

## 젖소 유방염에 대한 키토산의 효능에 관한 연구

문진산 · 주이석 · 구복경 · 김종염 · 김덕원\* · 박용호\*\* · 한태욱\*\*\*

수의과학연구소 · 삼양약화학\*  
서울대학교 수의과대학\*\* · 미국 조지아대학교\*\*\*  
(1997년 10월 10일 접수)

### A study on efficacy of chitosan on bovine mastitis

Jin-san Moon, Yi-seok Joo, Bok-gyeong Ku, Jong-yeom Kim, Duck-won, Kim\*,  
Yong-ho Park\*\*, Tae-wook Hahn\*\*\*

National Veterinary Research Institute, RDA, Anyang, Korea  
Samyang Pharma-Chemical Co., LTD., Seoul, Korea\*  
Seoul National University, Suwon, Korea\*\*  
University of Georgia, USA\*\*\*

(Received Oct 10, 1997)

**Abstract :** The effects of chitosan on mastitis in lactating holstein cows were evaluated. Fifty six cows with intramammary infection(IMI) from nine farms were selected and the cows were fed with diets which contained 15~20g chitosan per day for 5~7 days. The milk samples were obtained from cows at 7 days and 14 days after administration to determine effect of the curing of mastitis and the reduction of somatic cell counts(SCC).

The average value of SCC levels in quarter milk from the cows administrated with chitosan significantly decreased up to 31.8% and 47.7% at 7 and 14 days, respectively( $P < 0.05$ ). The cure rates of chitosan for *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative *Staphylococci*, *Streptococci* spp, other gram positive bacteria and coliforms were 30.4, 42.8, 33.3, 66.6 and 54.5 % respectively. Twenty three out of 64 cases were cured by feeding with chitosan.

The results showed that administration of chitosan could reduce SCC in milk and improve cure rates of bovine mastitis caused by microorganisms. The further studies will be pursued to study on the mechanism of chitosan in the immune responses of cows with mastitis.

**Key words :** chitosan, cows, mastitis, somatic cell count.

## 서 론

유방염은 전세계적으로 젖소의 질병중 가장 많이 발생하여 막대한 경제적 손실을 초래하는 질병으로<sup>1,2</sup>, 국내에서도 원유 위생등급제 실시와 함께 이를 해결하기 위한 연구가 다각적인 방법으로 진행되고 있다<sup>3</sup>.

유방염을 일으키는 원인체의 다양성으로 인하여 여러 가지 치료방법이 강구되어 왔다. 그중 하나의 방법으로 지난 수십년 동안 유방염 예방과 치료를 위해 항생물질이 널리 사용되어 왔다. 그러나 항생제의 연용으로 내성 균주가 증가하게 되어 치료율이 감소하고, 항생제의 우유내 잔류문제로 각 항생제마다 휴약기간을 설정하여 최소 72시간은 납유하지 못하고 버리게 되었다<sup>4-6</sup>.

그리하여 최근에는 유방염을 포함한 질병방제를 위하여 항생제를 탈피하여 생리학적 및 면역학적 요법으로 숙주의 질병에 대한 저항성을 높이는 면역증강제 개발이 시도되고 있다<sup>7,8</sup>.

키토산은 버섯류와 사상균의 세포벽과 껍질과 새우 등 갑각류의 골격과 껍질을 구성하는 키틴질을 화학적 또는 생물학적으로 처리된 N-탈아세틸화물이다<sup>9</sup>. 키틴은 보통의 용매에서 불용이기 때문에 그 용도는 한정되어 있어 대부분이 키토산의 원료로 사용된다. 키토산은 포리카치온 성질(polycationic nature)을 갖고 있어 이제까지 수분처리용 응집제나 탈수제로써 사용되어 왔으나<sup>10</sup> 키틴 키토산의 장점과 특성이 밝혀지면서는 이온교환제, 효소 고정화제, 화장품, 의료용품, 토양 개량제 등 그 용도는 더욱 넓어지고 있는 추세이다<sup>11-14</sup>.

