식중독 세균의 생사균 구분 검출 기술 동향

Trends in Detection Technologies for Differentiating Viable and Non-viable Foodborne Pathogenic Bacteria

임정아*

Jeong-A Lim*

한국식품연구원 안전유통연구단

Research Group of Food Safety and Distribution, Korea Food Research Institute

임 정 아

Correspondence to

Jeong-A Lim
Food Safety and Distribution Research Group, Korea Food Research Institute, 245, Nongsaengmyeong-ro, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do, Republic of Korea.
Tel: +82-63-219-9366
Fax: +82-63-219-9876
E-mail: jeongalim@kfri.re.kr

서론

식품 안전은 전 세계적으로 공중 보건의 핵심 축을 이루는 중요한 문제이며, 안전하지 못한 식품 섭취로 인한 질병, 특히 식중독은 선진국과 개발도상국을 막론하고 심각한 사회적, 경제적 손실을 야기하는 주요 건강 문제로 남아있다. 세계보건기구(WHO)에 따르면, 매년 전 세계적으로 6억 명 이상이 오염된 식품 섭취로 인해 질병에 걸리며, 이 중 42만 명이 사망하는 것으로 추정된다[1]. 식중독은 설사, 구토, 복통과 같은 비교적 가벼운 증상부터 심각한 신경계 질환, 장기 부전, 심지어 사망에 이르는 다양한 임상 양상을 나타낼 수 있으며, 이는 원인 물질의 종류, 오염 정도, 섭취량, 그리고 개인의 건강 상태와 면역력 등 다양한 요인에 따라 달라진다[2]. 식중독을 일으키는 생물학적 요인(세균, 바이러스, 기생충, 곰팡이 등) 중 세균성 식중독은 가장 흔하게 발생하는 유형으로, 살모넬라, 병원성 대장균, 캠필로박터, 리스테리아 모노사이토제네스, 클로스트리디움 보툴리눔 등 다양한 세균이 원인이 될 수 있다[3]. 이러한 세균은 오염된 육류, 가금류, 해산물, 유제품, 채소류 등 다양한 식품을 통해 인체에 유입되어 감염을 일으키거나, 독소를 생산하여 질병을 유발한다[4].

식중독 원인 세균의 신속하고 정확한 검출은 식품 안전 관리 시스템의 핵심 요소로 간주된다. 식품 검사 과정에서 세균 오염 여부를 신속하게 파악하고, 오염된 식품의 유통을 차단하며, 필요한 경우 신속하게 회수 조치를 취함으로써 식중독 확산을 방지하고 소비자의 건강을 보호할 수 있다[5–7]. 또한, 식중독 발생 시 신속한 원인 규명은 역학 조사 및 방역 대책 수립에 필수적인 정보를 제공하여 추가적인 피

해를 최소화하는 데 기여한다.

특히, 식품의 실제 위해도를 정확하게 평가하기 위해서는 생존 능력을 갖춘 세균만을 선택적으로 검출하고, 그 활성 상태를 정량적으로 분석할 수 있는 기술의 개발이 매우 중요하다[8]. 예를 들어, 살균 처리된 식품에서 사멸된 세균은 존재하지만 인체에 위해를 끼치지 않을 수 있으므로, 이러한 식품을 오염된 것으로 잘못 판단하여 폐기하는 것은 경제적 손실을 초래할 뿐만 아니라, 소비자에게 불필요한 불안감을 야기할 수 있다. 따라서, 식품 산업의 품질 관리, 정부 규제 기관의 식품 안전 감시, 그리고 소비자 보호 측면에서, 생균과 사균을 명확하게 구분하여 검출할 수 있는 기술에 대한 수요가 지속적으로 증가하고 있다.

본 기고문에서는 현재까지 개발된 식중독 세균의 생사균 구분 검출 기술의 최신 연구 동향을 심층적으로 분석하고, 각 기술의 과학적 원리, 장단점을 기술하였으며 특히, 높은 숙주 특이성과 생존 가능한 세균에 대한 의존성을 바탕으로 혁신적인 생균 선택적 검출 플랫폼을 제공할 수 있는 박테리오파지 기반 검출 기술의 과학적 배경, 다양한 응용 분야, 그리고 미래 발전 가능성을 집중적으로 탐구하고, 이 기술이 식품 안전 분야에 미치는 잠재적인 영향력을 평가하였다.

본론

1. 식중독 세균 검출 기술의 현황 분석

식품에서 식중독 세균을 검출하는 기술은 그 작용 메커니즘, 분석 대상, 그리고 제공하는 정보의 종류에 따라 매우 다양하게 분류될 수 있으며, 각각의 기술은 고유한 장단점을 가지고 있어 특정 식품 유형이나 검사 목적에 따라 적절한 기술을 선택하여 적용하는 것이 중요하다(그림 1).

1.1 전통적 배양 기반 검출 기술의 원리, 한계 및 최신 개선 동향

전통적인 배양법은 특정 영양 성분을 함유한 배지에서 식품 시료 내에 존재하는 미생물을 증식시켜 눈으로 확인 가능한 집락을 형성하도록 유도하고, 집락의 형태학적 특성, 염색성, 그리고 생화학적 특성을 분석하여 표적 세균의 존재 유무와 수를 추정하는 방법이다 [7, 9]. 이 방법은 비교적 간단하고 저렴하며, 생존 가능한 세균의 존재를 직접적으로 확인할 수 있다는 장점을 가지지만, 검출에 수일이 소요되는 긴 분석 시간, 일부 세균의 경우 배양 조건이 까다롭거나 성장 속도가 느려 검출이 어려울 수 있다는 제한점을 가진다. 또한, 배양 과정에서 아생균(sublethally injured bacteria)이 완전히 회복되지 못하여 검출되지 않을 수 있으며, 배지 내에 존재하는 다른 미생물의 과도한 증식으로 인해 표적 세균의 검출이 방해 받을 수 있다 [10, 11].

