수산물에서 식중독 세균을 신속하게 검출하는 최근 기술

Rapid Methods for the Detection of Foodborne Pathogens from Seafoods

김진희[1], 구은정[1], 성지영[1], 명현군[2], 오세욱[1*]

Jin-Hee Kim[1], Eun-Jeong Koo[1], Ji-Yeong Seong[1], Hyeon-Koon Myeong[2], Se-Wook Oh[1*]

[1]국민대학교 식품영양학과

[2]솔젠트(주)

[1]Department of Food and Nutrition, Kookmin University

[2]SolGent co.,Ltd R&D management team

서 론

식중독 세균은 최근 식생활 패턴 변화, 지구 온난화 현상, 수명 연장에 의한 노인 인구와 같은 취약 인구 증가, 실내온도 상승 등 환경변화로 인하여 국내외 가공식품과 즉석식품에서 다양하게 검출되고 있으며 이에 따라 식중독 발생이 증가하고 있다. 2014년 우리나라에서 발생된 식중독 발생 건은 349건, 식중독 환자 수는 7,466명으로 보고되고 있다. 이에 따라 식품 속 미량 존재하는 식중독 세균의 신속 검출이 주목받고 있다.

전통적인 방법인 표준 방법에 의한 식중독 세균 검출은 오랜 시간이 요구되는 단점이 있다. *Salmonella* spp.의 경우 증균배양, 분리배양을 거쳐 확인시험과 혈청시험 등의 과정이 필요하기 때문에 일주일 정도가 소요된다. 이러한 단점을 극복하고 식중독 세균을 신속하게 검출하기 위한 기술로 생화학적 방법과 식중독 세균의 DNA 분석을 기반으로 하는 polymerase chain reaction(PCR), 등온증폭에 의한 loop-mediated isothermal amplification(LAMP) 방법이 널리 이용되고 있다. 식중독세균은 PCR이나 LAMP와 같은 분자진단 방법을 이용하여 검출하기 위해서는 각 검출기술이 가지는 고유의 검출한계(detection limit) 이상의 균 농도가 필요하며 이를 위하여 반드시 미생물 증균과정(enrichment)이 필요하다. 이러한 증균 과정은 보통 8시간 이상이 소요되기 때문에 신속기술을 적용하더라도 진정한 의미의 신속검출 기술이라고 할 수 없다.

최근 미생물 증균과정을 대체하기 위한 filter를 이용한 미생물 농축기술, 원심분리를 이용한 미생물 농축기술이 꾸준히 연구되고 있다. 또한 미생물 농도를 검출한계 이상으로 증가시키기 보다는 DNA 농도를 검출한계 이상으로 증폭시키려는 연구가 시도되고 있다. 본 원고에서는 Whole genome amplification(WGA), Nucleic acid lateral flow immunoassay(NALFA) 등의 최근 식중독 세균 검출기술에 대하여 서술하고자 하였다.

* Correspondence to: Se-Wook Oh
Department of Food and Nutrition, Kookmin University,
77 Jeongneung-ro, Seongbuk-gu, Seoul, 136-702, Republic of Korea
Tel: 02-910-5778 E-mail: swoh@kookmin.ac.kr

1. 생화학적 방법

식중독 세균의 생화학적 특성을 이용하는 가장 기본적인 방법으로 1980년대부터 개발되기 시작하였다. 90% 이상의 높은 정확성을 갖지만 평균적으로 18-24시간이 소요되어 검사결과를 확인하기 까지 오랜 시간이 필요하다는 단점을 지니고 있다. 이는 식중독 세균의 생화학적 특성을 이용하여 동정하는 방법이며 주로 16S rRNA 염기서열을 분석하여 수행하게 된다. 이 외에 자동화된 시스템으로 API system, 지방산 조성을 분석하는 MIDI system, carbon source를 이용한 Biology system 등이 있다.

2. PCR 방법

최근에는 RNA, DNA를 증폭하는 Polymerase chain reaction(PCR)을 이용하여 식중독 세균을 검출하는 신속검출법이 활발히 진행되고 있다. 식품공전에 기술된 배지 배양법을 이용하여 식품 내 식중독 세균을 검출할 경우 최소 1일 이상의 배양시간이 요구되는 반면 PCR 등과 같은 분자생물학적 기법을 이용할 경우 수 시간 이내에 대상 식중독 세균 검출이 가능하다는 장점을 지니고 있다. PCR은 denaturation, annealing, polymerization의 3단계를 거쳐 진행되며 온도의 변화를 주어 특정 염기서열을 증폭시킬 수 있다. Conventional PCR은 검출한계(detection limit)가 낮은 효율적인 검출법이지만 증폭 이후 전기영동을 수행하여 결과를 확인하기 때문에 검출시간이 오래 걸린다는 단점을 지니고 있다. 이러한 단점을 극복하기 위해 실시간으로 증폭정도를 확인할 수 있는 real-time PCR이 개발되었다. 이는 형광물질을 이용하는 방법으로 target에 특이적으로 결합하는 probe를 이용하게 된다. 하지만 conventional PCR과 real-time PCR 모두 온도변화(thermal cycling)가 필요하기 때문에 1-2 시간 정도가 소요된다. 최근 BJS biotechnologies에서는 얇은 판 위에서 온도변화가 빠르게 되는 plate를 이용한 PCR 장비인 xxpress가 생산되고 있는데, 이 장비를 이용하여

