

Evaluation of Loop Mediated Isothermal Amplification Based Methods for the Detection of *African Swine Fever Virus* from Food Waste

Siwon Lee^{1,*}, Junhwa Kwon^{2,**}, Su Hyang Kim^{2,**}, Jin-Ho Kim^{3,4,†,**}, Jaewon Jung^{1,5,***},
Kyung-Jin Lee^{4,***}, Ji-Yeon Park^{4,***}, Taek-Kyun Choi^{6,****},
Jun-Gu Kang^{2,*****} and Tae Uk Han^{2,†,*****}

¹R&D Team, LSLK Co. Ltd., Gimpo 10111, Korea

²Waste-to-Energy Research Division, Environmental Resources Research Department,
National Institute of Environmental Research, Incheon 22689, Korea

³Institute of Tissue Regeneration Engineering (ITREN), Dankook University, Chungam 31116, Korea

⁴Department of Chemistry, College of Science and Engineering, Dankook University, Chungnam 31116, Korea

⁵Division of Biological Science and Technology, Yonsei University, Wonju 26493, Korea

⁶KOTITI Testing & Research Institute, Seongnam 13202, Korea

African swine fever virus (ASFV) is a highly contagious and lethal pathogen that poses a threat to the global pork industry. The World Organization for Animal Health (WOAH) has placed strict surveillance measures for ASFV. The possibility of long-term survival of ASFV in raw meat or undercooked pork has been reported. Accordingly, the problem of secondary infection in food waste from households or waste disposal facilities has emerged, raising the need for ASFV monitoring of food waste. However, most of the previously reported ASFV gene detection methods are focused on clinical monitoring of pigs. There are very few cases in which their application in waste has been verified. Since ASFV diagnosis requires rapid monitoring and immediate action, loop-mediated isothermal amplification (LAMP) may be suitable, but this requires conformity assessment for LAMP to be used as a diagnostic technique. In this study, six LAMP methods were evaluated, and two methods (kit and manual) were recommended for use in diagnosing ASFV in food waste.

Key Words: *African swine fever virus*, ASFV, Food waste, LAMP

African swine fever virus (ASFV)는 *Asfarviridae* 과로 분류되는 이중 가닥 DNA 바이러스로, 높은 전염성과 치사율 및 전 세계적 돼지고기 산업에 심각한 위협으로 인해 세계동물보건기구[World Organization of Animal Health; OIE]의 엄격한 감시를 받고 있는 병원체이다(Gaudreault et al., 2020). ASFV에 대한 연구와 관심은 대부분 돼지 임상

집중되어 보고되고 있다(Agüero et al., 2003; Basto et al., 2006; O'Donnell et al., 2015). 그러나, 조리하고 남은 생고기 또는 불충분하게 조리된 돼지고기 등에서 ASFV가 장기간 생존 가능성이 보고됨에 따라, 가정 또는 처리 시설의 음식물쓰레기 또는 음식물쓰레기 기반으로 재생산된 사료에서 재 감염 가능성 등 이차 감염 문제가 대두되었고,

Received: November 1, 2022 / Accepted: December 5, 2022

*Research director, **Researcher, *** Undergraduate student, **** General Manager, ***** Director, ***** Senior Researcher.

†Corresponding author: Jin-Ho Kim. Institute of Tissue Regeneration Engineering (ITREN), Dankook University, Chungnam 31116, Korea.
Tel: +82-41-529-6256, Fax: +82-41-559-7860, e-mail: 12180374@dankook.ac.kr

†Corresponding author: Tae Uk Han. Waste-to-Energy Research Division, National Institute of Environmental Research, Incheon 22689, Korea.
Tel: +82-32-560-7530, Fax: +82-32-568-1658, e-mail: taeukhan@korea.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article 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.

