

연구노트

소시지와 야채 샐러드에서 *Yersinia enterocolitica* 검출을 위한 배지법과 real-time PCR법의 비교

김윤경 · 천정환 · 이재훈 ·곽효선¹ · 황인균² · 서건호*

건국대학교 KU 식품안전연구소, ¹식품의약품 안전평가원 식중독 예방관리과, ²식품의약품 안전평가원 화학물질과

Comparison of Conventional Culture Method and Real-time PCR for Detection of *Yersinia enterocolitica* in Sausage and Vegetable Salad

Yun-Gyeong Kim, Jung-Whan Chon, Jae-Hoon Lee, Hyo-Sun Kwak¹, In-Gyun Hwang², and Kun-Ho Seo*

KU Center for Food Safety, College of Veterinary Medicine, Konkuk University

¹Division of Foodborne Diseases Prevention and Surveillance, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation

²Division of Food Chemical Residues, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation

Abstract The purpose of this study was to compare a conventional culture method and real-time PCR for the detection of *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*) in sausage and in vegetable salad. Food samples inoculated with *Y. enterocolitica* were enriched in peptone-sorbitol bile-broth, and swabs were then streaked onto cefsulodin-irgasan-novobiocin agar. Biochemical tests for suspected colonies were performed with an API 20E strip. In parallel, real-time PCR was performed, targeting the 16S rRNA gene using 1 mL of enrichment broth. In sausage, the number of positive samples detected by culture method (49 out of 60) was similar ($p>0.05$) with that of real-time PCR (50 out of 60). However, the number of positive samples of real-time PCR (26 out of 60) was significantly higher ($p<0.05$) than that of the conventional culture method (6 out of 60) in vegetable salad. Real-time PCR could be an effective screening tool for detecting *Y. enterocolitica*, particularly in food samples with high levels of background flora, such as a vegetable salad.

Keywords: *Yersinia enterocolitica*, culture method, real-time PCR, food

서 론

Yersinia enterocolitica(*Y. enterocolitica*)는 저온성의 그람 음성균으로 인체에 감염되어 식중독을 일으키는 병원성 세균이다(1,2). *Y. enterocolitica*에 의한 식중독은 세계적으로 빈번하며, 위장계 질환 외에도 패혈증, 결절성 홍반, 다발성 관절염 등의 다양한 합병증을 유발할 수 있다(3). 주로 오염된 식품이나 물의 섭취를 통해 감염되는 경우가 많으며, 저온에서도 생육이 가능하기 때문에 유제품, 육제품, 야채 등 냉장보관 되는 식품에서 문제가 되는 경우가 많다(1,2,4).

식품 내 *Y. enterocolitica*의 검출을 위한 공인된 검출법은 배지 검출법으로서, 증균배양, 선택배양, 확인동정을 거쳐 최종적으로 양성결과를 확인하게 된다(5). 그러나 배지를 활용한 검출법은 표준화된 방법임에도 시간과 노동력의 소모가 많기 때문에 이러한 단점을 보완할만한 빠르고 신속한 검출기법의 개발이 지속적으로 이루어졌다. 그 중 목적하는 유전자를 증폭시켜 검출하는 polymerase chain reaction(PCR)법은 전세계적으로 가장 보편적으로

로 사용되고 있는 신속검출기법이다(6). PCR 기법은 다양하게 개발되었는데 그 중 형광의 발현량을 통해 증폭산물을 실시간으로 측정하여 목적하는 유전자를 검출하는 real-time PCR기법은 정성 및 정량검출이 가능한 최신검출기법으로서, 증균 후 영동과정 없이 2-3시간 이내에 목적균의 검출이 가능하여 노동력을 크게 절감시킬 수 있다(7). 따라서 real-time PCR은 민감하고 신속하게 식품 내 *Y. enterocolitica*를 검출할 수 있을 것으로 예상되나, 표준화된 검출기법인 배지검출법과 비교하여 그 검출능력과 감도가 어느 정도인지에 대해서는 정확한 비교검증이 이루어지지 않았다.

