

## ELISA 방법으로 계란의 난황에 존재하는 *Salmonella enteritidis*와 *S. typhimurium*에 대한 IgY 측정

이 승 배\*

상지대학교 생명공학과

## Detection of IgY Specific to *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium* in the Yolk of Commercial Brand Eggs using ELISA

Seung Bae Lee

Department of Biotechnology, Sangji University

### Abstract

Identification of salmonellosis-infected commercial poultry flocks has become a pivotal component of efforts to reduce incidence of egg-associated transmission of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* to humans. As a basic study for sanitary control of *S. enteritidis* and *S. typhimurium*, main food-borne pathogenic bacteria in eggs produced by domestic hens, commercial egg samples were tested for specific antibodies to whole cells of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* and outer membrane protein(OMP) of *S. typhimurium* by ELISA to detect infection of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* in various groups of hens. When the antibody titers of yolks from three commercial brand eggs were tested after diluting in the ratio from 1:100 to 1:1,600 with double dilution method, ELISA values of the specific antibodies could be shown as differences in dilution patterns by comparing with negative control egg. When the antibody titers of the yolks from two commercial brand eggs were tested after diluting in the ratio of 1:200 and 1:1,000, ELISA values of specific antibodies were different among same brand eggs. When the antibody titers of yolks from five eggs sampled randomly from twenty one commercial brand eggs were tested after diluting in the ratio of 1:1,000, ELISA value of the specific antibodies were shown generally high. ELISA values of 28.5, 30, and 28.5% of yolks from 21 brand eggs were shown low and similar to negative control egg in antibody titers to whole cells of *S. enteritidis* and *S. typhimurium* and OMP of *S. typhimurium*, respectively. The results demonstrated that ELISA test of egg yolk antibody could provide a highly sensitive indicator to detect contamination of *S. typhimurium* and *S. enteritidis* in poultry, and could be used effectively to reduce incidence of *S. typhimurium* and *S. enteritidis* infection in poultry.

Key words : *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis*, ELISA, brand eggs, antibodies

### 서 론

살모넬라속 균은 자연계에 널리 분포되어 있으며 포유류나 조류의 소화관내에서 검출되고 있고, 가금류인 닭의 경우에는 살모넬라가 주로 장내에 번식함으로서 도살시 닭의 고기는 물론이고 생산하는 계란의 난각뿐만 아니라 난황까지

감염이 되며, 또한 살모넬라균은 계분과 함께 배출되어 오염된 계란에서 더 높은 비율로 발생하고 있다(St Louis et al., 1988; Coyle et al., 1988; John, 1992; Centers for disease control, 1993). 살모넬라를 보균한 닭은 난계대 전염율이 33.3%이며, *S. typhimurium*의 경우 닭에 이환되어 난소 등의 장기에 보균함으로써 생산된 계란에 균이 들어 있을 때가 많으며, 또한 불결한 양계장에서는 살모넬라에 오염된 흙이 계란에 부착되거나 보관중에 균이 난각 표면에서 난각을 뚫고 계란 내부로 침투하면 계란의 부화율 감소와 내부 품질이 떨어지고 나아가 부패하게 된다(정 등, 1992 ; 이 등 2001).

\*Corresponding author : Seung-Bae Lee, Department of Biotechnology, Sangji University, Wonju, 220-702, Korea. Tel: 82-33-730-0542, Fax: 82-33-730-0503, E-mail: sblee@sangji.ac.kr

살모넬라에 의한 식중독은 세계적으로 계속해서 증가하고 있는 추세이며 감염된 가금류의 고기나 계란을 이용한 식품에서 발생 빈도가 높게 나타나고 있는 실정이다(Bean and Griffin, 1990 ; Todd, 1992). 국내에서 검출된 살모넬라는 48종에 이르며 그중 식중독균으로 많이 발생하는 원인균은 주로 *S. enteritidis*와 *S. typhimurium*이다(정 등, 1992). 살모넬라균에 의한 식중독의 증상은 대부분 급성 위장염을 일으키며 잠복기간은 6~48시간으로 오한, 구토, 구역질로 시작하여 2~3시간 후에는 복통과 설사를 동반한다(Hayes, 1992).

국민의 건강과 양계농가의 이익을 위해서 사육중에 *S. enteritidis*와 *S. typhimurium*로 감염된 산란계균을 찾는 것은 계란과 관련되어 사람에게 살모넬라 식중독 질병발생을 감소시키는데 있어 중요한 일이다(Altekruze 등, 1993 ; Henzler 등, 1994). 따라서 산란계균에서 식중독균인 살모넬라균의 청정화 관리는 위생적인 계란을 생산하기 위해서는 매우 중요하다.