이러한 전통적인 배양법의 한계를 극복하기 위해, 최근에는 크로모제닉(chromogenic) 또는 형광 표지(fluorogenic) 기질을 배지에 첨가하여 특정 세균의 효소 활성을 선택적으로 검출하거나, 면역학적 방법 또는 분자생물학적 방법과 결합하여 검출 효율을 향상시키는 다양한 변형된 배양법이 개발되고 있다[12, 13]. 예를 들어, 특정 세균이 생산하는 효소에 의해 발색되는 기질을 배지에 첨가하면, 표적 세균의 집락을 다른 미생물과 쉽게 구별할 수 있으며, 특정 항체를 코팅한 자성 입자를 이용하여 표적 세균을 선택적으로 분리한 후 배양하는 방법은 검출 민감도를 향상시키는 데 기여할 수 있다[14]. 또한, 자동화된 집락 계수 시스템을 도입하여 분석 시간을 단축하고 객관성을 확보하려는 노력도 이루어지고 있다[15, 16].

1.2 면역학적 검출 기술의 원리, 한계 및 기술적 고도화 동향

면역학적 방법은 특정 세균의 표면 항원과 특이적으로 결합하는 항체를 이용하여 세균의 존재를 확인하는 방식으로, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), lateral flow immunoassay (LFIA), immunomagnetic separation 등 다양한 플랫폼으로 구현되어 식품 검사 현장에서 널리 사용되고 있다[10, 17, 18]. 이러한 방법들은 배양법에 비해 비교적 신속하게 결과를 얻을 수 있으며, 대량의 시료를 동시에 처리할 수 있는 장점을 가지지만, 생균과 사균을 구분하지 못하며, 복잡한 식품

매트릭스 내에 존재하는 다양한 성분(예: 단백질, 지방, 탄수화물 등)으로 인한 비특이적 반응으로 인해 위양성 또는 위음성 결과를 초래할 수 있다는 문제점을 안고 있다[11, 19]. 또한, 항체의 특이성 및 친화도가 검출 성능에 큰 영향을 미치므로, 고품질의 항체를 확보하는 것이 중요하다.

최근에는 면역학적 방법의 성능을 향상시키기 위해 다양한 기술적 발전이 이루어지고 있다. 나노 입자(예: 금 나노 입자, 자성 나노 입자)를 활용하여 신호를 증폭시키거나, 다양한 표지 물질(예: 형광 물질, 화학발광 물질)을 사용하여 검출 감도를 높이는 방법이 개발되고 있으며, 미세유체 칩(microfluidic chip) 기술을 접목하여 분석 시간을 단축하고 휴대성을 높이는 연구도 활발하게 진행되고 있다[20–22]. 또한, 유전자 재조합 기술을 이용하여 항체의 특이성과 친화도를 개선하거나, 항체의 안정성을 향상시키는 연구도 이루어지고 있으며, 압타머(aptamer)와 같은 항체 대체 물질을 활용하여 면역학적 분석의 한계를 극복하려는 시도도 이루어지고 있다[23–25].

1.3 분자생물학적 검출 기술의 민감도, 한계 및 생사균 구분을 위한 최신 접근

분자생물학적 방법, 특히 PCR 및 실시간 정량 PCR (qPCR)은 표적 세균의 특정 DNA 서열을 증폭하여 극미량의 세균까지 검출할 수 있는 매우 높은 민감도와 특이성을 제공하며, 식품 샘플에서 직접 DNA를 추출하여 분석할 수 있으므로 배양 과정 없이 신속한 검출이 가능하다[10, 11]. 이러한 장점 덕분에 PCR은 식품 미생물 검사 분야에서 널리 사용되는 핵심 기술로 자리 잡았지만, DNA는 사멸된 세균에서도 안정적으로 존재하기 때문에 생균과 사균을 구별할 수 없다는 치명적인 단점을 안고 있다[26–28]. 즉, PCR 결과가 양성으로 나타나더라도, 이는 생존 가능한 세균에 의한 오염인지, 아니면 사멸된 세균의 잔해에 의한 것인지 판단할 수 없다는 의미이다.

이러한 PCR의 한계를 극복하고 생사균을 구별하기 위해, 다양한 전처리 방법이나 RNA 분석과 같은 접근 방식이 시도되고 있다(그림 2). 예를 들어, Propidium monoazide (PMA) 또는 ethidium monoazide (EMA)

