pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 34, No. 3, pp. 290~295 (2019)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2019.34.3.290

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

Mousse cake와 Tiramisu에 인위접종된 *Salmonella* Typhimurium의 식품공전 분리배지, Real-time PCR과 Loop-mediated isothermal amplification-bioluminescence의 검출 특성 비교

이소영 · 곽승해 · 김진희 · 오세욱*
국민대학교 식품영양학과

Comparison of Isolation Agar Method, Real-Time PCR and Loop-Mediated Isothermal Amplification-Bioluminescence for the Detection of *Salmonella* Typhimurium in Mousse Cake and Tiramisu

So-Young Lee, Seung-Hae Gwak, Jin-Hee Kim, Se-Wook Oh*
Department of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul, Korea
(Received April 1, 2019/Revised April 8, 2019/Accepted May 14, 2019)

ABSTRACT - *Salmonella* spp. are frequently associated with food and are among the most important foodborne pathogens. The recent *Salmonella* out breaks in Korea was associated with chocolate mousse cakes served with school meals during September 2018. The objective of this research was to compare the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* and the Korean Standard Method of *Salmonella* in artificially inoculated mousse (chocolate and cheese) and tiramisu cakes. Mousse (chocolate and cheese) and tiramisu cakes were artificially inoculated with *S.* Typhimurium. Twenty five gram of sample was enriched with 225 mL buffered peptone water for incubation at 37°C for 24 h. After enrichment, the cultures were analyzed by using the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* and the Korean Standard Method. Most of the inoculated samples showed similar results except the chocolate mousse cakes, in which real-time PCR was unable to detect *S.* Typhimurium even after 10^4 CFU/25 g of inoculation. However, *S.* Typhimurium inoculated at a concentration of 10^0 CFU/25 g was detected by using 3M Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella*. In chocolate mousse, detection of *S.* Typhimurium using real-time PCR was partially successful when dark chocolate was added at less than 15%. Negative results in real-time PCR and 3M Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* were confirmed by gel electrophoresis. The data indicated that dark chocolate could inhibit amplification of the target gene in the PCR reactions. In conclusion, the 3M Molecular Detection Assay 2 - *Salmonella* was better than the Korean Standard Method (real-time PCR) for the detection of *S.* Typhimurium in chocolate mousse cakes and chocolate mousse.

Key words : 3M molecular detection system, Real-time PCR, Validation, *Salmonella*, Rapid detection

*Salmonella*는 식품과 관련된 중요한 식중독 병원균 중 하나이며, Salmonellosis은 세계적으로 가장 중요한 식인성 질환 중 하나로 인정받고 있다[1]. *Salmonella*는 약 2500여종의 혈청 형으로 분리되는데 그 중 *Salmonella enterica* 혈청형 Typhimurium과 Enteritidis가 계란의 Salmonellosis을 일으키는 주요 오염원으로 밝혀져 있다[2]. *Salmonella*는 계란 껍질에 부착되어 오염 되거나, 산란 시 또는 산란 후에 침투하여 오염이 일어나거나, 산란 전 난각막, 난백, 난황에 직접적으로 오염된다[3]. 달걀은 프렌치실크파이(french silk pie), 머랭(meringue), 무스(mousse), 티라미수(tiramisu)등 특정 질감이나 풍미를 위해서 날달걀을 사용하는 경우가 있다[4].

한국에서는 2018년 9월 학교 급식에서 제공된 초콜릿 무스 케이크(chocolate mousse cake)로 인하여 약 2000명의 식중독 환자가 발생하였다. 이 집단 급식소 대규모 식중독 발생원인으로 초콜릿 무스 케이크에서 분리한 *Salmonella* Thompson이 최종 병원체로 확정되었으며 환자 가검물, 학교 보존식, 납품예정인 완제품, 원료인 난백

*Correspondence to: Se-Wook Oh, Department of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul, 02727, Korea
Tel.: +82 2 910 5778; Fax: +82 2 910 5249.
E-mail: swoh@kookmin.ac.kr(Se-Wook Oh)

에서도 동일한 *Salmonella* Thompson이 검출되었고 유전자 지문 유형 또한 동일하였다[5].

