식중독바이러스 검출을 위한 식품 전처리 연구 동향

Research Trends of Viral Elution and Concentration Methods for Detection of Foodborne Viruses in Foods

강하은[1], 최창순[2], 윤요한[3], 이정수[4], 황진희[4], 곽효선[4], 서동주[1*]

Haeun Kang[1], Chang Sun Choi[2], Yohan Yoon[3], Jeong Su Lee[4], Jinhee Hwang[4], Hyo-Sun Kwak[4], Dong Joo Seo[1*]

[1]광주대학교 식품영양학과 , [2]중앙대학교 식품영양학과, [3]숙명여자대학교 식품영양학과, [4]식품의약품안전처 미생물과

[1]Department of Food and Nutrition, Gwangju University
[2]Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University
[3]Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University
[4]Food Microbiology Division, Ministry of Food and Drug Safety

서론

식품 매개로 감염되는 바이러스는 노로바이러스, A형간염바이러스, E형간염바이러스, 로타바이러스, 장아데노바이러스, 아스트로바이러스, 엔테로바이러스와 같은 장관계바이러스로 알려져 있으며, 설사나 복통 등 위장염이나 간염 등의 식중독 증상을 일으킨다[1,2]. 전 세계적으로 노로바이러스, A형간염바이러스는 대표적인 바이러스성 식중독 원인체로 알려져 있으며, 분변으로 배출되어 환경, 식품, 물 등에 오염되어 경구 또는 접촉감염을 일으키거나 드물게는 공기를 통해 전파된다. 특히 외피가 없는 바이러스로 온도, 산도, 습도 등의 다양한 환경조건에서 저항성이 강하며, 스테인리스나 플라스틱, 우드 등 재질의 표면에서 최대 60일 이상 생존력이 있다고 보고되었다.

식중독바이러스는 과채류, 어패류, 육류 등의 다양한 식품에 오염되어 식중독을 일으킨다(표 1). 노로바이러스와 A형 간염바이러스는 주로 굴, 홍합, 바지락 등과 같은 이매패류, 잎채소나 베리류와 같은 과채류에 오염되어 세계 다양한 국가(아메리카, 유럽, 아시아 등)에서 식중독을 일으키는 원인체로 확인되었다. E형 간염바이러스는 주로 육류 및 육류 가공품에 오염되어 유럽국가에서 식중독을 발생시켰던 병원체이다[3-7].

최근 10년간 선행연구에서 식품 내 식중독바이러스의 오염수준은 육류, 패류, 채소류, 과일류에 각각 최대 67.2, 28.2, 28.1, 8.3%를 나타냈다(표 2) [8-10]. 노로바이러스는 모든 식품군에 오염 가능성이 있으며, 특히 채소류(잎채소)와 패류(홍합)에 각각 14.3%, 23.1%, 과일류(베리류)와 육류(돼지고기)에 각각 3.6%, 4.7%의 오염률을 나타냈다[8,10,11]. A형간염바이러스는 패류(굴)에서 최대 27.6%, 채소류(잎채소, 샐러드 등)나 과일류(베리류)에서 2.0% 내외로 검출되었다[12,13]. E형간염바이러스는 채소류(시금치)나 패류(홍합, 바지락, 새조개)에서 20.0-28.2%의 오염률을 나타냈으며, 특히 육류(돼

* Correspondence to: Dong Joo Seo
Department of Food and Nutrition, Gwangju University, Gwangju 61743, Republic of Korea.
Tel: +82-62-670-2050 E-mail: sdj0118@gwangju.ac.kr

표 1. 바이러스성 식중독 주요 원인체, 원인 식품, 발생국가

원인 바이러스	원인 식품	식중독 발생국가
노로 바이러스	냉동라즈베리	북아메리카, 유럽
	라즈베리	핀란드, 스웨덴
	채소(잎채소 등)	미국, 덴마크, 대한민국
	패류(젓갈 포함)	이탈리아, 오스트레일리아, 프랑스, 뉴질랜드, 스웨덴, 영국, 캐나다, 미국, 덴마크, 대한민국, 싱가폴, 일본
A형 간염바이러스	냉동딸기, 냉동석류	북아메리카, 유럽, 오스트레일리아, 뉴질랜드
	블랙베리	미국
	냉동 레드커런트	이탈리아
	채소(잎채소 등), 파	미국
	패류(젓갈 포함)	미국, 이탈리아, 중국, 오스트레일리아, 대한민국
E형 간염바이러스	돼지, 소세지, 간	프랑스, 이탈리아, 독일
	멧돼지고기	스페인, 이탈리아, 독일
	소고기	이탈리아, 독일
	가금류	독일

