

## 가축 소화기 병원성 세균을 저해하는 유산균의 분리 및 동정

이재연 · 황교열 · 김현수 · 김 근<sup>1\*</sup> · 성수일<sup>2</sup>  
(주)바이오토피아, <sup>1</sup>수원대학교 유전공학과, <sup>2</sup>수원대학교 생물학과

**Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria Inhibiting Gastro-intestinal Pathogenic Bacteria of Domestic Animal.** Lee, Jae Yeon, Kyo Yeol Hwang, Hyun Su Kim, Keun Kim<sup>1</sup>, and Su Il Sung<sup>2</sup>. Biotopia Co., Hwasung city, Kyounggido 445-743, Korea. <sup>1</sup>Department of Genetic Engineering, The University of Suwon, Suwon P.O. Box 77, Kyounggido 440-600, Korea, <sup>2</sup>Department of Biology, The University of Suwon, Suwon P.O. Box 77, Kyounggido 440-600, Korea - To isolate probiotic lactic acid bacteria having superior inhibitory activities against animal gastro-intestinal pathogenic bacteria such as *Salmonella gallinarum*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, 130 strains were initially isolated from the small intestines of Korean native chickens and 7 lactic acid bacteria were finally selected. By using API CHL kit and 16S rRNA sequencing method, the selected lactic acid bacteria were found to be belonged to genus *Lactobacillus* except BD14 identified as *Pediococcus pentosaceus*. Especially, *Lactobacillus pentosus* K34 showed the highest resistancy to both of HCl and bile salt, as well as the highest inhibitory activities against *S. gallinarum*, *S. aureus* and *E. coli*. All the selected strains were sensitive to various antibiotics such as neomycin, erythromycin, cephalosporin, amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin, oxytetracycline, but resistant to ciprofloxacin. All the selected strains except BL strain were resistant to colistin and streptomycin, and BD14, BD16, K34 strains were resistant to gentamicin.

**Key words:** Gastrointestinal pathogenic bacteria, inhibition, isolation and identification, lactic acid bacteria

유산균(lactic acid bacteria)은 제약, 식품, 사료산업에서 생균제(probiotics)로서 널리 사용되어 오고 있으며 유산균에 의한 효과는 장내균총개선, 정장작용, 변비설사예방 및 혈중 콜레스테롤 감소효과, 항암효과, 면역증강효과 등이 있다[10, 9]. 생균제로써 사용할 수 있는 유산균의 선발기준은 소화관내에서 생존능이 높아야 하고 적정량의 생균이 존재하여야 하며 균주동정을 통한 안전성이 있는 균주를 사용하여야 한다. 또한 항생제, 화학요법제 등에 길항작용이 없는 균주를 사용하여야 한다[5].

인위적인 환경에서 오랫동안 사육된 가축은 정상적인 균총 형성이 어려운 상황으로 사료변화, 항생제투여, 수송스트레스, 유해미생물의 감염 등에 영향을 받게 되어 장내 균총간의 균형이 깨어져 증체율 저하, 사료이용율 감소 등 경제적 피해를 가져온다[12]. 자돈의 장내 균총 불균형은 설사 및 폐사율에 직접적인 영향을 미친다[4]. 현재까지 항생제 또는 화학적인 치료법은 폐사율 감소 및 성장촉진 효과가 있어 지속적으로 사용해 오고 있지만 오·남용으로 인한 잔류문제에 직면하게 되었고, 유럽의 경우 의약품 항생

제를 축산용으로 사용되는 것을 금지하고 있다[3]. 유산균은 잔류문제가 없으며 장내 균총을 정상화시켜 증체율, 생산성 및 사료이용율을 증진시킨다[5]. 반추동물에 있어서는 반추위 발효정상화와 성숙의 설사 예방의 기능을 가지고 있다[14].