따라서 식중독 균의 신속한 검출 기술이 개발되어야 학교나 군대 시설과 같은 기관 급식 환경에서 음식 섭취 전이나 음식 준비 중에 식중독 병원균을 신속히 탐지될 수 있으며, 이를 통해, 식중독 사고를 예방할 수 있다. 현재 우리나라의 식품공전(Food Code)에 등재된 *Salmonella* spp. 검출방법은 분리배지와 real-time PCR이 있다. 분리배지는 증균배양을 18~24시간 거치며, 분리배양을 20~24시간 실시하고, 확인 시험으로 생화학적인 시험(20~24시간) 및 혈청 시험 등의 과정이 요구되어 최소 5일의 시간이 소요된다[6,7].

목적 유전자를 검출하는 분자생물학적 방법으로 real-time PCR은 다른 시험 방법에 비해 낮은 검출 한계(detection limit)를 가지므로 효과적이고 신속한 검출이 가능하여 널리 사용되고 있으며[8], 또한 새로운 핵산 증폭 방법인 loop-mediated isothermal amplification (LAMP)이 개발되어 병원균 검출에 사용되고 있다. LAMP는 기존의 PCR과는 다르게 일정한 온도(~65°C)에서 DNA 접합 및 신장이 가능하여 장비 유지보수면에서 비용이 절감된다. 증폭된 DNA 산물은 전기영동, fluorescence, luminescence, electrochemical sensors, colorimetric detection 등 다양한 방법으로 쉽게 검출이 가능하다[9]. 그중에서도 생체발광검출(Bioluminescence)은 DNA 산물인 Pyrophosphate ions (ppi)와 adenosine-5'-O-persulfate (APS)가 효소적으로 반응하여 adenosine triphosphate (ATP)가 되며, 이를 luciferase 효소 처리하여 빛으로 변환시켜주며이를 통해서 실시간 검출이 가능하다[10].

본 연구에서는 계란이 사용된 식품에서 *S.* Typhimurium을 검출하기 위한 방법을 비교하기 위하여 수행되었다. 이를 위해 우리나라의 식품공전 방법인 분리배지와 real-time PCR, 그리고 LAMP와 Bioluminescence를 기반으로 한 3M Molecular Detection System (3M MDS)을 비교 평가하여 *Salmonella* spp.에 대한 신속 검출 가능성을 타진하고자 하였다.

Materials and Methods

사용 균주

Salmonella Typhimurium (ATCC 19585)을 한국미생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 분양받아 사용하였다. Tryptic soy broth (Difco, Franklin Lakes, NJ, USA) 10 mL에 접종하여 37°C에서 9시간 동안 1차 배양한 뒤, 18시간 동안 2차 배양하여 사용하였다.

미생물 접종

무스 케이크(Mousse cake) 2종, 티라미수(Tiramisu) 2종, 치즈 무스(Cheese Mousse), 다크 초콜릿(dark chocolate)은 서울에 위치한 대형마트에서 구입하여 사용하였다. Dark chocolate 함유량에 따라 검출 성능을 평가하기 위하여 cheese mousse와 dark chocolate을 일정한 비율로 배합하여 초콜릿 무스(chocolate mousse)를 조제하여 사용하였다. 배합된 chocolate mousse에서 dark chocolate 함유된 비율에 따라 0, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100% chocolate mousse로 사용하였다. 0% chocolate mousse는 cheese mousse를 의미하며, 100% chocolate mousse는 dark chocolate를 의미한다.

각 무스 케이크 2종, 티라미수 2종은 25 g씩 멸균 비닐백(Whirl-pak, 19×30 cm; Nasco, Fort Atkinson, WI, USA)에 넣어 10^0~10^4 CFU/25 g 수준으로 접종하였으며, 0-100% 수준으로 혼합한 chocolate mousse는 10^2 CFU/25 g수준으로 접종하였다.

각 시료를 접종한 뒤 225 ml의 Buffered Peptone Water (BPW, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)를 첨가하여 stomacher(Laboratory Blender Stomacher 400, Seward, MO, USA)로 1분간 균질화한 뒤, 37°C에서 24±1시간 증균 배양한 후 이 배양액을 분리배지, real-time PCR 및 LAMP-Bioluminescence (3M MDS)으로 실험에 사용하였다.