산란계균에서 살모넬라 감염에 대한 일반적인 검사는 사육 주변환경에서 시료를 채취하여 세균을 배양검사하는 것이 일반적이나 이 방법은 시간과 비용이 많이 들어가고 있는 실정이다. 다른 효과적인 방법으로는 살모넬라를 실험적 또는 자연적으로 감염되었을 때 비교적 높은 특이 혈청항체 역가를 나타내므로 살모넬라가 감염된 산란계를 조사하기 위해서는 혈청학적 특이 검사가 많이 실시되고 있다(Barrow and Lovell, 1991). 그러나 혈청학적 특이 검사는 채혈과정을 필요로 하므로 계란을 생산하는 산란계에 스트레스를 주거나 값이 비싼 노동력이 들어가는 문제점이 있어 잘 이용을 못하는 실정이다. 혈청항체와는 대조적으로 계란의 난황항체 시료는 산란계에 스트레스를 주지 않고 손쉽게 계란만 수집하면 가능한 장점을 가지고 있다.

국내 계란에서 발견되는 식중독균은 주로 살모넬라로 그 중 많이 발생되는 균은 주로 *S. enteritidis*(SE)와 *S. typhimurium*(ST)이다(정 등, 1992). 그러므로 본 연구는 국내 산란계균에서 생산되는 계란의 식중독균인 SE와 ST의 청정화 관리를 위한 기초연구로서 국내에서 생산되는 계란에서 SE와 ST에 대한 산란계균의 감염 여부를 파악하기 위해 시중에 유통하는 계란의 난황에 존재하는 SE와 ST에 대한 특이 항체를 ELISA방법으로 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 분석시료준비

분석에 공시한 계란시료는 원주지역의 대형식품매장에서 브랜드별로 21개를 포장단위로 구입한 후 분석을 위해 4°C에 냉장보관하면서 사용하였으며, 음성 대조구로는 캐나다

Guelph 대학 식품학과의 Mine 박사로부터 얻은 살모넬라 항체가 없는 난황을 사용하였다.

### 균주배양

실험에 사용된 균주는 한국생명공학연구원 유전자은행에서 분양받은 *Salmonella enteritidis* KCTC 2930(SE)와 *Salmonella typhimurium* KCTC 2514(ST)를 사용하였다. 37°C에서 SE와 ST를 Tryptic soy broth(Difco, U.S.A)에서 24시간 배양한 후, 24시간 동안 1% Formalin용액으로 살균 처리하였다. 30분간 원심분리(3,000×g)하여 균주를 회수하고 멸균 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.2) 용액을 첨가하여 세 번 원심분리하여 세척하였다. 다시 600 nm의 파장에서 O.D값 1.0이 되도록 PBS로 회석한 다음 항원으로 사용하였다.

### Outer Membrane Protein(OMP)의 분리

*S. typhimurium* 으로부터 OMP의 분리는 Chart(1984)의 방법에 따라 tryptic soy broth에 배양한 후 5 mM PBS buffer (pH 7.2) 완충액으로 3번 세척한 후, 10 mM EDTA, 0.1 ug/ml의 DNase 및 0.1 ug/ml의 RNase를 넣은 완충액으로 처리 한 다음 sonication으로 균체를 파괴하고, 4,000×g로 30분간 원심분리한 상등액을 sodium lauryl sarcosinate로 용해시켰다. 그후 40,000×g로 1시간 초원심분리로 침강시켜 분리하였다.

### ELISA방법

난황에 들어 있는 특이항체의 역기는 Eriksson 등(1995)이 사용한 ELISA 방법을 약간 변형하여 측정하였다. PBS로 균체 또는 ST의 OMP를 회석한 후 96 well polystyrene plate(Corning Coster, Cambridge, MA)에 100 µL씩 넣고 4°C에서 하룻밤 방치하여 coating 하였다. PBS-T(0.05% Tween 20)로 세 번 세척한 후 2% bovine serum albumin(BSA : Sigma, U.S.A)이 포함된 PBS-T를 150 µL씩 넣고 37°C에서 2시간 반응시킨 후 PBS-T로 상기와 같은 방법으로 세척하였다. 회석한 난황을 well당 100 µL씩 넣고 37°C에서 1시간 반응시킨 후 다시 PBS-T로 세척하였다. Alkaline phosphate(AP : Sigma, U.S.A)가 결합된 이차항체인 Rabbit anti-chicken IgG(Sigma, U.S.A)용액을 넣고 37°C에서 1시간 반응시켰다. p-Nitrophenyl phosphate(Sigma, U.S.A)용액을 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 3N NaOH를 50µL씩 사용하여 반응을 정지시킨 다음 405 nm의 파장에서 ELISA reader(Biorad, U.S.A)로 각 well의 흡광도를 측정하여 ELISA value로 나타내었다.

### 통계처리

실험에서 얻어진 결과는 SAS program(2002)을 이용하여 Duncan의 다중검정을 통해 5%수준에서 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

*S. typhimurium*과 *S. enteritidis*에 대한 계란의 항체를 탐지하기 위해 시중에 유통되는 3종류 계란의 난황을 1:100부터 1:1,600까지 희석한 후 ST균체, ST의 outer membrane protein(OMP) 및 SE 균체 각각의 항원에 대한 항체 역가를 ELISA로 측정한 결과를 Fig. 1~3에 나타내었다.

