pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 40, No. 2, pp. 96~102 (2025)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2025.40.2.96

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

즉석섭취식품 중 *Salmonella* spp. 검출을 위해 FS Finder SL을 사용한 Direct Multiplex Real-Time PCR의 성능평가 연구

오채령[1†] · 한상하[2†] · 정수진[3†] · 하상도[1,2*]
[1]중앙대학교 일반대학원 식품공학부 식품안전규제과학과
[2]중앙대학교 일반대학원 식품공학부 식품생명공학과
[3]중앙대학교 그린테크 기반 식품안전 BK연구팀

Evaluation of Direct Multiplex Real-Time PCR Using FS Finder SL for Detection of *Salmonella* spp. in Ready-To-Eat Foods

Chaeryeong Oh[1†], Sangha Han[2†], Soo-Jin Jung[3†], Sang-Do Ha[1,2*]
[1]*Department of Food Safety and Regulatory Science, Chung-Ang University, Anseong, Korea*
[2]*Department of Food Science and Biotechnology, Chung-Ang University, Anseong, Korea*
[3]*GreenTech-based Food Safety Research Group, BK21 Four, Chung-Ang University, Anseong, Korea*

(Received February 20, 2025/Revised April 10, 2025/Accepted April 17, 2025)

ABSTRACT - *Salmonella* spp. is one of the predominant food- and water-borne pathogens associated with acute gastrointestinal diseases around the worldwide. Conventional cultural detection methods for *Salmonella* spp. are based on cultures using selective media and characterization of suspicious colonies by biochemical and serological tests, which are generally time-consuming and labor-intensive. This study evaluated the efficacy of real-time polymerase chain reaction (PCR) using FS Finder SL, which is a *Salmonella* spp. gene detection kit developed by Shimadzu. Three pre-treatment methods (Methods 1, 2, and 3) which were provided by the manufacturers were compared to evaluate the detection efficiency using real-time PCR. As a result, all methods were able to detected *Salmonella* spp. at 100%, and no statistical differences in cycle threshold (Ct) values were found among the three methods (P>0.05). In addition, real-time PCR method using the FS Finder SL showed more sensitive detection performance than the conventional cultureal method using xylose lysine deoxycholate agar (XLD) for the detection of *Salmonella* spp. in various foods (processed eggs, chicken breast products, and convenience store lunch boxes). In addition, there were reliable detection levels shown at low concentrations (0-3 log CFU/g). In conclusion, the real-time PCR method using the FS Finder SL kit showed higher detection sensitivity and more rapid detection than the conventional culture method, even in complex food matrices.

Key words: *Salmonella* spp., Conventional cultural method, Real-time PCR, FS Finder SL

즉석식품은 여러가지 방식으로 가공 및 조리되어 추가적인 과정 없이 섭취 가능한 식품으로[1)] 1인가구의 증가에 따른 식생활 패턴의 변화 및 즉석식품의 편의성과 유연성으로 인해 그 수요가 지속적으로 증가하고 있다. 이러한 즉석식품의 증가는 특히 COVID-19 팬데믹 이후 더욱 더 증가하였으며, 이러한 즉석식품의 전 세계 시장은 2021년부터 2026년 동안 연평균 성장률 (compound annual growth rate, CAGR)이 4.62%에 이를 것이라 예상된다[2)]. 그러나 즉석식품은 추가적인 조리나 가열 없이 섭취하는 경우가 많아서 병원성 미생물이 존재하는 경우 공중보건에 더 심각한 위협이 될 수 있다[3)]. *Salmonella*는 현재까지 전세계적으로 가장 많이 발생하는 식중독의 원인균 중 하나로,

†These authors contributed equally to this work.
*Correspondence to: Sang-Do Ha, Advanced Food Safety Research group, Chung-Ang University, Anseong 17546, Korea
Tel: +82-31-670-4831, Fax: +82-31-675-4853
E-mail: sangdoha@cau.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal 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.

식품의약품안전처에 따르면 2023년 *Salmonella*에 의한 식중독은 총 48건이며 2,549명의 환자가 발생한 것으로 보고되었다[4]. 또한 대부분의 *Salmonella* spp. 혈청형들은 잠재적으로 병원성을 지니고 있어 식품산업에서 신속하고 정확한 검출이 요구되며, 이는 식품의 품질안전 관리를 위해 매우 중요하다[5].

