

한방사료첨가제를 이용한 육계의 *Salmonella* 방제효과 - 항균성 및 장관정착 억제 -

강호조, 김용환, 이후장, 김종수, 김종섭, 김도경¹, 김은희², 박미림, 김곤섭*
경상대학교 수의과대학/동물의학연구소, ¹경상남도 축산진흥연구소, ²진주대학교
(게재승인: 2003년 2월 21일)

Preventive effect of oriental herbal medicine feed additives on infection of *Salmonella enteritidis* in broiler chickens: antimicrobial activity and colonization inhibition

Ho-Jo Kang, Young-Hwan Kim, Hu-Jang Lee, Jong-Su Kim, Chong-Sup Kim,
Toh-Gyong Kim¹, Eun-Hee Kim², Mi-Rim Park and Gon-Sup Kim*

Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University

¹Kyongnam Livestock Promotion Institute, ²Jinju International University

(Accepted: February 21, 2003)

Abstract: In this study, antibacterial activity on the chicken feed supplemented with different concentrations of oriental herbal medicine feed additives (OHMFA) extract was tested for some organisms and their preventive effects on the colonization of *Salmonella enteritidis* (SE) in broiler chickens were examined. The growth of *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* was inhibited on the feed of 0.25 % OHMFA and *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 were inhibited on the feed containing 2.0 % level. The broiler chickens fed a forage additived 1.0 % level of OHMFA after inoculation of a 10⁷ CFU/ml of SE were increased in weight than the chicken fed forage without OHMFA. The incidence of SE in liver, spleen and cecum of the chickens fed forage with OHMFA was decreased on the 7th days of postinfection and SE was not isolated from the organs of the chickens after the 14th days of postinfection. Serum antibody titers of the chickens were lowered than the control group.

Key words: oriental herbal medicine feed additives, *Salmonella enteritidis*, colonization, broiler chickens, antibacterial activity

서 론

Salmonella 속균은 닭에서 추백리 (*S. pullorum*) 및 닭티푸스 (*S. gallinarum*) 등을 일으켜 양계산업에서 막대한 경제적 손실을 일으키며, *S. enteritidis* 와 *S. typhimurium* 등은 살모넬라 식중독의 주된 원인균으로서 매우 중요

시되고 있다^{1,2,3}. 근년 미국, 캐나다, 일본 및 유럽 등에서 *S. enteritidis*에 의한 식중독 발생이 급증하고 있으며 그 주된 원인이 닭고기와 계란에 기인된 것으로 보고되어 있다^{3,4,5}. 국내에서도 식중독 발생례 중 살모넬라 식중독이 가장 높은 분포를 나타냄으로써⁶ 닭에서 *Salmonella* 감소대책은 공중보건 상 대단히 중요한 과제로 되어 있다.

본 연구는 농림부기술개발연구사업의 지원으로 수행되었음 (ARPC-100052-2)

* Corresponding author: Gon-Sup Kim

College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Tel: 055-751-5823, E-mail: gonskim@nongae.gsu.ac.kr

현재 우리나라의 양계산업에서 *Salmonella* 등의 감염증을 방지하기 위하여 대부분의 농가가 항균제를 사용하고 있지만, 일시적인 효과일 뿐 완전한 방제효과를 기대할 수 없는 실정이다. 또한 항균제의 무분별한 오남용은 다제 내성균을 출현시키고 병원세균의 정착을 저지하는 장내 상재균을 제거함으로써 병원균에 대한 저항성을 저하시킬 뿐만 아니라 계속 및 계란에의 잔류 등으로 사람의 건강을 위협하고 있다⁷. 최근 *Lactobacillus* spp 및 *Bifidobacterium bifidum* 등의 유용 미생물을 이용한 생균제 (probiotics)를 사료첨가제 또는 예방약으로 개발하여 사용하고 있으며^{8,9} 이들 생균제는 장내 flora의 정상화, 유기산의 생산, 영양소 요구의 경합 등에 의한 병원균의 증식을 억제시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있으나 이 역시 기대에 미치지 못하고 있다. 이상의 여러 문제점을 통해서 볼 때 농장에서부터 원천적으로 *Salmonella* 감염증을 방지할 수 있는 기술 개발의 필요성을 갖게 된다.