본 연구에서는 식품에서 real-time PCR과 배지검출법을 비교검증하여 real-time PCR이 표준화된 검출법인 배지검출법에 비해 어느 정도의 민감도와 신속성을 가지고 있는지 비교평가 하였다. 순수 배양액에서 사용된 real-time PCR의 특이도와 검출한계를 측정하였으며, 실제 식품에 인위적으로 접종하여 배지검출법과 비교하였다. 식품 내 접종 시에는 정상 세균총의 수준이 다른 두 가지 식품시료에 대해 실험하였으며, 두 방법 간의 차이를 정확히 분석하기 위해 20개의 시료 중, 부분양성과 부분음성이 나와 양성검출율의 통계학적 차이를 비교할 수 있도록 실험을 수행하였다.

*Corresponding author: Kun-Ho Seo, KU Center for Food Safety, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Tel: 82-2-450-4121

Fax: 82-2-3436-4128

E-mail: bracstu3@konkuk.ac.kr

Received August 7, 2012; revised September 18, 2012;

accepted September 24, 2012

재료 및 방법

실험에 사용된 균주

5균주의 *Y. enterocolitica*와 6균주의 non-*Y. enterocolitica*(*Listeria monocytogenes*, *Cronobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio para-*

haemolyticus)가 실험에 사용되었다. *Y. enterocolitica*는 환경 분리 주로서 서울시 보건환경연구원(Seoul, Korea)으로부터 분양 받았으며 그 외의 균주는 본 실험실에서 보관하고 있던 균주를 사용하였다. 냉동 보관(-70°C)되어 있던 *Y. enterocolitica* 균주를 녹여 cefsulodin-irgasan-novobiocin agar(CIN agar; Difco, Sparks, MD, USA)에 도말하였다. 검출한계 측정 및 식품 내 인위적 접종 실험을 위해 배양 후 단일 *Y. enterocolitica* 집락을 채취하여 tryptic soy broth(TSB; Difco)에서 2번 이상 계대하였으며 배양한 균액을 적절히 희석하여 실험에 사용하였다.

식품시료의 준비와 인위적 접종

모든 식품시료는 서울시 광진구에 위치한 대형마트에서 구매하였으며, 구매 즉시 실험실로 옮긴 후 4°C에 보관하였다. 보관된 시료는 12시간 이내에 실험에 사용하였다. 정상 세균총의 수준에 따라 real-time PCR의 검출감도에 큰 차이가 있다는 앞선 연구를 바탕으로, 냉장 보관되는 제품이면서 정상 세균총에 차이를 보이는 가공육류와 신선야채를 시료로 선정하였다. 가공육류는 소시지를 사용하였으며, 신선야채로는 야채 샐러드를 사용하였다.

접종량은 Hyeon 등(8)의 연구와 Han 등(9)의 연구를 참조하여 총 20개의 시료 중 일부분의 양성결과가 나와 통계학적 유의차를 비교할 수 있도록 설정하였으며, 각 시료당 3회의 반복실험을 실시하였다.

식품 내 인위적 접종 실험을 위해 TSB 배지에서 배양된 *Y. enterocolitica*를 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4; Sigma, St Louis, MS, USA)로 적절히 희석한 후 500 g의 bulk 시료에 접종하고 균이 고르게 분포되도록 손으로 마사지 하였다. 추가적으로 25 g을 양성 대조군으로, 또 다른 25 g을 음성 대조군으로 설정해 주고, 양성 대조군에는 10⁷ CFU/mL 이상의 *Y. enterocolitica*를, 음성 대조군에는 1 mL의 PBS를 접종하였다. 접종이 끝난 모든 시료는 Han 등(9)과 Lee 등(10)의 연구를 참조하여 4°C에서 하루 동안 보관하여 실제 식품 보관 환경과 유사한 환경 속에서 안정화 과정을 거쳤다. 식품에 실질적으로 접종된 균수가 어느 정도인지 확인하기 위하여 접종과 동시에 접종량과 동일균량을 NA에 접종하여 30°C에서 24시간 동안 배양하여 실제 접종량을 산정하였다.