표 2. 식품 내 식중독바이러스 오염수준

식품	검출 바이러스	오염도
채소류	노로바이러스	오이(3.1%) 잎채소(2.2%, 14.3%)
	A형간염바이러스	잎채소(<2.0%) 샐러드(2.3%) 쥐오줌풀(2.5%) 루꼴라 잎(2.9%)
	E형간염바이러스	샐러드(0.3%) 루꼴라 잎(1.9%) 잎채소(5.0%) 시금치(20.0%)
	아데노바이러스	잎채소(28.1%)
과일류	노로바이러스	베리류(0.2-3.6%)
	A형간염바이러스	베리류(0.1%, <2.0%) 딸기(0.8%)
	아데노바이러스	베리류(8.3%)
패류	노로바이러스	굴(0.2%) 홍합(23.1%)
	A형간염바이러스	굴(11.1%, 27.6%)
	E형간염바이러스	바지락(11.5%) 꼬막(14.3%) 홍합, 바지락, 새조개(24.4%), 새꼬막(28.2%)
육류 및 육류 가공품	E형간염바이러스	돼지고기(11.1-67.2%) 가금육(38.5%) 소과: 물소, 소, 양, 영양(39.3%) 생고기 소시지(5.7%) 간 소시지(18.9%) 기타 설치류, 기니피그, 캥거루(25.0%) 부속물: 간(8.3%), 장(18.7%), 비장(33.3%), 요관(26.3%)
	노로바이러스	돼지고기(4.7%) 소과: 물소, 소, 양, 영양(3.6%)

지고기 등)에서 최대 67.2%의 검출수준을 보였다[8,9]. 그밖에 아데노바이러스는 채소류(잎채소), 과일류(베리류)에 각각 28.1, 8.3%의 오염수준을 나타내었다[10]. 대체로 과채류나 패류에는 농업용수나 생활하수 등 환경으로부터 수인성 및 식인성 바이러스의 오염이 예상되며, 육류 및 육류가공품에 E형간염바이러스 오염양상은 직접적인 E형간염바이러스 감염에 의한 것으로 사료된다.

식중독을 예방하고 관리하기 위해 국가 기관별로 식품 내 식중독바이러스의 검출, 상시 모니터링을 위한 시험법을 개발하여 사용하고 있다. 전 세계적으로 공인된 식품 내 바이러스 검출 시험법은 국제표준화 기구(International Organization for Standardization, ISO)의 ISO/TS 15216-1이며, 우리나라의 식품의약품안전처에서는 식중독 원인조사 시험법을 발간하여 식중독 병원체 검출을 위해 사용되고 있다. 시험법마다 검체의 양, 탈리 및 농축법, 검출법이 다소 상이하지만, 식품의 특성을 고려한 전처리법을 개발하여 검사법을 제안하고 있다.

본론

식품 내 바이러스 탈리 방법

선행문헌에서는 식품의 특성과 바이러스 농축법을 고려하여 바이러스 탈리 방법을 개발하고 그 효용성을 회수율을 토대로 확인하였다(표 3).