최근 일본에서는 소의 피하조직에 키토산을 도포하여 상처 치유효과를 조사한 결과, 도포 7일 후에 키토산 주위에 다형핵세포(PMN)의 유주를 유도하였고 섬유아세포의 활성이 관찰되었으며, 14일 후에는 다형핵세포는 사라지고 키토산섬유 주위에 맥관형성과 동시에 결합조직이 재생되었으며, 대식세포 유래의 다핵세포(Polykaryocytes)가 키토산섬유에 유착하여 상처치유에 탁월한 효과를 보였으며 또한 부재병 등 화농성 질병을 보인 48두중 43두(89.6%)가 키토산에 대해서 항생요법의 병행 없이 치료에 반응을 보이는 것으로 보고하였다<sup>15,16</sup>. 유방염에 대해서도 키토산을 생리식염수에 0.006%로 희석하여 유두공을 통해 직접 주입함으로써 유방염 치료와 면역학적 변화 등을 조사하였다<sup>15,18</sup>.

또한 국내에서도 키토산 및 키토산 올리고당에 대한 제품개발 및 연구결과에 대해서 매우 큰 관심을 보이고 있으며, 김 등<sup>19</sup>이 실험실내에서 자돈 설사유발 대장균에 대한 키토산의 항균효과를 보고한 바 있으나 아직까지 수의학적 적용이 전반적으로 미진한 상태이다.

따라서 본 연구에서는 우유중 항생제 잔류문제로 인하여 항생제 사용이 가장 제한시 되고, 키토산 사용의 경제성 등을 고려하여 키토산 제제를 유방염에 감염된 젖소에 급여한 후 유증으로부터 원인균 검사를 통하여 유방염에 대한 치료효과를 조사한 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

**대상동물 :** 1997년 5월에서 9월 사이에 충북지역의 착유두수 20~30두 규모의 9개 목장으로 부터 전 착유우를 분방별로 무균적으로 채취하여 체세포수 및 세균학적 검사를 실시한 후 유방염에 감염된 홀스타인 비유기 젖소 56두를 실험에 공시하였다.

**키토산 규격 및 시료채취 :**

가. 키토산의 규격 : 유방염 치료를 위해 사용된 키토산 제제는 계껍질로부터 분리된 것으로서 87% 탈아세틸화된 키토산이며, 회분은 최대 0.5%, 납, 카드뮴, 비소와 같은 중금속은 최대 10ppm 이하이며, 점도는 65cps인 것(KOYO Chemical Co., Ltd., Japan)을 사용하였다.

나. 키토산 급여 및 시료채취 : 유방염에 감염된 젖소를 대상으로 키토산이 15~20% 함유된 제제 100g을 두당 1일 1회씩 총 5~7일간 사료에 혼합하여 경구투여 하였다. 유방염 치료효과를 조사하기 위하여 시료는 분방별로 우유 20ml을 키토산 급여전과 최초 급여후 7일째와 14일째에 각각 채취하였다.

**우유검사 :**

체세포수 검사 : 분방별 원유를 멸균된 시험관에 무균적으로 채취하여 냉장 운반한 다음, Fossomatic 300(Foss Electric Co.)기기를 이용하여 체세포수를 측정하였다. 샘플채취 과정에서 오염된 세균으로 인한 위양성 유방염을 제거하기 위하여 Fossomatic 기기를 이용하여 체세포수를 측정하였으며, 체세포수가 ml당 25만 이상이 되는 원유를 유방염에 감염된 것으로 의심하고 원인균 분리를 시도하였다.

세균학적 검사 : 유방염 원인체의 분리동정을 위해

5% 면양 혈액천배지에 우유 0.025ml를 접종하고, 37°C에서 24~48시간 배양후 균집락의 성장과 용혈성 및 그람염색 소견 등에 의해 1차적으로 균을 선별한 다음, 균의 동정은 Cowan<sup>20</sup>의 방법에 준하였다. 즉, 그람양성균은 일차적으로 catalase와 coagulase 실험을 한 후 aesculin hydrolysis 반응과, MacConkey 배지에서의 발육여부, 포도상구균 베타톡신 산생균주를 이용한 CAMP 반응 등을 실시하였다.

통계분석: 전체 실험군의 통계분석은 컴퓨터 통계프로그램인 Microcal사의 Origin 4.1을 사용하였고 Student's *t*-test(unpaired *t*-statistic)를 이용하여 검정하였다.