ST항원에 대해 3종류의 계란 난황 항체 역가를 희석형태로 나타낸 Fig. 1에서 보면 브랜드 1은 희석비율 1:100에서 OD값이 0.58부터 1:1,600에서는 0.37로 난황 희석 형태가 음성 대조구에 비해 상당히 높은 항체 역가를 갖는 것으로 유

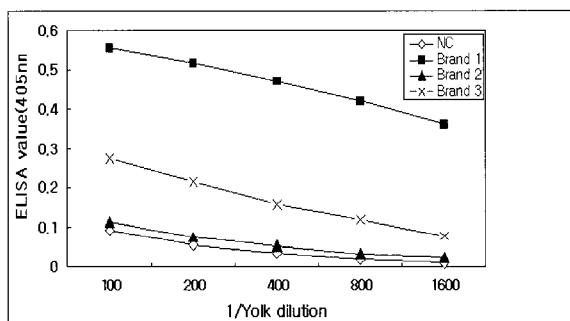


Fig. 1. Comparison of ELISA value to detect specific antibody in brand egg yolks by whole cell antigen of *Salmonella typhimurium* during serial double dilution from 100 to 1,600 with brand egg yolks. Data are the average of triplicate measurements(NC : negative control egg).

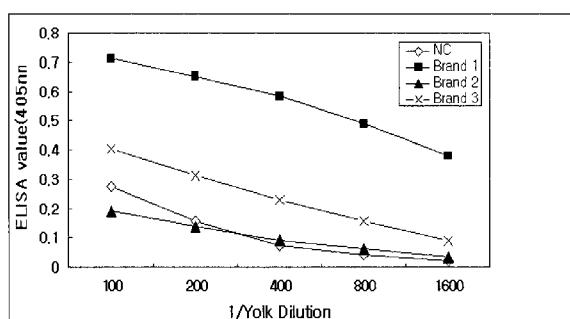


Fig. 2. Comparison of ELISA value to detect specific antibody in brand egg yolks by Outer membrane protein(OMP) antigen of *Salmonella typhimurium* during serial double dilution from 100 to 1,600 with brand egg yolks. Data are the average of triplicate measurements(NC : negative control egg).

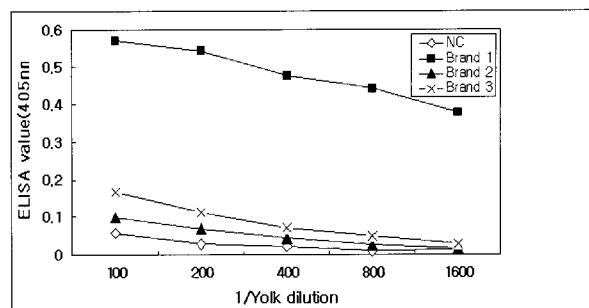


Fig. 3. Comparison of ELISA value to detect specific antibody in brand egg yolks by whole cell antigen of *Salmonella enteritidis* during serial double dilution from 100 to 1,600 with brand egg yolks. Data are the average of triplicate measurements(NC : negative control egg).

의차가 나타났다( $p<0.05$ ). 브랜드 3의 경우는 브랜드 1보다는 항체 역가가 다소 낮지만 살모넬라 음성 대조구에 비해서는 어느 정도는 항체 역가를 가지는 희석형태로 유의차( $p<0.05$ )를 보여준 반면 브랜드 2는 거의 음성 대조구와 비슷하게 항체 역가를 갖지 않는 희석형태로 유의차( $p<0.05$ )가 없었다. Fig. 2의 경우 ST의 OMP 항원에 대한 3종류의 대한 항체 역가를 희석형태로 나타낸 것으로 브랜드 1의 경우 희석 배수 1:100에서 OD값이 0.7부터 1:1,600에서는 0.4로 난황 희석 형태가 음성 대조구에 비해 높은 항체 역가를 갖는 것으로 유의차( $p<0.05$ )를 보였다. 브랜드 3은 1:100에서 OD값이 0.4이고 1:1,600에서 0.1로 나타나는 것을 볼 수 있으나 희석 형태는 음성 대조구에 비해 유의차( $p<0.05$ )가 없는 항체 역가를 갖는 것으로 나타났다. 브랜드 2의 경우 항체 역가는 희석배수 1:100에서 음성 대조구보다도 더 낮은 OD값을 보여 주다가 1:200부터 1:1,600까지는 거의 음성 대조구와 비슷한 형태로 유의차( $p<0.05$ )가 없는 것으로 나타내었다.

같은 계란에 대해 Fig. 1에 보여준 ST항원에 대한 희석 형태와 Fig. 2에서 보여준 ST의 OMP항원에 대한 희석형태를 비교해 보면 희석 형태는 거의 비슷하나 OMP항원인 경우 1:400이하의 낮은 희석배수에서는 항체역가가 ST 항원에 비해 유의차( $P<0.05$ )가 보이거나 1:800 이상의 높은 희석배수에서는 유의차( $p<0.05$ )가 없는 것으로 나타났다.