본 연구에서는 닭에서 *Salmonella* 감염증을 억제시킬 수 있는 한방사료 첨가제를 개발할 목적으로 한약재를 이용하여 *Salmonella* 속균에 대한 항균성과 *S. enteritidis*의 장관정착 억제효과를 검토하였다.

재료 및 방법

한방사료첨가제의 항균시험

공시균주 : 항균시험에는 *S. enteritidis* ATCC #13076, *S. typhimurium* ATCC # 14028, *S. pullorum* ATCC # 9120, *S. gallinarum* ATCC # 9184, *Bacillus cereus* ATCC #11778 (국립수의과학연구소에서 분양), *Staphylococcus aureus* ATCC #29213와 *L. monocytogenes* scott A HPB #3 및 *Escherichia coli* O157:H7 LCDC # 059 (캐나다 후생성에서 분양)의 8 표준균주를 사용하였다. 각 균주를 10ml의 Tryptic Soy Broth (TSB, Difco)에 접종하여 37°C에서 18시간 배양한 다음 3,000g에서 10분간 원심침전하여 0.1M phosphate buffer 용액 (PBS, PH7.0)으로 2회 원심 세척하여 사용하였다.

첨가제의 조성 및 항균성 물질 추출 : 한방사료 첨가제 (Oriental herbal medicine feed additives; OHMF)는 어성초 20%, 황금 10%, 감초 10%, 홍화 30%, 구기자 10%, 방기 10%, 기타 10%로 배합한 것에 10배 량의 물 (w/v)을 혼합하여 80°C의 수욕 상에서 3시간 동안 중탕한 다음 0.45 µm pore size filter로 여과하여 사용하였다.

최소발육억제농도 측정 : 공시 균주에 대한 OHMF의 최소발육억제농도 (Minimum inhibitory concentration; MIC)는 National Committee Clinical Laboratory Standard

(NCCLS, 1997)기준에 따라 한천평판희석법 (agar dilution method)으로 측정하였다. 즉 OHMF 용액을 PBS로 2배 수 희석하여 농도별로 함유하는 Mueller Hinton Medium (Difco)에 10⁵ CFU/ml로 조정된 각 균부용액을 multiple inoculator로 접종하였다. 다음 37°C에서 18-24 시간 배양하여 가장 낮은 농도의 OHMF를 함유하는 배지에서 균 발육이 억제된 농도를 MIC (%)로 나타내었다.

*Salmonella enteritidis*의 장관정착 억제 효과 검토

실험동물 : 실험동물은 백색 레그혼계 SPF계란 (성일 과학에서 구입)을 부화시켜 사육한 2주령의 유추 40수와 농가에서 구입한 1주령의 육계 50수를 사용하였다. 실험구는 *Salmonella* 분리시험에서 음성을 나타내는 개체를 선별하여 시험구와 대조구로 나누어 5수씩 케이지 사육하였다. 시험구는 시판 육계전기사료 (도담테크사)에 OHMF를 1.0% (w/w)수준으로 첨가 급여하였고 대조구는 그대로 사용하였다. 사육장소는 경상대학교 무균 실험동물사육장을 이용하였고, 사료와 물은 1일 3회씩 급여하였다.

***Salmonella* 감염시험 :** *S. enteritidis* ATCC # 13076 균주를 TSB에 접종하여 37°C에서 18시간 배양하여 사용하였다. 균액을 PBS (PH 7.2)로 10배 계단 희석하여 10⁷ CFU/ml로 조정된 다음 경구 주입관 (Sonde)을 사용하여 2주령의 유추에 0.2ml씩 격일로 2회 경구접종 하였다¹¹.

설사증 조사 및 체중 측정 : 모든 시험동물은 *Salmonella* 접종후 1, 7 및 14일에 설사발생 상태를 조사하고, 부검 전에 개체별 체중을 측정하여 평균치를 나타내었다.