살모넬라(*Salmonella spp.*)는 가금류에 티프스, 추백리 등을 유발시키는 균주로써 양계농가에서 연쇄적인 폐사로 인한 심각한 경제적 피해를 주는 균으로 알려져 있으며[8], 포도상구균(*Staphylococcus aureus*)은 일반적으로 장독소(enterotoxin)를 분비하여 식품부패 및 식중독을 일으키며, 특히 유방염이 걸린 젖소에서 많이 발견되는 유방염 원인균으로 산유량을 감소시키고 낙농산업에서 가장 큰 경제적 손실을 초래한다[2]. 병원성 대장균(pathogenic *E. coli*)은 돼지설사를 일으키며 사료효율저하, 증체율감소, 출하일령 지연 등 막대한 경제적 손실을 초래한다[6]. 국내의 경우 항생제의 남용으로 인하여 오랫동안 사용해 온 항생제인 penicillin, ampicillin, tetracycline에 대한 내성균의 출현율이 20~90% 이상으로 높아졌으며[7], 앞으로 가축질병의 치료를 목적으로 하는 항생제의 사용 규제가 있으리라 예상되므로 항생제를 대체하여 소화기 병원성 세균을 저해할 수 있는 사료첨가용 생균제의 사용이 요구된다. 이와 같은 문제를 해결하기 위한 본 연구에서는 사료첨가용 생균제의 개발을 위하여 천연환경에서 사육되어 항생제의 영향을 받

\*Corresponding author  
Tel. 82-31-220-2344, Fax. 82-31-220-2344  
E-mail: kkim@mail.suwon.ac.kr.

지 않고 장내 균총이 바람직하게 형성됐을 가능성이 높은 방사 사육한 국내 토종닭으로부터 생균제의 주요한 작용부위인 소장에서 작용할 수 있도록 소장으로부터 살모넬라, 포도상구균, 대장균 등 소화기 병원성균에 대한 강력한 항균활성을 나타내는 유산균을 선발하고 선발된 유산균의 내산성, 내담즙산성 및 항생제에 대한 내성 등 균주특성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 균주 및 배지

강원도 일대 농가에서 방사 사육한 토종닭의 소장내용물로부터 유산균을 분리하였다. 유산균 배양 배지로는 MRS broth를 사용하였고 배양조건은 37°C에서 3일간 혐기적으로 배양하였다. 혐기적 상태의 배양을 위하여 12 L anaerobic jar에 CO<sub>2</sub>를 충전하였다. 살모넬라, 포도상구균 배양배지는 Nutrient broth 또는 YM broth(0.3% yeast extract, 0.3% malt extract, 0.5% peptone, 1.0% dextrose)를 사용하였고, 대장균 배양배지로는 LB broth를 사용하였으며 배양조건은 37°C에서 1일간 호기적으로 배양하였다.

### 유산균분리

토종닭 소장내용물을 생리식염수로 희석하여 MRS agar plate에 도말하고 혐기적으로 37°C, 3일간 배양하여 colony 형태, 색깔로 판단하여 무작위적으로 유산균을 분리하는 무작위 선발법과 연속 희석된 소장내용물을 살모넬라 선택배지인 MRS agar plate에 도말하여 살모넬라에 대하여 저해환을 나타내는 균주만을 선발하는 중층-도말법을 사용하여 1차 균주선발을 하였다. 1차 선발된 유산균을 paper disc법을 사용하여 살모넬라에 대한 저해력이 우수한 유산균을 2차 분리하였다.

### 산도측정

산도측정은 유산균 배양액에 phenolphthalein 지시약을 1~2 방울 떨어뜨린 후 0.1 N NaOH로 적정함에 근거하였고 전체 생성된 유기산은 lactic acid로 환산하여 표기하였다[13].

### 항균력 측정

각 분리 유산균의 배양액을 각 유해세균 살모넬라, 포도상구균, 대장균이 중층된 agar plate상에 penicylinder(용량 300 µl, ID 6 mm, OD 8 mm, H 10 mm)를 화염살균하여 일정간격으로 놓은 후 100 µl 혹은 200 µl를 loading하여 저해환의 크기를 비교하는 agar diffusion method를 사용하였다.