Fig. 3은 SE항원에 대해 3종류의 난황을 희석 배수에 따른 항체 역가를 나타낸 것으로 브랜드 1의 경우 희석 비율이 1:100에서 OD값이 0.58이고 1:1,600에서는 0.4의 OD값으로 감소하는 희석 형태는 음성 대조구의 희석비율이 1:100부터 1:1,600사이에서 OD 값이 0.05부터 0.01로 감소는 희석형태에 비해 매우 높은 항체 역가를 갖는 유의차( $p<0.05$ )를 보였으나 브랜드 3과 2는 음성 대조구와 유의차( $p<0.05$ )가 없는 항체 역가를 갖는 희석형태를 보여주었다. Kim 등(1991)은

SE의 OMP항원에 대해 혈청을 희석비율을 1:100부터 1:1,600으로 희석하여 ELISA로 항체 역가를 측정한 결과 살모넬라 양성 혈청은 1:100에서 OD값이 1.4를 나타냈고, 1:1,600에서는 0.43의 OD값으로 감소하는 희석형태를 나타낸 반면 음성 대조구의 희석비율이 1:100에서는 OD값이 0.3을 보였으며, 1:1,600에서는 0.1의 OD값으로 감소하는 희석형태를 보였다. 본 실험에서 SE항원에 대해 난황을 희석하여 조사된 항체 역가의 희석형태와 Kim 등(1991)의 SE의 OMP항원에 대해 혈청을 희석하여 나타난 희석형태를 비교해 보면 음성 대조구에 대해서 비슷한 결과를 나타냈다.

Fig. 1~3의 결과를 종합해 희석 형태를 보면 브랜드 1의 난황은 ST항원, ST의 OMP 항원 및 SE 항원에 대해 전부 음성 대조구에 비해 유의차( $p<0.05$ )가 높은 항체 역가를 갖는 것으로 나타났으나 브랜드 2의 경우는 모두 음성 대조구와 유의차( $p<0.05$ )가 없는 수준에서 항체 역가가 거의 없는 것으로 볼 수 있었다. 약간의 항체역가를 갖는 브랜드3의 경우는 ST항원과 ST의 OMP 항원에 대해서 나타난 결과는 음성 대조구에 비해 유의차는 없는 것으로 나타났으며 SE항원에 대해서도 음성 대조구와 유의차가( $p<0.05$ ) 없는 것을 볼 수 있었다. 이것은 브랜드 계란에 따라서도 ST항원과 SE항원에 대해 차이가 나는 항체 역가를 갖는 것을 알 수 있었다.

Fig. 4~6은 두 종류의 계란 브랜드 A와 B에 대해 각각 4개씩의 계란을 무작위로 선택하여 난황을 1:200과 1:1,000으로 희석한 후 ST항원, OMP항원 및 SE항원에 대해 ELISA을 실시하여 난황항체의 역가를 비교한 것이다.

Fig. 4에서 브랜드 A와 B를 ST항원에 대해 난황을 1:200과 1:1000으로 희석하여 비교한 결과 브랜드 A는 브랜드 B에 비해 전체적으로 ST항원에 대한 항체 역가가 높은 것으로 유의차( $p<0.05$ )가 나타났으며, 1:200과 1:1,000으로 희석

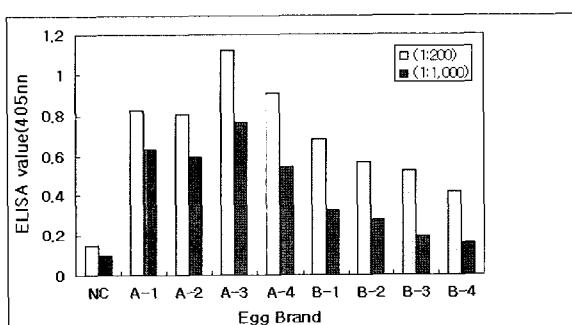


Fig. 4. Relationship between result of antibody dilution from two brand eggs detected by *Salmonella typhimurium* whole cell antigen. Level of antibody to *S. typhimurium* whole cell antigen in yolk is expressed as ELISA value at 1:200 and 1:1,000 dilution. Data are the average of triplicate measurements(NC: negative control egg).

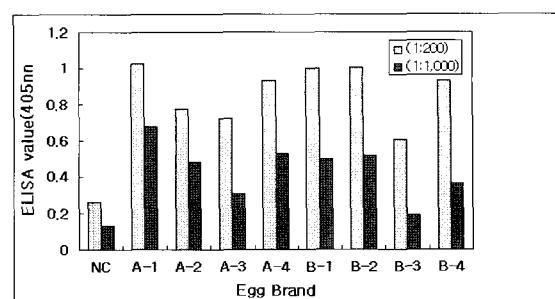


Fig. 5. Relationship between result of antibody dilution from two brand eggs detected by OMP antigen of *Salmonella typhimurium*. Level of antibody to OMP antigen of *S. typhimurium* in yolk is expressed as ELISA value at 1:200 and 1:1,000 dilution. Data are the average of triplicate measurements(NC: negative control egg).

