



# 육회와 육사시미에 접종된 *Salmonella* Typhimurium과 *Listeria monocytogenes* 검출을 위한 Loop-mediated isothermal amplification와 식품공전의 배지 시험법, real-time PCR의 검출 성능 비교

곽승해 · 이소영 · 김진희 · 오세욱\*

국민대학교 식품영양학과

## Comparison of Loop-mediated Isothermal Amplification and Korea Standard Food Codex (KFSC) Method for Detection of *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* Artificially Inoculated in *Yuk-hwe* and *Yuk-sashimi*

Seung-Hae Gwak, So-Young Lee, Jin-Hee Kim, Se-Wook Oh\*

Department of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul, Korea

(Received March 28, 2019/Revised May 13, 2019/Accepted June 10, 2019)

**ABSTRACT** - The object of this study is to compare the performance of the 3M Molecular Detection Assay 2 (3M MDA 2) and the Korea Standard Food Codex (KSFC) Method (i.e., isolation media and real-time PCR) in detecting *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* in traditional Korean foods. *Yuk-hwe* and *Yuk-sashimi* (types of raw beef dishes) were artificially inoculated with  $10^0$ – $10^4$  CFU/25 g of *L. monocytogenes* and *S. Typhimurium*. *Citrobacter freundii* and *Listeria innocua* were used as competitive microflora. After enrichment, the samples were analyzed using 3M MDA 2 and real-time PCR. All samples inoculated at concentrations of  $10^0$ – $10^4$  CFU/25 g without competitive microflora were positive for *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes*, as detected by 3M MDA 2 and Korea Standard Food Codex (KFSC) Method. In addition, part of the samples were positive for the presence of *C. freundii* and *L. innocua*. The 3M MDA 2 – *Salmonella* and Korea Standard Food Codex (KFSC) Method showed similar detection performances in *Yuk-hwe* and *Yuk-sashimi*. The 3M MDA 2 method for *Salmonella* and *Listeria*, which is a LAMP-based technology, can be used for rapid detection of *S. Typhimurium* and *L. monocytogenes* in raw beef. LAMP bioluminescence assays provide results on the subsequent day and are simple to use compared with the Korea Standard Food Codex (KFSC) Method, particularly in terms of DNA preparation.

**Key words** : 3M Molecular Detection Assay 2, Korea Standard Food Codex, Rapid detection, Validation, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*

*Salmonella* spp.는 그람 음성, 통성혐기성 균이며 세균성 식중독의 원인인 대표적인 병원균으로 주로 사람이나 동물의 장에서 서식하여 분변을 통해 식품에 오염된다. Salmonellosis는 *Salmonella*에 의해 전세계적으로 가장 빈번하게 발생하는 질환이며 *Salmonella*를 가진 사람이나 동물,

우유, 달걀 등에 의해 다른 식품으로 오염될 수 있다<sup>1)</sup>. 대표적으로 *S. Typhimurium*과 *S. Enteritidis*가 가장 심각한 식중독을 발생시키며 감염, 발병 대상에 대한 특이성이 없어 사람과 동물 모두에게 치명적인 것으로 알려져 있다<sup>2)</sup>.

*Listeria monocytogenes*는 그람 양성, 통성혐기성 균이며 *Salmonella*와 마찬가지로 세균성 식중독을 일으키는 대표적인 원인균으로 listeriosis를 일으키는 병원성 미생물이다. *L. monocytogenes*는 조리되지 않은 육류나 육류가공식품, 즉석 식품에 많이 오염되며 저온에서도 성장할 수 있는 것으로 알려져 있다<sup>3)</sup>.

\*Correspondence to: Se-Wook Oh, Department of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul, 02707, Korea  
Tel.: +82 2 910 5778; Fax: +82 2 910 5249.  
E-mail address: swoh@kookmin.ac.kr

육회는 소고기를 채썰어서 익히지 않고 양념에 무쳐 먹는 음식이고 육사시미는 소고기를 얇게 저며 익혀 먹지 않는 음식이다. 육회와 육사시미는 가열처리를 하지 않고 바로 섭취하는 음식이기 때문에 *S. Typhimurium*과 *L. monocytogenes*에 의한 식중독의 위험성이 크다.