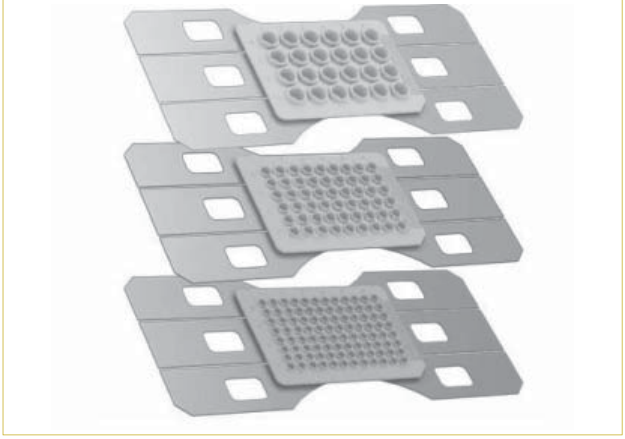

Fig. 1. PCR plates used in xxpress rapid PCR machine.

PCR이나 real-time PCR 수행 시 기존 소요되는 시간의 반 이하에서 반응이 종료된다. 본 연구실에서 테스트해 본 결과 25분만에 PCR 반응이 종료된 것으로 측정되었다.

3. Digital PCR 방법

PCR 기술도 세대를 거듭해 발전해왔다. 1세대 PCR인 conventional PCR은 식중독 세균의 빠른 검출을 가능하게 해주었지만 미생물의 정성적 분석만이 가능하였고 이후 개발된 2세대 PCR인 실시간 정량 PCR(real-time quantitative PCR)은 식중독 세균의 정량적인 분석이 가능하였지만 DNA의 양을 상대적으로 정량하기 때문에 정량 분석을 위해 표준곡선이 반드시 필요하다. 하지만 많은 변수에 의해 결과 값에 편차가 생길 수 있는 단점을 가지고 있어 다음세대의 PCR 개발의 필요성이 요구되었다. 3세대 PCR인 digital PCR은 2세대 PCR의 정량분석의 한계를 보완한 PCR로 수 만개의 droplet을 생성해 DNA를 증폭하는 기술이다. dPCR은 절대 정량을 위한 표준곡선이 필요하지 않고, 초미세 방울에 의한 증폭기술은 식중독 세균 검출의 민감도와 정확도를 향상시키기 때문에 극소량의 시료를 증폭할 수 있다는 장점이 있다. 이 기술은 현재 식중독세균을 multiplex dPCR로 검출할 수 있는 단계까지 발전되었으며 실제 연구결과에 따르면 *E. coli* O157:H7, *S.* Typhimurium, *B. cereus*, *S.*

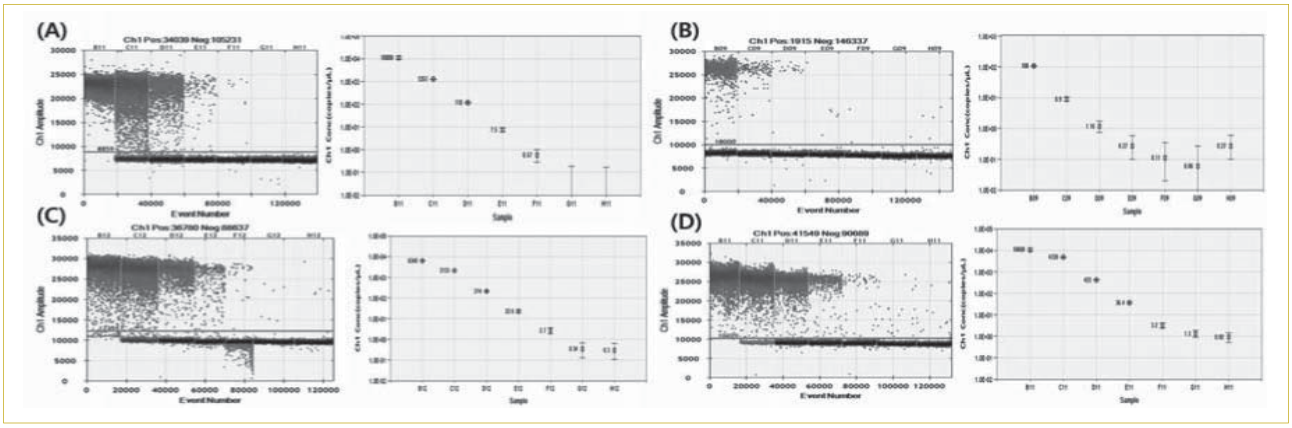

Fig. 2. Quantification of DNA by droplet digital PCR. Serial dilutions of the DNA were prepared. Each symbol denotes DNA concentration (copies/μ L) of (A) *B. cereus*, (B) *S. aureus*, (C) *S.* Typhimurium and (D) *E. coli* O157:H7. (Kim et al., 2016)

*aureus*는 각각 10^1, 10^2, 10^2, 10^2 CFU 수준까지 검출 가능한 것으로 연구되었고(Fig. 2), 또한 multiplex dPCR 결과 *E. coli* O157:H7과 *B. cereus*, 그리고 *S. aureus*와 *S.* Typhimurium의 동시 검출이 가능하다고 발표하였다. 이러한 3세대 digital PCR의 발전은 앞으로 복잡한 식품 샘플에서 극미량으로 존재하는 식중독 세균의 검출에 유용하게 사용될 것으로 사료된다.