표 3. 식품 별 바이러스 탈리 및 농축법

식품		탈리	농축	회수율(%)
채소 및 과일류	냉동 라즈베리(25g)	TGBE buffer (pH 11)	PEG	NoV 100 copies/25g (detection limit)
	라즈베리(10g)	TGBE buffer (pH 9.5)	PEG	NoV GI 21.5% NoV GII 35.2%
	라즈베리(10g)	TGBE buffer (pH 9.5)	Ultrafiltration	NoV 3.0%
	딸기퓨레(10g)	TGBE buffer (pH 9.5)	PEG	NoV GI 51.1–61.1% NoV GII 25.3–47.7%
	베리류(15g)	TGBE buffer (pH 9.5)	Ultrafiltration	NoV 6.8% HAV 14% RV 3.3%
	냉동 베리류(10g)	TGBE buffer (pH 9.5)	PEG	NoV GI 7.4–13.5% NoV GII 20.68%
	토마토(25g)	TGBE buffer (pH 9.2)	–	HAV 36.7%
	과일 샐러드(15g)	KNT buffer (pH9.2)	Filtration	NoV GI 20.3% NoV GII 28.24%
	상추(10g)	TGBE buffer (pH 9.5)	Ultrafiltration	NoV 9%
	상추(25g)	TGBE buffer (pH 9.5)	Filtration	HAV 3.83–5.14%
	시금치(25g)	Guanidine buffer (pH 6.8)	–	HAV 35.2%
	야채(15g)	TGBE buffer (pH 9.5)	Ultrafiltration	NoV 25% HAV 42% RV 6.7%
	야채 샐러드(15g)	KNT buffer(pH9.2)	Filtration	NoV GI 25.7% NoV GII 31.2%
패류	굴(1.5g)	Proteinase K	–	NoV GI 20.5% NoV GII 33.6%
	굴(3g)	Proteinase K	–	NoV GI 34 copies/g NoV GII 53 copies/g HAV 198 copies/g (detection limit)
	굴(25g)	Glycine buffer (pH 10, pH 7)	Ultracentrifuge	HAV 9.9%
	홍합(25g)	Proteinase K	–	NoV GI 3.0% NoV GII 3.5%
	굴, 새조개, 홍합(4g)	HCl (pH 5.0) TPB with glycine (pH 9.0) Arginine–NaCl (pH 7.5)	Vacuum centrifuge	RV 1.39 copies/4 g (detection limit)
육류 및 육류 가공품	육류, 육류 가공품(2 – 5g)	TRIzol Reagent	–	HEV 0.01–0.16%
	칠면조 고기(25g)	TRIzol Reagent	–	NoV GI 37.6% NoV GII 50.1%
	햄(25g)	TRIzol Reagent	–	NoV GI 37.6% NoV GII 50.1%
	햄(10g)	TGBE buffer (pH 9.5)	Ultrafiltration	NoV 7% 200 RT–PCRU (detection limit)
	간(10g)	PBS	Ultrafiltration	HEV PEG보다 검출률 높음

식중독바이러스의 오염도가 높은 식품을 크게 3가지로 분류할 수 있으며, 각각의 식품 matrix에 적합한 탈리용액을 이용하여 식품 표면으로부터 바이러스를 분리하였다(표 3) [14,15]. 무엇보다 식품으로부터 바이러스를 분리하는 과정이 중요하므로 염기성 탈리용액 개발에 중점을 둔다. Glycine, threonine과 같은 아미노산과 tris, potassium phosphate, sodium bicarbonate 등이 첨가된 염기성 탈리용액, PBS (phosphate-buffered saline)를 이용하여 식품 matrix로부터 바이러스를 탈리한다. 또한 beef extract, soya protein powder, tryptose와 같은 고단백 성분을 혼합하여 식품 matrix에 바이러스 부착을 줄이거나 농축에 쓰이는 PEG (polyethylene glycol)분자에 바이러스가 응집될 수 있도록 한다. 또한 산성 용액을 이용하여 조직 표면에 바이러스를 부착 후 탈리하기도 한다.

식품으로부터 바이러스를 탈리하는 방법은 식품 matrix별로 상이하다[14]. 과일류 중 식중독바이러스의 오염 발생이 다수 보고된 베리류는 식품 자체의 높은 산도 때문에 염기성 용액을 적절히 선택하여 바이러스를 탈리한다. TGBE (tris-glycine beef extract)용액이 선행문헌이나 ISO, 식품의약품안전처 식중독 원인조사 시험법에서 가장 많이 사용되고 있다. 바이러스 탈리 과정 중 pH를 9.0이상으로 유지해야 하는 단점이 있어 노동집약적이지만, 노로바이러스의 경우 최대 61.1%, A형간염바이러스의 경우 최대 36.7%의 높은 바이러스 회수율을 나타냈다. 채소류 또한 TGBE 용액을 많이 이용하고 그 밖에 염기성 KNT (potassium phosphate, sodium chloride, Triton X-100) 완충용액으로도 최대 31.2%의 회수율을 나타냈다[15,16]. 채소류에 펙틴과 같은 수용성 다당체 성분이 함유되어 있어 탈리용액의 점도 변화가 일어날 수 있다. 따라서 pectinase 효소를 이용하여 펙틴을 분해한 후 바이러스 농축을 진행하기도 한다.