현재 우리나라 식품공전에는 *Salmonella*와 *Listeria* 검출 방법으로 배지를 이용한 방법이 있다<sup>4)</sup>. *Salmonella*와 *Listeria* 검출 방법에는 증균배양, 분리배양, 확인시험으로 진행되기 때문에 확정까지 약 일주일의 시간이 소요된다<sup>5)</sup>. 배지를 이용한 방법은 많은 시간이 걸리기 때문에 식중독균을 신속하게 검출할 수 없으며 많은 노동력을 필요로 하여 효율성이 떨어진다고 알려져 있다<sup>6)</sup>. 따라서 예방차원의 효율적인 식품안전 관리를 위해서는 식중독균을 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 기술이 필요하다.

신속검출법에는 주형 DNA를 이용한 polymerase chain reaction (PCR)이 널리 이용되고 있으며, 우리나라 식품공전에도 real-time PCR을 통한 분자생물학적 시험방법이 등재되어 있다<sup>7)</sup>. Real-time PCR법은 기존 conventional PCR과는 달리 전기영동 과정이 필요하지 않아 DNA 증폭 결과를 실시간으로 컴퓨터에서 확인이 가능하다<sup>8)</sup>. 또한 최근에는 looped-mediated isothermal amplification (LAMP)를 이용한 검출방법이 활발히 개발되고 있는데, LAMP는 등온에서 DNA 증폭이 가능하므로 PCR 방법보다 소요되는 시간이 짧고 PCR 방법에 비해 배지, 생물로부터 유래된 물질, 식품 성분 등과 같은 저해물질에 대한 영향을 받지 않는다고 보고되어 있다<sup>9)</sup>.

본 연구에서는 육회와 육사시미에서 *S. Typhimurium*과 *L. monocytogenes*의 검출에 대하여 식품공전에 등재된 분리배지와 real-time PCR 그리고 LAMP를 이용하여 검출 성능을 비교하고자 하였다.

## Materials and Methods

### 사용 균주 및 활성화

*S. Typhimurium* (ATCC 19585), *L. monocytogenes* (ATCC 7644), *Citrobacter freundii* (KCTC 2359), *L. innocua* (KCTC 3586)는 한국미생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC, Jeollabukdo, Korea)에서 분양 받아 -80°C에서 glycerol stock (v/v)에 보관하여 사용하였다. 모든 균주는 tryptic soy broth (Difco, Franklin Lakes, NJ, USA) 10 mL에 0.1 mL 접종하여 37°C에서 9시간 동안 1차 배양하고 18시간 동안 2차 배양하여 균주를 활성화시킨 후 실험에 사용하였다.

### 시료 준비 및 미생물 접종

2019년 1월 2회에 걸쳐 육회는 서울시 종로구에 위치한 음식점에서 구매하였고 소고기를 채썰어 양념에 무쳐진

상태에서 실험에 사용하였으며 육사시미는 원료 부위를 성북구 대형마트에서 사서 직접 얇게 저민 후에 사용하였다. 시료에 균을 접종하기 위하여 25 g씩 멸균 비닐백 (Whirl-pak, 1930 cm; Nasco, Fort Atkinson, WI, USA)에 넣고 10<sup>0</sup>-10<sup>4</sup> CFU/mL 수준으로 배양한 *S. Typhimurium*과 *L. monocytogenes* 균 배양액을 각각 1 mL씩 접종하였다. *S. Typhimurium*을 접종한 시료에는 225 mL의 buffered peptone water (BPW; Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)를 넣고 *L. monocytogenes*를 접종한 시료에는 각각 225 mL의 *Listeria* enrichment broth (LEB; Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)와 3M Demi-Fraser broth (3M DFB; 3M Food Safety, St. Paul, MN)를 넣어 30초간 stomaching을 하였다. 결과적으로 *S. Typhimurium*과 *L. monocytogenes*가 각각 10<sup>0</sup>-10<sup>4</sup> CFU/25 g 수준이 되도록 접종하였다. 그리고 LAMP (3M MDS 2)방법과 식품공전상의 분리배지와 real-time PCR을 이용하여 분석하였다.