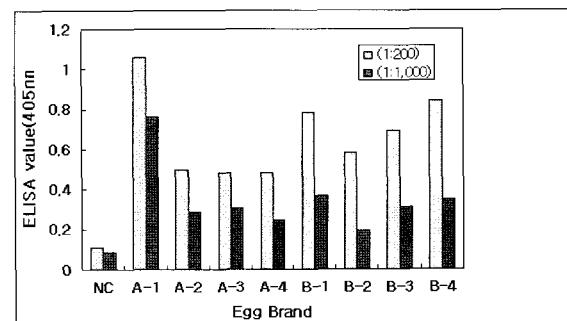


Fig. 6. Relationship between result of antibody dilution from two brand eggs detected by *Salmonella enteritidis* whole cell antigen. Level of antibody to *S. enteritidis* whole cell antigen in yolk is expressed as ELISA value at 1:200 and 1:1,000 dilution. Data are the average of triplicate measurements (NC: negative control egg).

한 희석 비율을 비교해 보면 1:200에 비해 1:1,000으로 희석한 경우 항체 역가가 높은 브랜드 A의 경우 평균적으로 32% 정도로 역가가 감소한 반면 비교적 항체 역가가 낮은 브랜드 B의 경우 평균적으로 57%의 감소를 보여주었다.

Nicholas와 Andrews(1991)에 의하면 ELISA로 난황의 IgG 항체 역가를 측정시 희석배율을 높여야 비특이적 반응을 줄일 수가 있다고 하였다. 본 실험에서 브랜드 A의 경우 전반적으로 항체의 역가가 높았으므로 희석 배율에 따라 비특이적 반응이 항체 역가의 감소가에 크게 영향을 주지 않았으나 브랜드 B의 경우 낮은 항체 역가를 가진 경우 1:200으로 적게 희석한 배율에서는 비특이적인 반응이 많아 높게 항체 역가가 나타났으나 1:1,000으로 높게 희석한 경우 비특이적인 반응이 많이 제거된 상태에서 특이 항체 역가가 나온 것이라고 생각된다.

Fig. 5의 경우 브랜드 A와 B에 있는 난황을 1:200과 1:

1,000으로 희석하여 ST의 OMP항원을 이용하여 ELISA를 측정한 결과 브랜드 A와 브랜드 B가 전체적으로 OMP항원에 대한 항체 역가가 비슷하게 유의차( $p<0.05$ )가 없는 것으로 나타났으며, 희석 배율 1:1,000에서 보면 브랜드 A의 경우 A-3을 제외하고는 Fig. 4의 ST항원에 대한 항체 역가와 비슷한 반응을 보인 반면 브랜드 B의 경우는 OMP 항원에 대해서 매우 높은 친화도를 보여 유의차( $p<0.05$ )가 있는 높은 항체 역가를 나타냈다. 브랜드 B는 1:200에 비해 1:1,000으로 희석하는 경우 대부분은 36%~60% 정도 항체 역가가 감소하였으나 특히, B-3는 70% 정도로 가장 많이 항체 역가가 감소하는 것으로 나타났다. OMP항원의 경우 ST항원 비해 희석 배율이 높아짐에 따라 비특이적인 반응이 더 크게 감소하는 경향을 보인 것으로 생각한다.

Fig. 6은 브랜드 A와 B의 계란 난황을 1:200과 1:1,000으로 희석한 후 SE 균체에 대해 얼마나 친화도를 가지고 있는 가를 조사한 것이다. 브랜드 A와 B를 비교해 보면 A-1을 제외하고서 거의 비슷한 수준에서 유의차( $p<0.05$ )가 없는 낮은 항체 역가를 보였으며, Brand B는 대체로 비슷한 항체역가를 보여주고 있다. 음성 대조구에 비해서 A와 B 모두 SE균체에 대한 유의차( $p<0.05$ )가 있는 항체 역가를 갖는 것으로 나타났다. 희석 비율이 1:200에서는 OD값이 1.0이상의 높은 항체 역가를 나타낸 것에 비해 1:1,000에서는 약 60% 정도의 역가가 감소하였고, 같은 제품의 계란 난황을 1:200과 1:1,000으로 희석한 후 3가지 항원 ST 균체, SE 균체 및 ST의 OMP 항원에 대해 ELISA를 실시한 결과 난황 특이 항체의 역가는 같은 제품일지라도 유의차( $p<0.05$ )가 있으며, 1:200으로 희석한 것보다 1:1,000으로 희석한 것이 약 50~60% 정도로 항체의 역가가 감소되나, 비특이적인 반응이 적어지므로 특이 항체 역가를 더 정확하게 측정할 수 있다고 생각된다.