배지법에 의한 *Y. enterocolitica* 검출

안정화 과정이 끝난 시료 500 g을 25 g씩 20개로 나누어 멸균 비닐백에 넣은 후 증균배지로 225 mL peptone-sorbitol-bile-broth(PSBB; Oxoid, Hampshire, U.K.)를 첨가하고 stomacher(Bag-Mixer's Interscience, St. Nom, France)를 이용하여 30초간 균질화 하였다. 균질화된 시료와 양성 및 음성 대조군은 30°C에서 24시간 동안 증균 배양하였다. 각 시료의 증균액 0.1 mL을 0.5%의 KOH가 함유된 0.5% 식염수 1 mL에 가하여 수 초간 잘 섞어준 후, 이 용액을 CIN agar 한천배지에 접종 30°C에서 24시간 동안 선택배양 하였다. 배양 후, CIN agar에서 중심부가 짙은 적색을 보이는 집락을 골라 triple sugar iron(Difco) 사면배지에 접종하고 35°C에서 24시간 배양 후, 고층부와 사면이 노랗고 황화수소가 발생하지 않은 균주를 선택하여 API 20 E kit(BioMerieux, Marcy l'Etoile, France)를 이용하여 생화학적 확인동정을 실시 하였다.

식품 내 정상 세균총의 측정

식품 내에 존재하고 있는 정상 세균총은 배양과정에서 목적균과 경쟁적으로 작용하여 목적균의 검출에 영향을 줄 수 있는 것

으로 알려져 있다(10). 따라서 본 연구에서는 정상 세균총이 *Y. enterocolitica* 검출에 미치는 영향을 과학적으로 평가하기 위하여 식품 시료 내 정상 세균총을 함께 측정하였다. 정상 세균총은 실험에 사용된 식품 시료 외에 아무것도 접종되지 않은 25 g의 동일한 시료에서 측정하였으며 아래와 같이 aerobic plate count 방법을 사용하였다. 25 g의 시료를 멸균 비닐 백에 225 mL buffered peptone water(Difco)와 함께 넣어준 후 stomacher를 이용하여 30초간 균질화 시켜주었다. 균질액 0.1 mL를 PBS에 10진 희석법으로 단계별로 희석하여 NA에 접종하고 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 NA상의 집락을 계수하고 희석배수를 고려하여 각 시료 내의 정상 세균 총 수를 최종적으로 산출하였다.

DNA 추출 및 real-time PCR의 실시

Real-time PCR을 시행하기 위해 증균된 각 시료에서 1 mL을 채취하여 DNA를 추출하였으며 아래와 같이 Chon 등(11)의 방법을 사용하였다. 채취한 1 mL의 배지액을 14,000 rpm으로 3분간 원심분리하여 상층액을 버린 후, PrepMan® Ultra reagent(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 0.2 mL를 혼합하고, 남아있는 고형물(pellet)과 잘 섞어주었다. 섞어 준 균액을 100°C의 물에서 10분간 가열하고 2분 동안 상온에서 식힌 후, 14,000 rpm으로 3분간 다시 원심분리 하였다. 원심분리가 끝난 시료의 상층액을 새로운 튜브에 따로 담아 real-time PCR을 수행할 template DNA로 사용하였다.

Real-time PCR은 Sen 등(12)의 연구를 참조하여 *Y. enterocolitica*에 종 특이적인 16S rRNA 유전자를 타겟으로 한 primer/probe 서열을 사용하였다. Forward primer는 CGGCAGCGGAAG-TAGTT, reverse primer는 GCCATTACCCACCTACTAGCTAA, probe는 5'-FAM-AAGGTCCTCCACTTTGGTCCGAAG-TAMRA-3'를 사용하였다. 반응액은 총량을 25 µL로 하였으며, TaqMan® Universal PCR Master mix(Applied Biosystems) 12.5 µL, forward와 reverse primer(각각 900 nM) 각각 2.5 µL, probe(250 nM) 2.5 µL, template DNA는 5 µL를 넣어주었다. ABI PRISM 7500HT sequence detection system(Applied Biosystems)을 사용하여 50°C에서 2분, 95°C에서 10분간 반응시킨 다음, 95°C에서 15초, 60°C에서 1분을 1회로 반응조건을 맞추어 40 cycles을 반응시켰다.

Real-time PCR의 특이도와 검출한계설정

사용된 primers/probe set를 이용하여 특이도와 검출한계를 측정하였다. 5개의 *Y. enterocolitica*와 6개의 *Y. enterocolitica*가 아닌 균주에서 real-time PCR을 실시하여 특이도를 측정하였으며 검증에 위한 균주는 -70°C에 보관하고 있다가 위에서 언급한대로 해당하여 사용하였다.

검출한계는 위에서 언급된 방법으로 균수를 측정하여 10⁸ CFU/mL 수준의 균수를 함유한 순수 배양균액을 사용하여 측정되었다. 순수 배양균액의 DNA를 추출한 후, 추출된 DNA 중 5 µL를 45 µL의 PBS에 10진 희석법으로 단계적으로 희석(10⁸ CFU/mL에서 10² CFU/mL까지)한 것으로 real-time PCR을 시행하여 검출한계를 측정하였다.