장기 및 맹장내용 중 *Salmonella* 균의 분리 : 목 동맥 절단법으로 도살하여 간 및 비장을 무균적으로 채취한 다음 약 1g의 시료를 마쇄하여 10 ml의 Selenite broth (Difco)에 18시간 증균한 후 그 0.1 ml를 MacConkey agar와 XLD agar (Difco)에 접종하여 37°C에서 24시간 배양하였다.

한편, 맹장내용 1g을 PBS로 10배 계단희석하고 그 0.1 ml를 MacConkey agar와 XLD agar에 도말하여 37°C에서 24시간 배양하였다. 다음 *Salmonella*균의 전형적인 특성을 나타내는 집락을 산정하고 log로 환산하여 평균치를 나타내었다.

주사전자현미경적 관찰 : 부검시 맹장을 적출하여 냉각된 PBS로 가볍게 세척한 다음 2.0% glutaraldehyde (Sorensen's, PH7.4)에 침적하여 4°C에서 고정하였다. 다음 0.1 M sodium phosphate buffer 용액 (PH 7.2)으로 1시간 간격으로 3회 수세하고, 70, 80, 90, 95% 및 absolute ethanol에서 탈수과정을 거쳐 임계건조기에서 건조시켰다. 건조된 조직편을 양면테이프를 이용하여 불력에 옮

기고 ion sputtering coater 내에서 순금으로 100 Å 두께로 표면처리하여 주사전자현미경 (JSM 6400, Scanning Microscope, Oxford)으로 관찰하였다.

항체가 조사: 균 접종 후 1, 7 및 14일에 혈청을 분리하여 microplate 응집반응에 의하여 항체를 측정하였다.

항원제조: *S. enteritidis* 표준균주를 Brain heart infusion agar (BHIA)에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 다음 0.5 % phenol 함유 생리식염수로 3,000 rpm에서 10분간 3회 원심세척하였다. 다음 MacFaland no.3의 탁도로 현탁시키고 spectrophotometer 620 nm에서 O.D 0.42의 농도로 맞추어 항원으로 사용하였다.

Microplate 응집반응 (microplate agglutination test : MAT) : Thain et al¹²의 방법을 참고로 하여 0.05 ml의 혈청을 microplate (U-bottomed 96 well)에서 배수 희석한 다음 동량의 항원을 가하여 37°C에서 2시간 반응시키고 4°C에서 24시간 보존한 후 응집 여부를 관찰하였다.

통계분석

통계처리는 SAS (statistical analysis software)프로그램에 의해서 처리간의 유의성을 측정하였다¹³.

결 과

한방사료첨가제의 항균효과

각종 병원세균에 대한 OHMFA의 MIC를 조사한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. pullorum*, *S. gallinarum*, *E. coli* O157:H7에 대해서는 2.0 % 이상의 농도에서, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* 및 *B. cereus*에 대하여는 0.25 %에서 항균효과를 나타내었다.

Table 1. Minimum inhibitory concentration of oriental herbal medicine feed additives on *Salmonella* spp. and other pathogens

Microorganisms	MIC (%)				
	2.0	1.0	0.5	0.25	0.13
<i>Badillus cerus</i>	-	-	-	-	+
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	-	+	+	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	+
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	+	+	+	+
<i>Salmonella gallinarum</i>	-	+	+	+	+
<i>Salmonella pullorum</i>	-	+	+	+	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+

+, occurrence of colony

-, no occurrence of colony

***S. enteritidis*의 정착 억제효과**

설사방지 및 증체효과: *Salmonella* 감염계균에 대한 설사발생 및 체중을 조사한 결과는 Table 2에서와 같다. OHMFA 첨가군은 감염 7일 후 5수 중 1수, 대조군은 5수 중 4수가 설사증세를 나타내었으나 14일 후에는 모든 시험구에서 설사증을 보이지 않았다.

체중은 첨가군의 경우 균 접종 후 1일에 404.30±9.60 g이었던 것이 14일에는 914.42±15.35 g으로 증가하여 대조군의 370.8±12.60 g 및 792.60±8.57 g에 비하여 현저하게 증가하였으나 유의성은 없었다 (p>0.05).