이에 따라 국내에서는 남은 음식물의 직접처리급여를 제한하는 폐기물관리법 시행규칙 개정, 음식물류폐기물의 돼지 사료화 제한 등 정부적 대응이 이루어졌다[National Institute of Environmental Research (NIER), 2020]. 또한, 사료 또는 퇴비화를 위한 처리 시설 등에서 음식물류폐기물을 대상으로 ASFV에 대한 모니터링 필요성이 제기되었으나, 기존 보고된 ASFV 유전자 검출 방법들이 음식물류폐기물에서 적용성이 검증된 사례는 극히 드물다(Lee et al., 2022). 한편, 등온 증폭법(Loop mediated isothermal amplification; LAMP)은 중합효소연쇄반응과 동일한 핵산 증폭법 기반의 진단 기술이다. LAMP는 신속하고, 우수한 검출 민감도를 가진 검사법으로 특수한 온도조절장치 없이 동일한 온도를 유지시켜 줄 수 있는 항온 수조나 오븐과 같은 간단한 장비가 있으면 현장에서도 반응이 가능하며, 동시에 반응할 수 있는 반응 수가 증가하기 때문에 많은 시료의 신속한 반응에 장점이 있다(Ahn et al., 2008; Cho et al., 2013; Kim et al., 2017). OIE 규정에 따라 신속한 모니터링과 즉각 조치가 요구되는 ASFV 진단에 있어 LAMP 방법이 적합하게 활용될 수 있으나, 음식물류폐기물 등 환경 시료의 총 핵산은 임상 시료에 비해 상대적으로 낮은 수준의 병원체 농도, 다양하고 높은 수준의 알 수 없는 검출 저해 물질 포함 등을 원인으로 진단에 영향이 있을 가능성이 있어(Lee et al., 2021, 2022), 진단 기술 적합성에 대한 평가가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 LAMP 기반의 기존 보고된 진단법 및 시중 유통되는 kit에 대한 음식물류폐기물 시료에서의 활용성을 평가하였다.

ASFV 핵산은 미국 국립생물정보센터(National Center for Biotechnology Information; NCBI) accession number MN207061.1 (P72-73 gene)을 기준으로 Marcrogen Co. Ltd. (Seoul, Korea)에서 진합성 하였다. 또한 참고 바이러스 주 [Porcine circovirus 2 (PCV2), Porcine parvovirus (PPV) 및 Porcine Pseudorabies virus (PPrV)]는 각각 PCV2 NC_005148 (1,034~1,283, 250 nt), PPV NC_001718 (2,387~2,636, 250 nt) 및 PPrV NC_006151 (66,781~67,030, 250 nt)로 합성하였다(Lee et al., 2022). LAMP를 원리로 하는 5종류 [방법 #1, Dokphut et al., 2021; #2, Shaanxi innolever biological technology Co., Ltd.; #3, James et al., 2010; #4 & #5, Center for animal disease control and prevention of Beijing (2종류)]과 시중 유통되는 1개의 농림부 허가 kit [MmisoASFV detection kit (Mmonitor, Korea)]를 대상으로 음식물류폐기물에서 ASFV 검출 성능을 평가하였다(Table 1). 음식물류폐기물 시료는

중간 가공, 바이오가스, 퇴비화 등의 전국 시설로부터 무작위 20개 지점을 대상으로 하였다(NIER, 2020). Homogenize Kit (Innogenetech, Korea)와 MP FastPrep-24™ 5G (MP Biomedicals, USA)를 사용하여 음식물류폐기물 시료를 분쇄하였다(Lee et al., 2022). 분쇄액 140 µL로 부터 QIAamp® DNA Mini kit (Qiagen, Germany)의 매뉴얼에 따라 총 핵산을 추출하였으며, DS-11 Spectrophotometer (DeNOVIX, USA)로 농도 및 순도를 측정된 결과, 평균 76.27 ng/µL의 농도 및 1.93의 순도로 분석에 적합한 수준으로 확인되었다.