Fig. 7~9는 시중에 유통중인 21개 브랜드 제품의 계란을 각 브랜드마다 5개씩 무작위 추출하여 계란 난황을 1:1,000으로 희석한 후 3가지 항원 ST 균체, SE 균체 및 ST의 OMP에 대해 ELISA를 실시한 결과 3가지 항원 모두에 대해 전반적으로 살모넬라균의 음성 대조구에 비해 거의 대부분이 유의적인 차를 보여 높은 난황항체 역가를 갖고 있으며 ( $p<0.05$ ), 전반적으로 SE와 ST의 균체 항원보다 ST의 OMP 항원에 대해 유의적인 차를 나타내는 높은 난황항체의 역가를 나타내었다( $p<0.05$ ). 21개 브랜드 제품에 대해 살모넬라의 오염도를 음성 대조구와 비교해 보면 ST항원으로 항체 역가를 조사한 경우 30%, SE항원으로 항체를 조사한 경우 28.5%, ST의 OMP항원으로 항체를 조사한 경우도 28.5%정도가 오염이 안된 음성 대조구와 비슷한 수준에서 유의차( $p<0.05$ )가 없는 낮은 항체 역가를 나타냈으며, ST항원으로 사용한 것보다 ST의 OMP항원을 사용한 경우 1.5% 정도 낮

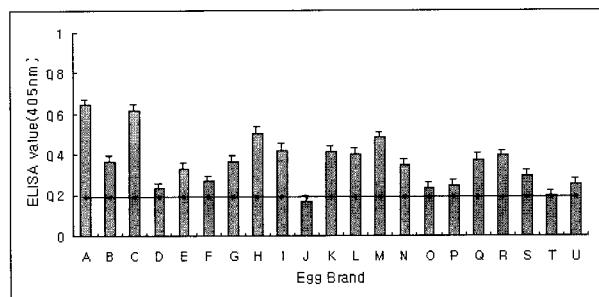


Fig. 7. Antibody level of 21 brand eggs and negative control egg detected by OMP antigen of *Salmonella typhimurium*. Level of antibody to OMP antigen of *S. typhimurium* in yolk is expressed as ELISA value at 1:1000 dilution. Cross line indicates the average antibody level of negative control eggs. A~U: 21 Brand eggs(values are mean±SD, n=5, two times with triplicate).

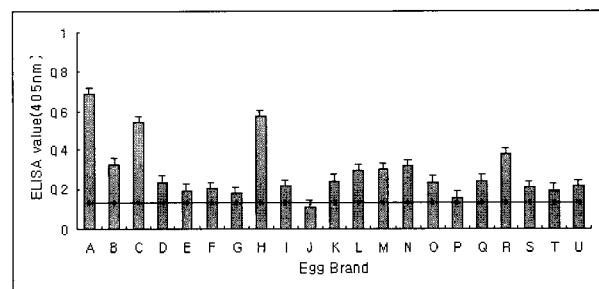


Fig. 8. Antibody level of 21 brand eggs and negative control egg detected by *Salmonella typhimurium* whole cell antigen. Level of antibody to *S. typhimurium* whole cell antigen in yolk is expressed as ELISA value at 1:1000 dilution. Cross line indicates the average antibody level of negative control eggs. A~U: 21 Brand eggs(values are mean±SD, n=5, two times with triplicate).

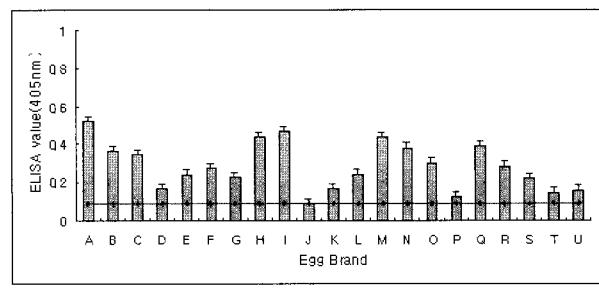
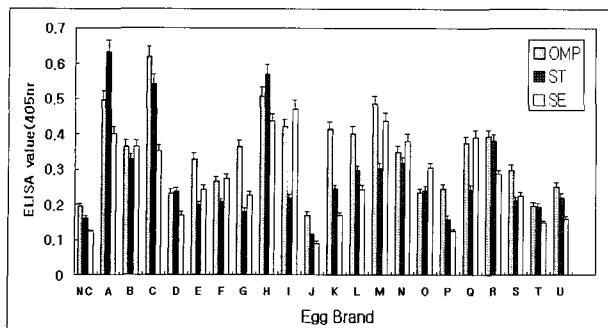


Fig. 9. Antibody level of 21 brand eggs and negative control egg detected by *Salmonella enteritidis* whole cell antigen. Level of antibody to SE whole cell antigen in yolk is expressed as ELISA value at 1:1000 dilution. Cross line indicates the average antibody level of negative control eggs. A~U: 21 Brand eggs(values are mean±SD, n=5, two times with triplicate).