맹장 내용물 중 *Salmonella* 균의 분포: 감염계균의 맹장 내용물로부터 *Salmonella* 균을 분리한 결과는 Table 3과 같다. 대조군은 균 접종 후 6.01±0.36 log CFU/g에서 7일 후에 7.27±0.51 CFU/g으로 증가하다가 14일에는 3.15±1.25 CFU/g로 감소하였다. 이에 반하여 첨가군은

Table 2. Occurrence of diarrhea and body weight change in chickens inoculated with *S. enteritidis*

Treatment	Diarrhea			Body weight (g)		
	1 ^a	7	14	1	7	14
Control	0 ^b	4	0	370.18±12.60C ^c	726.10±23.20B	790.60±78.57A
1.0 %						
OHMFA added	0	1	0	404.30±9.60C	812.65±25.13B	914.42±15.35A

^a Days after inoculation.

^b Number of positive chickens from each 5 chickens tested.

^c Values represent means±SD for 5 chickens. Means of within columns not followed by common letter differ significantly (p>0.05).

균 접종 후 1일에 $5.95 \pm 0.27 \log \text{CFU/g}$ 에서 7일에 $5.67 \pm 0.76 \log \text{CFU/g}$ 수준으로 감소하다가 14일 후에는 분리되지 않았다 ($p < 0.05$).

감염 장기 중 *Salmonella* 분리 빈도

균 접종 후 7일과 14일에 간, 비장 및 맹장으로부터 *Salmonella* 균을 분리한 결과는 Table 4와 같다. 대조군은 7일 후에 5수 모두의 간과 비장에서 균이 분리되었고 14일 후 각기 4수중 2수에서 분리되었다. 이에 반하여 OHMFA 첨가군은 감염 후 7일에 간에서 5수중 2수, 비장은 5수중 3수에서 분리되었으나 14일 후에는 전 장기에서 균이 분리되지 않았다.

맹장에서는 14일 후 전 개체에서 *Salmonella* 균이 분리되었으나 첨가군에서는 분리되지 않았다. 또한 대조군에서는 8일경에 1수가 폐사하였으며, 부검하여 그 장기로부터 균 분리를 시도한 바 간, 비장 및 맹장에서 *Salmonella* 균이 분리되었다.

주사전자현미경적 관찰

맹장에 대한 균 정착상태를 주사전자현미경 (SEM)으

로 관찰한 바 Fig. 1에서와 같이 균 감염 7일 후에 대조군의 경우 장 점막 상피표면에서 다수의 간균 (A)과 상피조직의 염증반응 (B)이 관찰되었으나, OHMFA 첨가군에서는 다수의 간균만 보일 뿐 염증반응은 없었다. 14일 후에도 대조군 (C)의 장 점막 상피표면에는 다수의 간균이 부착되어 있었으나 OHMFA 첨가군 (D)에서는 거의 관찰되지 않았다.

혈중 항체가

균 접종 후 1, 7 및 14일에 혈청을 분리하여 항체가의 추이를 조사한 결과 Table 5에서와 같이 첨가군은 7일 및 14일에 모두 1:4배 수준이었으나 대조군은 1:4에서 1:8 내지 1:16배로 항체가가 상승하였다.

고 찰

Salmonella 속균의 대부분은 가축 및 사람에서 감염증을 일으키는 인수공통 병원세균으로써 그 피해가 대단히 크며^{1,2,3} 근년 계육 및 계란을 원인 식품으로 하여 발생한 살모넬라 식중독 사례가 다수 보고^{3,4,5} 됨으로서

Table 3. Isolation of *Salmonella enteritidis* from the cecum contents of chicks orally inoculated

Treatment	Days after inoculation		
	1	7	14
Control	6.01 ± 0.36^a (5/5) ^b	$7.27 \pm 0.51A$ (5/5)	$3.15 \pm 1.25B$ (4/5)
1.0% OHMFA added	$5.59 \pm 0.27A$ (5/5)	$5.67 \pm 0.76AB$ (5/5)	0C (0/5)

^a Values represent means \pm SD for 5 chickens. Means of within columns not followed by common letter differ significantly ($p < 0.05$).

^b Number of positive chickens/Number of chickens inoculated.