식품공전 시험법은 식품 기준 및 규격 적부 판정, 수거검사의 적부판정, 수입식품의 적부 판정 등의 판단 근거가 되기 때문에 식품산업에서 매우 중요하다. 현재까지 식품으로부터 다양한 식중독 세균 및 위생지표균의 분리 및 정량적 계수는 식품공전법에 따라 선택배지를 사용해왔다. 이 방법은 전통적인 미생물의 계수방법으로 배지 준비 시간이 소모적이고, 노동집약적이며, 비용 측면에서 단점을 가지고 있다. 대부분의 분리 과정에서 추가적인 확인시험이 필요하며, 배지를 고압멸균 한 후 추가적인 항생제 사용으로 인한 고비용 및 제조시간이 긴 단점이 존재한다[6]. *Salmonella*의 검출을 위한 표준검출법은 증균배양, 분리배양, 각종 생화학적 시험 등 복잡한 과정를 거쳐야 하므로 많은 시간과 인력이 소요된다[7].

식품에서 미생물을 빠르고 간편하게 분석하기 위해 polymerase chain reaction (PCR) 방법을 널리 사용하고 있으며, real-time PCR은 추가적인 전기영동 과정 없이 식품 중 미생물의 정량 및 유전자의 증폭시 증가되는 형광을 실시간 확인 가능하기 때문에 최근 병원균의 신속 검출을 위해 널리 쓰이고 있다[3,8]. 또한 real-time PCR법은 현재까지 개발된 rapid detection method 중 검출한계가 이론상 1 CFU/25g로 민감도 높은 기술로 알려져 있어서 식품 중에서 적은 양의 오염을 검출할 수 있다는 장점을 가지고 있다[8-10]. Real-time PCR의 효능을 연구한 다양한 선행연구가 존재하는데, Cheung 등[9]은 즉석식품과 육류 샘플에 100 CFU/25 g의 *Salmonella* spp.를 인위적으로 접종하고 real-time PCR (BAX system) 과 배지법을 비교한 결과, 즉석식품과 육류 샘플에서 두 방법 모두에 의해 10^1 CFU/g의 *Salmonella*를 검출할 수 있었다고 보고하였다. Bohaychuk 등[9]은 가금육, 우육, 돈육에 1 CFU/sample을 접종한 후 펩톤식염완충액(buffered peptone water; BPW)에서 24 시간, rappaport-vassiliadis enrichment 배지와 tetrathionate 배지에서 24시간의 전배양 단계를 거친 후, 각각의 샘플을 real-time PCR법과 평판배지법으로 *Salmonella*를 검출한 결과, 육류에 5개 중 5개 모두에서 양성결과가 나타났음을 보고하였다. 즉, 육류샘플에 높은 농도와 낮은 농도의 *Salmonella*를 인위 접종했을 때 평판배지법과 real-time PCR간의 검출률에는 유의적 차이가 없었다. 따라서 real-time PCR법도 신속키트법과 같이 상재균이 비교적 적은 가공축산식품에서 전통배지법과 차이 없이 효율적으로 식중독균을 검출할 수 있는 것으로 여겨진다.

FS Finder SL은 일본 시마즈사(Shimadzu)에서 개발한 Ampdirect 기술을 적용한 실시간 PCR 키트로서[11], 식품 및 환경의 식중독균을 쉽고, 빠르고, 정확하게 검출하기 위해 개발되었다. 일반적으로 동식물의 혈액과 조직 또는 식품 중에는 효소 반응을 저해하는 물질이 대량으로 존재하기 때문에, PCR 등을 이용하여 DNA를 분석하기 위해서는 샘플에서 DNA를 정제하는 과정이 필요하다. 그러나 FS Finder의 Ampdirect (PCR 버퍼)는 샘플에 포함되어 있는 PCR 효소 반응을 저해하는 물질을 억제하여 혈액, 동식물 조직, sodium dodecyl sulfate (SDS) 등 다양한 샘플에서 DNA를 정제하지 않고도 PCR을 실시할 수 있도록 개발되었다. 따라서 DNA의 추출과정 없이 6-30 시간의 전배양(pre-enrichment) 후 바로 PCR을 수행 하므로 샘플에서 검출시간을 단축할 수 있다. 또한 이 키트 안에는 위음성에 대한 internal control이 포함되어 있어서 각각의 튜브에서 PCR반응이 정상적으로 수행되는지를 확인할 수 있다.