## 결 과

충청지역의 냉각기 체세포수가 높은 9개 목장을 대상으로 유방염에 감염된 비유기 젖소 56두를 선발한 다음, 4개 목장은 키토산을 1일 두당 15g을 7일간, 나머지 5개 목장은 20g을 5일 또는 7일간 경구투여한 후 감염된 115개 분방을 대상으로 체세포수 증감효과를 조사하였다. 그 결과 Table 1과 같이 목장별, 키토산 투여량 또는

투여기간에 따른 체세포수 감소효과는 약간의 차이는 있었으나 9개 목장 모두에서 체세포수 감소효과가 인정되었다. 즉, 키토산 투여전에는 체세포수가 214만이었으나 최초 투여후 7일째에는 146만으로 31.8%의 감소효과를, 투여후 14일째에는 112만으로 47.7%의 유의성 있는 체세포수 감소효과를 나타내었다( $p < 0.05$ ).

키토산 15g을 7일간 급여한 4개 목장의 체세포수 감소율은 투여전에 비하여 투여후 14일째에 각각 43.0%, 38.9%, 65.6%, 49.3%였으며, 키토산 20g을 5일간 또는 7일간 급여한 목장의 경우는 각각 11.8%, 20.5%, 19.1%와 51.6%, 65.9%로 조사되어 투여량보다는 투여기간에 따른 체세포수 감소효과가 더욱 높은 것으로 나타났다.

한편, 키토산 투여전 유방염에 감염된 115개 분방의 체세포수 분포율은 400만 이상이 18개(15.6%), 100~400만이 18개(42.6%), 51~100만이 24(20.8%), 25~50만이 24개(20.8%)이고, 25만 미만은 전혀 없었다. 하지만 키토산 투여후 최초 7일과 14일째에는 체세포수 400만 이상의 분방이 각각 9개와 7개 분방으로 그리고 100~400만 사이도 각각 38개와 26개 분방으로 감소되고, 체세포수 25만 이하의 유방염에 감염되지 않은 정상적인 분방도 키토

Table 1. Changes of somatic cell counts by administration of chitosan to cows with mastitis

Farms	Dose of chitosan (g/head)	Frequency of treatment	No. of cows	No. of quarters	Somatic cell counts(Mean × 10,000 ± S.E)		
					Before treatment	7 days after treatment	14 days after treatment
A	15	7	8	19	237 ± 45	174 ± 45 (26.6)	135 ± 53 (43.0)
B	15	7	6	17	90 ± 16	77 ± 27 (14.4)	55 ± 10 (38.9)
C	15	7	6	12	282 ± 72	93 ± 23 (67.0)	97 ± 23 (65.6)
D	15	7	6	9	152 ± 39	84 ± 16 (44.7)	77 ± 11 (49.3)
E	20	5	6	19	111 ± 21	88 ± 15 (20.7)	96 ± 22 (11.8)
F	20	5	8	9	127 ± 35	80 ± 22 (37.0)	101 ± 44 (20.5)
G	20	5	6	8	94 ± 15	91 ± 32 ( 3.2)	76 ± 36 (19.1)
H	20	7	5	11	540 ± 94	447 ± 86 (17.2)	261 ± 68 (51.6)
I	20	7	6	11	349 ± 87	138 ± 40 (60.5) <sup>*</sup>	119 ± 49 (65.9) <sup>**</sup>
Total			56	115	214 ± 20	146 ± 17 <sup>**</sup> (31.8%)	112 ± 13 <sup>**</sup> (47.7%)

<sup>\*</sup> SCC after treatment - SCC Before treatment / SCC Before treatment × 100.

<sup>\*\*</sup>  $p < 0.05$ .

산 투여후 최초 7일과 14일에는 각각 17개와 25개로 증가되어 체세포수 감소효과와 유방염 치료효과가 있는 것으로 나타났다(Table 2).

Table 2. Changes of somatic cell counts by administration of chitosan to cows with mastitis

SCC (×10,000)	No. of positive quarters(%)		
	Before treatment	7 days after treatment	14 days after treatment
> 25	0(0)	17(14.7)	25(21.7)
25~50	24(20.8)	23(20.0)	26(22.6)
51~100	24(20.8)	28(24.3)	30(26.0)
101~400	49(42.6)	38(33.0)	26(22.6)
< 400	18(15.6)	9(7.8)	8( 6.9)
Total	115(100)	115(100)	115(100)

유방염 원인균 분리여부를 토대로 치료효과를 판정한 결과, 키토산 투여후 총 63개 분방중에서 26개 분방이 치료되어 41.2%의 치료율을 나타내었다. 이들 유방염 원인균별 각각의 치료효과는 그람양성균이 66.6%로 가장 높았으며, 그 다음으로 그람음성균이 54.5%, coagulase negative *Staphylococci* 이 42.8%, 연쇄상구균이 33.3%, 황색포도상구균이 30.4% 순으로 조사되어 유방염 원인균 별로 약간의 차이를 나타내었다(Table 3).