Table 4. Recovery of organisms from the tissues of chickens infected with *S. enteritidis*

Treatment group	Chickens	No. poitive samples/No. examined		
		Liver	Spleen	Cecum
Control	Alive at 7 days	5/5	5/5	5/5
	Alive at 14 days	2/4	2/4	4/4
	Died during experiment	1/10	1/10	1/10
1.0 % OHMFA added	Alive at 7 days	2/5	3/5	5/5
	Alive at 14 days	0/5	0/5	0/5
	Died during experiment	0/10	0/10	0/10

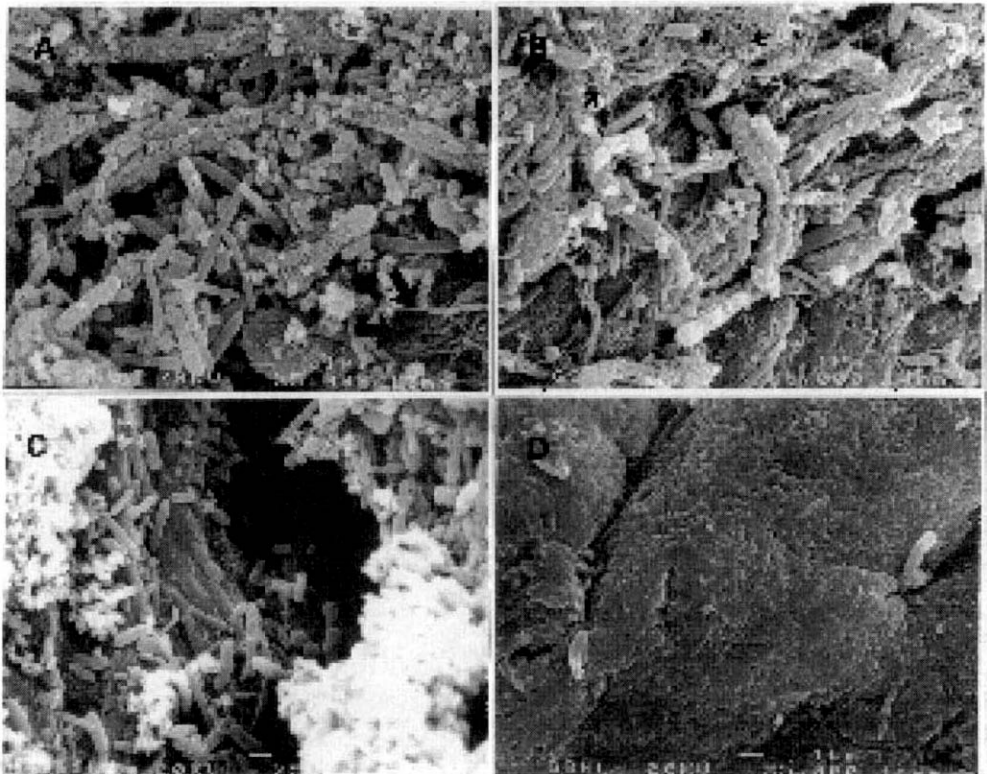


Fig. 1. Scanning electron micrograph of cecum postinfection with *S. enteritidis*; Many bacteria were colonized at cecum epithelia on the 7th days of postinfection (A), and also inflammatory response was observed in villus epithelia (B) There were observed many bacteria of the control chickens on the 14th days of postinfection (C), but bacteria were observed occasionaly in the chicken fed a OHMFA added forage (D).

Table 5. Antibody titer of sera by the microplate agglutination test in broiler chickens inoculated with *S. enteritidis*

Group	Number of chicken	Days after inoculation		
		1	7	14
Control	1	<1:2	1:4	1:8
	2	<1:2	1:4	1:16
	3	<1:2	1:2	NT
	4	1:4	1:4	1:16
OHMFA added	1	<1:2	1:4	1:4
	2	<1:2	1:4	1:4
	3	<1:2	1:2	1:4
	4	NT	1:4	1:4

NT; not tested

닭에서 살모넬라 감염증을 예방하는 것은 공중보건에서 매우 중요시되고 있다.