### 유산균 동정

1차 동정법으로는 API CHL kit(BioMerieux, France)를

사용하였고 2차 동정법으로는 16S rRNA sequencing 방법을 사용하였다. 분리균주 중 K34균주의 형태 및 크기를 주사전자현미경(Hitachi S-800, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

### 내산성과 내담즙성 분석

분리 유산균의 내산성 또는 내담즙성의 분석을 위하여 0.3%(v/v) HCl 또는 0.3%(w/v) bile salt를 함유한 MRS broth에 각 분리 균주(10<sup>8</sup> cells/ml)를 접종하여 37°C로 6 시간 동안 방치한 후 MRS agar plate에 도말하여 혐기적으로 배양한 후 다음 식에 의해 내산성 또는 내담즙성을 나타내기 위한 생존율(%)을 계산하였다.

$$\text{생존율}(\%) = (\text{cell number in MRS containing 0.3\% HCl or bile salt} \div \text{cell number in MRS}) \times 100$$

### 항생제 감수성

MRS agar plate에 각 분리 유산균을 중층한 후 항생제 paper disc를 사용하여 각 균주의 항생제 감수성을 비교 조사하였다. Paper disc에 loading한 항생제 사용량은 neomycin 30 µg, erythromycin 15 µg, cephalosporin 30 µg, amoxicillin/clavulanic acid 20 µg/10 µg, colistin 10 µg, streptomycin 10 µg, ciprofloxacin 5 µg, ampicillin 10 µg, gentamicin 10 µg, oxytetracycline 30 µg이었다.

## 결과 및 고찰

### 유산균주의 분리

유산균주의 분리를 위하여 농가의 천연환경에서 사육된 토종닭의 소장으로부터 소장내용물을 수집하여 이로부터 유산균을 분리하였다. 조[1]등은 맹장에서 내산성과 내담즙성이 우수한 유산균을 분리한데 반하여 본 실험에서는 소화관 중에서 유산균의 수가 가장 많고 생균제의 작용이 가장 크게 기대되는 소장에서 분리를 시도하였다. 또한 장점막부착능 등 균주호환성에 기초하여 양계사료에 첨가시 가장 큰 효과가 있으리라 기대되어 소장내용물을 균주분리원으로 사용하였다. 본 실험결과 무작위 선발법으로 65주, 중층도말법으로 65주 합계 130주를 1차로 선발하였다. 이들 1차 선발된 130주를 paper disc법으로 살모넬라에 대한 저해환의 크기를 비교하여 무작위선발법으로 분리된 균주 중 K34, B63, BL 3주를 선발하였으며 중층-도말법으로 분리된 균주 중 BD14, BD16, BD22, BD33 4주를 선발하여 총 7주의 유산균을 선발하였다.

### 유산균의 항균력

선발된 7주 유산균의 *S. gallinarum*, *S. aureus*, *E. coli*에 대한 항균력을 조사한 결과(Table 1) *S. gallinarum*에 대한 저해능력이 가장 우수한 균주는 K34로써 저해환의 크

**Table 1. The diameters of inhibitory clear zones formed by the culture broths of selected strains against *Salmonella gallinarum*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.**

Strain	Diameter(mm) of inhibitory clear zone		
	<i>S. gallinarum</i> <sup>a</sup>	<i>S. aureus</i> <sup>b</sup>	<i>E. coli</i> <sup>b</sup>
Control(MRS)	0.0	0.0	0.0
BD14	20.0	9.0	9.0
BD16	19.0	9.0	9.0
BD22	19.0	10.0	9.0
BD33	18.5	13.0	13.0
K34	22.0	13.0	14.0
B63	19.0	11.0	13.0
BL	17.0	10.0	10.0

<sup>a</sup>The loading volume of the culture broth into the penicylinder to examine the diameter of the inhibitory clear zone was 200 µl.

<sup>b</sup>The loading volume of the culture broth into the penicylinder to examine the diameter of the inhibitory clear zone was 100 µl.

기가 22.0 mm로 나타났고 *S. aureus*에 대한 항균능력은 BD33, K34 균주가 저해환의 크기가 13.0 mm로 가장 우수하였으며, *E. coli*에 대한 항균력은 K34 균주가 14.0 mm로 가장 우수하였다. 따라서 분리균주 중 소화기 병원성 세균에 대한 항균력이 공통적으로 가장 우수한 균주는 K34 균주였다.