즉석식품의 안전성에 대한 검사는 식품의 유효기간 내에 신속하게 이루어져야 하므로 빠른 검출이 무엇보다 중요하며, 특히 *Salmonella*와 같이 적은 양으로도 감염을 일으키는 균의 검출에는 민감한 검출 방법이 더욱 필요하다[6]. 따라서 오랜 시간을 소요하는 배지법 보다 real-time PCR법과 같은 신속 검출법의 요구가 증가하고 있으며, 이러한 신속 검출법이 표준방법의 대체 방법으로 사용되기 위해서는 검사방법의 공인 평가(evaluation) 및 검증(validation) 과정을 거쳐 국제적 신뢰도와 공정성이 확보되어야 한다. 따라서 본 연구에서는 먼저 전배양 단계의 효율성을 검증하기 위해 *Salmonella*를 인위적으로 접종한 알가공품(훈제란)을 대상으로, 제조사(Shimadzu)에서 제시한 세 가지 전배양 과정을 수행한 뒤 결과를 평가하였다. 이후, 즉석섭취식품(훈제란, 닭가슴살, 도시락)에 *Salmonella*를 인위적으로 접종하고 FS Finder SL의 효능을 real-time PCR로 확인하였으며, 선택배지를 사용한 전통적인 *Salmonella* 배양법과 비교하여 상관관계를 분석하였다.

Materials and Methods

연구대상

본 연구는 간소화된 real-time PCR 방법(*Salmonella* spp. 검출용 FS Finder SL 키트)의 분석법으로 활용 가능성을 탐색하기 위해, 식품공전에 등재된 *Salmonella* spp. 평판배지법과 검출 성능을 비교하였다. 두 가지 방법은 식품 매트릭스 내 *Salmonella* spp.의 검출 민감도, 시간 효율성을 중심으로 평가되었다.

재료

즉석섭취식품은 알가공품, 닭가슴살 제품, 고기가 주 재료인 축산물 도시락을 선택하여 사용하였다. 즉석섭취식품은 2024년 10월부터 11월까지 경기도 안성시 편의점에

서 동일한 제품을 2개씩 구입하여 실험하였다. 이후 같은 제품군의 다른 제품 2개씩 구입하여 같은 방식으로 총 3회 반복 실험을 실시하였다. 각 즉석섭취식품의 모든 재료를 멸균백(Nasco Whirl-Pak, Fort Atkinson, WI, USA)에 소분하여 균질화 한 후 10 g씩 채취하여 사용하였다.

사용 균주

Salmonella spp. (*S.* Typhimurium ATCC 14028, S. Enteritidis ATCC 13076)는 American Type Culture Collection (ATCC)에서 분양받았으며, S. Thompson wild type 4021 균주는 식품의약품안전처 (Ministry of Food and Drug Safety, MFDS, Cheongju, South Korea)로부터 인체 유래 임상 사례에서 분리된 균주를 제공받았다. 모든 균주는 60% (w/v) glycerol (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)이 함유된 용액에 현탁하여 -80°C에 보관하였다.

즉석섭취식품 시료준비 및 균액 접종

3종의 즉석섭취식품 시료(알가공품, 닭가슴살 제품, 편의점 도시락)를 멸균백에 10 g씩 담았다. *Salmonella* spp.은 10 mL의 TSB에 0.1 mL를 접종한 후 37°C, 160 rpm의 진탕 배양기에서 24 시간 동안 1차 배양 후, 24 시간 동안 동일한 조건에서 2차 배양하여 활성 시켰다. 각각의 활성화된 균주는 동일한 비율로 혼합 후 phosphate-buffered saline (PBS; Oxoid, Basingstoke, UK)으로 십진 희석하여 즉석섭취식품 시료에 0, 1, 2, 3 log CFU/g 수준으로 인위 접종하고 30번씩 문질러 균질화 시켰다. 15분의 부착시간을 가진 후 90 mL의 0.1% peptone water (PW; Difco)를 첨가하여 1분간 균질화(BagMixer400VX; Interscience, St. Nom, France)한 다음, real-time PCR에 사용된 즉석섭취식품 시료는 37°C에서 24 시간 동안 배양하여 실험에 사용되었고 평판배지법에 사용된 즉석섭취식품 시료는 증균배양 없이 부착시간을 가진 후 바로 사용되었다. 접종 초기 농도를 확인하기 위해 xylose-lysine-deoxycholate agar (XLD;Oxoid)에 도말하고 37°C에서 24 시간 동안 배양한 다음 형성된 검은색 집락을 계수하였다.

식품에서의 real-time PCR 전처리방법 비교

본 연구에서는 *Salmonella* spp.의 검출을 위한 효율적인 real-time PCR 방법을 확립하기 위해, 제조사(Shimadzu)에서 제시한 세 가지 PCR 전처리 방법을 비교 평가하였다. 방법 1은 농축된 검체를 real-time PCR에 직접 사용하며 전처리를 수행하지 않았다. 방법 2는 전처리 튜브에 농축 검체 1 mL를 넣은 후 100°C에서 5분간 열처리 후 상등액을 real-time PCR에 사용하였다. 방법 3은 전처리 튜브에 농축 검체 1 mL를 넣은 후 원심분리기에 10,000 ×g에서 1분간 원심분리하였다. 상등액을 제거하고 증류수 1 mL을 넣어 재현탁 시킨 뒤 100°C에서 5분간 열처리 후 상등액을 real-time PCR에 사용하였다. 실험에서 비교한 real-time PCR 방법의 세부적인 조건 및 절차는 Table 1을 통해 확인할 수 있다.