**Fig. 10. Relationships between results from 21 brand eggs detected by *Salmonella enteritidis*(SE) whole cell antigen, *Salmonella typhimurium*(ST) whole cell antigen and OMP antigen of *S. typhimurium*. Levels of antibody to each antigen in yolk are expressed as ELISA value at 1:1000 dilution. NC: negative control egg, A~U: 21 Brand eggs(values are mean±SD, n=5, two times with triplicate).**

계 음성으로 나타났다.

Fig. 10은 21개의 브랜드 제품의 계란에 대해 ST항원, ST의 OMP항원, SE항원에 대하여 실시한 ELISA value를 종합적으로 비교한 것이다. 대체로 OD값이 0.2 수준의 낮은 항체역가를 갖는 브랜드에서는 ST항원에 대한 결과와 ST의 OMP항원에 대한 결과가 유의적인 차이가 없이 비슷하게 나타나는 것을 볼 수 있으나( $p<0.05$ ), 0.2이상의 OD값을 갖는 브랜드 계란에서는 ST의 OMP항원과 ST항원 사이의 결과에 유의차( $p<0.05$ )를 보이나, 두 항원 모두에 대해 높은 항체역가를 보여주고 있다.

전반적으로 SE 항원에 대해 높은 항체의 역가를 갖는 계란에서는 대체적으로 ST항원에 대한 항체 역가도 높은 것으로 나타난 것을 볼 수 있었으며 SE 항원과 ST 항원에 대해 나타난 항체역가는 유의차( $p<0.05$ )를 보이지 않았다. 그러나 SE와 ST의 OMP항원에 대해 나타난 항체 역가 사이에서는 유의차( $p<0.05$ )를 보여주었다. ST의 OMP항원에 대해 ST항원과 SE항원 모두 유의성에 차이는 있지만 상관관계에서는 SE항원( $r=0.76$ )에 비해 ST항원( $r=0.85$ )이 더 높은 상관관계를 갖는 것으로 나타났다.

Gast와 Beard(1990), Kim 등(1991) 및 Nicholas와 Cullen(1991)에 따르면 실험적으로 또는 자연적으로 SE 감염된 닭의 혈청에서 SE에 대한 항체가 높게 나타나는 것으로 되어 있다. 또한, Gast 등(1997)에 의하면 산란계에 실험적으로 SE를 감염시킨 후 SE 편모항원을 이용하여 ELISA로 계란 난황이 특이 항체를 조사한 결과를 보면 실험 후 3일 후에는 생산된 계란 전체 비율중 5.7%가 특이항체가 생성되었고, 12일에는 58.5%로 증가하고, 15일에는 84.4%로 나타났으며,

21일에는 95.5% 수준으로 24일까지 특이 항체를 갖고 있는 것으로 보고하고 있다. 본 실험의 결과를 Gast 등(1997)의 결과에 비추어 볼 때 국내에서 생산된 21개의 상업적인 계란의 난황에서 SE균체 항원과 ST균체 항원 및 ST의 OMP항원에 대한 특이항체를 ELISA로 조사시 살모넬라 음성 대조군보다 높은 특이 항체를 갖는 계란이 약 70% 정도를 보인 것은 이를 계란을 생산한 산란계 농장이 살모넬라에 거의 70% 정도가 오염되어 있는 것으로 추측되며, 본 실험에서 사용한 살모넬라 항원에 대한 난황항체 역가를 ELISA로 측정하는 방법이 산란계 농장에서 발생하는 ST와 SE에 오염을 파악하거나 ST와 SE의 오염을 줄이는데 효과적으로 이용됨으로서 계란에 의한 살모넬라 식중독을 미연에 막는데 사용될 수 있는 있다고 생각된다. 아울러 국내 계란의 등급제 시행에서도 위생적인 측면을 고려한다면 ELISA방법을 이용하여 살모넬라에 오염 여부를 신속히 파악하는 것은 중요한 요소라고 생각된다.

## 적 요

사람들에게 계란과 관련하여 일어나는 *S. enteritidis*(SE)와 *S. typhimurium*(ST)의 전파를 줄이기 위해서 감염된 상업적인 산란계군을 찾는 것은 매우 중요한 일이다. 그러므로 본 연구는 국내 산란계군에서 생산되는 계란의 주된 식중독균인 SE와 ST의 청정화 관리를 위한 기초 연구로서 SE와 ST에 대한 산란계군의 감염 여부를 파악하기 위해 시중에 유통하는 계란의 난황에 존재하는 SE와 ST에 대한 특이 항체를 ELISA방법으로 조사하였다. 시중에 유통되는 3개 제품의 계란의 난황을 1:100부터 1:1,600까지 두배 희석법으로 희석한 후 SE균체와 ST균체 및 ST의 OMP항원에 대해 특이 항체역가를 ELISA로 측정한 결과 대조군에 비해 희석곡선의 형태가 차이가 나는 것을 알 수 있었다. 시중에 유통중인 2개 제품의 계란을 1:200과 1:1,000으로 희석한 후 ST항원, OMP항원과 SE항원에 대한 각각 ELISA를 실시한 결과 각각의 항원에 대해 난황특이 항체에 대한 역가는 같은 제품일지라도 차이가 있었다. 21개 제품의 계란을 각 회사마다 5개씩 무작위로 추출하여 계란난황을 1:1,000으로 희석한 후 3가지 항원 ST균체, SE균체 및 ST의 OMP 항원에 대해 ELISA을 실시한 결과 SE와 ST균체 항체보다 OMP항원에 대해 전반적으로 높은 항체 역가를 나타냈으며, ST는 30%, SE는 28.5%, OMP는 28.5% 수준에서 대조구와 비슷한 낮은 역가의 항체 값을 나타내었다. 본 논문의 결과는 난황항체 역가를 측정함으로서 산란계군에서 ST와 SE에 오염을 파악하거나 ST와 SE의 오염을 줄이는데 효과적으로 이용될 수 있는 민감한 방법이라고 생각된다.