4. Filtration에 의한 균 농축

식품으로부터 식중독 세균을 검출할 때 민감도를 높이는 방법의 하나로 membrane filtration이 사용되고 있다. Membrane filtration은 이미 널리 사용되고 있는 방법으로 음용수 등의 미생물학적 분석을 위해 사용되고 있다. 식품에 식중독 세균이 매우 낮은 농도로 존재하는 경우 10배 가량의 buffer를 첨가하여 균질화를 하면 미생물의 농도가 더욱 낮아지게 되는데 이는 기존의 배지 배양법을 통해 식중독 세균을 검출하고자 할 때 민감도가 떨어지는 문제점을 지니고 있다. 따라서 미량의 식중독 세균을 검출하는 경우에는 미생물을 농축시키는 과정이 필요하다고 할 수 있다. Membrane filtration은 다음과 같은 간단한 장치와 membrane filter를 이용하여 균을 효율적으로 농축할 수 있는 방법이다(Fig. 3).

기존의 membrane filtration은 주로 액체 상태의 식품에서 이용되고 있는데, filtration이 끝난 후에는 단순히 filter를 선택배지에 얹어 colony를 counting 하는데 사용되고 있다. 이는 액체 식품류에만 사용이 한정되었으며 또한 배지 배양에 필요한 시간이 오래 걸린다는 단점이 있다. 고체상태의 식품에 대한 연구로는 고체식품에 완충용액을 넣어 균질화한 후 전체를 filtration 하고 이후 filter에 capture 되어 있는 미생물을 떼어내는 실험이 보고되고 있다. Vortexing, sonication, direct lysis 등으로 분리하고자 하였을 때 vortexing 방법이 recovery 효율이 가장 좋은 것으로 나타났다고 언급하였다(Fig. 4).

그러나 고체식품의 경우 단백질, 지방 등의 함량이 높을 경우 pore size가 작은 filter가 쉽게 막히는 경향이 있으

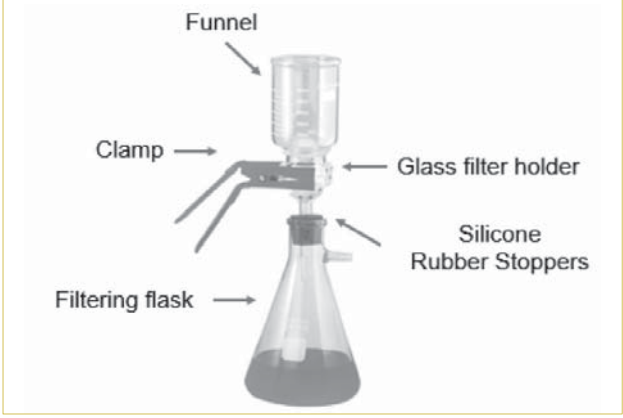

Fig. 3. Instrument for membrane filtration.

Recovery method	Recovery (%)[a]
Vortexing for 15 s	103 ± 7
Vortexing for 30 s	80 ± 15
Vortexing for 1 min	100 ± 30
Sonication	94 ± 26
Sonication in lysis buffer	62 ± 30
Direct lysis from filter	93 ± 36
DNA extraction from filter	29 ± 13

[a] Results are averages and standard deviations of quadruplicate independent measurements obtained by real-time PCR (standard curve for *Salmonella* cells: $y = -3.8648x + 44.254$; $r^2 = 0.9628$).

Fig. 4. Comparison of methods to recover cells or DNA from filters. (Wolffs et al., 2006)

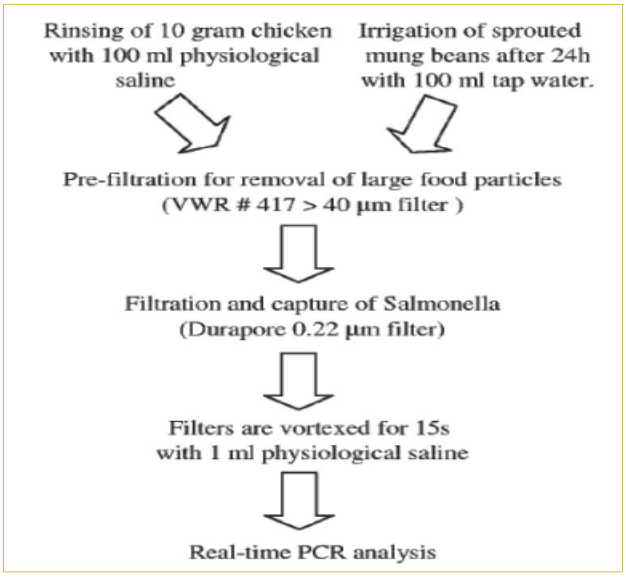

Fig. 5. Schematic overview of the developed two-step filtration protocol followed by real-time PCR analysis. (Wolffs et al., 2006)

며 이를 극복하기 위해 two-step filtration이 개발되었다(Fig. 5).