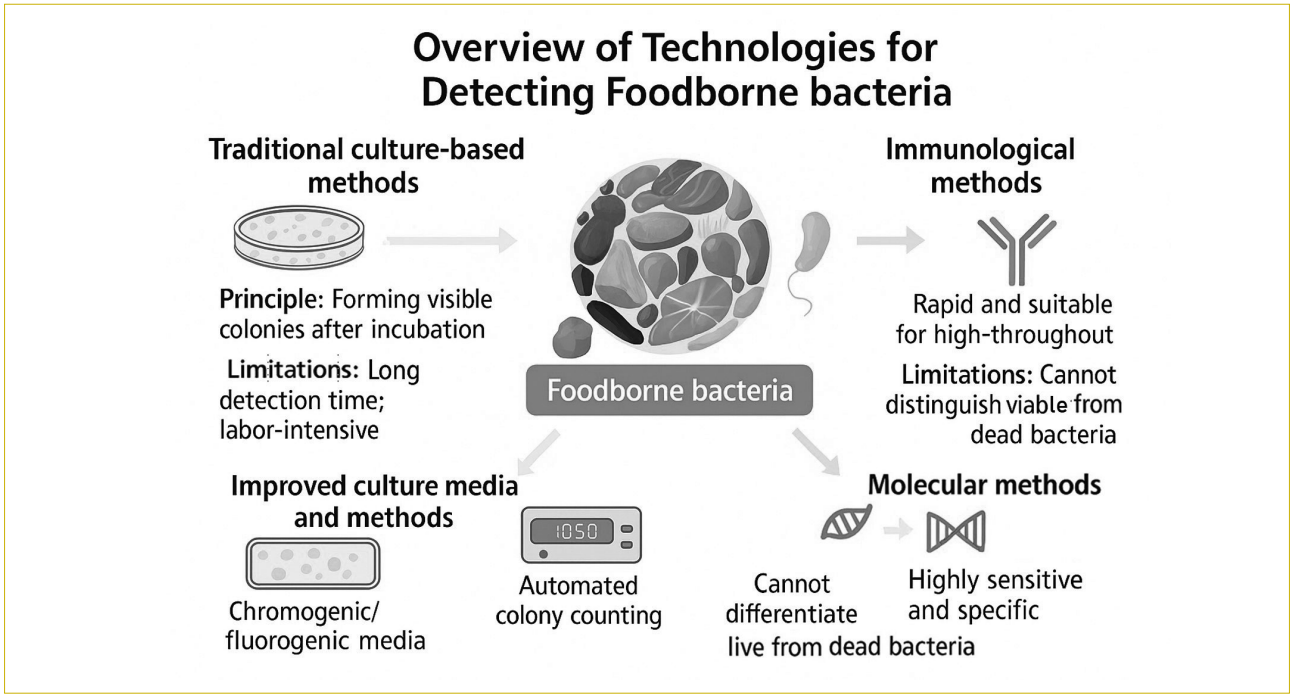

그림 1. 식중독 세균 검출 기술의 개요

와 같은 DNA 결합 염료를 사용하여 사멸된 세균의 DNA를 선택적으로 불활성화시킨 후 PCR을 수행하는 방법은 사균의 DNA 증폭을 억제하고 생균의 DNA만을 선택적으로 검출할 수 있도록 해준다[26, 29]. 또한, 생균 내에서만 존재하는 mRNA를 역전사 PCR(RT-PCR)을 이용하여 검출하는 방법은 생균의 활성을 간접적으로 평가할 수 있지만, 일부 안정적인 mRNA는 사멸된 세균 내에서도 비교적 오랜 기간 동안 잔존할 수 있어 완벽하게 생균만을 구분하기 어렵다는 한계를 가진다[8, 27, 30]. 최근에는 등온 증폭 기술(isothermal amplification techniques)을 활용하여 PCR의 복잡한 온도 변화 과정을 단순화하고, 현장 진단(point-of-care testing)에 적합한 소형화된 검출 시스템을 개발하려는 연구도 활발하게 진행되고 있다[31, 32].

1.4 생균 활성 지표 기반 식중독 세균 검출 기술의 응용과 한계

생균의 활성을 직접적으로 측정하는 방법은 식품의 실제 위해도를 평가하는 데 매우 유용한 정보를 제공할 수 있다. 이러한 방법들은 생균의 대사 활동 또는 생존에 필수적인 특정 분자의 양을 측정하거나, 생균이 생산하는 특정 효소의 활성을 측정하는 방식으로 작동한다(그림 2).

(1) **ATP (adenosine triphosphate) 측정법:** ATP는 모든 살아있는 세포 내에 존재하는 에너지 운반 분자로, 세포의 생존 및 대사 활동에 필수적인 역할을 한다. ATP 측정법은 시료 내에 존재하는 ATP의 양을 측정하여 생균의 전체적인 활성도를 간접적으로 평가하는 방법으로, luciferase 효소를 이용한 발광 반응을 통해 ATP를 검출하는 것이 일반적이다[7, 33, 34]. 이 방법은 비교적 신속하게 결과를 얻을 수 있으며, 다양한 식품 유형에 적용 가능하다는 장점을 가지지만, 모든 살아있는 세포를 검출하므로 표적 세균에 대한 특이성이 낮고, 식품 매트릭스 내에 존재하는 다른 유기물질이 발광 반응에 영향을 미칠 수 있다는 제한점을 가진다.

(2) **효소 활성 측정법:** 특정 세균이 생산하는 특이적인 효소의 활성을 측정하여 생균의 존재를 추정하는 방법이다. 예를 들어, 대장균 O157:H7은 β-glucuronidase 효소를 생산하므로, 이 효소의 활성을 측정하여 대장균 O157:H7의 존재를 검출할 수 있다[12, 33, 35]. 이 방법은 특정 세균에 대한 선택성을 어느 정도 확보할 수 있지만, 효소 활성이 반드시 생균의 생존 능력과 직접적으로 비례하지는 않으며, 효소 활성이 사멸된 세균의 잔해에 의해 일부 유지될 수 있다는 점을 고려해야 한다.