FS Finder SL를 이용한 즉석섭취식품에서 *Salmonella* spp.의 real-time PCR 검출

즉석섭취식품 중 *Salmonella* spp.를 검출하기 위한 real-time PCR 실험에서 FS Finder SL kit를 사용하였다. 실험 방법은 제품의 매뉴얼에 따라 진행되었다. FS Finder SL kit에 동봉된 SL Master Mix 18 μL와 SL Enzyme Mix 0.1 μL를 혼합해 Master Mix를 만들어 주었다. FS Finder SL kit 매뉴얼에 따라 증균배양액 2 μL를 real-time PCR tube에 옮기고 Master Mix 18 μL를 넣어 사용하였다. 양성대조군으로는 FS Finder SL kit에 같이 동봉된 SL Positive Control을 사용하였고, 음성대조군은 distilled water을 사용하였다. Real-time PCR은 Rotor-Gene Q (QIAGEN, Inc., Hilden, Germany)를 사용하였으며, Rotor-Gene Q Series Software를 활용하여 결과를 분석하였다. 3회 반복을 실시해 얻어진 평판배지 값은 평균 ± 표준편차를 구해 log CFU/g으로 전환하였다. Real-time PCR의 조건은 Table 2과 같다. 제조사(Shimadzu) 프로토콜에서는 real-time PCR 조건 설정 시 denaturation 단계를 1초로 설정할 것을 권장했지만, 본 실험에 사용된 Qiagen 기기에서는 최소 10초를 권장하고 있다. 이에 따라 본 연구에서는 denaturation 시간을 권장 조건에 맞춰 수정하여 진행하였다.

Table 1. Experimental procedures for different real-time PCR methods

Method	Real-time PCR procedure
Method 1	The enriched specimen was used directly for real-time PCR without pretreatment.
Method 2	1) Added 1 mL of the enriched specimen to a tube. 2) Heated in a heat block at 100°C for 5 min. 3) Used the supernatant for real-time PCR.
Method 3	1) Added 1 mL of the enriched specimen to a tube. 2) Centrifuged at 10,000 ×g for 1 min. 3) Discarded the supernatant and added 1 mL of distilled water. 4) Resuspended the pellet. 5) Heated in a heat block at 100°C for 5 min. 6) Used the supernatant for real-time PCR.

Table 2. Thermal cycling and reaction conditions for real-time PCR

	Cycle point	Cycles
Pre-denaturation	95°C, 3 min	-
Denaturation	Step 1: Hold 94°C, 10 s[a)]	45
Annealing	Step 2: Hold 60°C, 30 s	

[a)]According to the FS Finder SL kit manual factory, the denaturation step is set to 1 s; nonetheless, the recommended time may vary depending on the real-time PCR machine.

선택 배지를 이용한 즉석섭취식품 중 *Salmonella* spp. 검출

Real-time PCR 방법과 평판배지법의 검출능 비교를 위해 선택 배지를 이용한 *Salmonella* spp. 검출 실험을 진행하였다. 선택 배지는 XLD를 사용했으며, 인위 접종한 즉석섭취식품 시료 1 mL을 취하여 도말하였다. 도말한 배지는 37°C에서 24 시간 배양하고 배지에 형성된 전형적인 검은색 집락을 계수하였다. 평판배지법은 전배양을 생략하고, 시료를 직접 접종한 뒤 배양하여 살모넬라를 분리·검출하였다. 전배양을 적용할 경우 매우 낮은 농도로 접종한 시료(0 log 수준)에서도 검출률이 지나치게 높아져 두 방법 간 검출성능 비교가 어려워질 우려가 있었기 때문에, 본 연구에서는 각 방법이 자주 활용되는 조건에 맞춰 실험을 설계하였다.

즉석섭취식품 내 자연균총(일반세균) 검출능 평가

시료로 사용된 즉석섭취식품에 존재할 수 있는 일반세균이 real-time PCR과 평판배지법 실험 결과에 영향을 미칠 가능성을 확인하기 위해 자연균총(일반세균) 검출능 평가를 추가로 진행하였다. 본 실험의 경우 일반세균수를 검출하기 위해 건조필름법을 진행하였다. 건조필름법의 경우 증균 배양액 1 mL씩 Petrifilm™ Aerobic Count (Petrifilm AC; 3M, St, Paul, MN, USA)에 분주하고 37°C에서 24 시간 배양하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복하였으며, 실험 결과는 평균과 표준편차로 정리하였다. 실험 결과는 GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA)을 이용하여, one-way ANOVA로 유의성 검정을 수행하였고, Tukey test로 유의확률(P<0.05)을 분석하였다.