이 방법은 미생물이 통과할 수 있는 pore size가 큰 filter를 사용하여 pre-filtration을 진행하여 식품 matrix를 걸러낸다. 두 번째 filtration step에서는 미생물이 통과할 수 없는 pore size가 작은 filter를 사용하여 최종적으로 미생물이 filter에 농축된다. 이 후 식중독 세균의 검출을 위해 filter를 바로 선택배지에 올려 배양하는 방법과 filter로부터 식중독 세균의 DNA를 분리하여

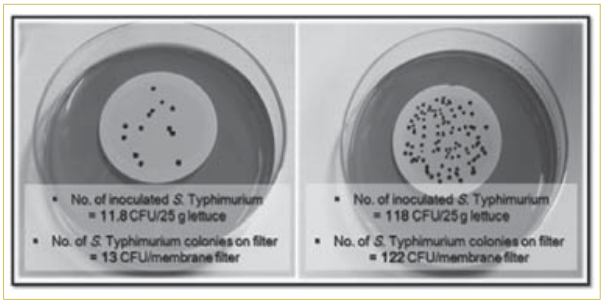

Fig. 6. Microbial concentration efficiency of inoculated with Salmonella Typhimurium(11.8~118 CFU/25 g) in lettuce by membrane filtration.

PCR, LAMP, WGA 등 다양한 증폭기술 이용하는 방법이 있다. Filtration 진행 후 filter를 선택배지에 올려 colony를 계수한 결과는 Fig. 6과 같다. 이 그림은 접종한 식중독 세균이 filter상에 효율적으로 농축되어 모두 검출되는 것을 의미한다. 따라서 이는 식중독 세균을 검출하고자 할 때 단시간 내에 간단하게 미생물 수를 농축하는 방법으로 사용될 수 있다.

5. LAMP 증폭과 LFA를 이용한 검출 방법

LAMP는 일반적인 PCR과는 달리 4-6개의 primer를 이용하여 반응 과정 중 DNA loop 구조를 띄게 되고 large fragment를 가지는 *Bst* DNA polymerase에 의해 DNA 증폭이 등온 조건에서 연속적으로 발생되어 1시간 이내에 10^9 copies까지 증폭되고, 증폭물은 콜리플라워 모양을 띄게 된다. 이러한 특징 때문에 LAMP 증폭을 거친 DNA는 Fig. 7과 같이 전기영동 상에 사다리 모양을 나타내게 된다.

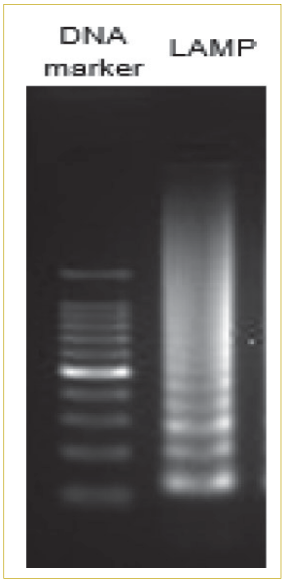

Fig. 7. Electrophoretic patterns of LAMP amplicon.