평가 대상인 6종류 중 염기서열이 제공된 5개 방법(#1~#5)은 LAMP 아우터 프라이머를 사용한 PCR 반응, 특이적 반응, 시료 검정 및 인위적 오염 기반 검출 민감도를 분석하였다. LAMP 아우터 프라이머를 사용한 PCR 반응의 조성은 AccuPower® HotStart PCR PreMix (Bioneer, Korea)를 사용하여, 프라이머 2 µL(정방향 및 역방향 프라이머를 각각 25 pmol 1 µL), 주형 핵산 1 µL, 멸균 증류수 17 µL로 총 20 µL로 하였으며, 반응 조건은 초기 변성 95°C에서 5분, 35회 반복[변성 95°C 45초, 결합 52.5~65.0°C(튜브 별 2.5°C 간격) 60초 및 신장 72°C 60초], 최종 신장 72°C 5분 간 반응하였다. 결합 온도에 반응되지 않은 방법 #3과 #5는 결합 온도를 40.0~52.5°C로 하여 추가 수행하였다. 그 결과, 각각 방법 #1은 52.5~57.5°C, #2는 52.5~55.0, #3은 40.0~50.0°C, #4는 55.0~57.5°C 및 #5는 40.0~50.0°C에서 아우터 프라이머에 대한 증폭 반응이 확인되었다(자료 미 제공). 방법 #1~#5에 대한 LAMP 반응을 위한 조성은 10X ThermoPol Buffer 2.5 µL(최종 농도 1X), dNTP (10 mM) 3.5 µL(최종 농도 1.4 mM), MgSO₄ (100 mM) 1.5 µL(최종 농도 6 mM), 프라이머(10 pmol) 각각 1 µL(총 4.0~6.0 µL), Bst DNA Polymerase, Large Fragment (New England Biolabs, USA) 1.0 µL, 주형 핵산 1.0 µL 및 멸균 증류수를 10.5~12.5 µL로 하여 총 25 µL로 하였다. LAMP 반응 조건은 보고된 방법을 포함하여 60, 62, 63 및 65°C로 하였다. 반응 후 2% agarose gel에서 30분 간 전기 영동 후 UV 하에서 확인하였다. 방법 #1~#3에서는 모든 반응 조건에서 ASFV 특이적 반응이 나타나지 않았다(Table 2). 해당 방법들은 이론적으로 합성된 염기서열에 부착될 수 있었으나(자료 미 제공), kit로 제공되지 않은 매뉴얼 방식의 LAMP 원리 시험법의 한계점으로 LAMP 반응에 대한 조건의 설정에 대한 개선이 필요할 것으로 보인다. 반면, #4는 63°C에서 #5에서는 62°C와 65°C에서 반응이 확인되었고, PCV2, PPV 및 PPrV에 대한 비 특이

Table 1. List of LAMP based ASFV detecting methods

#	Target gene	Name	Primer		Length (nt)	Location			Product size (nt)*	Condition	References
			Sequence (5'→3')	Start		End	NCBI accession #				
1	P72	FIP	TGATAAAGGGCTCCCGAAGCGCTTTTGGTTTAATGAGAA	-	-	-	-	-	60°C, 90 min	Dokphut et al., 2021	
		BIP	GCTTGCATCGCAAAAGGATTTGCTATAAACAACGTGACTGGC	-	-	-	-				
		Floop	CTGAGGGAATAGCAAAGGTTTCAC	-	-	-	MH713612				
		F3	ACTATCACGCCCCCTCTTG	960	977	-	-				
		B3	GCGTATATTGGCTACTGG	766	785	-	-				
2	P72	4FIP	TGATCGGATACGTAAACGGGATAGAGATACAGCTCTTC	-	-	-	-	-	65°C, 40 min	Wu et al., 2020 (Shaanxi innolever biological technology Co. Ltd.)	
		4BIP	CCGTAACTGCTCATGGTACGTAGTGGAAAGGGTAT	-	-	-	-				
		4LoopF	ATAGATGAACATGCGTC	-	-	-	MN207061.1				
		4LoopB	AGTTCJGCAAGCTCTTA	-	-	-	-				
		4F3	ACCGAGAGATAAGCTT	1,508	1,523	-	-				
		4B3	AAGGTAATCATCATCGC	1,735	1,751	-	-				
		FIP	GCAGAACTTTTGATGGAACTTATCTGTTAAAACATTTCCGTAAGTCT	-	-	-	-				
3	P72	BIP	GCTTTACATACCCCTCCACTACGGTAATCATCATCGCACCCG	-	-	-	-	-	65°C, 50 min	James et al., 2010	
		F3	CGTTACGTAICCGAATCACAIT	102,297	102,317	-	AY261361				
		B3	TATTCCTCCCGTGGCTTC	102,123	102,140	-	-				
		B-FIP	CATGAGCAGTTACGGAAATGTTTTTTTGTTCATCTAATCTGATATAGCC	-	-	-	-				
4	P72	B-BIP	AAITTCATCAAAAATTCCTGACAGCTTTTAATCGCATTCGCCTCC	-	-	-	-	-	63°C, 50 min	Center for animal disease control and prevention of Beijing	
		B-LB	GTAATGTATCGGATACGTAACGG	-	-	-	MH910495.1				
		B-F3	TACAGCTCTTCCAGACGC	103,984	104,001	-	-				
		B-B3	TAAATCATATCGACCCCG	103,790	103,807	-	-				
		A-FIP	AGCTGCAGAACTTTGATGGAAATTTAAACAATTTCCGTAAGTCTCA	-	-	-	-				
		A-BIP	ACGGAGGCAATGCGAATAAAAATATTCCTCCCGTGGCTTC	-	-	-	-				
		A-LB	CCGATGATCCGGGTGGGAT	-	-	-	MH910495.1				
5	P72	A-F3	CGTATCCGATCACATFACCT	103,932	103,951	-	-	208	63°C, 50 min		
		A-B3	ATATGACCACCTGGGTTGG	103,744	103,761	-	-				
6			No data							MimisoASFV detection kit (Mmonitor, Korea)	