Results and Discussion

Real-time PCR 전처리 방법에 따른 *Salmonella* spp. 검출능 비교

본 연구에서는 Finder SL kit에서 제시한 세 가지 검출 방법(Method 1, 2, 3)을 적용하여, 알가공품(훈제란)에 인위적으로 접종한 *Salmonella* spp.의 검출 성능을 비교하였다(Fig. 1과 Table 3). 본 실험에서 사용한 전처리과정은 DNA 추출과정이 포함되지 않았으나, 제조사(Shimadzu)의 지침에 따라 세균의 증균과정을 거쳤다. 세가지 검출 방법 모두 알가공품에 인위접종 된 *Salmonella* spp.를 100% 확률로 검출할 수 있었으며, 검출 성공률에는 차이가 없었다. 각각의 방법에 의해 검출된 *Salmonella* spp.의 Ct 값은 20.31, 20.23, 그리고 19.91로 나타났다. 세 방법의 효율성을 비교하기 위해 real-time PCR 결과값을 기반으로

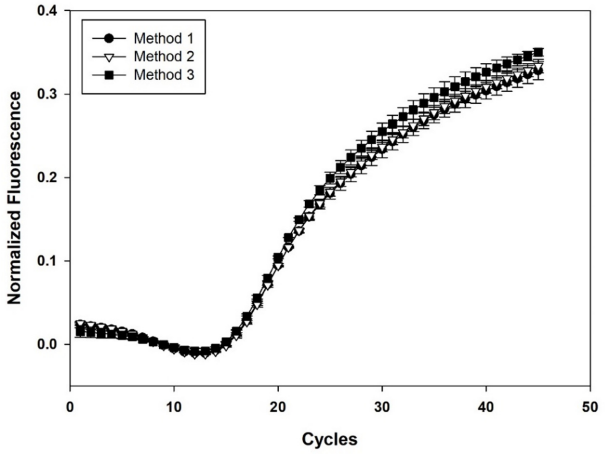

Fig. 1. Comparison of detection rates among three methods for *Salmonella* spp.

Table 3. Statistical comparison of three real-time PCR methods

Comparison	Mean difference	95% CI	*P*-value
Method 1 and Method 2	-0.0029	-0.0705 to 0.0647	0.9943
Method 1 and Method 3	-0.0214	-0.0890 to 0.0461	0.7328
Method 2 and Method 3	-0.0186	-0.0861 to 0.0490	0.7923

one-way ANOVA 분석을 수행한 결과, 세 방법 간의 차이는 유의미하지 않은 것으로 나타났다(P=0.7173, Fig. 1). Table 3에서 mean difference는 각 방법 간 Ct 값의 평균 차이를 나타내며, 원심분리와 열처리과정이 추가된 방법(Method 3)과, 열처리 과정만 추가된 방법(Method 2)의 차이는 -0.0186, Method 2와 증균된 즉석섭취식품 시료를 직접 사용하는 Method 1의 차이는 -0.0029로 모두 0에 가깝고 실질적인 차이가 크지 않음을 확인하였다. 신뢰구간(95% CI)이 모든 비교구간에서 0을 포함하여 차이가 유의하지 않은 것이 p-value (P>0.05) 분석과 동일한 경향을 보였다. 하지만 전처리 과정에서 Method 2, 3은 Method 1 보다 약 20분 더 소요되었다. 그러나 각각의 방법 간에 유의차를 보이지 않았으므로, 이후의 연구에서는 가장 간단하고 시간 효율적인 Method 1을 채택하여 실험을 진행하였다. Mancini 등[12]은 real-time PCR을 이용한 SARS-CoV-2의 검출 실험에서 희석배수가 Ct 값 증가 경향과 real-time PCR의 검출 복제수에 영향을 미칠 수 있으며, 이러한 경향은 특별히 Ct 값이 35 이상인 열처리 샘플에서 강조되며 바이러스 농도가 낮은 샘플에서 거짓 음성 결과를 생성할 수 있다는 것을 발견하였다.