분리배지를 이용한 검출

분리배지는 식품공전에 등재된 '일반 시험법'의 '미생물 시험법'에 따라 *S.* Typhimurium을 검출하였다. 각 시료의 배양액을 saline을 사용하여 십진 희석하였다. 그 후 *S.* Typhimurium분리배지인 xylose lysine deoxycholate agar (XLD, Oxoid, Hampshire, UK)에 도말하였다. 도말 후 37°C에서 20~24시간 배양하여 검은색 집락을 계수하였다.

Real-time PCR을 이용한 검출

Real-Time PCR을 이용한 검출방법은 식품공전에 등재된 '일반 시험법'의 '미생물 시험법'에 '식중독균에 대한 분자생물학적 시험법'에 따라 *S.* Typhimurium을 검출하였다. 각 시료의 배양액을 1 mL을 취하여 16000×g에서 3분간 원심 분리한 후 pellet에 200 μL PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA)를 넣어 재현탁하고, 100°C에서 10분간 가열한 뒤 16000×g에서 3분간 원심 분리하여 상등액을 DNA 시료로 사용하였다.

추출한 DNA는 *Salmonella*의 *invA*를 표적 유전자로 하는 primer5'-GAA TCC TCA GTT TTT CAA CGT TTC-3' (invA-F), 5'-CGA ATT GCC CGA ACG TGG CGA-3'(invA-R), probe5'-FAM - CTC TTT CGT CTG GCA TTA TCG ATC AGT ACC AG - BHQ1-3'(inV-P)염기서열을 사용하였다.

Real-time PCR 반응조건은 50°C에서 2분간 유지 및 95°C에서 10분간 방치하여 최초 변성이 일어나게 한 후, 95°C에서 15초간 변성시키고. 60°C에서 1분간 유전자 결합 및

신장반응이 일어나는 것을 1회로 하여 총 40회의 증폭반응을 하였다. 이후 증폭곡선이 확인되는 경우 *S.* Typhimurium가 검출된 것으로 판단하였다. Real-time PCR은 StepOne Plus real-time PCR systems (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA)을 사용하여 수행하였다.

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)와 Bioluminescence을 이용한 검출

본 연구에서는 Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)와 Bioluminescence를 기반으로 만들어진 3M Molecular Detection System (3M Food Safety, St. Paul, MN)을 사용하여 *S.* Typhimurium을 검출하였다. 각 시료의 배양액을 20 μL를 3M Molecular Detection Assay 2- *Salmonella* (3M Food Safety, St. Paul, MNm USA)의 lysis tube에 옮기고 100°C에서 15분간 반응하였다. 그 후 lysis tube를 냉각용 블록에서 5분간 냉각시킨 뒤, lysis tube의 상층액 20 μL를 reagent tube에 분주한 뒤 pipetting 하여 혼합하였다. reagent tube와 negative tube를 3M Molecular Detection System (3M MDS)에 넣고 *S.* Typhimurium 검출을 수행하였다. 증폭 결과는 연결된 컴퓨터에서 양성은 +로 음성은 –로 표시되어 실시간으로 확인하였다.

전기영동

Real-time PCR과 3M Molecular Detection System (3M MDS)으로 반응 후 증폭 반응물을 2% agarose 겔에서 전기영동하여 Gel Logic UV lamp (Carestream, Rochester, NY, USA)로 확인하였다. Real-time PCR로 증폭 시 반응물은 100-200 bp 사이에서 amplicon band가 확인되었다. LAMP로 증폭 시 agarose 겔에서 사다리와 같은 패턴의 band가 나타나 비특이적 증폭과 쉽게 구분이 가능하다[11]. LAMP를 기반으로 만들어진 3M MDS 또한 증폭 시 반응물이 특이적인 사다리와 같은 패턴의 band가 나타남을 확인하였다.

Results and Discussion

Mousse cake 2종과 Tiramisu 2종에 *Salmonella* Typhimurium을 10^0~10^4 CFU/25 g 수준으로 접종하였다. 그 후 BPW를 첨가하여 37°C에서 24시간 증균 배양한 후 3M MDS와 식품공전에 등재된 방법인 분리배지와 real-time PCR을 이용하여 검출하였다. 각 시료는 모든 검출실험에서 3번의 반복실험을 진행하였으며 *S.* Typhimurium이 검출된 결과를 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Comparison of 3M Molecular Detection System Assay 2-*Salmonella* (3M MDS) and Korean Standard Method for the detection of *Salmonella* in Mousse Cake and Tiramisu (n = 3)