* Amplicon sizes were using LAMP outer PCR primer set

Table 2. Evaluation of LAMP based methods for detecting of ASFV from food waste sample types

Methods	Evaluation items							Evaluation (Advantages / Disadvantages)
	PCR Reaction ^a	Specificity	Sample test	Sensitivity ^b	Reaction time (min)	Cost (per perp., won) ^d	Remark	
1 Dokphut et al., 2021					90 ^c			
2 Shaanxi innolever biological technology Co. Ltd.		ND	ND	ND	40 ^c			Cannot evaluate (Need to re-examine the reaction conditions)
3 James et al., 2010					50 ^c			
4 Center for animal disease control and prevention of Beijing (1)	Amplification			10 ⁻⁵ (1 fg/μL)	50 ^c	2,000~3,000	Preparation and result analysis processes requires	Available
5 Center for animal disease control and prevention of Beijing (2)		Specific	Negative	10 ⁻⁶ (1 fg/μL)	50 ^c			Recommended (ASFV detection in food waste samples at relatively low cost / about 3× slower to get results compared to method #6, relatively many preparations process requires)
6 MmisoASFV detection kit (Mmonitor, Korea)	ND			10 ⁻⁶ (1 fg/μL)	32	10,313	User-friendly & excellent reproducibility estimated	Recommended [Excellent sensitivity in food waste sample & Rapid (about 3 times) / expensive (Approximately 5 times) compared to manual methods]

^aUsing outer primers. ^bArtificial infection-based sensitivity. ^cAdditional gel-electrophoresis time (about 40~60 minutes) required. ^dCalculation from LAMP reaction to electrophoresis confirmation

적 반응이 나타나지 않았으며, 음식물류폐기물 시료 20개에서 모두 음성으로 확인되었다(Table 2). LAMP 반응이 나타난 방법 #4와 #5를 대상으로 음식물류폐기물 시료 내 적용성을 평가하였다. 시료로부터 추출한 핵산에 ASFV 핵산을 10⁻¹ (100 pg/μL)에서 10⁻⁸ (10 ag/μL)로 인위적으로 오염 시킨 후 검출 민감도를 분석한 결과, 방법 #4와 #5는 음식물류폐기물 내 ASFV를 각각 10⁻⁵ (10 fg/μL)과 10⁻⁶ (1 fg/μL) 민감도 수준에서 검출되었다(Fig. 1). 한편, 방법 #6 [MmisoASFV detection kit (Mmonitor)]은 특이적 반응, 시료 검정 및 인위적 오염 기반 검출 민감도를 분석하였다. 제품의 매뉴얼에 따라 premix type으로 각 튜브에 담겨있는 Lamp Premix 15 μL, control primer 2 μL, 주형 핵산 1 μL(cf. 제품의 매뉴얼은 2 μL이지만, 평가를 위해 동일한 양의 주형 핵산을 포함), 멸균 증류수 7 μL로 하여 총 25 μL로 하여 63 °C 30분, 80 °C 2분 반응 후, 파란색은 양