### 식품공전 배지 시험법을 이용한 검출

*S. Typhimurium*과 *L. monocytogenes*를 검출하기 위하여 각각 225 mL의 BPW와 LEB를 넣고 37°C에서 24시간동안 증균배양 시킨 후, 각각의 선택배지인 xylose-lysine-deoxycholate agar (XLD; Oxoid, Hampshire, UK)와 *Listeria* selective agar base (Oxford formulation, Oxoid, Hampshire, UK)에 도말하여 확인하였다. 도말 후 37°C에서 24시간 배양하고 XLD, Oxford 배지에서 검은색 집락을 분리하여 생화학적 확인시험을 통해 양성유무를 확인하였다.

### 식품공전 분자생물학적 시험법을 이용한 검출

*S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*가 접종된 시료들은 각각 225 mL의 BPW와 LEB를 넣어 37°C에서 24시간동안 증균배양을 진행하였다. Stomaching한 후에 균질액 1 mL을 PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA)를 이용하여 DNA를 추출하였고, 최종 elution volume을 100 µL로 하였다. 추출한 DNA는 PCR primer와 반응 온도에 따라 real-time PCR 분석을 진행하였다. Real-time PCR을 위한 반응물의 조성은 SensiFAST Probe Hi-ROX mix (Bioline, London, UK) 13 µL, 400 nM 정방향 및 역방향 primer, 100 nM probe와 DNA 주형 2 µL로 구성하여 총 20 µL가 되도록 하였다. Real-time PCR은 StepOne Plus real-time PCR systems (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)을 이용하여 수행하였다.

### Loop-mediated isothermal amplification을 이용한 검출

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 검출 방법으로 3M Molecular Detection Assay 2 (3M MDA 2; 3M Food Safety, St. Paul, MN, USA)를 사용하였다. *S.*

Typhimurium과 *L. monocytogenes*을 접종한 시료에 각각 225 mL의 BPW와 3M DFB를 넣고 37°C에서 24시간동안 증균배양하였다. 제조사의 지침에 따라 접종된 식품 균질액 20 µL를 3M Molecular Detection Assay kits (3M Food Safety, St. Paul, MN, USA)의 lysis tube에 넣고 100°C에서 15분 동안 열처리 하였다. 열처리 이후, lysis tube를 냉각용 블록에서 5분간 냉각시켰다. Lysis tube의 상층액 20 µL를 취하여 각각의 *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*를 타겟으로 하는 reagent tube에 분주하고 pipetting으로 혼합하였다. 또 식품 균질액을 넣지 않은 lysis 용액 20 µL를 reagent control과 negative control tube에 분주해 양성, 음성 대조구로 설정하였다. 모든 샘플은 3M Molecular Detection Speed Loader Tray (3M Food Safety)에 넣고 3M Molecular Detection instrument (3M Food Safety)에 넣어 75분간 반응하였다. 증폭과 검출 결과는 실시간으로 컴퓨터를 통해 확인하였다.

**경쟁적 생장균주 유무에 따른 3M MDA 2 검출**

각각 시료 25 g에 *S. Typhimurium*을 10<sup>0</sup> CFU/25 g수준으로 접종하고 *S. Typhimurium*와 유사한 O 항원을 가진 *C. freundii*를 10<sup>2</sup> CFU/25 g수준으로 접종하였다. 같은 방법으로 시료 25 g에 *L. monocytogenes*을 10<sup>0</sup> CFU/25 g수준으로 접종하고 *L. innocua*를 10<sup>2</sup> CFU/25 g수준으로 접종하였다. 또한 시료 25 g에 *S. Typhimurium*과 *L. monocytogenes*만을 10<sup>0</sup> CFU/25 g으로 접종한 처리구를 대조구로 설정하였으며 분리배지, real-time PCR 및 3M MDA 2를 이용하여 검출하였다. 각각의 처리구들을 10번씩 반복하여 실험하였으며 양성으로 검출된 결과만을 표로 나타내었다.