Table 3. Cure rates of bovine mastitis causing microorganism by treatment of chitosan to cows with mastitis

Microorganisms	No. of quarters	No. of cured quarters(%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	7(30.4)
Coagulase negative <i>Staphylococci</i>	14	6(42.8)
<i>Streptococci</i> spp.	9	3(33.3)
Gram positive organisms	6	4(66.6)
Coliforms	11	6(54.5)
Total	63	26(41.2)

## 고 찰

키토산과 키토산은 경구투여시 거의 무독성이며, 장내

세균이 분비하는 키티나아제와 키토산나아제에 의하여 소화되어 소장벽에 올리고당으로 흡수되어 혈액과 조직으로 이행된다. 키티나아제와 키토산나아제는 혈액 중에서 대식세포에 작용하여 라이소자임을 유도하여 병원균의 세포벽을 분해하여 세균감염 예방에 중요한 역할을 하며, 조직중에서 가수분해되어 결합조직에 들어가 화상 등의 창상치유를 촉진한 것으로 조사되어 최근 일본에서는 키토산을 이용하여 소, 고양이, 개 등에 발생하는 다양한 화농성 질병에 대하여 소염작용과 상처치유를 목적으로 주의임상학에서 응용되고 있다<sup>9,15,17,21</sup>.

다양한 키토산 유도체에 대한 세균 발육억제 효과에서 수용성 키토산 유도체의 경우 0.6~2.5% 농도에서 *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* 와 *Proteus vulgaris* 의 증식을 억제하였으나 2.5% 농도에서 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* 의 증식을 억제하지 못했다. 그러나 부분 탈아세틸화 키티산 즉, 80% 탈아세틸화된 키티산에서는 0.13~0.5%의 농도에서 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilis* 과 같은 그람양성균과 *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* 의 그람음성균의 증식을 억제하는 것으로 조사되어 탈아세틸화도가 높은 키토산이 낮은 것에 비하여 더욱 높은 세균억제 효과가 있는 것으로 보고하였다<sup>13,23</sup>. 이와같은 결과는 탈아세틸화에 있어서 아미노 그룹이 양이온 전하를 나타내므로 세포벽 표면에서 N-acetylmuramic acid, sialic acid, neuraminic acid과 같은 음이온 성분과 전기적인 상호작용에 의하여 세균증식을 억제하는 것으로 추정하고 있다<sup>24</sup>.

또한 Saito *et al*<sup>13</sup>이 90% 이상의 탈아세틸화 키토산이 가장 좋은 항균효과를 나타냈으며 그 이상의 탈아세틸화도에서는 유의한 차이가 없었으며, 점도가 낮을수록 우수한 항균력을 나타냈다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서는 유방염 치료제로서 키토산의 효능을 확인하기 위하여 위의 선인들의 보고와 반추류의 경우 키티산의 높은 소화율과 경제성 등을 고려하여 탈아세틸화가 87%이고, 점도가 65cps인 키토산을 사용하였고, 생체에서 키토산의 최소 살균억제 농도와 키토산을 개에 Kg당 20mg을 피부에 이식한 후 대식세포의 높은 활성을 유도했다는 성적<sup>21</sup>을 고려하여 두당 15~20g의 키토산이 함유된 제제를 급여하였다.

이와같은 근거로 키토산 15~20g이 함유된 제제를 유

방염에 감염된 젖소에 일일 1회씩 총 5~7일간 사료에 혼합하여 경구투여한 후 유방염 치료효과를 확인하기 위해 최초 투여후 7일째와 14일째에 유즙을 채취한 후 원인균 검사와 체세포수 검사를 실시하였다. 그 결과 키토산 투여전에 체세포수가 214만 이었으나 최초 투여후 7일째에는 146만으로 31.8%의 감소효과를 보였으며, 투여후 14일째에는 112만으로 47.7%의 높은 체세포수 감소효과를 나타내었으며, 감염된 63개 분방중에서 26개 분방이 치료되어 41.2%의 치료율을 나타내었다. 이와같은 결과는 Minami *et al*<sup>15</sup>이 유방염에 감염된 젖소에 생리식염수에 키토산 제제를 0.006% 희석한 후 1일 분방에 1.3~3.0g을 2회에 걸쳐 유두공을 통해 직접 주입한 후 치료효과를 조사한 결과, 급성유방염의 경우는 2~10회 투약으로 12두 모두에서 치료되었으며, 만성형의 경우는 2~30회의 투약으로 14두중 11두가 치료되어 85.7%가 치료된 성적과는 큰 차이를 나타내었다. 이와같은 결과는 감염된 젖소의 유방염 원인균 양상 및 감염시기 또는 발병형태 그리고 사용된 키토산 제제의 규격차이와 투여경로 및 용량의 차이로 사료된다<sup>13,15,19</sup>.