(3) **Reporter gene assay:** 생균 내에서만 발현되는 reporter 유전자(예: luciferase, β-galactosidase, green fluorescent protein)를 도입하여, 생균이 존재할 때 reporter 단백질이 발현되어 빛, 색깔, 또는 형광 신호를 나타내는 원리를 이용한다[27, 36]. 이 방법은 비교적 높은 특이성을 확보할 수 있지만, 유전자

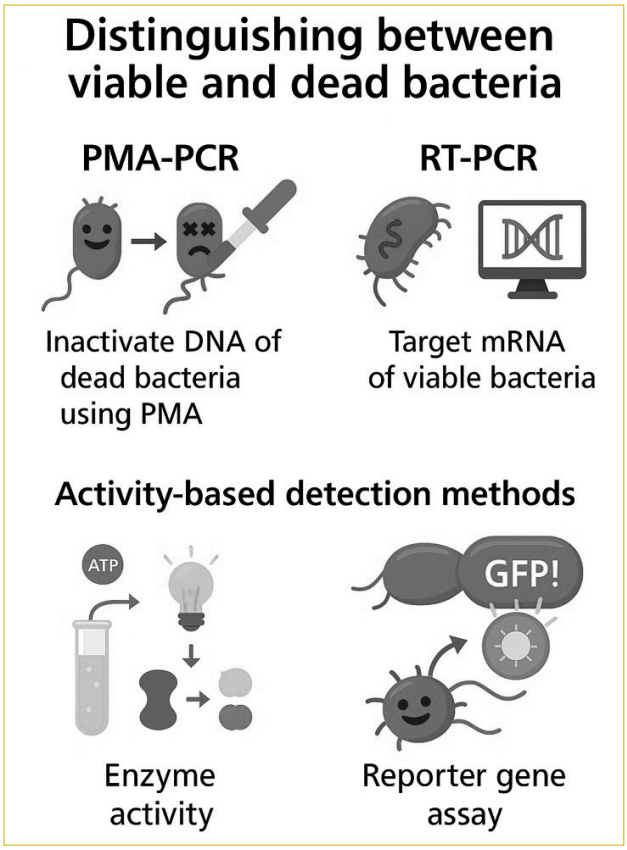

그림 2. 식중독 세균 생사균 구분 검출 방법

조작된 세균을 사용해야 하므로 식품 검사 적용에 제한이 있을 수 있으며, reporter 단백질 발현까지 일정 시간이 소요된다는 단점이 있다.

이러한 활성 기반 검출 방법들은 생균의 생리학적 상태를 직접적으로 반영한다는 장점을 가지지만, 민감도가 상대적으로 낮을 수 있으며, 식품 매트릭스 내에 존재하는 다양한 성분이 측정 결과에 영향을 미칠 수 있다는 점을 고려해야 한다. 따라서, 이러한 방법들을 단독으로 사용하기보다는 다른 검출 기술과 결합하여 사용하는 것이 더 정확한 생사균 구분에 도움이 될 수 있다.

2. 박테리오파지를 활용한 생사균 구분 기술의 원리와 응용

박테리오파지는 특정 세균에 매우 특이적으로 감염하여 자신의 유전 물질을 주입하고, 숙주 세포의 생합성 기구를 이용하여 복제된 후, 새로운 파지 입자를 방출하기 위해 숙주 세포를 용해시키는 바이러스이다. 이러한 고유한 특성 덕분에, 박테리오파지는 살아있는 세균만을 선택적으로 인식하고 검출할 수 있는 매우 유용하고 혁신적인 도구로 주목받고 있다[37, 38].

2.1 박테리오파지의 생물학적 특성 및 숙주 특이성

박테리오파지는 지구상에 존재하는 세균보다 약 10배 이상 많은 것으로 추정되며, 다양한 환경(토양, 물, 식품 등)에서 세균과 함께 존재한다. 파지의 크기는 일반적으로 20nm에서 200nm 사이이며, 머리(head)와 꼬리(tail)로 구성된 독특한 구조를 가지고 있다(그림 3). 파지의 유전 물질은 DNA 또는 RNA이며, 단일 가닥 또는 이중 가닥 형태를 가질 수 있다[37, 39].

파지의 가장 큰 특징 중 하나는 숙주 특이성(host specificity)이다. 파지는 숙주 세포 표면의 특정 수용체(receptor)에 결합하는 방식으로 감염을 시작하는데, 이 수용체는 특정 세균 종 또는 심지어 특정 균주에만 존재하기 때문에, 파지는 매우 좁은 범위의 숙주 세균만을 감염시킬 수 있다[39]. 이러한 높은 숙주 특이성은 파지를 이용하여 복잡한 미생물 군집 내에서도 표적 세균만을 정확하게 검출하고, 다른 비표적 세균의 간섭 없이 생균만을 선택적으로 검출할 수 있도록 해주는 핵심적인 특성이다.

파지의 숙주 특이성은 파지 꼬리 부분에 존재하는 숙주 결합 단백질(host-binding protein)의 아미노산 서열과 3차원 구조에 의해 결정된다[40, 41]. 숙주 세포 표면의 수용체는 세균의 세포벽 성분(예: 지질다당류, 외막 단백질) 또는 편모, 섬모와 같은 부속 기관일 수 있다. 파지는 숙주 세포 표면에 결합한 후, 꼬리 구조의 변화를 통해 자신의 유전 물질을 숙주 세포 내부로 주입한다.