## 감사의 글

이 논문은 2001년도 상지대학교 교내연구비 지원에 의하여 연구되었음.

## 참고문헌

1. Altekruze, S., Koehler, J., Hickman-Brenner, F., Tauxe, R. V., and Ferris, K. (1993) A comparison of *Salmonella enteritidis* phage types from egg-associated outbreak and implicated laying flocks. *Epidemiol. Infect.* **110**, 17-22.
2. Barrow, P. A. and Lovell, M. A. (1991) Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. *Avian Pathol.* **20**, 335-348.
3. Bean, N. H. and Griffin, P. M. (1990) Foodborne disease outbreak in the United State, 1973-1987, Pathogens, Vehicles and Trends. *J. Food Prot.* **53**, 804-817.
4. Centers for Disease Control (1993) Outbreak of *Salmonella enteritidis* gastroenteritis - California, 1993. *Morbid. Mortal. Weekly Rep.* **42**, 793-797.
5. Chart, H., Shaw, D. H., Ishiguro, E. E., and Trust T. J. (1984) Structural and immunochemical homogeneity of *Aeromonas salmonicida* lipopolysaccharide. *J. of Bacteriology*, **158**, 16-22.
6. Coyle, E. F., Ribeiro, C. D., Howard, A. J., Palmer, S. R., Jones, H. I., Ward, L., and Rowe, S. (1988) *Salmonella enteritidis* phage type 4 infection: association with hen's eggs. *Lancet* **2**, 1295-1297.
7. Eriksson, P. V., Paola, G. N., M. F., and Manghi, M. A. (1995) Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent assay for detection of *Pseudomonas fluorescens* on meat surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 397-398.
8. Gast, R. K. and Beard, C. W. (1990) Serological detection of experimental *Salmonella enteritidis* infections laying hens. *Avian Dis.* **34**, 721-728.
9. Gast, R. K., Porter, Jr. R. E., and Holt, P. S. (1997) Applying tests for specific yolk antibodies to predict contamination by *Salmonella enteritidis* in eggs from experimentally infected laying hens. *Avian Dis.* **41**, 195-202.
10. Hayes, P. R. (1992) Food poisoning and other food-borne hazard. In *Food microbiology and Hygiene*, 2nd ed., Elsevier Applied Sci. pp. 26.
11. Henzler, D. J., Ebel, E., Sanders, J., Kradel, D., and Mason, J. (1994) *Salmonella enteritidis* in eggs from commercial chicken layer flocks implicated in human outbreak. *Avian Dis.* **38**, 37-43.
12. John J. M. (1992) Bacteriological problem occurring in food. In *Food Safety*, 2nd ed., Eagasn Press, pp. 112-116.
13. Kim, C. J., Nagaraja, K. V., and Pomeroy, B. S. (1991) Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Salmonella enteritidis* infection in chickens. *Am. J. Vet. Res.* **52**, 1069-1074.
14. Nicholas, R. A. J. and Andrews, S. J. (1991) Detection of antibody to *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium* in the yolk of hen's eggs. *Vet. Rec.* **128**, 98-100.
15. Nicholas, R. A. J. and Cullen G. A. (1991) Development and application of an ELISA for detecting antibodies to *Salmonella enteritidis* in chicken flocks. *Vet. Rec.* **128**, 674-676.
16. St. Louis, M. E., Morse, D. L., Potter, M. E., DeMelfi, T. M., Guzewich, J. J., Tauxe, R. V., and Blake, P. A. (1988) The emergence of grade A eggs as a major source of *Salmonella enteritidis* infection. New implications for the control of salmonellosis. *J. Am. Med. Assoc.* **259**, 2103-2107.
17. Todd, E. C. D. (1992) Foodborne disease in Canada a 10 year summary from 1975 to 1984. *J. Food Prot.* **55**, 123-132.
18. 이무하, 이성기, 최석호, 김일석 (2001) 축산식품 품질경영학. 선진문화사, pp. 266.
19. 정희곤, 박홍현, 이상일, 이극로 (1992) 최신식품위생학. 광문각, pp. 66-69.

(2003. 3. 18. 접수 ; 2003. 4. 23. 채택)