패류의 경우 별도의 바이러스 농축과정 없이 단백질 분해 효소를 이용하여 중장선에 존재하는 바이러스를 탈리한다[17]. 단시간에 바이러스를 탈리할 수 있다는 장점이 있으며, 굴에서 노로바이러스를 최대 33,6%의 높은 회수율로 검출하였다. 이 방법은 ISO, 식품의약품안전처에서 준용한다. 그러나 최근 proteinase K가 바이러스의 캡시드를 분해하여 생존력이 있는 바이러스 회수를 저해시킬 수도 있다는 가능성이 제기되기도 하였다. 식육은 단백질, 지질 성분을 다량 함유하여 핵산 검출을 저해할 수 있으므로 적당한 검사 시료 양과 탈리용액을 선정해야 한다. 조직 자체를 chloroform, phenol과 같은 유기용매나 guanidine thiocyanate 화합물로 직접 처리하는 방법도 높은 회수율을 나타냈지만, 검사 시료의 양이나 적절한 탈리용액의 사용은 앞으로도 개선되어야 할 필요가 있다[18].

식품 내 바이러스 농축 방법

식품에서 바이러스를 농축하는 방법으로는 PEG 침전법, ultracentrifugation, ultrafiltration, immunoconcentration, cationic separation 등이 보고되고 있다(표 3) [14]. 주로 사용되는 바이러스 농축법은 PEG 침전법이다. PEG는 타 농축법에 사용되는 시약 및 기구보다 저렴하고 실험자가 다루기 쉬우므로 다수의 문헌에서 사용된 농축법이다. 그러나 농축용액의 pH를 중성으로 유지해야 하고 농축 과정이 노동집약적이며 장시간의 침전이 요구된다는 단점이 있다. PEG 침전법으로는 식품의 종류에 따라 약 7-60%의 회수율을 나타냈다.

Ultracentrifugation법은 식품 내 바이러스를 탈리한 후 용액을 약 100,000×g 이상에서 원심분리하여 바이러스를 회수하는 방법이다[14,19]. 타 농축법보다 일정한 실험 결과를 얻을 수 있다는 장점이 있지만, 장비가 고가이며 원심분리 전 filtration이나 원심분리 과정을 통해 큰 분자의 물질을 제거해주어야 한다. 주로 패류, 육류에서 약 3-10%의 회수율을 나타냈다. Ultrafiltration 법은 특정 pore사이즈의 filter를 장착하여 약 50-100 kDa보다 작은 분자의 물질은 필터를 통해 걸러내고 바이러스만 filter에 capture하여 농축하는 방법이다. PCR (polymerase chain reaction) 등의 분자생물학적 검출단

계에서 저해제로 작용할 수 있는 작은 분자를 filter를 통해 제거할 수 있다는 장점이 있지만, ultracentrifugation 법과 마찬가지로 filter 내 바이러스의 효율적 capture를 위해 큰 분자의 물질을 제거하는 과정이 요구된다. 이 방법은 과일 및 채소, 식육에서 3-9%의 바이러스 회수율을 나타냈다.

Immunoconcentration법은 magnetic bead에 특이적인 단백질(항체 등)을 결합해 바이러스를 검출하는 방법으로 타 농축법보다 높은 특이성을 나타낸다[14,20]. 최근까지 노로바이러스 검출을 위해 histo-blood group antigens과 porcine gastric mucin 등을 이용한 문헌이 보고되었다. 그러나 bead에 결합하는 항체를 활용할 경우 유전자 변이 가능성이 있는 바이러스의 특이적 결합을 모두 고려하기 어렵다. 그 밖에 cationic separation법은 양전하를 띠는 particle에 바이러스 capsid를 부착시켜 회수하는 방법이나 고가의 장비를 갖춰야 하며 검출 결과값이 일정하지 않을 수 있다는 단점이 있다.

바이러스 검출을 위한 핵산 정제 방법

식품이나 물, 토양 등 환경, 동식물의 조직, 혈액 등으로부터 핵산을 검출하고자 할 때에는 핵산증폭에 영향을 줄 수 있는 다양한 PCR inhibitor를 고려해야 한다[20,21]. PCR inhibitor는 단백질, 지질, 당류, phenols, ethanol과 같은 유기물과 염류나 이온 등 무기물의 형태로 다양하게 존재한다. 과일(베리류)을 포함한 식물류에는 flavonoid와 phenolic acid 등의 고분자 polyphenols 또는 phenols, pectin과 xylan과 같은 다당류를 상당량 함유하고 있으며, 해산물(패류)에는 glycogen을 포함한 다당체가 PCR inhibitor로 존재한다(표 4). 특히 패류나 식육에 오염된 바이러스 검출을 위한 전처리 시 단백질, 지질 성분을 고려하지 않을 수 없다.