2.2 박테리오파지의 용균성 생활사와 생균 선택성의 원리

박테리오파지는 숙주 세포에 감염된 후, 용균성 생활

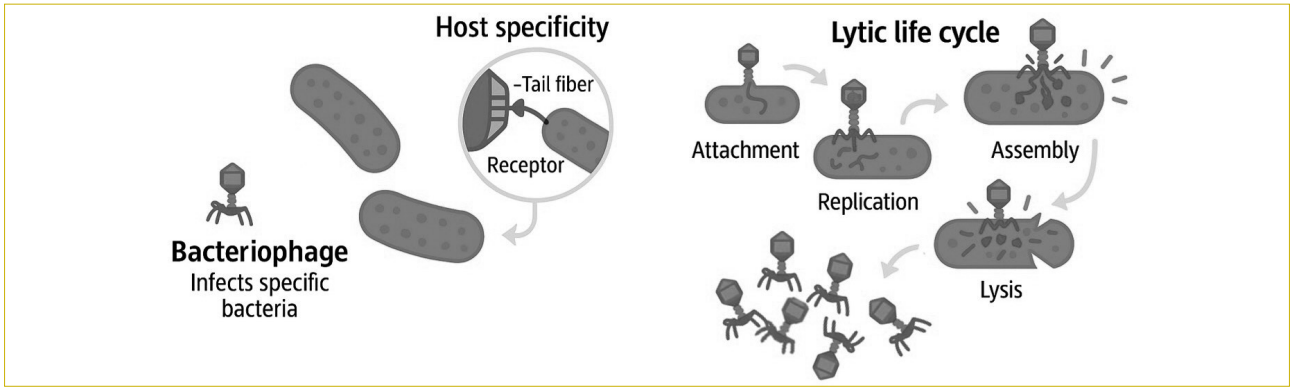

그림 3. 박테리오파지의 생물학적 특성과 용균 생활사

사(lytic life cycle) 또는 용원성 생활사(lysogenic life cycle)를 거치게 된다. 용균성 파지는 숙주 세포 내에서 자신의 유전 물질을 복제하고, 새로운 파지 입자를 조립한 후, 숙주 세포를 용해시켜 방출되는 생활사을 거친다(그림 3) [39]. 용원성 파지는 자신의 유전 물질을 숙주 세포의 염색체에 삽입하여 prophage 형태로 존재하며, 숙주 세포 분열 시 함께 복제되어 딸 세포로 전달된다. Prophage는 특정 조건(예: 자외선 조사, 영양분 결핍) 하에서 용균성 생활사로 전환될 수 있다.

식품 검사에 활용되는 파지는 주로 용균성 파지이다. 용균성 파지는 숙주 세포에 감염된 후, 숙주 세포의 리보솜, 효소, 그리고 기타 생합성 기구를 이용하여 자신의 유전 물질을 복제하고, 새로운 파지 입자를 대량으로 생산한다. 파지 복제가 완료되면, 파지는 숙주 세포를 용해시키는 효소(예: 엔도리신, 홀린)를 생산하여 세포벽을 파괴하고, 새로운 파지 입자를 세포 외부로 방출한다[42]. 방출된 파지 입자는 주변의 다른 숙주 세포를 감염시켜 동일한 과정을 반복한다(그림 3).

박테리오파지의 감염 및 증식 과정은 숙주 세포의 활발한 대사 활동과 생합성 기구를 필요로 한다. 사멸된 세균은 이러한 기능을 수행할 수 없으므로, 파지는 생존 능력을 갖춘 세균에만 효율적으로 감염하고 증식할 수 있다. 이러한 생균 선택성은 박테리오파지를 이용하여 식품 시료 내에 존재하는 생존 가능한 식중독 세균만을 선택적으로 검출할 수 있도록 해주는 핵심적인 원리이다. 즉, 살균, 소독, 가열 등의 처리 과정을 거친 식품 시료에서 사멸된 세균의 잔해가 존재하더라도, 파지는 이러한 사균에 감염되지 않고, 생존 가능한 세균에만 특이적으로 감염하여 증식하므로, 실제 위해 가능성이 있는 세균만을 정확하게 검출할 수 있다.

2.3 박테리오파지 기반 검출 기술의 다양한 응용 사례 및 플랫폼

박테리오파지의 높은 숙주 특이성과 생균 선택성을 활용하여 다양한 형태의 식중독 세균 검출 기술이 개발되고 있다. 이러한 기술들은 파지의 감염 및 증식 과정을 다양한 신호 변환 시스템과 접목하여, 표적 세균을 신속하고 정밀하게 검출할 수 있는 형태로 구현되고 있다(그림 4).

(1) **Reporter phage assay**: 파지 유전체 내에 luciferase, green fluorescent protein (GFP), β-galactosidase와 같은 reporter 유전자를 삽입하여, 파지가 생균에 감염되었을 때 reporter 유전자가 발현되어 빛, 형광, 또는 색깔 신호를 발생시키는 원리를 이용한다[43-45]. 이 방법은 높은 특이성과 비교적 빠른 검출 시간을 제공하지만, 유전자 조작된 파지를 사용해야 하므로 식품 검사 적용에 제한이 있을 수 있으며, reporter 단백질 발현까지 일정 시간이 소요된다는 단점이 있다. 최근에는 CRISPR-Cas 시스템과 같은 유전자 편집 기술을 활용하여 더욱 효율적으로 파지 유전체에 reporter 유전자를 삽입하는 방법이 개발되고 있다.

(2) **Phage amplification assay**: 생균이 존재할 때 파지의 증식을 유도하고, 증폭된 파지의 양을 측정하여 생균 수를 간접적으로 추정하는 방법이다[46, 47]. 파지 증식은 숙주 세포의 용균에 의해 유도되는 탁도(turbidity) 변화, DNA 또는 RNA 양의 증가, 또는 새로운 파지 입자의 형성 등을 측정하여 평가할 수 있다. 이 방법은 비교적 간단하고 저렴하게 구현할 수 있지만, 파지 증식 속도가 숙주 세균의 생리적 상태에 따라 달라질 수 있으며, 파지 증식 과정에서 사멸된 세균에서 유래한 유전 물질이 검출될 수 있다는 점을 고려해야 한다.