**Results and Discussion**

**식품공전시험법과 LAMP를 이용한 검출 성능 비교**

*S. Typhimurium*을 육회와 육사시미에 농도별로 접종한 후 3M MDA 2 - *Salmonella*를 이용하여 검출하였으며 성능비교를 위하여 우리나라 식품공전방법 중 분리배지와 real-time PCR로 동시에 분석하였다(Table 1). 그 결과 육회에서는 10<sup>0</sup>-10<sup>4</sup> CFU/25 g를 접종한 모든 시료에서 *S. Typhimurium*가 양성으로 검출되었다. 육사시미에서 10<sup>1</sup> CFU/25 g 이상의 농도로 접종한 시료에서는 모두 *S. Typhimurium*가 양성으로 검출되었지만 10<sup>0</sup> CFU/25 g으로 접종한 시료에서는 부분적으로 음성인 시료가 있었다. Real-time PCR로 실험한 경우 3개의 시료 중 2개에서 검출되었는데, 3M MDA 2를 사용하였을 때도 동일한 결과로 나타났다. 따라서 3가지 검출 방법에 따라 검출 성능 차이는 없는 것으로 판단되었다.

*L. monocytogenes*을 육회와 육사시미에 10<sup>0</sup>-10<sup>4</sup> CFU/25 g의 농도별로 접종하여 3M MDA 2 - *Listeria*와 식품공전의 분리배지와 real-time PCR로 검출 실험을 실시하였다 (Table 2). 그 결과 육회와 육사시미 모두 10<sup>1</sup> CFU/25 g 이상의 농도로 접종했을 때, 모두 *L. monocytogenes*가 양성으로 검출되었지만 10<sup>0</sup> CFU/25 g으로 접종한 시료에서는 부분적으로 음성 결과가 나타났다. 분리배지나 real-time PCR로 분석하였을 때, 육회에서는 3개의 시료 중 1개에서 검출되었고 육사시미에서는 real-time PCR을 이용한 결과에서만 3개 중 1개에서 검출되었다. 육회에서는 분리배지에서 3M MDA 2 결과보다 3개 중 1개로 검출되었지만 육사시미에서는 3개 시료 모두 분리배지에서 검출되었다. 육회에서 10<sup>0</sup> CFU/25 g으로 접종한 경우 *L. monocytogenes*

**Table 1.** Comparison of the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* and Korea Standard Food Codex (KFSC) Method for the detection of *Salmonella* Typhimurium in *Yuk-hwe* and *Yuk-Sashimi*

Foods	Inoculation level	Detected by		
		3M MDA <sup>1)</sup>	KFSC <sup>2)</sup> (Isolation agar)	KFSC (Real-time PCR)
<i>Yuk-hwe</i>	10 <sup>0</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>1</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>2</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>3</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>4</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
<i>Yuk-sashimi</i>	10 <sup>0</sup> CFU/25 g	2/3	2/3	2/3
	10 <sup>1</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>2</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>3</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>4</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3

<sup>1)</sup>3M MDA, 3M Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella*

<sup>2)</sup>KFSC, Korea Standard Food Codex

**Table 2.** Comparison of the 3M Molecular Detection Assay 2 – *Listeria* and Korea Standard Food Codex (KFSC) Method for the detection of *Listeria monocytogenes* in *Yuk-hwe* and *Yuk-Sashimi*.

Foods	Inoculation level	Detected by		
		3M MDA <sup>1)</sup>	KFSC <sup>2)</sup> (Isolation agar)	KFSC (Real-time PCR)
<i>Yuk-hwe</i>	10 <sup>0</sup> CFU/25 g	2/3	1/3	1/3
	10 <sup>1</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	2/3
	10 <sup>2</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>3</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>4</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
<i>Yuk-sashimi</i>	10 <sup>0</sup> CFU/25 g	2/3	3/3	1/3
	10 <sup>1</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	2/3
	10 <sup>2</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>3</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3
	10 <sup>4</sup> CFU/25 g	3/3	3/3	3/3

<sup>1)</sup>3M MDA, 3M Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella*