또한 본 실험에서 유방염 원인균별 치료효과가 그람 양성균이 66.6%, 그람음성간균이 54.5%, Coagulase negative *Staphylococci* 이 42.8%, 연쇄상구균이 33.3%, 황색포도상구균이 30.4%의 결과를 나타내었다. 이와같은 유방염 원인균별 치료효과는 키토산의 항균작용이 균체 표면의 구조에 따라 다르고, 균주에 따라서 키토산의 유효농도가 다르기 때문인 것으로 사료된다<sup>13,24</sup>.

이와같은 내용을 종합해볼 때 유방염에 대한 키토산의 치료효과는 유방염의 원인이 되는 세균에 대해서 직접적으로 작용하여 사멸시키는 항균작용과<sup>13,19,24</sup> 혈액과 조직에서 키토산이 간접적으로 PMN 세포이주 강화와 대식세포의 활성을 증가시켜 세균을 제거하고 상처난 유방조직에 대한 치유효과를 향상시키는 것으로 사료된다<sup>17,18,25</sup>. 따라서 향후 유방염에 대한 치료효과에 대한 기전을 규명하기 위하여 생체에서 흡수대사되는 과정 및 면역세포에 미치는 영향 등을 조사하는 연구가 이루어져야 할 것이다.

## 결 론

충청지역의 냉각기 체세포수가 높은 9개 목장을 대상으로 유방염에 감염된 비유기 젖소 56두를 대상으로 4개

목장은 키토산을 일일 두당 15g을 7일간, 나머지 5개 목장은 20g을 5일 또는 7일간 경구투여한 후 체세포수 증감효과와 유방염 치료효과를 조사한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 키토산 급여후 9개 목장 모두에서 체세포수 감소효과가 인정되었으며, 키토산 투여전 체세포수가 214만 이었으나 최초 투여후 7일과 14일째에는 각각 146만으로 31.8%와 112만으로 47.7%의 유의성 있는 감소율을 나타내었다. 투여량 또는 투여기간에 따른 체세포수 감소효과는 키토산 15g을 7일간 급여한 목장에서 투여전에 비하여 투여후 14일째에 각각 43.0%, 38.9%, 65.6%, 49.3%였으며, 키토산 20g을 5일간 또는 7일간 급여한 목장에서 각각 11.8%, 20.5%, 19.1%와 51.6%, 65.9.0%로 조사되었다.

2. 유방염에 감염된 115개 분방의 체세포수 분포율에서는 키토산 투여전 400만 이상이 18개(15.6%), 100~400만이 18개(42.6%), 51~100만이 24(20.8%), 25~50만이 24개(20.8%)이고, 25만 미만은 전혀 없는 것으로 나타났다. 하지만 키토산 투여후 최초 7일과 14일째에는 체세포수 400만 이상의 분방이 각각 9개와 7개로 그리고 100~400만 사이도 각각 38개와 26개로 감소되고, 체세포수 25만 이하의 분방은 키토산 투여후 7일과 14일에 각각 17개와 25개로 분방으로 증가되어 체세포수 감수효과와 치료효과가 있었다

3. 유방염 원인균별 치료효과에서는 그람양성균이 66.6%로 가장 높았으며, 그 다음으로 그람음성 간균이 54.5%, Coagulase negative *Staphylococci* 이 42.8%, 연쇄상구균이 33.3%, 황색포도상구균이 30.4% 순으로 조사되었다.

## 참 고 문 헌

1. Bramley AJ, Dodd FH. Reviews of the progress of dairy science : mastitis control progress and prospects. *J Dairy Sci*, 51:481, 1984.
2. Browing JW, Mein GA, Brightling P, *et al*. Strategies for mastitis control : dry cow therapy and culling. *Aust Vet J*, 71:179, 1994.
3. 손봉환. 최근 3년간 국내 유방염 발생현황 분석보고. 한국유질유방연구회, 41-69, 1994.
4. Carroll EJ. Environment factors in bovine mastitis.