특히 LAMP에 의한 DNA 증폭은 일반 PCR에 비해

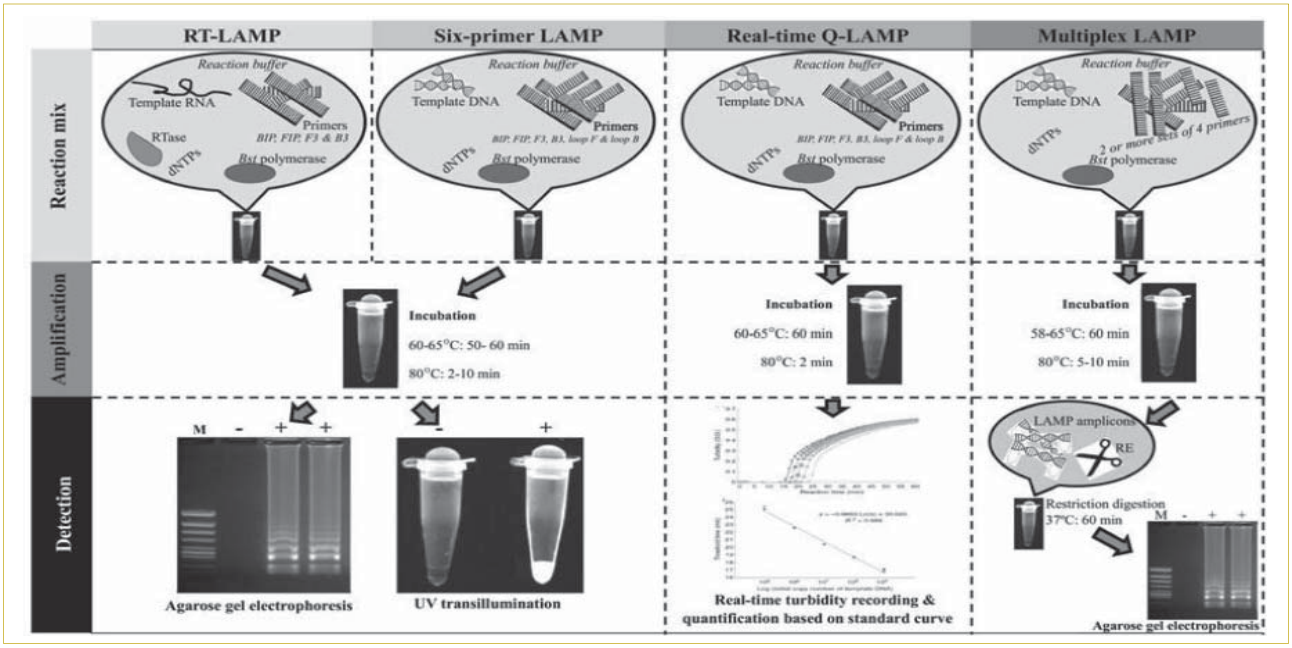

Fig. 8. Schematic diagram of different LAMP methods used for detection of various fish and shellfish pathogens. *RT*ase reverse transcriptase, *RE* restriction endonuclease, M marker ladder, − negative reaction, + positive reaction. (BISWAS et al., 2014)

blood나 식품과 같은 PCR inhibitor의 영향을 받지 않는 장점이 있다. LAMP를 이용한 검출방법에는 여러 가지가 있는데 reverse transcription (RT) LAMP, six−primer (loop primer) method, real−time quentitative LAMP (Q−LAMP), multiplex LAMP 등이 있다 (Fig. 8).

LAMP 증폭산물은 전기영동으로도 증폭 여부를 확인할 수 있지만, magnesium pyrophosphate을 첨가하였을 때 생성되는 흰색 침전물이나 SYBR green을 첨가하였을 때의 색 변화(orange→green)에 의해 증폭 유무를 육안으로 쉽게 확인할 수 있어 현장형 적용 기술(POCT)로서 주목을 받고 있다(Fig.9). 이전에 발표된 연구들에 의하면 조개류에서의 *Vibrio harveyi*를 10^0 CFU/mL 까지 검출할 수 있었고, 어류에서 *haemolysin* gene을 target으로 10 CFU/mL 의 검출한계를 보였다고 하였는데, 이는 일반 PCR의 검출한계보다 10^3 CFU/mL 만큼 더 민감한 수준이라고 보고되고 있다.

LAMP를 통한 식중독 세균의 검출은 증폭과정 이후에 육안으로도 관찰 가능하지만 육안을 통한 검출방법은 낮은 농도의 DNA의 증폭 유무를 확인하기 어렵다는 단점을 가지고 있다. 이를 보완한 방법 중 하나가 Lateral Flow Immunoassay(LFI) 방법이다. LFI는 현재 임신진단 키트 등에 널리 사용되고 있는 방법으로써 약물, 독성물질, 호르몬, 중금속, 살충제와 병원성 미생물들을 검출하는 등의 다양한 분야에 사용되고 있다. LFI의 장점은 3−5분 안에 검출이 가능할 정도로 빠르고, 작동이 간편하며, 민감하고 비용이 저렴하다는 장점이 있다. 하지만 일반적인 LFI를 이용한 식중독 세균의 검출은 식중독 세균 표면의 항원을 항체로 검출하는 방법으로 검출한계가 10^5−10^6 CFU/mL 정도로

Fig. 9. Color change of the LAMP.

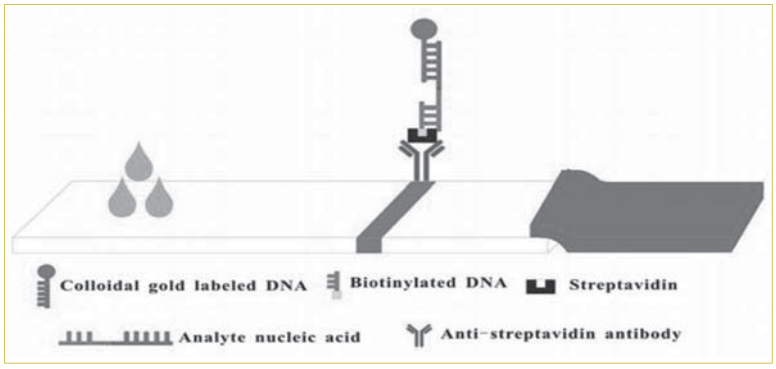

Fig. 10. Schematic of LFI. As immunoreaction was completed, test strip was soaked in silver enhancer reagent to intensify the signal of gold nanoparticles. (Shan et al., 2014)

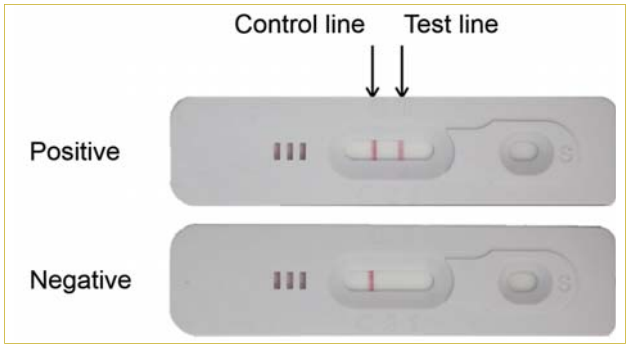

Fig. 11. Positive and negative control of NALFA.