<sup>2)</sup>KFSC, Korea Standard Food Codex

가 매우 낮은 수준으로 존재했기 때문에 검출 결과에 차이가 난 것으로 판단되었다. 10<sup>0</sup> CFU/25 g으로 접종했을 때, 육회와 육사시미 모두 real-time PCR 보다 LAMP에서 더 민감한 수준으로 검출되었는데, 이는 LAMP가 PCR에 비해 배지, 식품 성분 등에 대하여 DNA 증폭 저해 영향을 덜 받았기 때문으로 생각되었다<sup>9)</sup>. 3M MDA 2와 식품공전 방법의 검출 한계는 10<sup>0</sup> CFU/25 g으로 확인하였다. 반복처리구의 수가 적어 통계적 분석은 하지 않았지만, 이는 real-time PCR보다 3M MDA 2가 더 민감한 수준으로 검출하였다고 할 수 있었다. Cho AR 등<sup>10)</sup>의 연구에서도 12시간 증균액에 대하여 LAMP와 PCR의 검출한계를 비교했을 때, LAMP는 3.2×10<sup>0</sup> CFU/mL이었으나 PCR에서 검출한계가 10배 떨어졌는데, 이는 LAMP에서 지방, 단백질 등에 대한 반응 저해가 일어나지 않아 PCR에 비해 더 민감하게 검출되었기 때문이라고 하였다.

#### 경쟁적 성장균주 유무에 따른 3M MDA 2 검출 성능 비교

분리배지와 real-time PCR, LAMP의 검출 한계는 10<sup>0</sup> CFU/25 g으로 확인하였으므로 *S. Typhimurium*와 *L. monocytogenes*와 경쟁적으로 성장하는 균이 있는 상태에서 검출효율을 비교하였다(Table 3). *S. Typhimurium*와 *C. freundii*는 유전적으로 유사한 O antigen을 가지고 있으며 그중에서도 *S. enterica* O59와 *C. freundii* O35가 유전적으로 동일하고 *S. enterica* O30와 *C. freundii*의 F90의 구조도 유사하다고 알려져 있다<sup>11)</sup>. *S. Typhimurium*는 O antigen의 유전자의 서열을 통해 primer를 설계하여 검출하는데, 3M MDA 2에서는 6개의 primer를 이용하여 target region 8곳에 인식 반응한다<sup>12)</sup>. *S. Typhimurium*를 증균배

양할 때 쓰이는 BPW는 비선택적인 배지로 *S. Typhimurium*보다 높은 수준으로 *C. freundii*가 존재할 때 두 가지 균은 유전적으로 유사한 O antigen을 가지므로 6개의 primer가 target region에 붙는 인식 반응이 정확히 이루어지지 않아 3M MDA 2 검출 결과에 영향을 미칠 수 있다. 따라서 *S. Typhimurium*을 10<sup>0</sup> CFU/25 g수준으로 접종하고 *C. freundii*를 10<sup>2</sup> CFU/25 g수준으로 접종한 후 분리배지, real-time PCR과 3M MDA 2으로 검출하였다. *S. Typhimurium*만을 접종한 처리구를 대조구로 설정하였는데 육회, 육사시미 모두 세 가지 방법에서 큰 차이가 없었다. 반면 *S. Typhimurium*과 *C. freundii*를 같이 접종했을 때 *S. Typhimurium*만 단독으로 접종한 처리구 보다 검출이 잘 되지 않았다. 육사시미에서도 큰 차이는 없었으나 분리배지에서 가장 검출이 잘 되었으며 PCR보다는 LAMP에서 더 민감한 수준으로 검출하였다.