- JAVMA* , 170:1143, 1977.
5. Mikio S, Takashi S. Recent Development of Non-specific stimulators in Veterinary Medicine. 대한수의학회지, 35;47, 1995.
  6. Reneau JK. Clinical mastitis records in production medicine programs. *Compend contin Edu Pract Vet* , 15;497, 1993.
  7. Ndiweni N, Finch JM. Effects of *in vitro* supplementation with  $\alpha$ -tocophenol and selenium on bovine neutrophil functions : implications for resistance to mastitis. *Vet Immunol and Immunopath* , 51;67, 1995.
  8. Oldhan ER, Eberhart RJ, Muller LD. Effects of supplemental vitamin A or  $\beta$ -carotene during the period and early lactation on udder health. *J Dairy Sci* , 74: 3775, 1991.
  9. Arai K, Kinumaki T, Fugita T. Toxicity of chitosan. *Bull Tokai Reg Fish Res Lab* , 56:86, 1968.
  10. Castellanos-Perez N, Maldanando-Vega G, Fernansez-Villagomez G, *et al* . An evaluation of coagulating ability of chitosan from different crustacea specks and fungi. pp. 567-576. In Skjak-Break G, Anthonson T, Sandford P, *et al* (eds), Chitin and Chitosan. *Elsevier Applied Science* , London, 1988.
  11. Allan C, Hadwiger LA. The fungicidal effects of chitosan on fungi and varying cell wall composition. *Exp Mycol* , 3:285, 1979.
  12. Hadwiger LA, Fristensky BW, Riggiman RC. Chitosan, a natural regulator in plant-fungal pathogen interactions, increases crop yields. pp. 291-302, In Zikakis JP, *et al* (eds). Chitin, chitosan and related enzymes, *Acedemic Press* , New York, 1984.
  13. Saito K, Shimojoh M, Fukushima K. Growth inhibition of chitosan from Suid pen against oral *Streptococci* . Chitin, Chitosan 研究報告, 77. 1994.
  14. Sudarshan NR, Hoove DG, Knorr D. Antibacterial Action of chitosan. *Food Biotechnology* , 6, 257, 1992.
  15. Minami S, Okamoto Y, Tanioka SI, *et al* . Effects of chitosan on wound healing. *Carbohydrates and Carbohydrates polymers*, Yalpani M, ed, 141-152, ATL press, Illinois, 1993.
  16. Okamoto Y, Minami S, Matsuhashi A, *et al* . Effects of chitosan on bovine wound healing. *J Jpn Vet Med Assoc*, 49:22, 1996.
  17. Minami S, Okamoto Y, Matsuhashi A, *et al* . : Effects of chitosan oligomer on wound healing. *J Jpn Vet Med Assoc* , 48:419, 1995.
  18. Minami S, Egawa T, Ohira J, *et al* . Effects of chitosan with intramammary administration on phagocytes in udder secretion. *J Jpn Vet Med Assoc* , 50: 143, 1997
  19. 김희경, 김희선, 강문일, 고흥범, 김종염, 이용호. 자돈설사유발 대장균에 대한 Chitosan의 항균효과. 한국공중보건학회지, 21:117, 1997.
  20. Cowan ST. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd ed. pp. 45-50. Cambridge University press. London. 1974.
  21. Kosaka, Kaneko Y, Nakada Y, *et al* . Effect of chitosan Implantation on activation of canine macrophages and polymorphonuclear cells after surgical stress. *J Vet Med Sci* , 58:963, 1996.
  22. Usami Y, Okamoto Y, Minami S, *et al* . Migration of canine neutrophils to chitin and chitosan. *J Vet Med Sci* , 56;1215, 1994.
  23. Stossel P, Leuba JL. Effect of chitosan, chitin, some aminosugars on growth of various soil-borne phytopathogenic fungi. *Phytopath Z*, 111, 82, 1984.
  24. Young DH, Kohle H, Kauss H, *et al* . Effect of chitosan on membrane permeability of suspension-cultured glycine max and Phaseolus vulgaris cells. *Plant Physiol* , 70, 1449, 1982.
  25. Usami Y, Okamoto Y, Minami S, *et al* . Chitosan induce migration of bovine polymorphonuclear cells. *J Vet Med Sci* , 56;761, 1994.