즉석섭취식품 매트릭스에 따른 선택 배지와 PCR 방법의 *Salmonella* spp. 검출 결과

본 연구에서는 *Salmonella* spp.가 문제되는 대표적인 식품군(알가공품, 닭가슴살)과 최근 소비가 증가되고 있는 즉석섭취식품인 도시락을 대상으로 검출 성능을 평가하였다. 실험에 앞서 각 식품군의 호기성 정상 세균총의 수를 측정한 결과, 알가공품과 닭가슴살 제품의 경우 검출 한계 이하(≤ 1 log CFU/g) 였으며, 도시락은 3.56±0.18 CFU/g으로 유의미하게 높은 세균 수를 보였다(Table 4). 세 가지 즉석섭취식품에 *Salmonella* spp. 혼합균주를 농도별로 (10^0-10^3 CFU/g) 인위 접종한 후 real-time PCR과 선택배지를 이용하여 동시에 검출한 결과는 Table 5에 정리하였다. 그 결과, 각 검출법에 대한 음성 및 양성 대조군이 각각 음성과 양성으로 검출되어 실험상 오류는 없는 것으로 판단되었다(결과 미제시). 선택배지를 이용한 검출 결과, 2 log CFU/g 이상으로 접종한 시료에서만 양성으로 검출되었으며, 그 이하(≤ 1 log CFU/g)에서는 검출되지 않았다. 반면, real-time PCR법으로 검출하였을 때는 0-3 log CFU/g로 접종한 모든 즉석섭취식품 시료에서 양성으로 판정되었다. 주목할 점은 세 가지 즉석섭취식품군 모두 위와 유사한 경향이 확인되었다. 이는 평판배지법과 비교했을 때 real-time PCR이 더 낮은 농도에서 검출 가능하며, 높은 검출 효능을 보유하고 있음을 시사한다.

Real-time PCR을 이용하여 3개의 즉석섭취식품을 대상으로 *Salmonella* spp.의 검출 효능을 비교하기 위해 Ct 값을 평가한 결과는 Table 6과 같다. 그 결과, 접종 농도가 증가할수록 Ct값이 유의적으로 감소하는 경향(P<0.05)을 확인할 수 있었다. 알가공품의 경우 0 log CFU/g에서 Ct 값이 22.97±2.30 이었으나, 3 log CFU/g로 고농도로 인위 접종한 샘플에서 21.69±1.38 로 감소하였다 (P<0.05). 닭가슴살 샘플에서도 2 log CFU/g부터 Ct값이 유의적으로 감소하는 경향을 보였다 (P<0.05). 도시락에서도 동일한 패턴이 확인되었고, 이는 높은 농도의 세균이 존재할 경우, 초기 DNA/RNA가 많아 증폭 사이클 수가 줄어들어 Ct값이 낮아지는 결과로 볼 수 있다. 동일한 접종 농도에서 식품군별 Ct값을 비교하였을 때, 1 log CFU/g에서 세 즉석섭취식품군 간 Ct값은 유의적으로 차이가 없는 것으로 나타났다(P>0.05). 하지만 3 log CFU/g에서 알가공품(21.69±1.38)의 Ct값이 가장 낮았으며, 도시락(23.54±1.15)이 가장 높았다. 이는 도시락의 경우 알가공품과 닭가슴살 제품보다 복합적인 식품 매트릭스(밥, 반찬 등) 내 PCR 저해물질(예: 지방, 다당류 등)의 영향을 받았을 가능성이 사료된다. PCR 저해물질은 DNA 중합효소의 활성을 억제

Table 4. Quantitative analysis of aerobic bacteria in different food matrices (n=12)

	Egg product	Chicken breast	Dosirak
Bacterial count (log CFU/g)	N.D.	N.D.	3.56±0.18

N.D.: No detection of bacterial colonies at the detection limit of 1 log CFU/g.

Table 5. Evaluation of real-time PCR and XLD agar plate method for detecting *Salmonella* spp. in food (n=6)

	Real-time PCR				Agar plate			
	FS Finder SL (Shimadzu)				XLD			
	Inoculation level (log CFU/g)							
	0 log	1 log	2 log	3 log	0 log	1 log	2 log	3 log
Egg product	6/6[a)]	6/6	6/6	6/6	0/6	0/6	6/6	6/6
Chicken breast	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6	0/6	6/6	6/6
Dosirak	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6	0/6	6/6	6/6

[a)]Refers to the number of samples detected across six iterations.

Table 6. Ct values of *Salmonella* spp. analyzed by real-time PCR on the different food matrix

	Ct value			
Inoculation level (log CFU/g)	0 log	1 log	2 log	3 log
Egg product	22.97±2.30^{A,a}	22.18±0.91^{A,a}	22.92±1.43^{A,a}	21.69±1.38^{B,c}
Chicken breast	22.13±1.33^{A,a}	22.27±1.62^{A,a}	22.14±1.19^{AB,b}	21.87±1.39^{B,b}
Dosirak	24.19±2.02^{A,a}	24.50±2.37^{A,a}	22.82±1.01^{B,ab}	23.54±1.15^{AB,a}

Each value represents the mean and standard deviation of three replicates. Different uppercase letters within the same row (A–C) indicate statistically significant differences (P<0.05) among inoculation levels for the same food. Similarly, different lowercase letters within the same column (a–d) denote statistically significant differences (P<0.05) among food types at the same inoculation level.