통계학적 분석

배지법과 real-time PCR을 수행하여 얻은 양성 시료 수 결과의 유의적인 차이를 GraphPad Instat(GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, USA)의 Fisher's exact test를 통해 비교하였다.

Table 1. Specificity of the real-time PCR

Strain	Strain no.	Reaction
<i>Yersinia enterocolitica</i>	PHSM 1	+
<i>Y. enterocolitica</i>	PHSM 2	+
<i>Y. enterocolitica</i>	PHSM 3	+
<i>Y. enterocolitica</i>	PHSM 4	+
<i>Y. enterocolitica</i>	PHSM 5	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	3390 H	-
<i>Listeria monocytogens</i>	G 3982	-
<i>Cronobacter sakazakii</i>	SMA 13	-
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC3624	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	A8	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC41664	-

Table 2. Number of cycles required for detecting various populations of *Y. enterocolitica* in phosphate buffered saline

No. of cells (CFU/mL)	Reaction (Ct value)
10 ⁸	+(20)
10 ⁷	+(23)
10 ⁶	+(27)
10 ⁵	+(31)
10 ⁴	+(34)
10 ³	+(36)
10 ²	-(ND)
Negative control	-(ND)

¹ND: Not detected

결과 및 고찰

Primers/probe set의 특이도 및 검출한계

Table 1에 제시된 것처럼 5개의 *Y. enterocolitica*에서는 양성을 나타내고 6개의 non-*Y. enterocolitica* 균주에서는 음성을 나타내어 사용된 primer와 probe가 *Y. enterocolitica*의 검출에 적합함을 확인하였다.

균수가 측정된 순수 배양균액의 genomic DNA를 PBS로 10진 희석한 후, real-time PCR을 실시하여 각 단계별 농도에서 Ct값을 측정하였다. 측정된 Ct값은 Table 2에 제시되어 있으며 검출 가능한 한계농도는 10³ CFU/mL 수준으로 나타났다. 해당 검출한계는 증균을 거치는 정성실험에서 활용가능 할 것으로 보이며 정량실험에서의 활용여부에 대해서는 추가적인 정량평가 실험이 필요할 것으로 보인다.

식품 내 정상 세균총의 수준과 영향

Table 3에는 회차별로 각 식품 별 정상 세균총의 수준(background flora)과 각 식품에 대한 접종량(inoculum level)이 제시되어 있다. 소시지에서는 g 당 2.5×10² CFU 수준의 정상 세균총이 검출되었고, 야채 샐러드에서는 g 당 1.5×10⁶ CFU 수준의 정상 세균총을 보여 야채 샐러드가 소시지에 비해 10⁴배 가량 높은 수준의 정상 세균총을 보였다. 한편 20개의 시료가 부분양성과 부분음성이 되기 위한 *Y. enterocolitica*의 접종량은 소시지에서는 g 당 0.06-0.30 CFU 수준이었으나, 야채 샐러드에서는 g당 4.5-4.8 CFU 가량으로 15-100배 가량 더 높았다(Table 3).

Hyeon 등(8)은 *Salmonella*를 대상으로 한 앞선 식중독 세균 연구에서 신선야채의 경우, 높은 수준의 정상 세균총이 목적균의 증균을 억제하기 때문에 접종량이 높아진다고 보고하였다. Chon

Table 3. Comparison of a culture method and real-time PCR for detecting *Y. enterocolitica* in artificially inoculated foods

Food samples (background flora, CFU/g)	Trials	Inoculum level (CFU/g)	Number of positive samples/ number of tested samples	
			Culture method	Real-time PCR
Sausage (2.5×10 ²)	1	0.06	18/20	19/20
	2	0.1	12/20	12/20
	3	0.3	19/20	19/20
	-	Total ¹⁾	49/60 ^a	50/60 ^a
Vegetable salad (1.5×10 ⁶)	1	4.5	1/20	4/20
	2	4.7	2/20	11/20
	3	5.8	3/20	11/20
	-	Total ¹⁾	6/60 ^a	26/60 ^b

¹⁾Different letters within a row indicate a significant difference ($p < 0.05$).