성, 보라색은 음성으로 판독하였다. 그 결과, 방법 #6은 ASFV 핵산에 대한 특이적 반응이 확인 및 3개 참고 바이러스 핵산에 대한 비 특이적 반응은 나타나지 않았고, 시료 20개에 대한 반응은 모두 음성이었으며, 인위적으로 오염 기반 검출 민감도는 10⁻⁶ (1 fg/μL)로 나타났다(Fig. 2).

이번 연구에서는 신속한 모니터링이 요구되는 병원체 ASFV 진단에 있어 핵산 증폭법 기반 중 가장 신속한 LAMP를 기반으로 한 방법에 대한 음식물류폐기물 시료 내 적용성을 평가하였다. Pikalo et al. (2022)는 돼지 임상 시료에서 OIE 권장 방법인 실시간 정량 PCR (qPCR) 기반 12개 kits에 대하여 ASFV 유전자 검출을 위한 성능과 특성을 비교하였으며, 사용자 친화성, 내부 통제, 소요 시간도 포함되었다. 모든 qPCR은 서로 다른 매트릭스에서 목적에 맞게 ASFV 계층을 검출하였고, 적합한 특이도와 민감도가 나타났으며, 이에 따라 내부 제어 시스템

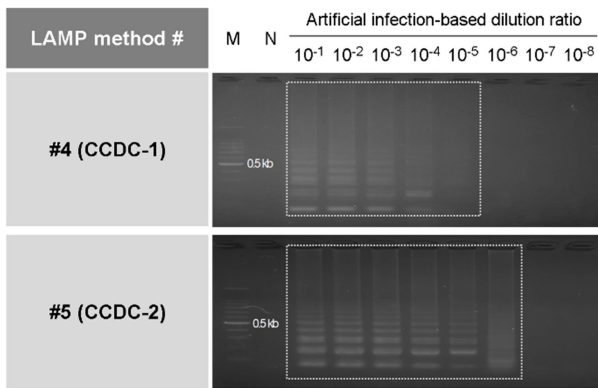


Fig. 1. Artificial infection-based sensitivity of two LAMP based methods. M, 100 bp Ladder marker (Enzymomics, Korea); N, negative control.

의 호환성 및 우선 순위에 따라 kit를 선택할 수 있다고 보고하였다(Pikalo et al., 2022). 이번 연구에서는 6종류의 LAMP 기반 방법 중 3종류에서 특정 반응이 나타났으며, 특히 방법 #5는 저렴한 금액으로 음식물류폐기물에서 ASFV 검출에 활용될 수 있을 것으로 평가되었고, 방법 #4도 활용이 가능할 것으로 검토되었다(Table 2). 그러나, 매뉴얼 방법으로 상대적으로 많은 준비 과정과 결과 분석을 위한 전기 영동 과정으로 방법 #6에 비해 약 3배의 시간이 소요될 것으로 추정되었다. 그러나 전기 영동 과정은 SYBR Green 또는 hydroxynaphthol blue 등을 사용하면 시간을 단축시킬 수 있고, 방법 #5를 기반으로 제품화한다면 이러한 문제점은 극복될 것으로 보인다(Goto et al., 2009; Lee et al., 2016). 또한, 제품으로 제공되는 #6은 매뉴얼 방법에 비해 약 3배 신속하게 음식물류폐기물에서 ASFV 검출에 활용될 수 있을 것으로 평가되었으며, kit로 제공되는 만큼 우수한 재현성이 추정되고, 대량의 시료를 검정하는데 있어 적합할 것으로 보인다. 그러나 튜브 1개 당 약 1만원이 넘는 가격은 매뉴얼 방법들에 비해 약 5배 수준이었다(Table 2). 또한, LAMP 방법들의 내부 대조군(Internal control)이 포함되지 않아 실험 설계자에 의해 별도로 설계되어야 한다.