**유산균 동정**

탄소원의 이용성 차이로 동정하는 생화학적 방법인 API CHL kit로 1차 동정을 하였다. 그 결과 BD14 균주는 구균 형태의 균주인 *Pediococcus pentosaceus*로 동정되었으며, 광학현미경상에서도 구균 형태의 균으로 관찰되었다. 그 외 6균주는 *Lactobacillus* sp.에 속하는 균주로 동정되었고, 광학현미경상에서 간균으로 관찰되었다(Table 2). 이 중 동정결과가 확실치 않은 BD22, BL 균주와 가장 우수한 항균활성을 나타낸 K34 균주를 16S rRNA sequencing 방법을 사용하여 2차 동정을 하였다. 그 결과 BD22, BL 균주는 각각 99.0% *L. plantarum*, 98.0% *L. ferintoshensis*로 동정되었으며, K34 균주는 99.0% *L. pentosus*로 동정되었

```

AGAGTTTGATCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATG 50
CAAGTCGAACGAACTCTGGTATTGATTGGTGCCTGCATGATTTACAT
TTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAAAG
CGGGGATACACCTGGAAACAGATGCTAATACCCGATAACAACTTGGAC
CGCATGGTCCGAGTTTGAAGATGGCTTCGGCTACACTTTTGGATGGTC
CCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGAGGTAACCGCTCACCATGGCAATGAT
ACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGC
CCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGACGAAA
GTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAA
CTCTGTGTGTTAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACGTGTTCCAGTATTGAC 500
GGTATTTAACGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TAGGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCA
GGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTG
CATCGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATG
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACAGTGGCGAAGGCG
GCTGTCTGGTCTGTAACGTACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGT
TGGAGGGTTTTCCGCCCTTCAGTGTGCGACTAACGCATTAAGCATTCCGC
CTGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGTACGCGAAGAACCTT 1000
ACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCG
GGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGCTGCAGCTCGTGTGCGTGA
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATTATCAGTTGCCAGC
ATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACAGTG
CTACAATGGATGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCT
CTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCTACATGAA
GTGGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCC
CGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCATTGAGAGTTTGAACACCCAA
AGTCGGTGGGGTAAACCTTTTGAAGAACCGCCGCTAAGGTGGGACAGATG 1509
ATTAGGGTG
    
```

**Fig. 1. 16S rRNA sequence of *Lactobacillus pentosus* K34.**

다(Table 2). 그 중 K34 균주를 16S rRNA 염기서열 분석(Fig. 1)을 통하여 phylogenetic tree로 나타내었는데 *L. paraplantarum*, *L. pentosus* 및 *L. plantarum*과 유연관계가 상당히 가깝다는 것을 알 수 있었다(Fig. 2). 또한 주사 전자현미경 사진을 통하여 약 1.5 µm의 크기인 간균 형태의 유산균임을 알 수 있었다(Fig. 3).

따라서 분리한 모든 균주가 생균제로써 사용이 가능한 안전성이 있는 유산균임을 확인하였다. 특히 *L. ferintoshensis* BL는 최근에 스코틀랜드의 malt whiskey 발효시료로부터 최초로 분리되고 된 이후[11], 두 번째로 본 연구에서 국내 토종담 소장으로 부터 분리되었으며 이 균주의 주요한 배양

**Table 2. The scientific names of various isolates having inhibitory activity against gastro-intestinal pathogenic bacteria.**

Strain	API CHL kit		16S rRNA sequence	
	Homology (%)	Scientific name	Homology (%)	Scientific name
BD14	98.9	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	N.D. <sup>a</sup>	N.D.
BD16	99.9	<i>Lactobacillus brevis</i>	N.D.	N.D.
BD22	67.6	<i>Lactobacillus brevis</i>	99.0	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BD33	99.6	<i>Lactobacillus paracasei</i>	N.D.	N.D.
K34	99.9	<i>Lactobacillus plantarum</i>	99.0	<i>Lactobacillus pentosus</i>
B63	97.3	<i>Lactobacillus pentosus</i>	N.D.	N.D.
BL	91.9	<i>Lactobacillus salivarius</i>	98.0	<i>Lactobacillus ferintoshensis</i>

<sup>a</sup>N.D., not determined.