*L. monocytogenes*는 *L. innocua*와 같은 비병원성 *Listeria* spp.과 경쟁적으로 성장하는 특징이 있다. 비병원성인 *Listeria* spp.의 세대간 시간이 병원성 *Listeria* spp.보다 짧기 때문에 두 가지가 같이 존재할 경우 병원성 *L. monocytogenes*가 검출되지 않을 수도 있다<sup>13)</sup>. *L. innocua*가 *L. monocytogenes*보다 높은 수준으로 존재할 때 마찬가지로 6개의 primer가 target region에 붙는 인식 반응이 정확히 이루어지지 않아 3M MDA 2 검출 결과에 영향을 미칠 수 있다. 따라서 시료에 *L. monocytogenes*을 10<sup>0</sup> CFU/25 g수준으로 접종하고 *L. innocua*를 10<sup>2</sup> CFU/25 g수준으로 접종하여 분리배지, real-time PCR과 3M MDA 2를 이용한 검출실험을 실시하였다. 그 결과 분리배지에서 가장 검출이 잘 되었으며 *L. monocytogenes*와 *L. innocua*를 같이

**Table 3.** Comparison of the 3M Molecular Detection Assay- *Salmonella* and *Listeria* and Korea Standard Method for the detection of *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* in *Yuk-hwe* and *Yuk-Sashimi* when non-target bacteria is present

Foods	Treatment	Detected by		
		3M MDA <sup>1)</sup>	KFSC <sup>2)</sup> (Isolation agar)	KFSC (Real-time PCR)
<i>Yuk-hwe</i>	<i>S. Typhimurium</i>	8/10	9/10	8/10
	<i>S. Typhimurium</i> + <i>C. freundii</i>	5/10	5/10	5/10
	<i>L. monocytogenes</i>	7/10	9/10	6/10
	<i>L. monocytogenes</i> + <i>L. innocua</i>	6/10	8/10	2/10
<i>Yuk-Sashimi</i>	<i>S. Typhimurium</i>	10/10	10/10	10/10
	<i>S. Typhimurium</i> + <i>C. freundii</i>	7/10	8/10	6/10
	<i>L. monocytogenes</i>	7/10	10/10	6/10
	<i>L. monocytogenes</i> + <i>L. innocua</i>	7/10	9/10	4/10

<sup>1)</sup>3M MDA, 3M Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella*.

<sup>2)</sup>KFSC, Korea Standard Food Codex.

접종했을 때 검출에 영향을 미치기는 했지만 육회와 육사시미 모두 3M MDA 2에서는 큰 차이가 나타나지 않았다. 그러나 real-time PCR에서는 대조구보다 검출이 잘 되지 않았는데, 이는 *L. monocytogenes*가 *L. innocua*에 의해 생장이 저해되었기 때문으로 생각되었다. 따라서 LAMP가 PCR에 비해 DNA 증폭 저해 영향을 덜 받았던 것으로 생각되었다.

결과적으로 real-time PCR 보다 3M MDA 2가 더 검출효율이 높았음을 알 수 있었으며, 또한 분리배지가 가장 검출이 잘 되지만 3M MDA 2와도 큰 차이가 없음을 확인하였다. 분리배지를 이용하는 방법은 최소 일주일의 시간이 소요되어 신속검출 목적으로 사용할 수 없는 단점이 있다. 그러나 이에 비해 3M MDA 2는 enrichment 과정과 간단한 lysis protocol을 통해 25분 이내로 샘플의 양성 반응을 확인할 수 있기 때문에 신속검출 목적에 적합하다. 또한 3M MDA 2는 ISO, AOAC OMA와 같은 국제적인 공인시험법으로 인증된 방법으로서 신뢰할 수 있는 결과를 보여주므로 식중독세균의 신속 검출에 의한 선제적인 식품안전 관리 수단으로 활용될 수 있음을 알 수 있었다.

## 국문요약

본 연구에서는 한국 전통 식품에서 *Salmonella* Typhimurium과 *Listeria monocytogenes*의 검출에 대하여 LAMP에 기반한 3M Molecular Detection Assay 2 (3M MDA 2)와 식품공전에 등재된 분리배지, real-time PCR의 검출 성능을 비교하고자 하였다. 육회와 육사시미에  $10^0$ – $10^4$  CFU/25 g의 수준으로 *S. Typhimurium*과 *L. monocytogenes*을 각각 접종하였다. *Citrobacter freundii*와 *Listeria innocua*는 *S. Typhimurium*과 *L. monocytogene*의 검출에 영향을 주는 균