Samples	Inoculation level (CFU/25 g)	3M MDS	Isolation agar	Real-time PCR
Mousse Cake 1 (Cheese mousse cake)	1.00×10^0	1/3	1/3	2/3
	3.00×10^1	3/3	3/3	3/3
	1.00×10^2	3/3	3/3	3/3
	1.29×10^3	3/3	3/3	3/3
	1.29×10^4	3/3	3/3	3/3
Mousse Cake 2 (Chocolate mousse cake)	1.00×10^0	1/3	1/3	0/3
	3.00×10^1	3/3	3/3	0/3
	1.00×10^2	3/3	3/3	0/3
	1.29×10^3	3/3	3/3	0/3
	1.29×10^4	3/3	3/3	1/3
Tiramisu 1	1.00×10^0	2/3	2/3	2/3
	1.10×10^1	3/3	3/3	3/3
	1.30×10^2	3/3	3/3	3/3
	1.24×10^3	3/3	3/3	3/3
	1.24×10^4	3/3	3/3	3/3
Tiramisu 2	1.00×10^0	2/3	2/3	2/3
	1.10×10^1	3/3	3/3	3/3
	1.30×10^2	3/3	3/3	3/3
	1.24×10^3	3/3	3/3	3/3
	1.24×10^4	3/3	3/3	3/3

Table 2. Comparison of 3M Molecular Detection System Assay 2-*Salmonella* and Korean Standard Method for the detection of *Salmonella* in chocolate mousse with dark chocolate content of 0-100% (n = 3)

Samples	Inoculation level (CFU/25 g)	3M MDS	Isolation agar	Real-time PCR
0% dark chocolate	1.60×10^2	3/3	3/3	3/3
25% dark chocolate	1.60×10^2	3/3	3/3	0/3
50% dark chocolate	1.60×10^2	3/3	3/3	0/3
75% dark chocolate	1.60×10^2	3/3	3/3	0/3
100% dark chocolate	1.60×10^2	3/3	3/3	0/3

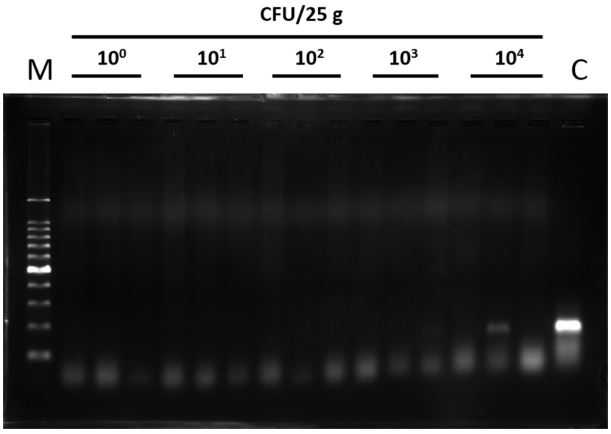

Fig. 1. Detection ofreal-time PCR amplicons in mousse cake 2 (chocolate mousse cake) by electrophoresis. Lane M: molecular marker; lane C: positive control.

Mousse Cake 1 (Cheese mousse cake)은 10^0 CFU/25 g 수준에서 real-time PCR 검출에서 1번의 양성결과가 나타났고 분리배지와 3M MDS에서는 음성의 결과가 나타나 차이가 있었지만 10^1-10^4 CFU/25 g에서는 차이가 없었다. Tiramisu 1과 Tiramisu 2의 경우 3가지 방법에서 차이가 없었다. 하지만 mousse cake 2 (chocolate mousse cake)의 경우 3M MDS 방법과 분리배지에서 검출이 된 반면 real-time PCR 방법으로는 10^4 CFU/25 g수준에서 1번의 양성 결과를 제외하고 모두 검출되지 않았다.