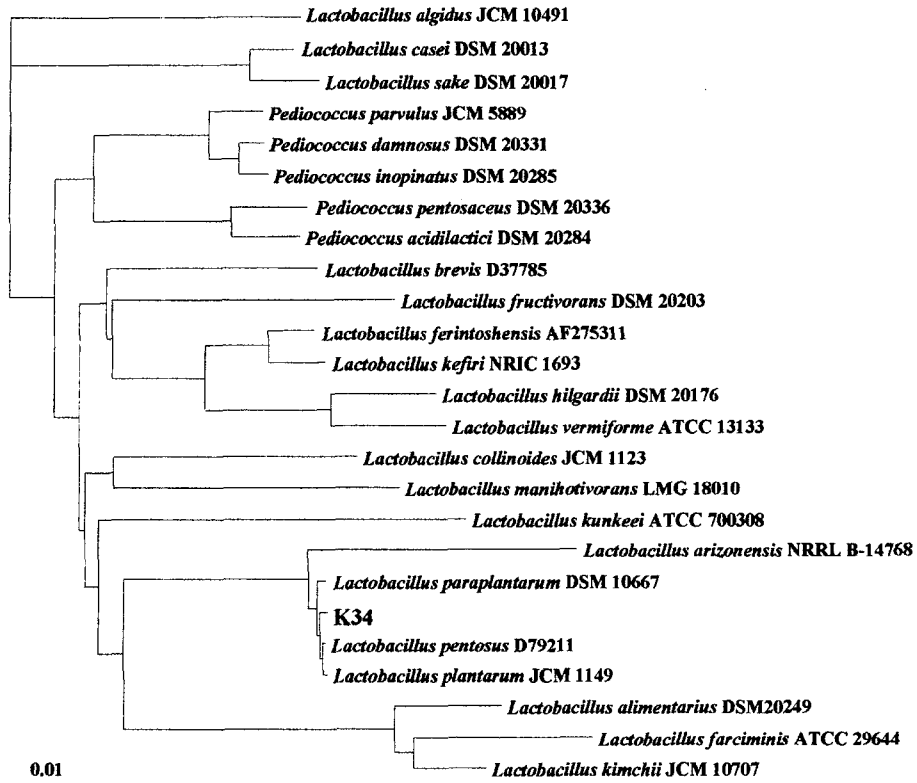


Fig. 2. Phylogenetic tree of *Lactobacillus pentosus* K34.

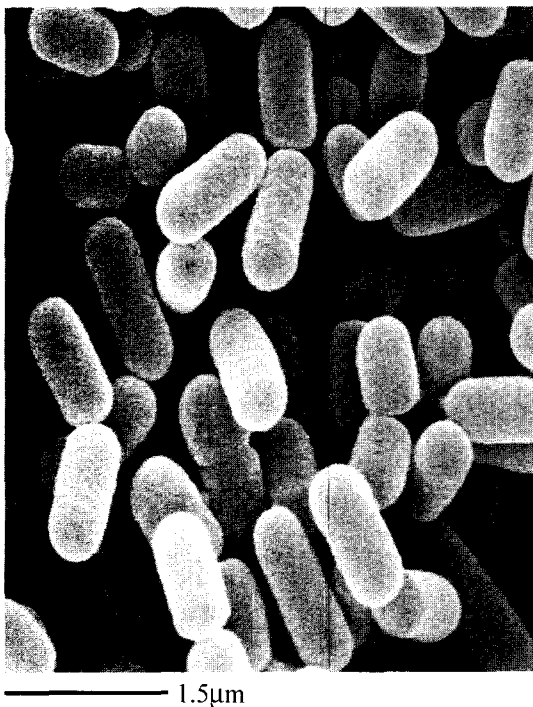


Fig. 3. Scanning electron micrograph of *Lactobacillus pentosus* K34.

특성은 혐기적으로 배양하였을 때 CO<sub>2</sub> 생성능이 매우 강력하여 obligately heterofermentative 한 균주이며, 다른

Table 3. pHs and acidities of culture broths of various isolates.<sup>a</sup>

Strain	pH	Acidity(% w/v)
BD14	3.64	1.35
BD16	3.52	1.80
BD22	3.47	1.80
BD33	3.51	1.71
K34	3.46	1.80
B63	3.54	1.62
BL	4.50	1.08

<sup>a</sup>The cells were anaerobically cultured for 3 days at 37°C.

분리 균주에 비하여 유기산이 적게 생성되는 특성을 보였다(Table 3).