매우 높은 수준이기 때문에 식중독 세균 신속검출로 활용하기는 어려운 실정이다. 이를 보완하기 위해 Nucleic acid lateral flow immunoassay(NALFA) 방법이 개발되었다. 이는 PCR이나 LAMP에 의한 특정 DNA sequence를 증폭시킨 후 증폭된 amplicon에 항원을 달아서 이를 항체로 검출하는 방법이다. 현재 다양한 DNA 증폭 기술이 있으며 또한 증폭속도도 매우 빠르기 때문에 단시간 내에 많은 양의 amplicon을 만들어 낼 수 있어 5분 내에 증폭된 DNA를 육안으로 확인할 수 있는 장점이 있다(Fig. 10, 11).

NALFA는 일반적인 PCR amplicon 뿐만 아니라 항원이 붙어 있는 primer의 이용 여부에 따라 LAMP 이외에도 primer를 활용한 다양한 DNA amplicon을 검출 할 수 있어 여러 분야에서 활용될 수 있다. 또한 이전에 발표된 연구들에 의하면 NALFA의 검출한계는 전기영동과 같은 수준으로 45분에서 1시간 이상 소요되는 전기영동을 대체할 수 있는 기술로써 활용가능성이 높다. 현재까지 식중독 세균 자체를 이용한 LFA 연구에 따르면 *E. coli* O157:H7은 소고기, 돼지고기 등에서 10^3–10^5 CFU/mL, *Salmonella* spp.은 닭고기에서 10^4 CFU/mL 까지 검출 가능하였다고 하였으며 새우에서 *V. alginolyticus*를 10^3 CFU/mL까지 검출 하였다고 보고하였지만 증폭된 유전자인 amplicon을 이용한 NALFA를 이용하면 새우에 존재하는 *V. alginolyticusi*, *V. parahaemolyticus*와 *V. harveyi*와 같은 해양성 식중독 세균을 3–5 CFU/reaction 까지 검출 가능하였다고 보고하였다.

6. Whole Genome Amplification(WGA)

WGA는 소량의 DNA를 등온(isothermal)에서 증폭하는 기술로 phi 29 polymerase와 random hexamer primer를 이용하여 DNA를 비특이적으로 수억 배 증폭시키는데, polymerase 특성상 정확성이 높게 증폭 가능하다(Fig. 12).

현재 WGA는 single nucleotide polymorphism(SNP) genotyping, DNA sequencing, microsatellite analysis 등 인체 진단 분야에서 분석에 필요한 만큼의 DNA를 확보하기 위하여 이용되고 있다. 임상 시료를 대상으로 혈액 순환 암 세포의 genetic typing, 법의학적 시료 식별, 그

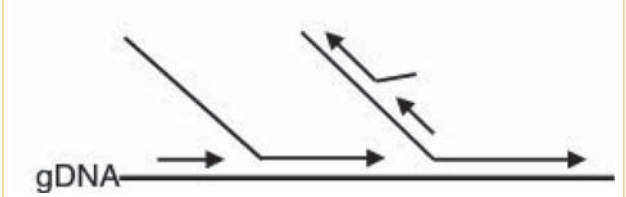

Fig. 12. Scheme for MDA of genomic DNA. Secondary priming events are initiated from primary products. (DEAN, Frank B., et al., 2002)

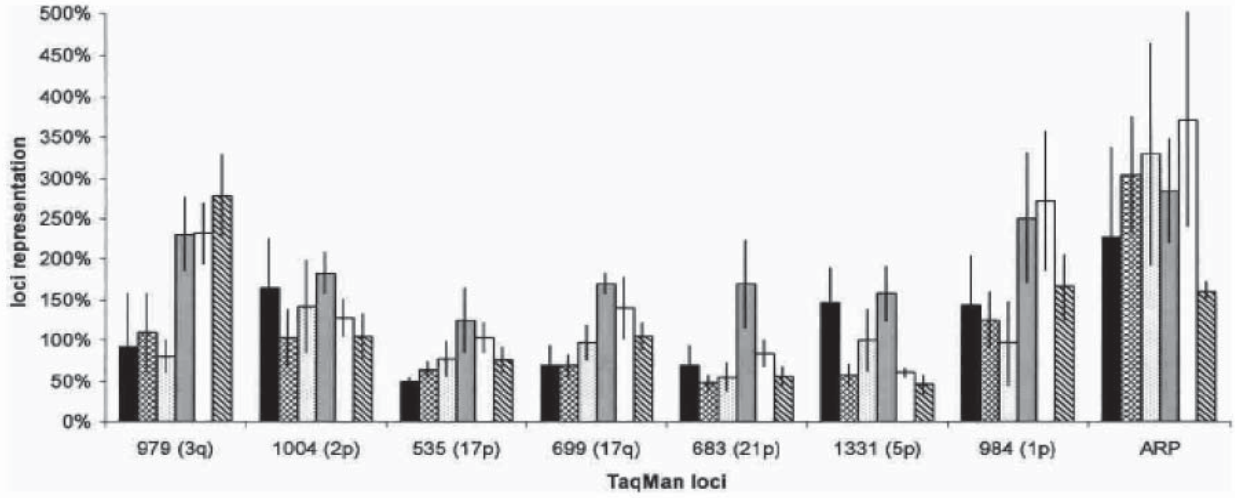

Fig. 13. Comparison of multiple displacement amplification(MDA) carried out from biological samples. (Buccal swab) Black bars; (Whole blood) cross-hatched bar; (finger stick) dotted bars; (buffy coat) gray bars; (Guthrie card) white bar; (control genomic DNA) diagonal-hatched bar. (HOSONO, Seiyu, et al., 2003)

리고 염색체와 SNP 분석을 이용한 착상전 유전 진단 등에 이용되고 있다.