등(13)도 마찬가지로 식품 내 *Campylobacter* 검출 시, 신선야채는 정상 세균총이 매우 높기 때문에 목적균의 성장을 억제하여 결과적으로 가공식품이나 육류 등에 비해 더 높은 접종량이 필요하다고 보고하였다. 이는 *Y. enterocolitica*를 대상으로 한 본 연구와 일치하는 사실로서, 정상 세균총이 월등히 높았던 야채 샐러드의 경우 소시지에 비해 증균이 억제되어 훨씬 더 높은 수준의 접종량을 필요로 한 것으로 보인다. 이는 신선야채에서는 *Y. enterocolitica* 검출 시 오염균량의 수준이 낮으면 증균이 억제되어 위음성의 결과를 보일 수 있다는 것을 의미한다. 신선야채는 가열과정 없이 섭취되는 경우가 많고, 조리과정에서 다른 식품과 교차오염이 가능하기 때문에 식중독 감염의 큰 위험요인으로 지적되고 있다(8,11,13). 따라서 신선야채에서의 증균억제 현상은 *Y. enterocolitica* 식중독 발생에 있어서 잠재적인 위험요소가 될 수 있을 것으로 판단된다.

Real-time PCR과 배지검출법의 검출능력비교

Table 3에는 real-time PCR과 배지검출법 사이의 양성 검출율 차이가 통계학적으로 비교되었다. 사용된 음성 및 양성대조균은 두 가지 검출법에서 모두 적합하게 나왔다. 특히 음성대조균이 적합하게 나왔으므로 식품 내 자연오염 및 위양성의 가능성은 배제되었다.

소시지의 경우 배지검출법에서는 총 60개의 시료 중 총 49개가 양성을 보였고, real-time PCR에서는 60개 중 50개의 양성을 보여 두 방법은 거의 동일한($p > 0.05$) 검출감도를 보여주었다(Table 3). 그러나 야채 샐러드의 경우, real-time PCR에서는 60개 중 26개의 양성을 검출했으나, 배지검출법은 6개의 양성을 검출하여 두 방법간에는 통계학적 유의차를 나타냈다($p < 0.05$, Table 3).

Malrony 등(14)은 분쇄육, 우유, 계육 등의 다양한 식품 시료에서 *Salmonella*를 검출하기 위한 real-time PCR법을 평가하였는데 real-time PCR법은 표준 검출법인 배지검출법과 비교했을 때 100%의 민감도와 특이도를 보여 높은 정확도를 가지고 있음을 보고하였다. Chon 등(11)은 해산식품과 야채에서 *V. parahaemolyticus* 검출 시 real-time PCR과 배지검출법을 비교하였는데, 두 방법간의 유의차가 없어 real-time PCR이 표준검사법을 보완할 수 있는 적합한 방법이라고 보고하였다. 한편 Hyeon 등(8)과 Chon 등(13)은 본 연구의 결과와 동일하게 신선야채에서는 real-time PCR을 비롯한 신속검출 기법이 배지를 사용한 전통적인 검출기법에 비해 더 민감도가 높다고 보고하였다. 이러한 원인은 높은 경쟁집락을 비롯한 신선야채 내의 다양한 스트레스 요인으로 인해 목

적균이 선택배지상에서 잘 회복되지 않았기 때문이라고 분석되었다(13).

결론적으로 real-time PCR은 *Y. enterocolitica*의 검출에 있어서 식품의 성상이나 정상 세균총의 수에 관계없이 표준검출법인 배지검출법과 동등하거나 더 우수한 검출민감도를 가진 기법으로 사료된다. 현재 미국 농림부 식품검사국(United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service, Washington, DC, USA)에서는 다양한 분자유전학적인 방법을 screening method로 적용하여, 4-8시간 가량 균을 증균하고 PCR을 수행하여 양성인 경우에만 배지검출법으로 검출하고 있다(15). 이와 같이 real-time PCR을 표준검출법인 배지검출법에 앞서 음성시료를 신속하게 배제할 수 있는 screening test에 사용한다면 빠르고 정확한 균의 선별이 가능하며, 시간과 노동력을 절감하며 정확한 검출을 수행할 수 있을 것으로 보인다.