Lee et al. (2022)은 음식물류폐기물에서 ASFV 검출에 적용될 수 있는 conventional PCR 방법을 개발 및 기존 보고된 5개 방법과 비교하였다. 몇몇 PCR 방법에서는 비특이적 반응이 나타났고 인위적 오염 기반 검출 민감도는 약 $10^5 \sim 10^7$ 수준이었다(Lee et al., 2022). 이번 연구에서는 방법 #5와 #6에서 모두 10^6 ($1 \text{ fg}/\mu\text{L}$) 수준의 검출 민감도가 나타났다. Lee et al. (2022)의 개발 방법에 비해 약

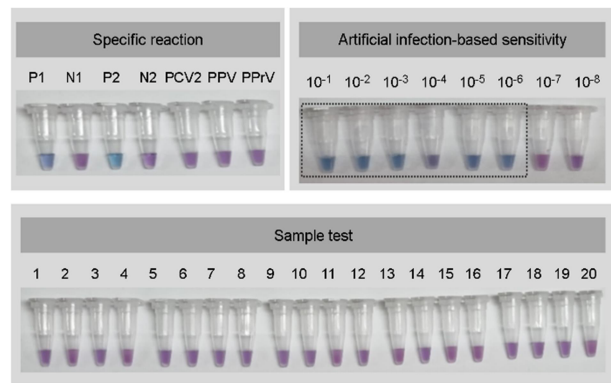


Fig. 2. Specific reaction, sample test and artificial infection-based sensitivity of LAMP based method #6 (MmisoASFV detection kit; Mmonitor, Korea). P1, kit positive control; N1, kit negative control; P2, ASFV nucleic acid 10^{-1} ($100 \text{ pg}/\mu\text{L}$); N2, deionized distilled water (ddH_2O); PCV2, *Porcine circovirus 2*; PPV, *Porcine parvovirus*; PPrV, *Porcine Pseudorabies virus*; 1~20, sample number.

10배 낮았고, 다른 방법들에 비해서는 약 10배 우수하거나 동등 수준 이었다. 그러나 우수한 결과를 보인 Lee et al. (2022)의 conventional PCR 방법은 음식물류폐기물부터 ASFV를 검출하는데 시료에서 총 핵산 추출 이후부터 약 175분(PCR 과정 약 135분 및 전기 영동 약 40분)이 소요되는 반면, LAMP 기반의 방법 #5와 #6은 약 100분과 32분으로 conventional PCR 기반 방법에 비해 최대 143분 수준의 반응 시간을 감소시킬 수 있다.

한편, 사람 코로나 바이러스가 애완용 동물로부터 보고된 사례가 있는 등 사람과 동물에 상호 전파되는 인수공통감염병이 다수 출현되고 있다(Bae, 2021). ASFV는 물렁진드기(*Ornithodoros erraticus*) 등 매개충(Basto et al., 2006) 외 다른 종 간 전파가 아직 확인되지 않았으나, 확산 예방에 대한 신속 진단의 중요성이 더욱 시사될 수 있다. 최근, 국내 환경부에서는 음식물류폐기물에서 ASFV 검출을 위하여 시판용 qPCR kit에 대한 평가가 이루어지고 있다(NIER, 2020, 2021). 이번 연구는 conventional PCR, qPCR 등과 함께 향후 각 실험실, 검사실 등의 내부 상황에 따라 향후 음식물류폐기물 등 환경 시료에서 ASFV를 진단에 활용될 수 있을 것으로 보인다.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by a grant from the National Institute of Environmental Research (NIER) and the Ministry of Environment (MOE) of the Republic of Korea (NIER-2020-

01-01-062).