(3) **Phage binding assay**: 파지 입자를 형광 물질, Quantum dot, 금 나노 입자, 또는 자성 나노 입자와 같은 표지 물질로 표지하여, 표지된 파지가 생균 표면에 특이적으로 결합하는 것을 검출하는 방식이다[48, 49]. 표지된 파지는 형광 현미경, 공초점 현미경, 유세포 분석기, 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 센서와 같은 다양한 광학적 또는 물리적 검출 장치를 이용하여 시각화하거나 정량화할 수 있다. 이 방법은 신속하고 민감한 검출이 가능하지만, 파지 표지 과정이 복잡하

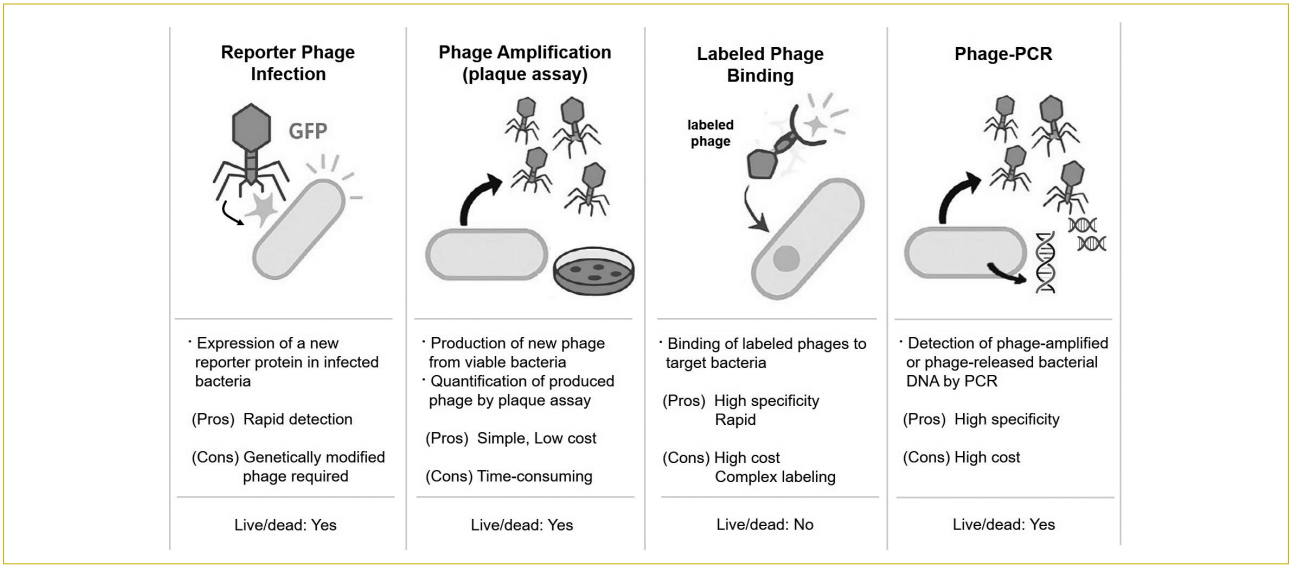

그림 4. 박테리오파지를 이용한 식중독 세균 검출의 원리 및 다양한 플랫폼

고 비용이 많이 소요될 수 있으며, 표지 물질이 파지의 숙주 특이성에 영향을 미칠 수 있다는 점을 고려해야 한다.

(4) Phage-PCR: 파지가 생균에 특이적으로 감염한 후, 숙주 세포 내부에서 증폭된 파지 유전 물질 또는 표적 세균의 특정 유전자를 PCR로 증폭하는 방식이다 [50-52]. 이 방법은 파지의 높은 숙주 특이성과 PCR의 높은 민감도를 결합하여 생균만을 선택적으로 검출할 수 있도록 해준다. 즉, 파지는 사멸된 세균에 의해 증폭되지 않고 살아있는 세균의 유전자만 파지 감염에 의해 노출되므로, PCR 결과가 양성으로 나타나는 경우 이는 반드시 생존 가능한 세균에 의한 오염을 의미한다.

향후 전망 및 결론

생사균 구분 기술은 식중독 예방과 위해 평가의 정확성 향상에 기여하는 핵심 기술로, 식품 안전 관리를 위한 새로운 기준을 제시한다. 특히 박테리오파지 기반 검출법은 생균 특이성과 높은 민감도를 바탕으로 기존 기술의 한계를 극복할 수 있는 혁신적 플랫폼으로 주목받고 있다.

향후 기술 발전은 생균 선택성과 신속성, 현장 적용 가능성의 균형을 중점으로 이루어져야 한다. 이를 위해 등온 증폭 기술, 나노소재, 마이크로플루이딕 칩, CRISPR-Cas 시스템 등 다양한 정밀 생물학 기술과의 융합이 시도되고 있으며[53, 54], 실제 식품 시료에 대한 적용성 확보와 비특이 반응 최소화가 핵심 과제로 남아 있다. 또한 사용자 중심의 간단한 전처리, 자동화 가능성, 낮은 비용 구조는 실질적인 산업 적용을 위한 필수 요소이다. 이와 함께, 파지 기반 기술의 공인 표준화와 사회적 수용성 확보도 중요하다. 유전자변형요소를 최소화하거나 비-GMO 시스템 개발, 생분해성 소재 활용 등은 소비자 신뢰 형성에 기여할 수 있으며, 이를 바탕으로 국내외 규제에 부합하는 기술 개발이 이루어져야 한다.