핵산은 식품 전처리 과정이나 핵산 추출 과정, 핵산 증폭 과정에서 저해될 수 있으므로 각 단계를 염두하여 정제방법을 고안할 필요가 있다[20]. 대부분의 PCR inhibitor는 핵산 증폭과정 중 DNA polymerase를 직접적 또는 간접적으로 저해하거나 핵산 자체에 영향을 준다. 다당체는 polymerase와 결합하여 PCR 반응을 저해하거나 RNA와 함께 침전된 후 침전된 핵산의 resuspension을 저해한다. Phenol류는 RNA와 직접적으로 상호작용하거나 polymerase를 분해하여 핵산 증폭을 저해할 수 있다(표 4).

핵산 증폭에 영향을 줄 수 있는 식품 유래 인자는 식품 전처리 과정 또는 핵산추출과정 중에 제거되어야 한다[20,21]. 식품 전처리 과정 중 분자량이 큰 유기물질은 centrifugation이나 filter (0.20~5.00 μm)를 이용하여 제거한 후 PCR inhibitor의 특성을 고려하여 정제 방법을 선택한다. 지질과 단백질은 chloroform, phenol, butanol과 같은 유기용매, guanidine thiocyanate 화합물의 처리로 제거하는 것이 일반적이다. 다당체는 Tween-20과 같은 non-ionic detergent, 유기용매인 dimethyl sulfoxide, activated carbon, pectinase 효소 등 다양한 방법으로 제거할 수 있다. Phenolic compounds에는 Tween-20, Triton X-100 detergent를 처리하기도 한다. Cetrimonium bromide와 같이 polysaccharides와 반응하여 불용성 물질을 형성하거나 단백질을 변성시키는 detergent, dextran 등의 겔, chelex와 같은 킬레이트를 활용한 column chromatography로 물질 분획 또는 이온 교환을 통해 단

표 4. 주요 식중독바이러스 오염 식품에 존재하는 PCR inhibitors와 저해작용

식품	PCR inhibitors	저해작용
Fruit (berries)	Polysaccharides, Phenols	· Phenol: DNA polymerase에 결합 · 분해, RNA에 교차결합 · Polysaccharide: polymerase에 결합, RNA와 함께 침전하여 침전된 RNA의 resuspension을 저해
Plant	Polysaccharides (pectin, inulin, xylan 등), Polyphenols	
Seafood	Polysaccharides, Glycogen	

백질뿐만 아니라 다당체, 염류 등을 제거할 수 있다. 그 밖에 전처리된 용액을 희석하여 핵산을 추출하면 inhibitor 희석효과에 의해 핵산검출이 용이하지만, 검출 민감도에 영향을 줄 수 있다.

결론

식중독바이러스는 주로 사람 간 접촉 또는 분변-구강 경로로 전파되기 때문에 엄격한 개인 위생관리뿐만 아니라 생활하수 처리 등 정화과정을 통해 환경에 유입되지 않도록 철저히 관리해야한다. 이와 함께 과거부터 축적된 식품 및 환경 내 식중독바이러스 오염도에 관한 자료를 DB화하고 분석하여 위험요소를 예측한 후 지속적으로 관리한다면 식중독 발생률을 감소시킬 수 있을 것이다.

바이러스성 식중독 위험 가능성이 높은 식품군은 주로 패류, 식육, 과채류 중 잎채소와 베리류이며, 이들을 이용하여 제조한 샐러드, 식육 가공품 등 편의 · 가공식품도 이에 포함된다. 각 식품에는 단백질, 지질, 당류, 염류, 유기산, phenol류 등 다양한 유기, 무기성분들이 비율을 달리하여 함유되어 있다. 따라서 각 식품군 별로 민감도 높은 바이러스 검출을 위해 식품의 물리화학적 특성을 고려한 전처리법과 정제법을 개발할 필요가 있다. 또한 이를 기반으로 상시 식중독바이러스 모니터링 체계와 감시망을 구축하여 식품 내 바이러스 오염률을 감소시킬 수 있도록 학계, 산업계, 유관 정부부처의 관심과 긴밀한 상호협력이 요구된다.