본 연구에서는 닭에서 *Salmonella* 속균의 방제를 위한 한방사료 첨가제를 개발할 목적으로 어성초, 황금, 감초,

홍화, 구기자, 방기 등을 혼합한 한약재 추출물을 사용하여 *Salmonella* 속균을 비롯한 몇 가지 식중독균을 대상으로 MIC를 측정된 결과 0.25%이상의 농도에서 *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* 및 *Staphylococcus aureus*는

증식이 억제되었고, *Salmonella* 속균과 *Escherichia coli*는 2.0 % 이상에서 비로소 억제되었다.

지 등¹⁴은 각종 한약재 추출물의 항균력을 조사한 연구에서 감초는 *S. tythimurium*의 증식을 억제하였지만, 황금 및 구기가 추출물은 항균성이 없다고 보고하였고 신 등¹⁵은 100 ppm의 감초 첨가에서 *L. monocytogenes*의 증식이 억제되었다고 하였다. 안 등¹⁶은 *L. monocytogenes*에 대하여 10-50 ppm의 감초가 증식 억제효과를 보였지만, *E. coli*에 대하여는 100 ppm에서도 억제되지 않았다고 하였다. 이상과 같은 성적으로 미루어 볼 때 감초에서 나타난 항균성은 본 시험 결과와 유사한 패턴을 나타내었다.

따라서 본 연구에서 사용한 첨가제의 항균성은 여러 약재의 조성 가운데 주로 감초 및 어성초 등의 작용에 기인된 것으로 추측된다. 또한 대체적으로 본 시험에서는 그람양성균에 대하여는 높은 항균성을 나타낸 반면, 균의 구조상 저항성에 관계하는 당질층이 많은 *Salmonella* 속균과 같은 그람음성균에 대하여는 효과가 적은 것으로 사료된다¹⁷.

한편 *S. enteritidis*를 broiler 유추에 경구 접종하여 첨가제에 의한 장관정착 억제효과를 조사한 결과에서 7일경에 대조군의 경우 반수 이상이 설사증세를 나타내었으나, 첨가군에서는 거의 볼 수 없었고, 전 실험기간을 통하여 첨가군에서 체중이 현저하게 증가한 것은 본 사료 첨가제가 *Salmonella* 균의 증식을 억제시키고 사료효율을 증대시킨 것으로 추측된다. 또한 맹장내용물로부터 *Salmonella* 균의 수를 경시적으로 조사한 결과에서 첨가군의 경우 7일 이후부터 감소하기 시작하여 14일 후에는 거의 분리되지 않은 반면, 대조군에서는 다수의 개체에서 많은 수의 균이 분리되었다.

맹장에서의 균의 정착상태를 주사전자현미경으로 관찰한 소견에서도 대조군의 경우 7일경에 장 점막상피표면에 다수의 균과 염증반응이 관찰되었고, 14일 후에도 다수의 균이 관찰되었으나, 첨가군에서는 균이 거의 보이지 않았으며, 장 상피조직도 비교적 건강한 것으로 관찰되었다. 이와 같은 결과는 맹장내용물에서 조사된 *Salmonella* 균수의 증감과 일치되었다. 또한 OHMFA 첨가군의 경우 감염 7일 이후부터 간과 비장에서 균의 검출빈도가 감소하기 시작하여 14일 이후에는 전혀 분리되지 않았던 것은 첨가제 급여에 의한 항균성 내지는 개체의 저항성 증감에 따른 결과인 것으로 추측된다. 더욱이 전 실험기간을 통하여 조사한 혈청 역가에서 첨가군의 경우 대조군에 비하여 대체적으로 낮게 나타난 것은 첨가제 급여에 의해서 감염된 균이 7일 이후부터 간과 비장에서 거의 제거되고 감염증이 회복됨으로서 균

이 항체 생성에 큰 영향을 미치지 못한 것으로 해석된다.

이상의 결과를 통해서 볼 때 broiler 유추에서 1.0 %의 한방첨가제 투여는 *Salmonella* 속균 및 기타 장내 병원세균의 수를 감소시키고 배균 기간을 단축시킴으로서 질병발생을 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라 증체 효과를 나타내어 육계의 출하기간을 약 5일간 단축시킬 수 있어 농가의 소득증대에 크게 기여할 것으로 사료된다.