으로 사용하였다. *S. Typhimurium*과 *L. monocytogenes*만  $10^0$ – $10^4$  CFU/25 g수준으로 접종한 모든 시료에서는 분리배지, real-time PCR과 LAMP에서 양성으로 검출되었다. *C. freundii*와 *L. innocua*를 같이 접종한 경우에서 부분적으로 양성 나타났다. 육회와 육사시미에 대하여 real-time PCR보다 3M MDA 2가 더 검출효율이 높음을 알 수 있었다. 분리배지가 가장 검출효율이 높았지만 3M MDA 2와 큰 차이가 없었다. 배지를 사용하는 방법은 최소 일주일의 시간이 소요되고 PCR의 경우 inhibitor의 영향을 많이 받아 정확한 검출이 어려운 점이 있다. 그러나 LAMP에 기반한 3M MDA 2는 enrichment 후 다음 날 간단한 protocol을 통해 25분 이내로 샘플의 양성 반응을 확인할 수 있어 식중독균에 대해 신속하고 정확한 검출이 가능한 것으로 판단되었다.

## References

- Oliveira, S. D., Rodenbusch, C. R., Cé, M. C., Rocha, S. L. S., Canal, C. W.: Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. *Lett. Appl. Microbiol.*, **36**(4), 217-221 (2003).
- Cover, T. L., Aber, R. C.: Medical progress: *Yersinia enterocolitica*. *N. Engl. J. Med.*, **321**(1), 16-24 (1989).
- Donnelly, C. W.: Detection and isolation of *Listeria monocytogenes* from food samples: implications of sublethal injury. *J. AOAC Int.*, **85**(2), 495-500 (2002).
- Ministry of Food and Drug Safety.: Food Code; Available from: [http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01\\_03.jsp?idx=378](http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=378). Accessed Mar. 20, (2019).
- Bohaychuk, V. M., Gensler, G. E., McFall, M. E., King, R. K., Renter, D. G.: A real-time PCR assay for the detection of *Salmonella* in a wide variety of food and food-animal matrices. *J. Food Prot.*, **70**(5), 1080-1087 (2007).

6. Peplow, M. O., Correa-Prisant, M., Stebbins, M. E., Jones, F., Davies, P.: Sensitivity, Specificity, and Predictive Values of Three *Salmonella* Rapid Detection Kits Using Fresh and Frozen Poultry Environmental Samples versus Those of Standard Plating. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65(3)**, 1055-1060 (1999).
7. Ministry of Food and Drug Safety.: Food Code; Available from: [http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01\\_03.jsp?idix=11046](http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idix=11046). Accessed Mar. 20, (2019).
8. Hein, I., Flekna, G., Krassnig, M., Wagner, M.: Real-time PCR for the detection of *Salmonella* spp. in food: an alternative approach to a conventional PCR system suggested by the FOOD-PCR project. *J. Microbiol. Methods.*, **66(3)**, 538-547 (2006).
9. Kaneko, H., Kawana, T., Fukushima, E., Suzutani, T.: Tolerance of loop-mediated isothermal amplification to a culture medium and biological substances. *J. Biochem. Biophys. Methods.*, **70(3)**, 499-501 (2007).
10. Cho, A.R., Dong, H.J., Cho, S.B.: Rapid and Sensitive Detection of *Salmonella* spp. by Using a Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay in Duck Carcass Sample. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.*, **33**, 655-663 (2013).
11. Kocharova, N.A., Knirel, Y.A., Stanislavsky, E. S., Kholodkova, E. V., Lugowski, C., Jachymek, W., Romanowska, E.: Structural and serological studies of lipopolysaccharides of *Citrobacter* O35 and O38 antigenically related to *Salmonella*. *FEMS Immunol. Medical. Microbiol.*, **13(1)**, 1-8 (1996).
12. Bang H.J.: 3M Molecular Detection System: Next Day Result Solution for Pathogen Detection. *Safe Food*, Vol 13. The Korean Society of Food Hygiene and Safety, Korea, pp. 77-81 (2018).
13. Besse, N.G., Audinet, N., Kerouanton, A., Colin, P., Kalmokoff, M.: Evolution of *Listeria* populations in food samples undergoing enrichment culturing. *Int. J. Food microbiol.*, **104(2)**, 123-134 (2005).