결론적으로, 생사균을 구분할 수 있는 기술은 단순한 검출을 넘어 식품 안전성 평가의 정확도를 높이고, 불필요한 식품 폐기를 줄이며, 소비자와 산업 모두에 실질적인 이익을 제공할 수 있다. 박테리오파지를 기반으로 한 검출법은 이러한 방향성에 부합하는 유망한 기술로, 향후 다양한 생물학적 진단 기술과의 융합을 통해 그 활용 범위는 더욱 확대될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2025년도 과학기술정보통신부 연구개발비(식품에 오염된 병원성미생물 초기 데이터 생성기술 개발, E0210701)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Lee, H. and Y. Yoon, *Etiological Agents Implicated in Foodborne Illness World Wide.* Food Sci Anim Resour, 2021. **41**(1): p. 1-7.

2. Tahir, M., et al., *Foodborne pathogens in poultry: A public health concern.* Zoonosis, 2023. **1**: p. 447-458.

3. Scallan Walter, E.J., et al., *Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens, 2019.* Emerg Infect Dis, 2025. **31**(4): p. 669-677.

4. Liu, Z., et al., *Recent Advances in Food Safety: Nanostructure-Sensitized Surface-Enhanced Raman Sensing.* Foods, 2025. **14**(7).

5. Gao, R., et al., *Research progress on detection of foodborne pathogens: The more rapid and accurate answer to food safety.* Food Research International, 2024: p. 114767.

6. Pampoukis, G., et al., *Recent advances and applications of rapid microbial assessment from a food safety perspective.* Sensors, 2022. **22**(7): p. 2800.

7. Vasavada, P.C., A. Lee, and R. Betts, *Conventional and novel rapid methods for detection and enumeration of microorganisms.* Food safety engineering, 2020: p. 85-128.

8. Baymiev, A.K., et al., *Modern approaches to differentiation of live and dead bacteria using selective amplification of nucleic acids.* Microbiology, 2020. **89**: p. 13-27.

9. Farid, A., et al., *"Emerging technologies for detecting foodborne pathogens and spoilage microorganisms in milk: Ensuring safety and quality".* Food Microbiol, 2025. **130**: p. 104763.

10. Panwar, S., et al., *Advanced diagnostic methods for identification of bacterial foodborne pathogens: contemporary and upcoming challenges.* Crit Rev Biotechnol, 2023. **43**(7): p. 982-1000.

11. Aladhadh, M., *A Review of Modern Methods for the Detection of Foodborne Pathogens.* Microorganisms, 2023. **11**(5).

12. Jia, Z., et al., *Multiplexed detection and differentiation of bacterial enzymes and bacteria by color-encoded sensor hydrogels.* Bioactive materials, 2021. **6**(12): p. 4286.

13. Pala, L., T. Sirec, and U. Spitz, *Modified enzyme substrates for the detection of bacteria: A review.* Molecules, 2020. **25**(16): p. 3690.

14. Zhang, H., et al., *Development of Recombinant Antibodies and Its Application in Immunomagnetic Separation-Based Rapid Detection of Vibrio cholerae in Aquatic Environments.* Journal of Microbiology and Biotechnology, 2024. **34**(11): p. 2266.

15. Heuser, E., K. Becker, and E.A. Idelevich, *Evaluation of an automated system for the counting of microbial colonies.* Microbiology Spectrum, 2023. **11**(4): p. e00673-23.

16. Rodrigues, P.M., J. Luís, and F.K. Tavaria, *Image analysis semi-automatic system for colony-forming-unit counting.* Bioengineering, 2022. **9**(7): p. 271.

17. Bai, M., et al., *Nanobody-based immunomagnetic separation platform for rapid isolation and detection of Salmonella enteritidis in food samples.* Food Chem, 2023. **424**: p. 136416.

18. Liu, S., et al., *Research progress on detection techniques for point-of-care testing of foodborne pathogens.* Front Bioeng Biotechnol, 2022. **10**: p. 958134.

19. Radomirovic, M., N. Gligorijevic, and A. Rajkovic, *Immuno-PCR in the Analysis of Food Contaminants.* Int J Mol Sci, 2025. **26**(7).

20. Banakar, M., et al., *Electrochemical Biosensors for Pathogen Detection: An Updated Review.* Biosensors (Basel), 2022. **12**(11).

21. Yang, T., et al., *Rapid and label-free identification of single foodborne pathogens using microfluidic pore sensors.* Front Nutr, 2022. **9**: p. 959317.

22. Song, S., et al., *Recent Progress in Nanomaterial-Based Fluorescence Assays for the Detection of Food-Borne Pathogens.* Sensors (Basel), 2024. **24**(23).

23. Rabia, L.A., et al., *Understanding and overcoming trade-offs between antibody affinity, specificity, stability and solubility.* Biochem Eng J, 2018. **137**: p. 365-374.

24. Peltomaa, R., et al., *Recombinant antibodies and their use for food immunoanalysis.* Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2022. **414**(1): p. 193-217.

25. Kalita, J.J., P. Sharma, and U. Bora, *Recent developments in application of nucleic acid aptamer in food safety.* Food Control, 2023. **145**: p. 109406.

26. Zhuang, L., et al., *Progress in methods for the detection of viable Escherichia coli.* Analyst, 2024. **149**(4): p. 1022-1049.