다른 여러 종류의 DNA 증폭 방법과 비교했을 때 WGA를 이용하면 여러 종류의 유전자가 고르게 증폭되는 특성이 있다고 알려져 있어(Fig. 13), 미량의 DNA 증폭 시 target sequence가 다른 유전자와 동일하게 증폭될 가능성이 높음을 알 수 있다.

Fig. 13을 보면 여러 종류 sample의 DNA를 WGA를 이용하여 증폭시켰을 때, 모든 종류의 DNA가 증폭이 되었으며 각 sample에서 고루 증폭이 나타난 것을 확인할 수 있다.

하지만 WGA를 이용한 식품분야 연구는 미비한 실정이다. WGA로 DNA를 증폭하여 검출에 활용한 연구로는 오렌지주스에 존재하는 효모를 검출한 연구가 보고되고 있으나 아직까지 식중독 세균 DNA를 증폭하여 검출한 연구는 보고되지 않고 있다.

식품에 존재하는 식중독 세균은 검출이 어려울 정도로 낮은 수준으로 존재하기 때문에 검출 한계 이상으로 균수를 증가시키는 농축 배양 과정이 필요하다. 하지만 식중독 세균에 존재하는 genome을 분리하여 이를 WGA로 증폭시킨다면 기존에 사용되는 방법에 비하여 시간이 많이 단축될 것으로 기대된다. 실제 연구결과에 따르면 human genomic DNA를 대상으로 WGA를 수행한 결과 증폭이 잘 이루어진 것으로 보인다. 또한 molecular crowding agent의 하나인 polyethylene glycol(PEG)를 첨가한 결과, DNA 증폭 효율이 높아지는 것으로 나타났다(Fig. 14). 성 등에 의하면(8) WGA를 식중독 세균 검출에 적용해 본 결과, *S.* Typhimurium, *L. monocytogenes* 그리고 *V. parahaemolyticus*에서 DNA 증폭효과가 나타났으며 real-time PCR 분석 결과 Ct 값이 감소하는 것으로 나타났다(Table 1). 따라서 향후 식품에 미량 존재하는 식중독 세균의 검출에 WGA가 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

식품에서 식중독 세균을 신속하게 검출하기 위한 기술은 현재까지도 계속적으로 개발되어왔다. 그만큼 아직까지 실제적으로 사용할 만한 기술이 없다는 반증이다. 식품에서 식중독 세균을 신속하게 검출하기 위해서는 우

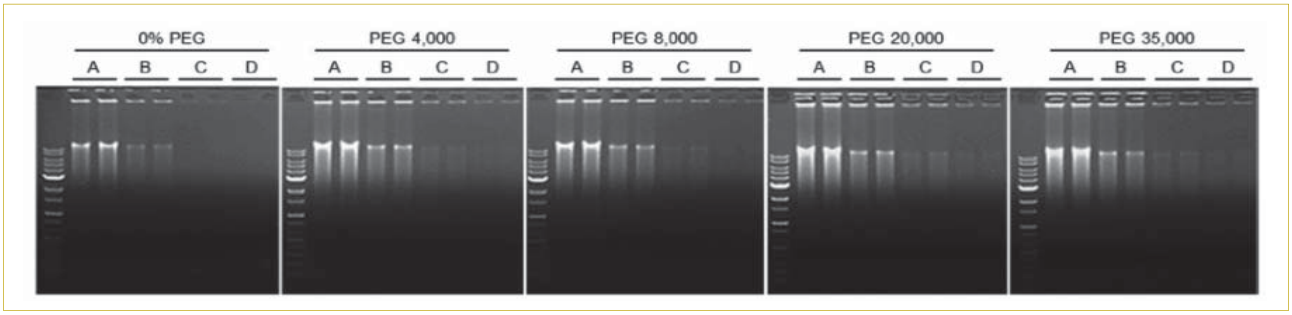

Fig. 14. Effect of various PEGs in WGA reaction in human genomic DNA. Lane A, 1 ng; lane B, 100 pg; lane C, 10 pg; lane D, 5 pg; lane · ,control (no additive). (SEONG, Ji-Yeong, et al., 2016)

Table 1. Amplification efficiency of WGA with or without 1.5% PEG 4,000 against foodborne pathogens (SEONG, Ji-Yeong, et al., 2016)

Species	Ct values[1] (Mean±SD)			Difference[2]/Degree of Amplification		
	No WGA	WGA	eWGA[3]	WGA-no WGA	eWGA-no WGA	eWGA-WGA
S. Typhimurium	28.41±0.22	19.65±0.23	15.48±0.01	8.76/432.03	12.93/7,777.01	4.17/18.00
L. monocytogenes	31.02±0.16	23.07±0.05	17.73±0.09	7.95/247.28	13.29/9,981.22	5.34/40.50
V. parahaemolyticus	27.92±0.08	22.79±0.05	17.65±0.04	5.14/35.14	10.28/1,239.03	5.14/35.26

[1]A number of cycles, where the PCR kinetic curve gets to a defined threshold of fluorescence
[2]Subtraction of Ct values between WGA methods
[3]Enhanced