이후 chocolate 함유량에 따른 검출 특성을 파악하기 위하여 cheese mousse와 dark chocolate은 일정한 비율로 혼합하여 chocolate mousse를 제조하였다. 혼합 비율은 dark chocolate 함유량에 따라 0, 25, 50, 75, 100%의 비율로 혼합하였다. 혼합한 chocolate mousse에 10^2 CFU/25 g 수준으로 접종한 뒤 BPW를 첨가하여 37°C에서 24시간 증균배양하였다. 그 후 배양물을 식품공전에 등재된 방법인 분리배지와 real-time PCR, 그리고 3M MDS을 이용하여 검출실험을 실시하였다. 그 결과 chocolate이 0% 첨가된 처리구에서는 3가지 방법 모두 검출이 되었다. 하지만, 25~100%까지 첨가된 처리구는 3M MDS와 분리배지에서는 검출된 반면, real-time PCR에서는 검출되지 않았다 (Table 2). 검출이 되지 않은 이유를 파악하기 위하여 mousse cake 2 (chocolate mousse cake)의 real-time PCR 증폭 반응물을 분리하여 전기영동을 실시하였다.

Table 1의 mousse cake 2에 해당하는 처리구를 real-time PCR로 판독이 끝난 후 증폭 반응물을 전기영동 한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. Real-time PCR로 증폭 시 반응물은 100-200 bp 사이에서 amplicon band가 확인되었다. 각각의 농도로 접종한 처리구 중에서 10^4 CFU/25 g을 접종한 처리구, 그 중에서도 Ct값이 확인된 처리구에서만 amplicon band가 나타났다. 이러한 결과는 mousse cake 2의 매트릭스가 DNA 증폭을 방해하여 amplicon 형성을 방해하는 것으로 판단되었다. 따라서 mousse cake 2의 chocolate 성분이 real-time PCR의 inhibitor로 작용하여 증폭이 방해되었을 것으로 판단하였다.

이후 혼합비율을 dark chocolate 함유량에 따라 0, 5, 10, 15, 20, 25% 비율로 혼합하여 마찬가지로 배양물을 3M MDS과 real-time PCR을 이용하여 검출실험을 실시하였다. 그 결과, chocolate이 10%까지 첨가된 처리구에서는 모든 처리구에서 증폭이 일어났지만, 15%를 첨가한 처리구에서는 3개중 2개에서 검출이 되었으며, 20%와 25% 첨가한 처리구에서는 3가지 처리구에서 모두 검출되지 않았다 (Table 3).

Real-time PCR과 3M MDS반응 후에 증폭반응물을 수거하여 전기영동한 결과를 Fig. 2에 나타냈다. Real-time PCR은 Table 3의 검출 결과와 동일하게 증폭이 된 경우 100-200 bp 사이에서 amplicon band가 나타났다. Chocolate을 10% 이하로 첨가한 chocolate mousse에서는 3개의 반복 처리구 모두에서 band가 나타났다. 하지만 chocolate을 15% 첨가한 처리구에서는 3개중 2개의 시료에서 band가 나타났으며 chocolate 20% 이상 첨가한 경우 모두 band가 나타나지 않아 목적하는 염기서열에 대한 증폭이 일어나지 않았음을 알 수 있었다. 이에 비하여 3M MDS로 검출한 모든 처리구에서는 chocolate이 25%까지 첨가된 처리구 모두에서 LAMP 반응으로 인한 특이적인 사다리와 같은 패턴의 band 패턴이 나타났다.

Chocolate함유량에 따라 제조된 chocolate mousse에 *S.* Typhimurium을 인위적으로 접종한 후 미생물적 전배양을

Table 3. Comparison of 3M Molecular Detection System Assay 2-*Salmonella* and Korean Standard Method for the detection of *Salmonella* in Chocolate Mousse with chocolate content of 0-25% (n = 3)

Samples	Inoculation level (CFU/25 g)	3M MDS	Real-time PCR
0% dark chocolate	1.64×10^2	3/3	3/3
5% dark chocolate	1.64×10^2	3/3	3/3
10% dark chocolate	1.64×10^2	3/3	3/3
15% dark chocolate	1.64×10^2	3/3	2/3
20% dark chocolate	1.64×10^2	3/3	0/3
25% dark chocolate	1.64×10^2	3/3	0/3