하거나 DNA 추출 효율을 감소시켜 Ct값 증가를 초래할 수 있는 요소로 작용할 수 있다. 이는 식품 매트릭스의 영향이 *Salmonella* spp. 검출 민감도에 차이를 유발할 수 있음을 시사한다[13]. 전배양을 적용한 real-time PCR법은 낮은 농도(0 log 수준)에서도 검출률이 높았던 반면, 전배양 없이 실시한 평판배지법은 일부 시료에서 검출되지 않는 양상을 보였다(Table 5 참조). 이는 전배양 여부가 검출 감도에 직접적인 영향을 미친 결과로 해석된다. 실제 산업 현장에서는 평판배지법에도 전배양을 병행하는 사례가 있으나, 본 연구에서는 각각 권장·활용되는 프로토콜을 재현하여 두 방법 간의 검출 민감도 차이를 확인하고자 하였다. 향후 전배양 적용 여부를 동일하게 통일하여 비교하는 연구가 추가로 필요할 것으로 판단된다.

우리나라 식품공전에서 *Salmonella* spp. 검출 시 비선택적인 증균(18시간) 후 선택적인 증균(24시간 이상)을 포함하여 2단계의 증균배양을 거치게 되면 42시간 이상이 소요된다[14]. Bang 등[15]의 연구에 따르면 기존 배지법으로 4일이 소요된 실험에서 50개 시료 중 28개가 양성으로 검출된 반면, real-time PCR을 활용한 실험(10시간 소요)에서는 32개 시료가 양성으로 측정되었다. 식품공전법으로 검출된 28개 양성시료는 real-time PCR로도 양성으로 확인되었고, 이 외에 4개의 시료가 추가로 양성을 나타내었다고 보고하였다. Hyeon 등[16]은 특히 상재균이 많은 야채의 경우 배지법은 상재균에 의해 검출이 저해되므로 이보다 상재균의 영향을 덜 받는 real-time PCR 방법이 미량으로 존재하는 식중독균 검출에 더 효과적이라고 보고하였다. 본 연구에서도 배지법과 비교하여 direct multiplex real-time PCR이 낮은 농도에서도 *Salmonella* spp.를 검출할 수 있는 높은 검출 효능을 나타냈으며, 자연균총수가 높게 존재하는 도시락에서도 검출이 가능하였다. 이는 기존 연구에서 보고된 배지법의 위음성 문제를 real-time PCR 방법으로 극복할 수 있음을 보여준다. 결론적으로, 본 연구에서 direct multiplex real-time PCR은 DNA 정제과정 없이, 여러 개의 프라이머를 하나의 튜브에 넣고 모든 앰플리콘에 하나의 증폭 프로그램을 사용하여 식품에 오염된 3종류의 *Salmonella* strain을 동시에 분석하여 검출 시간과 노력을 줄일 수 있었다.

Acknowledgements

This research was supported by the Chung-Ang University research grant in 2025.

국문요약

Salmonella spp.는 식중독의 주요 원인균으로, 신속하고 정확한 검출 방법이 요구된다. 본 연구에서는 간소화된 direct multiplex real-time PCR 방법인 FS Finder SL키트의 분석법 활용 가능성을 평가하고, 평판배지법과의 검출 성능을 비교하였다. 또한, real-time PCR의 검출 효율을 평가하기 위해 FS Finder SL 키트에서 제공하는 세 가지 전처리 방법(Method 1, 2, 3)을 비교 분석하였다. 실험 결과, 세 가지 전처리 방법을 이용한 direct multiplex real-time PCR 방법은 *Salmonella* spp.를 100% 검출할 수 있었으며, Ct 값 비교를 통한 통계적 분석에서도 세 방법 간 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다(P>0.05). 반면, 선택 배지를 이용한 검출에서는 2 log CFU/g 이상으로 접종된 샘플에서만 *Salmonella* spp.가 검출되었으나 real-time PCR법의 경우 0-3 log CFU/g 범위의 샘플에서 모두 검출이 가능하였다. 또한, 실험에 사용된 세 가지 즉석섭취식품군(알가공품, 닭가슴살 제품, 편의점 도시락)에서 자연균총의 영향을 평가한 결과, 도시락 샘플의 일반세균수가 3.56±0.18 log CFU/g으로 가장 높았으며, 알가공품과 닭가슴살 제품에서는 검출되지 않았다. 결론적으로 FS Finder SL 키트를 활용한 real-time PCR 방법은 기존의 평판배지법보다 높은 검출 감도를 보였으며, 검출까지의 소요 시간을 대폭 단축할 수 있었다. 특히, 복합적인 식품 매트릭스에서도 신속하고 정밀한 검출이 가능함을 확인하였다. 본 연구는 즉석섭취식품 중 *Salmonella* spp. 검출을 위한 효율적인 direct multiplex real-time PCR 분석법의 적용 가능성을 제시하며, 향후 식품안전 관리 시스템에서 활용될 수 있는 기초 자료를 제공한다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Chaeryeong Oh https://orcid.org/0009-0004-0489-0386
Sangha Han https://orcid.org/0000-0002-8420-3352
Soo-Jin Jung https://orcid.org/0009-0006-7317-9760
Sang-Do Ha https://orcid.org/0000-0002-6810-2092