**내산성과 내담즙성**

유산균 생균제로써 제대로 된 기능을 발휘하기 위해서는 낮은 pH 3 이하의 조건의 위장관을 통과하여 소장내로 도달하여 생존하여야만 한다. 본 연구에서는 유산균 세포의 생존에 상당한 영향을 미치는 농도인 0.3% HCl을 함유한 MRS broth(pH 2.2)에서의 생존율을 조사하였다(Table 4). 그 결과 *L. pentosus* K34 균주가 27.3%로 가장 높은 생존율을 나타냈다. pH 2.0에서 6시간이후부터 급격히 균수가 감소하므로 [1] 균주간의 산에 대한 생존율의 차이를 뚜렷하게 볼 수 있는 반응시간이라 생각되어 6시간 후 각 균

**Table 4. Hydrochloric acid-tolerance and bile salt-tolerance of various isolates**

Strain	Viability(%) <sup>a</sup>	
	HCl	Bile salt
BD14	<0.01	41.6
BD16	17.8	23.4
BD22	0.0	<0.2
BD33	2.9	15.5
K34	27.3	78.1
B63	6.6	77.8
BL	0.2	34.2

<sup>a</sup>Viability(%)=(cell number in MRS containing 0.3% HCl or bile salt after 6 hr ÷ cell number in MRS after 6 hr) × 100.

주를 도말하였으며, 소화관내 환경에 맞게 혐기적 상태로 배양하여 생균수를 측정하였다.

십이지장에서 분비되는 담즙에 대한 내성을 조사하기 위하여 0.3% bile salt가 함유된 MRS broth에 각 분리균주를 배양한 후 생존율을 조사한 결과 K34 균주가 78.1%로 가장 우수한 생존율을 나타내었고 그 다음으로 B63 균주가 생존율 77.8%로 우수한 결과를 나타내었다 (Table 4). 따라서 내산성과 내담즙성이 모두 가장 우수하고 항균력도 우수한 균주는 *L. pentosus* K34임을 알 수 있었다.

#### 항생제 감수성

아직까지 국내 축산농가에서는 항생제를 지속적으로 사용하고 있으므로 각 분리 유산균의 균주특성의 조사와 더불어 여러 종류의 항생제와의 병용의 가능성을 검토하기 위하여 항생제에 대한 감수성을 조사하였다(Table 5). Neomycin, erythromycin, cephalosporin, amoxicillin/clavulanic

acid, ampicillin, oxytetracycline 등 6종의 항생제 paper disc에 대하여는 모든 균주가 감수성을 나타낸 반면 ciprofloxacin에 대하여는 모든 균주가 저항성을 나타내었으며, colistin, streptomycin에 대해서는 BL 균주를 제외한 모든 균주가 저항성을 나타냈다. 또한 BD14, BD16 그리고 K34 균주가 gentamicin에 대한 저항성을 나타내었다. 이 결과를 토대로 분리 균주를 사용한 사료첨가용 생균제의 적용시에 각각의 항생제와의 병용가능성 여부를 판단할 수가 있으리라 예상된다.

#### 요 약

토종닭 소장으로부터 기축 소화기 병원성 유해세균의 분리를 위하여 무작위 선별법과 중층-도말법을 사용하여 총 130주의 유산균을 1차 분리하였다. 1차 분리한 130주를 paper disc법을 사용하여 최종적으로 살모넬라 균, 포도상구균, 대장균에 대하여 저해능이 우수한 7주를 분리하였다. 분리 균주의 동정을 위하여 1차로 API CHL kit를 사용하였고, 동정의 정확성을 높이기 위하여 2차로 16S rRNA sequencing 방법을 사용하였다. 그 결과 BD14 균주는 *Pediococcus pentosaceus*로 동정되었으며 나머지 6주는 *Lactobacillus sp.*로 동정되어 모두 안전성 있는 유산균임을 확인하였다. 여러 병원균에 가장 항균력이 큰 유산균은 *L. pentosus* K34이었으며, 이 유산균은 염산과 담즙산에 대한 내성에서도 가장 우수한 균주로 나타났다. 10종의 항생제에 대한 감수성을 조사한 결과 ciprofloxacin에 대하여 모든 균주가 내성을 보였고, BL 균주를 제외하고 모든 균주가 colistin, streptomycin에 대하여 내성을 보였다. 또한 BD14, BD16, K34 균주가 gentamicin에 대한 내성을 보였다.