27. Foddai, A.C.G. and I.R. Grant, *Methods for detection of viable foodborne pathogens: current state-of-art and future prospects.* Appl Microbiol Biotechnol, 2020. **104**(10): p. 4281-4288.

28. Hadi, J., et al., *Molecular detection and characterization of foodborne bacteria: Recent progresses and remaining challenges.* Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2023. **22**(3): p. 2433-2464.

29. Kaur, S., et al., *Propidium Monoazide is Unreliable for Quantitative Live - Dead Molecular Assays.* Analytical Chemistry, 2025. **97**(5): p. 2914-2921.

30. Azinheiro, S., et al., *Next-day detection of viable Listeria monocytogenes by multiplex reverse transcriptase real-time PCR.* Food Control, 2022. **133**: p. 108593.

31. Lu, Y., et al., *Isothermal nucleic acid amplification based microfluidic "lab-on-a-chip" for the detection of pathogenic bacteria and viruses in agri-foods.* Trends in Food Science & Technology, 2024: p. 104482.

32. Hamidizadeh, M., R.F. Martins, and F.F. Bier, *Point-of-Care Diagnostics Using Self-heating Elements from Smart Food Packaging: Moving Towards Instrument-Free Nucleic Acid-Based Detection.* Molecular Diagnosis & Therapy, 2025. **29**(1): p. 67-80.

33. Jahan, N., et al., *Diagnostics Based on Microbial Enzymes*, in *Microbial Products for Health and Nutrition*. 2024, Springer. p. 73-108.

34. Ihssen, J., et al., *Real-time monitoring of extracellular ATP in bacterial cultures using thermostable luciferase.* PLoS One, 2021. **16**(1): p. e0244200.

35. Shayan, M.N., et al., *A simple and rapid method for detecting fecal pollution in urban rivers by measuring the intrinsic β-D-glucuronidase activity of Escherichia coli.* Water Research, 2023. **246**: p. 120689.

36. Shin, J., M. Miller, and Y.C. Wang, *Recent advances in CRISPR-based systems for the detection of foodborne pathogens.* Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022. **21**(3): p. 3010-3029.

37. Wang, J., et al., *Application of bacteriophage in rapid detection of Escherichia coli in foods.* Current Opinion in Food Science, 2021. **39**: p. 43-50.

38. Aliakbar Ahovan, Z., et al., *Bacteriophage Based Biosensors: Trends, Outcomes and Challenges.* Nanomaterials (Basel), 2020. **10**(3).

39. Gamachu, S.B. and M. Debalo, *Review of bacteriophage and its applications.* International Journal of Veterinary Science and Research, 2022. **8**(3): p. 133-147.

40. Klumpp, J., M. Dunne, and M.J. Loessner, *A perfect fit: Bacteriophage receptor-binding proteins for diagnostic and therapeutic applications.* Curr Opin Microbiol, 2023. **71**: p. 102240.

41. Boeckaerts, D., et al., *Predicting bacteriophage hosts based on sequences of annotated receptor-binding proteins.* Scientific reports, 2021. **11**(1): p. 1467.

42. Dennehy, J.J. and S.T. Abedon, *Phage infection and lysis*, in *Bacteriophages: biology, technology, therapy*. 2021, Springer. p. 341-383.

43. Meile, S., et al., *Engineered reporter phages for rapid bioluminescence-based detection and differentiation of viable Listeria cells.* Applied and environmental microbiology, 2020. **86**(11): p. e00442-20.

44. Meile, S., et al., *Engineered reporter phages for detection of Escherichia coli, Enterococcus, and Klebsiella in urine.* Nature communications, 2023. **14**(1): p. 4336.

45. Meile, S., et al., *Reporter phage-based detection of bacterial pathogens: design guidelines and recent developments.* Viruses, 2020. **12**(9): p. 944.

46. Huang, C., et al., *Phage amplification-based technologies for simultaneous quantification of*

viable Salmonella in foodstuff and rapid antibiotic susceptibility testing. Food Research International, 2022. **156**: p. 111279.

47. Beinhauerova, M. and I. Slana, *Phage amplification assay for detection of mycobacterial infection: a review.* Microorganisms, 2021. **9**(2): p. 237.

48. Patel, F., *Optimisation and Development of Quantum Dot-Labelled Bacteriophages for the Detection and Killing of Poultry Associated Salmonella spp*. 2023, University of Leicester.

49. O'connell, L., *Optical bacteriophage susceptibility test by Surface Plasmon Resonance*. 2022, Université Grenoble-Alpes.

50. Malagon, F., et al., *Phage-mediated molecular detection (PMMD): A novel rapid method for phage-specific bacterial detection.* Viruses, 2020. **12**(4): p. 435.

51. Huang, C., et al., *Dual phage amplification-mediated multiplex detection strategies for the simultaneous detection of Salmonella enterica and Staphylococcus aureus.* Talanta, 2023. **253**: p. 124095.

52. Kim, S.-M., et al., *Bacteriophage-assisted lysis and eluted genomic DNA-based detection of pathogenic bacterial contamination in food.* Food Control, 2024. **162**: p. 110433.

53. Azeez, S.S., et al., *Advances in CRISPR-Cas technology and its applications: Revolutionising precision medicine.* Frontiers in Genome Editing, 2024. **6**: p. 1509924.

54. Tao, J., D.E. Bauer, and R. Chiarle, *Assessing and advancing the safety of CRISPR-Cas tools: from DNA to RNA editing*. Nature Communications, 2023. **14**(1): p. 212.