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

REFERENCES

- Agüero M, Fernández J, Romero L, et al. Highly sensitive PCR assay for routine diagnosis of African swine fever virus in clinical samples. *J Clin Microbiol*. 2003. 41: 4431-4434.
- Ahn YC, Nam YH, Park SN, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis by loop-mediated isothermal amplification assay. *J Korean Chem Soc*. 2008. 52: 273-280.
- Bae DY. Prevalence of SARS-CoV-2 in cats and dogs from households and animal shelters in Korea. Master Degree thesis. 2021. Chonbuk National University, Iksan, Jeollabuk-do, Korea.
- Basto AP, Portugal RS, Nix RJ, et al. Development of a nested PCR and its internal control for the detection of African swine fever virus (ASFV) in *Ornithodoros erraticus*. 2006. *Arch Virol*. 151: 819-826.
- Center for animal disease control and prevention of Beijing. Primer set, reagent kit and method for fluorescence detection of African swine fever virus through LAMP (loop-mediated isothermal amplification). CN Patent 2019. 201910698248.2 filed July 31, 2019.
- Cho MH, Jang WC, Choi JG, et al. Detection for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in using bio-chip based loop mediated isothermal amplification assay. *J Korean Chem Soc*. 2013. 57: 81-87.
- Dokphut A, Boonpornprasert P, Songkasupa T, et al. Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of African swine fever. *Vet Integr Sci*. 2021. 19: 87-100.
- Gaudreault NN, Madden DW, Wilson WC, et al. African swine fever virus: an emerging DNA arbovirus. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020. 7: 215.
- Goto M, Honda E, Ogura A, et al. Colorimetric detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by using hydroxy naphthol blue. *Biotechniques*. 2009. 46: 167-172.
- James HE, Ebert K, McGonigle R, et al. Detection of African swine fever virus by loop-mediated isothermal amplification. *J Virol Methods*. 2010. 164: 68-74.
- Kim J, Lee S, Jeon SH, et al. Development of diagnostic system for rapid and specific detection of *Cherry leaf roll virus*. *J Agric Life Sci*. 2017. 51: 39-45.
- Lee S, Bae KS, Park J, et al. Monitoring and identification of human *Astrovirus* from groundwater in Korea based on highly sensitive RT-nested PCR primer sets. *Biomed Sci Lett*. 2021. 27: 255-263.
- Lee S, Lee J, Kim J, et al. Development of a rapid assay for Peach rosette mosaic virus using loop-mediated isothermal amplification. *Microbiol Biotechnol Lett*. 2016. 44: 493-496.
- Lee S, Kwon J, Kim BY, et al. Development of an Accurate and Sensitive Diagnostic System Based on Conventional PCR for Detection of African Swine Fever Virus in Food Waste. *Indian J Microbiol*. 2022. 62: 293-306.
- National Institute of Environmental Research. Characteristics and viral analysis of food waste from ASF source-related facilities. 2020. pp. 1-160. NIER, Incheon, Korea.
- National Institute of Environmental Research. Characteristics and viral analysis of food waste. 2021. pp. 1-148. NIER, Incheon, Korea.
- O'Donnell V, Holinka LG, Krug PW, et al. African swine fever virus Georgia 2007 with a deletion of virulence-associated gene 9GL (B119L), when administered at low doses, leads to virus attenuation in swine and induces an effective protection against homologous challenge. *J Virol*. 2015. 89: 8556-8566.
- Pikalo J, Carrau T, Deutschmann P, et al. Performance characteristics of real-time pcrs for african swine fever virus genome detection-comparison of twelve kits to an oie-recommended method. *Viruses*. 2022. 14: 220.
- Wu C, Shi B, Yang D, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus promotes sla-dr-mediated antigen presentation of nonstructural proteins to evoke a nonneutralizing antibody response *in vivo*. *J Virol*. 2020. 94: e01423-20 (page 1-27).

<https://doi.org/10.15616/BSL.2022.28.4.334>

Cite this article as: Lee S, Kwon J, Kim SH, Kim JH, Jung J, Lee KJ, Park JY, Choi TK, Kang JG, Han TU. Evaluation of Loop Mediated Isothermal Amplification Based Methods for the Detection of *African Swine Fever Virus* from Food Waste. *Biomedical Science Letters*. 2022. 28: 334-339.