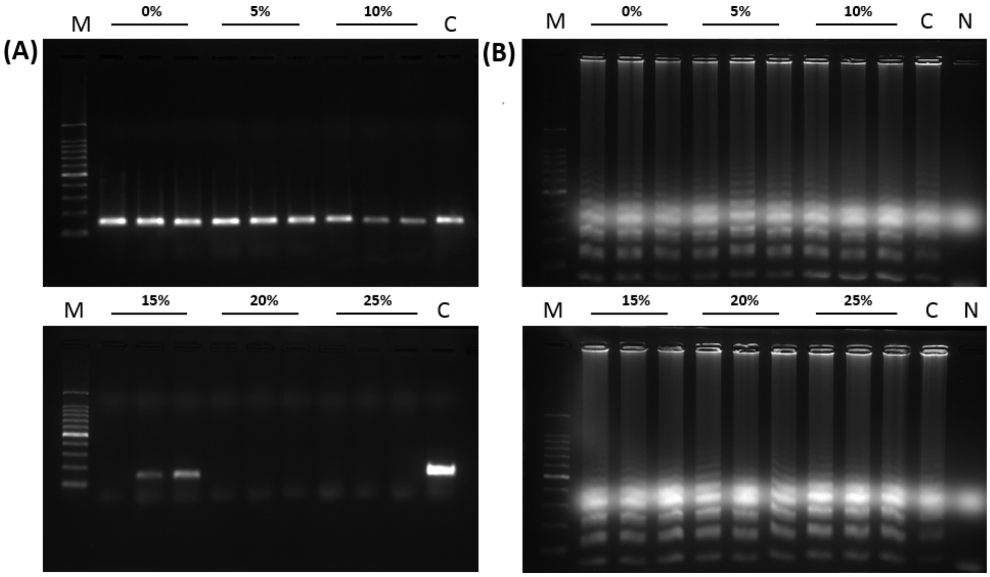

Fig. 2. Comparison of detection of real-time PCR and 3M MDS in Chocolate Mousse with different chocolate content (0-25%) by electrophoresis. (A): real-time PCR and (B): 3M MDS. Lane M: DNA marker (DL100); lane C: positive control; lane N: negative control.

실시하여 균수를 측정한 결과, 10^9 CFU/g 수준의 균수를 나타냈으며, 첨가되는 chocolate으로인하여 미생물의 성장이 억제되는 것은 아님을 확인할 수 있었다(Date not shown). Köppel등[12]에 의하면 real-time PCR의 경우 식품의 존재하는 inhibitors로 인해서 증폭 효율이 낮아지거나 증폭이 저해된다고 보고되고 있다. 특히 chocolate은 polyphenols, polysaccharides가 다량 함유되어 PCR분석 시 inhibitor로 작용하는 것으로보고되고 있다[13,14]. 또한 Li 등[15]에 따르면 LAMP는 여러 inhibitor의 영향을 받지 않고 효율적인 증폭을 위해 4~6개의 primer와 *Bst* Polymerase를 사용된다고 보고하고 있다.

현재 시판되고 있는 chocolate mousse cake는 보통 25% 내외로 chocolate이 첨가되어 제조된다. 3M MDS와 식품공전방법인 분리배지는 chocolate의 함유량과 상관없이 검출이 가능하였다. 하지만 식품공전방법인 real-time PCR으로는 15% 이상의 농도에서는 검출할 수 없었다. 따라서 시판되는 chocolate mousse cake의 경우 real-time PCR을 통해 식중독 균을 검출하기 어려울 것으로 예상된다(Fig. 2).

결과적으로식품공전에 등재된 방법인 real-time PCR은 chocolate이 inhibitor로 작용되어 chocolate을 함유하는 식품에서 신속 검출이 어려웠다. 이에 반해 LAMP- bioluminescent를 기반으로 하는 3M MDS와 분리배지는 chocolate의 함유여부와 상관없이 검출이 가능하였다.

따라서 LAMP방법은 식품유래의 방해물질의 영향을 덜 받으면서도 신속한 검출이 가능하기 때문에, chocolate을 포함하는 과자류, 빵류에서의 *Salmonella*균의 신속검출을 통한 안전관리에 효과적으로 활용될 수 있을 것이라고 생각된다.