#### 감사의 말

**Table 5. Antibiotic sensitivities of various isolated strains.**

Antibiotics	The diameter(mm) of clear zone against each isolated strain						
	BD14	BD16	BD22	BD33	K34	B63	BL
Neomycin	7.0 <sup>a</sup>	8.0	7.0	15.0	7.0	12.0	17.0
Erythromycin	25.0 <sup>b</sup>	25.0	23.0	23.0	24.0	25.0	27.0
Cephalosporin	25.0t	26.0	25.0	25.0	24.0	26.0	30.0
Amoxicillin/Clavulanic acid	24.0t	47.0	45.0	40.0	42.0	25.0	33.0
Colistin	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.5
Streptomycin	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.0
Ciprofloxacin	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Ampicillin	22.0	46.0	46.0	40.0	38.0	20.0	30.0
Gentamicin	0.0	0.0	7.0	10.0	0.0	8.5	22.0
Oxytetracycline	21.0t	25.0	25.0	26.0t	26.0	22.0t	15.0t

<sup>a</sup>The number represents the diameter of clear zone(mm) formed by antibiotics on the cell lawn of each strain.

<sup>b</sup>t means some turbidity present inside of the clear zone.

본 과제는 2001년도 중소기업청 중소기업 기술혁신과제 연구사업비 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

1. Cho, M. K., K. Kim, C. H. Kim, T. K. Lee, and K. Y. Kim. 2000. Isolation and characterization of *Lactobacillus fermentum* YL-3 as poultry probiotics. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **28**: 279–284.
2. Craven, N. 1987. Efficacy and financial value of antibiotic treatment of bovine clinical mastitis during lactation—a Review. *Br. Vet. J.* **143**: 410–422.
3. Dixon, B. 2000. Antibiotics as growth promoters : Risks and alternatives. *ASM News.* **66**: 264–265.
4. Fahy, V. A., D. Connaughton, S. J. Dresen, and E. M. Spicer. 1987. Preweaning colibacillosis, pp. 176–188. In APSA Committee(ed.), *Manipulating pig production*, Australian Pig Science Association Werribee. Victoria. Australia.
5. Havenaar, R., B. T. Brink, and J. H. J. I. Veid. 1992. Selection of strains for probiotic use, pp. 209–224. In R. Fuller (ed.), *Probiotics : The scientific basis*. Chapman & Hall, London.
6. Morin, M., D. Turgeon, J. Jolette, Y. Robinson, J. B. Phaneuf, M. Sauvageau, E. Teuscher, R. Higgins, and S. Larivière. 1983. Neonatal diarrhea of pig in Quebec : infectious causes of significant outbreaks. *Can. J. Comp. Med.* **47**: 11–17.
7. Park, J. C., I. S. Kim, S. K. Kwon, J. M. Noh, S. M. Lee, J. P. Park, W. K. Lee, and S. R. Ryu. 2000. Prevalence of antibiotic-resistant strains among bacteria isolated from bovine mastitis, swine diarrhea, and swine pneumonia. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **28**: 189–194.
8. Pomeroy, B. S. and K. V. Nagaraja. 1991. Fowl typhoid, pp. 87–98. In B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid, and H. W. Yoder (eds.), *Diseases of poultry*, Iowa State University Press. Ames. IA.
9. Rolfe, R. D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.* **130**: 396S–402S.
10. Sanders, M. E. 2000. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J. Nutr.* **130**: 384S–390S.
11. Simpson K. L., B. Pettersson, and F. G. Priest. 2001. Characterization of lactobacilli from Scotch malt whisky distilleries and description of *Lactobacillus ferintoshensis* sp. nov., a new species isolated from malt whisky fermentations. *Microbiology.* **147**: 1007–1016.
12. Tannock, G. W. 1983. Effect of dietary and environmental stress on the gastrointestinal microbiota, pp. 517–553. In D. J. Hentges (ed.), *Human Intestinal Microflora in Health and Disease*, Academic Press, New York.
13. Vanderzant, C. and D. F. Splittstoesser. 1992. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 3th ed. American Health Association.
14. Wallace, R. J. and C. J. Newbold. 1992. Probiotics for ruminants, pp. 317–353. In R. Fuller (ed.), *Probiotics : The scientific basis*. Chapman & Hall, London.

(Received Mar. 7, 2002/Accepted Apr. 19, 2002)