감사의 글

본 연구는 2020년도 식품의약품안전처의 연구개발비(20162MFDS033)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Alidjinou EK, Sane F, Firquet S, Lobert PE, Hober D. Resistance of Enteric Viruses on Fomites. Intervirology. 2019 DOI: 10.1159/000448807

2. Iturriza-Gomara M, O'Brien SJ. Foodborne viral infections. Curr Opin Infect Dis. 2016 DOI: 10.1097/QCO.0000000000000299

3. Harrison L, DiCaprio E. Hepatitis E Virus: An Emerging Foodborne Pathogen. Front Sustain Food Syst. 2018 DOI: 10.3389/fsufs.2018.00014

4. Ng TL, Chan PP, Phua TH, Loh JP, Yip R, Wong C, et al. Oyster-associated outbreaks of Norovirus gastroenteritis in Singapore. J Infect. 2005 DOI: 10.1016/j.jinf.2004.11.003

5. Garbuglia AR, Scognamiglio P, Petrosillo N, Mastroianni CM, Sordillo P, Gentile D, et al. Hepatitis E virus genotype 4 outbreak, Italy, 2011. Emerg Infect Dis. 2013 DOI: 10.3201/eid1901.120983

6. Wichmann O, Schimanski S, Koch J, Kohler M, Rothe C, Plentz A, et al. Phylogenetic and Case-Control Study on Hepatitis E Virus Infection in Germany. J Infect Dis. 2008 DOI: 10.1086/593211

7. Potasman I, Paz A, Odeh M. Infectious Outbreaks Associated with Bivalve Shellfish Consumption: A Worldwide Perspective. Clin Infect Dis. 2002 DOI: 10.1086/342330

8. Rodr-guez-L-zaro D, Diez-Valcarce M, Montes-Briones R, Gallego D, Hern-ndez M, Rovira J. Presence of pathogenic enteric viruses in illegally imported meat and meat products to EU by international air travelers. Int J Food Microbiol. 2015 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.036

9. Gao S, Li D, Zha E, Zhou T, Wang S, Yue X. Surveillance of hepatitis e virus contamination in shellfish in china. Int J Environ Res Public Health. 2015 DOI: 10.3390/ijerph120202026

10. Kokkinos P, Kozyra I, Lazic S, Söderberg K, Vasickova P, Bouwknegt M, et al. Virological Quality of Irrigation Water in Leafy Green Vegetables and Berry Fruits Production Chains. Food Environ Virol. 2017 DOI: 10.1007/s12560-016-9264-2

11. Fusco G, Di Bartolo I, Cioffi B, Ianiro G, Palermo P, Monini M, et al. Prevalence of Foodborne Viruses in Mussels in Southern Italy. Food Environ Virol. 2017 DOI: 10.1007/s12560-016-9277-x

12. Park S, Jeong H, Jung J, Kim K, Park S, Kim M, et al. Monitoring the Hepatitis A Virus in Oyster from Korea. Adv Microbiol. 2015 DOI: 10.4236/aim.2015.513087

13. Terio V, Bottaro M, Pavoni E, Losio MN, Serraino A, Giacometti F, et al. Occurrence of hepatitis A and E and norovirus GI and GII in ready-to-eat vegetables in Italy. Int J Food Microbiol. 2017 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.008

14. Stals A, Baert L, Van Coillie E, Uyttendaele M. Extraction of food-borne viruses from food samples: A review. Int J Food Microbiol. 2012 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.014

15. Hida K, Kulka M, Papafragkou E. Development of a rapid total nucleic acid extraction method for the isolation of hepatitis A virus from fresh produce. Int J Food Microbiol. 2013 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.007

16. Stals A, Baert L, Van Coillie E, Uyttendaele M. Evaluation of a norovirus detection methodology for soft red fruits. Food Microbiol. 2011 DOI: 10.1016/j.fm.2010.08.004

17. Le Guyader FS, Parnaudeau S, Schaeffer J, Bosch A, Loisy F, Pommepuy M, et al. Detection and quantification of noroviruses in shellfish. Appl Environ Microbiol. 2009 DOI: 10.1128/AEM.01507-08

18. da Silva Luz I, Miagostovich MP. Comparison of viral elution-concentration methods for recovering noroviruses from deli meats. J Virol Methods. 2018 DOI: 10.1016/j.jviromet.2018.07.001

19. Rzeżutka A, Chrobocińska M, Kaupke A, Mizak B. Application of an Ultracentrifugation-based Method for Detection of Feline Calicivirus (a Norovirus Surrogate) in Experimentally Contaminated Delicatessen Meat Samples. Food Anal Methods. 2008 DOI: 10.1007/s12161-007-9002-3

20. Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, Johne R. PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. J Appl Microbiol. 2012 DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x

21. Hedman J, Rådström P. Overcoming inhibition in real-time diagnostic PCR. Methods Mol Biol. 2013 DOI: 10.1007/978-1-60327-353-4_2