References

1. Cheung, P.Y., Kwok, K.K., Kam, K.M., Application of BAX system, Tecra Unique *Salmonella* test, and a conventional culture method for the detection of *Salmonella* in ready-to-eat and raw foods. *J. Appl. Microbiol*., **103**, 219-227 (2007).
2. Stratistics Market Research Consulting, 2024. Convenience food market forecasts to 2030. Global analysis by product type (meat/poultry products, cereal-based products, vegetable-based products, and other product types), type, distribution channel, and geography, Global Information, Guro, Korea.
3. Byun, K.H., Kim, B.H., Cho, A.J., Her, E., Yoon, S., Kim, T., Ha, S.D., Comparison of SureTect™ with phenotypic and genotypic method for the detection of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Korean J. Food Preserv.* **30**, 262-271 (2023).
4. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2025, April 10). Food poisoning statistics. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=3724%26menu_grp=MENU_NEW02.
5. Yang, B., Qu, D., Zhang, X., Shen, J., Cui, S., Shi, Y., Xi, M., Sheng, M., Zhi, S., Meng, J., Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China. *Int. J. Food Microbiol*., **141**, 63-72 (2010).
6. 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 samples. *Korean J. Food Sci. An.,* **33**, 655-663 (2013).
7. Jung, S.J., Han, S.H., Kang, J.G., Song, M.S., Song, H.W., Lee, H.R., Yu, J.S., Lee, K.O., Ha, S.D., Evaluation of a Compact Dry Method for Enumerating Bacteria in Contaminated Foods. *J. Food Hyg. Saf*., **39**, 304-311 (2024).
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**, 538-547 (2006).
9. 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**, 1080-1087 (2007).
10. 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**, 483-487 (2008).
11. Tokyo University of Marine Science and Technology, 2024. Joint research report. Evaluation of overseas real-time PCR kits and applicability of Ampdirect PCR kits for food testing, Tokyo, Japan.
12. Mancini, F., Barbanti, F., Scaturro, M., Fontana, S., Di Martino, A., Marsili, G., Puzelli, S., Calzoletti, L., Facchini, M., Di Mario, G., Fabiani, C., Bella, A., Riccardo, F., Pezzotti, P., Stefanelli, P., Rezza, G., Ciervo, A.; Istituto Superiore di Sanità (ISS), COVID-19 Team, Multiplex real-time reverse-transcription polymerase chain reaction assays for diagnostic testing of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 and seasonal influenza viruses: a challenge of the phase 3 pandemic setting. *J. Infect. Dis.*, **223**, 765-774 (2021).
13. Furtado, R., Coelho, A., Morais, M., Leitão, A.L., Saraiva, M., Correia, C.B., Batista, R., Comparison of ISO 6579–1, VIDAS Easy SLM, and SureFast® *Salmonella* ONE real-time PCR for *Salmonella* detection in different groups of foodstuffs. *Food Anal. Methods*, **15**, 276-284 (2022).
14. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2025, April 10). Food code (*Salmonella* spp.). Retrieved from https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC.
15. Bang, M.K., Park, S.J., Kim, Y.J., Kim, J.G., Oh, S.W., Rapid detection of *Salmonella* spp. in fresh-cut cabbage by real-time PCR. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **39**, 1522-1527 (2010).
16. Hyeon, J.Y., Hwang, I.G., Kwak, H.S., Park, J.S., Heo, S., Choi, I.S., Park, C., Seo, K.H., Evaluation of an automated ELISA (VIDAS®) and real-time PCR by comparing with a conventional culture method for the detection of *Salmonella* spp. in steamed pork and raw broccoli sprouts. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.*, **29**, 506-512 (2009).