결 론

본 연구에서는 한방첨가제의 항균성과 broiler 유추에서 *Salmonella enteritidis*의 장관정착 억제효과를 조사하였다. *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* 및 *Staphylococcus aureus*는 0.25% OHMFA 첨가에 의해서 증식이 억제되었고, *Salmonella* spp 및 *Escherichia coli*는 2.0% 이상에서 억제되었다. 또한 *S. enteritidis*를 10⁷ CFU/ml 수준으로 접종한 broiler 유추에서 1.0% 수준의 OHMFA를 급여한 결과 대조군에 비하여 현저한 증체 효과를 나타내었고, 감염 세균은 7일 이후부터 간, 비장 및 맹장 내용물로부터 감소하기 시작하여 14일 이후에는 거의 분리되지 않았으며 (P<0.005), 혈청 역가는 대조군에 비하여 현저하게 낮게 나타났다.

참고문헌

- Hopper SA, Mawe S. *Salmonella enteritidis* in a commercial layer flock. *Vet Res*, 123: 351-358, 1989.
- Humphrey TJ, Baskerville A, Mawer S, et al. *Salmonella enteritidis* phage type 4 from the contents of intact eggs; a study involving naturally infected hens. *Epidemiol Infect*, 103: 415-423, 1989.
- Mason J, Ebel E. APHIS *Salmonella enteritidis* control program, In G. H. Snoeyenbos(ed), *Proceeding of the symposium on the diagnosis and control of Salmonella*. Caster Printing Co, Richmond, VA. 78-109, 1992.
- Limawonnganee S, Hayashidani H, Okatani AT, et al. Prevalence and persistence of *Salmonella* in broiler chicken flocks. *J VET Med Sci*, 61: 255-259, 1999.
- Nightingale SL. *Salmonella* food borne illness. *Am Fam Physician*, 39: 387-388, 1989.
- 김호운, 박미선, 강연호, 등. 1977년도 한국에서 분리한 *Salmonella*주의 역학적 특성. *한국수의공중보건학회지*, 22: 253-259, 1998.
- Nair US, Saed AM, Muriana PM, et al. Plasmid profile and resistance to antimicrobial agents among *Salmonella*

- enteritidis* isolates from human beings and poultry in the midwestern United States. *JAVIMA*, 206: 1339-1344, 1995.
8. Havenaar R, Brink BT and Jos HJ. Selection of strains for probiotics use. In; Fuller R(ED) Probiotics, the scientific basis. Chapman &Hall, London, 209-224, 1992.
 9. Charumati M, Lambert J. Production of anti-microbial substances by Probiotics, *Asia Pacific J Clin Nutr*, 5: 20-24, 1996.
 10. National Committee for clinical laboratory standard. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4th ed, Approved standard M7-A4, 1997.
 11. Bailey JS, Fletcher DL, Cox NA. *Listeria monocytogenes* colonization of broiler chickens. *Poul Sci*, 69: 457-461, 1990.
 12. Thain JA and Blandford TB. Along term serological study of a flock of chickens naturally infected with *Salmonella pullorum*. *Vet Rec*, 109: 136-138, 1981
 13. SAS. The SAS system for window. Stastical Analysis System Institute Inc. Carg. NC, 1998.
 14. 지원대, 정민선, 정현채, 등. 오미자 추출물의 세균 증식 억제효과. *J Fd Hyg Safety*, 16: 89-95, 2001.
 15. 신동화, 한지숙, 김문숙. 방기 및 감초의 에탄올 추출물이 *Listeria monocytogenes*의 증식억제에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, 26: 627-632, 1994.
 16. 안은영, 시동화, 백남인, 등. 감초로부터 항균성물질의 분리 및 구조 동정. *한국식품과학회지*, 30: 680-687, 1998.
 17. 윤영선, 김공수, 이영남. 키토산의 항세균 및 항진균 활성. *한국키티닌키토산학회지*, 4: 8, 1999.