선적으로 식중독 세균이 식품에 극히 낮은 수준으로 존재하는 특성을 고려해야 한다. 이렇게 낮은 농도로 존재하는 식중독 세균이 다양한 검출기술에 의해 검출되기 위해서는 검출한계(detection limit)에 도달케 하는 전처리 기술이 필요하다. 기존에는 미생물 배지를 이용한 microbial enrichment가 주로 수행되었는데, 미생물성장 특성상 8시간 이상 소요되기 때문에 실제적인 의미로서의 신속검출 기술은 불가능하였다. 최근에는 microbial enrichment를 대신할 기술이 개발되고 있는데, 미생물 균체를 농축하는 기술인 filtration, centrifugation을 이용한 기술이 있다. 또한 DNA 자체를 증폭시켜 검출한계에 도달케 하는 molecular enrichment 기술도 개발되고 있는데, WGA, LAMP를 이용한 연구가 진행되고 있다. 낮은 검출한계를 구현하기 위하여 PCR의 효율을 증가시키기 위한 방법인 digital PCR을 이용한 식중독 세균 검출도 시도되고 있다.

식중독 검출의 원천기술을 개발하기 위하여 나노기술을 이용한 다양한 검출방법, 바이오센서를 이용한 검출방법, 파장을 이용한 검출방법 등 다양한 기술을 이용한 검출기술이 개발되고 있으며 일부는 긍정적인 결과를 보여주고 있기도 하다. 그러나 아직까지 극히 미량 수준으로 식품에 존재하는 식중독 세균에 대한 실질적인 신속검출 기술은 없다고 해도 지나치지 않는다. 이를 해결하기 위해서는, 식품의 특성을 고려한 적절한 전처리, 검출한계까지 신속한 농축이나 증폭, 빠른 검출기술의 3가지 요소가 잘 맞아야 실질적으로 활용이 가능한 식중독 세균 검출기술이 완성될 것으로 생각된다.

감사의 글

본 원고는 2016년 국토 해양부의 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원(다소비 횟감의 위생 안전성 확보 및 소비촉진을 위한 식품위해인자 검출기술개발, 과제번호:20130281)을 받아 수행된 연구임에 이에 감사 드립니다.

참고 문헌

1. MALORNY, Burkhard, et al. Polymerase chain reaction for the rapid detection and serovar identification of *Salmonella* in food and feeding stuff. Food Analytical Methods, 2009, 2.2: 81-95.

2. HEID, Christian A., et al. Real time quantitative PCR. Genome research, 1996, 6.10: 986-994.

3. WOLFFS, Petra FG, et al. Direct quantitation and detection of salmonellae in biological samples without enrichment, using two-step filtration and real-time PCR. Applied and environmental microbiology, 2006, 72.6: 3896-3900.

4. D'URSO, Oscar Fernando, et al. A filtration-based real-time PCR method for the quantitative detection of viable *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in food samples. Food microbiology, 2009, 26.3: 311-316.

5. BESSE, N. Gnanou; LAFARGE, V. Development of a membrane filtration method for enumeration of *Listeria monocytogenes* from soft cheese. Food microbiology, 2001, 18.6: 669-676.

6. DEAN, Frank B., et al. Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2002, 99.8: 5261-5266.

7. BOHAYCHUK, V. M., et al. A real-time PCR assay for the detection of *Salmonella* in a wide variety of food and food-animal matrices. Journal of Food Protection, 2007, 70.5: 1080-1087.

8. SEONG, Ji-Yeong, et al. Development of a Rapid Foodborne-pathogen-detection Method Involving Whole-genome Amplification. Korean Journal of Food Science and Technology, 2016, 48.2: 128-132.

9. TANG, Meng-Jun, et al. Rapid and sensitive detection of Listeria monocytogenes by loop-mediated isothermal amplification. Current microbiology, 2011, 63.6: 511-516.

10. QI, Jing, et al. A loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of NDM-1 gene. Microbial drug resistance, 2012, 18.4: 359-363.

11. SHAN, Shan, et al. Novel strategies to enhance lateral flow immunoassay sensitivity for detecting foodborne pathogens. Journal of agricultural and food chemistry, 2015, 63.3: 745-753.

12. ZHANG, Xuzhi; LOWE, Stuart B.; GOODING, John Justin. Brief review of monitoring methods for loop-mediated isothermal amplification (LAMP). Biosensors and Bioelectronics, 2014, 61: 491-499.

13. HOSONO, Seiyu, et al. Unbiased whole-genome amplification directly from clinical samples. Genome research, 2003, 13.5: 954-964.

14. BISWAS, Gouranga; SAKAI, Masahiro. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays for detection and identification of aquaculture pathogens: current state and perspectives. Applied microbiology and biotechnology, 2014, 98.7: 2881-2895.

15. KIM, Jin-Hee, et al. Detection and Quantitation of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium and *E. coli* O157:H7 by Droplet Digital PCR. Korean Journal of Food Science and Technology, 2016, in press.

16. SINGH, Jyoti; SHARMA, Shivesh; NARA, Seema. Evaluation of gold nanoparticle based lateral flow assays for diagnosis of enterobacteriaceae members in food and water. Food chemistry, 2015, 170: 470-483.