요 약

본 연구에서는 소시지와 야채 샐러드에서 *Y. enterocolitica*의 검출을 위해 배지법과 real-time PCR법을 비교하였다. 소시지와 야채 샐러드에 *Y. enterocolitica*를 접종하고 PSBB에서 증균배양하였으며, CIN agar에서 선택배양하였다. 동시에 증균배양액에서 1 mL을 채취하여 real-time PCR을 실시하였다. 실험결과, real-time PCR은 소시지에서 배지검출법과 비교하여 동일한 검출력을 보였으나 야채 샐러드에서는 훨씬 더 많은 양성을 검출하였다($p < 0.05$). 결론적으로 real-time PCR은 식품 시료와 관계 없이 표준검출법인 배지검출법과 비교하여 동등하거나 우수한 민감도를 지닌 신속검출기법인 것으로 사료되며, 배지검출법에 앞서 선별검사로 사용할 경우 시간, 비용, 노동력 절감에 있어서 매우 유효한 방법이 될 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 식약청 용역사업(09072식품안029)의 연구비지원으로 수행되었으며, 또한 교육과학기술부 재원으로 한국연구재단의 지원(No. 2012R1A2A2A01015344)을 받았습니다. 저자인 김윤경과 천정환은 Brain Korea 21(BK21)의 부분적인 지원을 받았습니다.

문 헌

- Cotton LN, White CH. *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, and *Salmonella* in dairy plant environments. *J. Dairy Sci.* 75: 51-57 (1992)
- Park SG, Choi SM, Oh YH, Choi CS. Biotype, serotype and antimicrobial susceptibility of *Yersinia enterocolitica* isolated from cattle in Korea. *J. Korean Soc. Microbiol.* 28: 453-461 (1993)
- Choi CS, Park SG, Youn YD, Chung SI, Yang YT. Production of heat-stable enterotoxins and virulence-associated cultural characteristics of porcine strains of *Yersinia enterocolitica* and related species with or without plasmid. *J. Korean Soc. Microbiol.* 25: 135-146 (1990)
- Park SH, Kim HJ, Kim HY. Simultaneous detection of *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, and *Shigella* spp. in lettuce using multiplex PCR method. *J. Microbiol. Biotech.* 16: 1301-1305 (2006)
- Korea Food and Drug Administration. Food code. Available from: http://safefood.kfda.go.kr/RS/food_menu.jsp. Accessed Jun. 6, 2012.
- Sachse K. Specificity and performance of diagnostic PCR assays. *Method. Mol. Biol.* 216: 3-29 (2003)
- Yang C, Jiang Y, Huang K, Zhu C, Yin Y. Application of real-time PCR for quantitative detection of *Campylobacter jejuni* in poultry, milk and environmental water. *FEMS Immunol. Med. Mic.* 38: 265-271 (2003)
- Hyeon JY, Hwang IG, Kwak HS, Park JS, Heo S, Choi IS, Park CK, Seo KH. 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. An.* 29: 506-512 (2009)
- Han SR, Hyeon JY, Kim HY, Park JS, Heo S, Shin HC, Seo KH. Evaluation of conventional culture methods and validation of immunoassays for rapid detection of *Listeria monocytogenes* in dairy and processed foods. *Korean J. Food Sci. An.* 28: 616-622 (2008)
- Lee JH, Song KY, Hyeon JY, Hwang IG, Kwak HS, Han JA, Chung YH, Seo KH. Comparison of standard culture method and real-time PCR assay for detection of *Staphylococcus aureus* in processed and unprocessed foods. *Korean J. Food Sci. An.* 30: 410-418 (2010)
- Chon JW, Hyeon JY, Hwang IG, Kwak HS, Han JA, Chung YH, Song KW, Seo KH. Comparison of standard culture method and real-time PCR for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in sea-foods and vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 355-360 (2010)
- Sen K. Rapid identification of *Yersinia enterocolitica* in blood by the 5' nuclease PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 38: 1953-1958 (2000)
- Chon JW, Hyeon JY, Hwang IG, Kwak HS, Han JA, Kim MS, Kim JH, Song KW, Seo KH. Comparison of real-time PCR and culture methods for detection of *Campylobacter jejuni* in various foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 119-123 (2011)
- Malorny B, Paccassoni E, Fach P, Bunge C, Martin A, Helmuth R. Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. *Appl. Environ. Microb.* 70: 7064-7052 (2004)
- United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service. Microbiology Laboratory Guidebook. Available from: http://www.fsis.usda.gov/Science/Microbiological_Lab_Guidebook/index.asp. Accessed Jun. 6, 2012.