국문요약

최근 한국에서 발생한 *Salmonella*로 인한 식중독 사고는 2018년 9월 학교급식에서 제공된 초콜릿 무스 케이크가 원인이 되었다. 이 연구의 목적은 *Salmonella* Typhimurium이 인위적으로 접종된 무스케이크와 티라미수에서 3M Molecular Detection Assay 2 –*Salmonella*와 식

품공전에 등재된 방법인 분리배지와 real-time PCR을 비교하는 것이었다. 무스케이크 2종과 티라미수 2종 25 g에 225 mL BPW를 넣고 37°C에서 24시간 동안 증균 배양하였다. 배양 후, 3M Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella*, 분리배지 그리고 real-time PCR로 분석하였다. 초콜릿 무스 케이크를 제외하고 3가지 방법은 유사한 결과를 보였다. 초콜릿 무스 케이크에서 분리배지와 3M Molecular Detection Assay 2 –*Salmonella*는 모든 접종수준에서 동일한 결과를 나타낸 반면 real-time PCR은 10^4 CFU/25g수준에서 1번의 양성결과를 제외하고 모두 검출되지 않았다. 초콜릿 무스에 *S.* Typhimurium을 10^2 CFU/25 g 수준으로 접종하였을때, real-time PCR를 이용한 검출은 15%에서는 부분적인 음성을 나타냈고, 20-100% 함량의 초콜릿 무스에서는 모두 음성이었다. Real-time PCR로는 chocolate이 15% 이상 함유된 식품에서의 *Salmonella* 균 검출이 불가능하였지만, LMAP 기반의 3M Molecular Detection Assay 2으로는 chocolate 농도에 관계없이 검출이 가능하였다.

References

1. Zhao, X., Wang, L., Chu, J., Li, Y., Li, Y., Xu, Z., Wang, J: Development and application of a rapid and simple loop-mediated isothermal amplification method for food-borne *Salmonella* detection. *Food Sci. Biotech*., **19(6)**, 1655-1659 (2010).
2. Whiley, H., Ross, K.:*Salmonella* and eggs: from production to plate. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **12(3)**, 2543-2556 (2015).
3. Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Gast, R., Humphrey, T. J., van Immerseel, F.: Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. *FEMS Microbiol. Rev.*, **33(4)**, 718-738 (2009).
4. Hao, Y. Y., Scouten, A. J., Brackett, R. E: Cheesecake: a potential vehicle for salmonellosis?. *J. Food Prot.*, **62(1)**, 26-29(1999).
5. Ministry of Food and Drug Safety.: Press Release; Available from: http://www.mfds.go.kr/brd/m_99/view.do?seq=43028. Accessed Mar. 21,(2019).
6. Ministry of Food and Drug Safety.: Food Code; Available from: http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=378. Accessed Mar. 21, (2019).
7. Ministry of Food and Drug Safety.: Food Code; Available from: http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=11046. Accessed Mar. 21, (2019).
8. Krascsenicsova, K., Piknova, L., Kaclikova, E., Kuchta, T: Detection of *Salmonella* enterica in food using two-step enrichment and real-time polymerase chain reaction. *Lett. Appl. Microbiol.*, **46(4)**, 483-487 (2008).
9. Safavieh, M., Kanakasabapathy, M. K., Tarlan, F., Ahmed, M. U., Zourob, M., Asghar, W., Shafiee, H: Emerging loop-mediated isothermal amplification-based microchip and microdevice technologies for nucleic acid detection. A*CS Biomater Sci. Eng*, **2(3)**, 278-294 (2016).
10. Kiddle, G., Hardinge, P., Buttigieg, N., Gandelman, O., Pereira, C., McElgunn, C. J., Tisi, L. C: GMO detection using a bioluminescent real time reporter(BART) of loop mediated isothermal amplification(LAMP) suitable for field use. *BMC Biotechnol.*, **12(1)**, 15 (2012).
11. Wang, L., Shi, L., Alam, M. J., Geng, Y., Li, L.: Specific and rapid detection of foodborne *Salmonella* by loop-mediated isothermal amplification method. *Food Res. Int.*, ***41*(1)**, 69-74 (2008).
12. Köppel, R., van Velsen-Zimmerli, F., Bucher, T: Two quantitative hexaplex real-time PCR systems for the detection and quantification of DNA from twelve allergens in food. *Eur. Food Res. Technol.*, **235(5)**, 843-852 (2012).
13. Opel, K. L., Chung, D., McCord, B. R.: A study of PCR inhibition mechanisms using real time PCR. *J. Forensic Sci.*, **55(1)**, 25-33 (2010).
14. Meyer, R: Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. *Food Control*, **10(6)**, 391-399(1999).
15. Li, Y., Fan, P., Zhou, S., Zhang, L: Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a novel rapid detection platform for pathogens. *Microb. Pathog.*, **107**, 54-61 (2017).