020052>.
- Lee EW, Huda MN, Kuroda T, Mizushima T and Tsuchiya T. 2003. EfrAB, an ABC multidrug efflux pump in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 47, 3733-3738. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.12.3733-3738.2003>.
- Lee KH and Park SN. 2008. Antioxidative activities and antiaging effects of *Geranium nepalense* extracts. *J Soc Cosmet Sci Korea* 34, 25-35.
- Lee HB, Noh BS and Min SC. 2012. *Listeria monocytogenes* inhibition by defatted mustard meal-based edible films. *Int J Food Microbiol* 153, 99-105. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.022>.
- Lee SH, Kang KM, Park HJ and Baek, LM. 2009. Physiological characteristics of medicinal plant extracts for use as functional materials in seasoning sauce for pork meat. *Korean J Food Sci Technol* 41, 57-63.
- Lee SH and Lim YS. 1997. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract against *Listeria monocytogenes*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25, 442-447.
- Leong D, Alvarez-Ordóñez A, Zaouali S and Jordan K. 2015. Examination of *Listeria monocytogenes* in seafood processing facilities and smoked salmon in the republic of Ireland. *J Food Prot* 78, 2184-2190. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-233>.
- Liu QH. 2006. Phytochemical constituents and biological activities of *Geranium thunbergii*. M.S. Thesis, Chosun University, Gwangju, Korea.

- Liu QH and Woo ER. 2008. Inhibitory activity of IL-6 production by flavonoids and phenolic compounds from *Geranium thunbergii*. *Nat Prod Sci* 14, 16-20.
- Lozoya X, Reyes-Morales H, Chavez-Soto MA, Martinez-Garcia M, Soto-Gonzalez Y and Doubova V. 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. *J Ethnopharmacol* 83, 19-24. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00185-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00185-X).
- Olajide OA, Awe SO and Makinde JM. 1999. Pharmacological studies on the leaf of *Psidium guajava*. *Fitoterapia* 70, 25-31. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(98\)00010-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(98)00010-0).
- Osman KM, Samir A, Orabi A and Zolnikov TR. 2014. Confirmed low prevalence of *Listeria mastitis* in she-camel milk delivers a safe, alternative milk for human consumption. *Acta Trop* 130, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.10.001>.
- Park B and Onjo M. 2008. Antioxidant activities and tyrosinase inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf. *Korean J Plant Res* 21, 408-412.
- Park EY. 2010. Chemical components and functional properties of Korean Guava (*Psidium guajava*) and change in the characteristics of Guava leaf by heat treatments. M.S. Thesis, Gyeongsang National University, Jinju, Korea.
- Pavli F, Argyri AA, Skandamis P, Nychas GJ, Tassou C and Chorianopoulos N. 2019. Antimicrobial activity of oregano essential oil incorporated in sodium alginate edible films: control of *Listeria monocytogenes* and spoilage in ham slices treated with high pressure processing. *Materials* 12, 3726-3752. <https://doi.org/10.3390/ma12223726>.
- Skowron K, Hulisz K, Gryń G, Olszewska H, Wiktorczyk N and Paluszak Z. 2018. Comparison of selected disinfectants efficiency against *Listeria monocytogenes* biofilm formed on various surfaces. *Int Microbiol* 21, 23-33. <https://doi.org/10.1007/s10123-018-0002-5>.
- Yang HJ, Kim EH and Park SN. 2008. Antioxidative activity and component analysis of *Psidium guajava* leaf extracts. *J Soc Cosmet Sci Korea* 34, 233-244.