

## Effects of Dietary Probiotics as an Alternative to Antibiotics on Growth Performance, Biochemical Characteristics and Immune Response in Weaning Pigs

Sang-Bum Lee<sup>1,2†</sup>, Jae-Sung Lee<sup>2†</sup>, Tao Wang<sup>3</sup>, Min-Jeong Kim<sup>2</sup>, Woo-Suk Jung<sup>2</sup>, Seung-Woo Jeon<sup>2</sup>, Yun-Jeong Park<sup>2</sup>, Teak-Soon Shin<sup>1</sup>, Sang-Hong Park<sup>4</sup> and Hong-Gu Lee<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Pusan National University, Miryang 627-700, Korea

<sup>2</sup>Department of Animal Science and Technology, College of Animal Bioscience and Technology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

<sup>3</sup>College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun, 130118, P. R, China

<sup>4</sup>Myeongryun Co. Ltd, Busan 607-010, Korea

Received January 13, 2014 / Revised April 17, 2014 / Accepted April 21, 2014

We evaluated the growth performance, biochemical characteristics, and immune responses in weaning pigs given a diet containing MR-1 (0.2%/feed) or antibiotics (0.1%/feed) for 45 days. *In vitro* study showed that MR-1 has antibacterial activity against a variety of strains of pathogenic bacteria, especially a strain of cattle-derived *Escherichia coli* K99 (*E. coli* K99) by agar diffusion assay. In the *in vivo* model, 0.2% MR-1-given group clearly ameliorated the weight gain and feed efficiency in the growth performance of weaning pigs compared to the basal diet group ( $p < 0.05$ ). Additionally, 0.2% MR-1 induced an elevation in the levels of mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and showed a similar pattern (TNF $\alpha$  and IFN $\gamma$  production) to the antibiotic treated pigs. Taken together, we suggest that 0.2% MR-1 makes probiotics an alternative to antibiotics in weaning pigs.

**Key words** : Antibacterial activity, biochemical characteristics, cytokine production, probiotics, weaning pigs

### 서 론

현재 우리나라의 양돈 산업은 2006년 말부터 이어진 국제 원료 사료가격의 상승과 더불어 양돈 선진국인 덴마크, 네덜란드, 프랑스 등 EU (2011) 및 미국(2010) 등과 FTA를 체결하면서 무한 경쟁구도에 직면해 있다. 현재 우리나라 MSY (Market pig per Sow per Year, 모돈1마리당 년 간 돼지 판매 두수)는 2009년 15.2두로 유럽 선진 축산국의 약 59% 수준(네덜란드 26두, 덴마크 25.6두)으로 낮은 실정이다[42]. 이렇게 MSY가 양돈 선진국에 비해 낮은 이유는 질병 및 열악한 사육 환경 등에 의한 폐사율이 높기 때문인 것으로 알려져 있으며 [32], 현재 국내 양돈 농가의 평균 포유자돈 폐사율은 11.1%로 나타났다[33]. 그러므로 포유자돈의 폐사율을 감소시키는 것은 국내 양돈농가들의 수익성 개선은 물론 생산성 향상을

통한 국내 양돈산업의 경쟁력 확보를 위해 매우 중요한 과제이다.

항생제는 병원균을 억제하기 위하여 의학 및 수의학적 목적으로 개발되었으나, 많은 연구자들에 의해 가축의 질병 예방 효과뿐만 아니라, 성장촉진[41] 및 사료효율[24] 등 생산성 또한 개선시키는 효과가 있다는 것이 검증되면서 1940년대 중반부터 1960년대까지 축산업에 있어서 성장촉진용 항생제인 AGPs (Antibiotic Growth Promoters)의 사용은 급속도로 확산되었다. 하지만 축산물의 항생제 잔류 및 전이[38]와 항생제에 내성[4, 11, 55]을 가진 슈퍼박테리아의 등장 등 여러 문제점이 대두되면서 전 세계적으로 AGPs의 규제가 강화되었다. EU (유럽연합)는 2006년부터 AGPs의 사용을 수의사 처방에 의한 경우를 제외하고 전면 금지시켰으며, 국내에서 또한 세계의 흐름과 소비자의 요구에 맞춰 2011년부터 가축의 사료 내 AGPs의 사용을 전면 금지시켰다. 사료 내 AGPs의 사용이 금지됨에 따라 예상되는 문제점은 소화기질병 발생 증가와 출하 일령 지연 등이 있는데, 특히 소화기질병은 이유 자돈의 경우 이유 시 모돈으로부터 격리됨으로써 오는 환경의 변화와 고형물 사료 등으로 인해 설사발생으로 이어져 면역력이 약한 개체일수록 발육정체 및 폐사율이 증가하게 된다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서 항생제 대체제로 국내에서는 생균제 [22], 효소제 [25], 유기산제 [61], 식물추출물 [30], Prebiotics

† Authors contributed equally.

\*Corresponding author

Tel : +82-2-450-0523, Fax : +82-2-455-1044

E-mail : hglee66@konkuk.ac.kr

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.

[26], Bacteriophage [60] 등 많은 물질이 연구되고 있는데, 그 중 생균제에 관한 연구는 세계적으로 오랜 기간 진행되어 왔으며 [12, 36, 47], 각광받고 있다. Fuller [12]는 생균제를 장내 미생물의 균형을 개선함으로써 숙주에 유익한 작용을 하는 미생물 사료첨가제라고 하였고, Havenaar과 Huis in't Veld [15]는 생균제의 사용이 인간 또는 가축의 장내 미생물총의 특성을 개선하여 숙주에 유익한 작용을 하는 단독 또는 혼합된 살아있는 배양균이라 정의하였다. 생균제는 돼지에서 장내 *E. coli* 억제 및 유산균 수 증가 [54], 이유자돈 설사 예방 [34, 35], 육성돈의 칼슘 흡수량 증가 [43], 성장률과 사료효율 개선 [6, 14, 44], 면역 능력 향상 [10] 등에도 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.

현재 국내에서도 다양한 생균제가 개발, 보급되어 사용되고 있는데, 사료회사뿐만 아니라 일반 양돈농가에서 사용하고 있는 생균제의 종류 및 첨가 수준도 매우 다양한 실정이다 [22]. 또한 현재까지의 생균제에 관한 대부분의 연구들은 주로 돼지의 성장, 영양소 이용률, 설사 및 폐사 지수 등 생산적인 측면에서 연구가 진행되어왔으며, 미생물의 작용 기전 또한 각각 달라 효과적인 생균제에 대한 정확한 규명이 되지 않았다.

따라서 본 연구는 이유자돈의 성장기 면역력을 증강시키는 항생제 대체 물질을 개발하기 위한 방안의 일환으로 목장토에서 자체 분리 동정한 19종의 복합 미생물로 구성된 혼합생균제(MR-1)를 축 종별 병원성 미생물에 대한 항균력을 확인한 후 돼지 사료에 첨가시켜 돼지의 생산성 및 혈액 내 생화학적 조성 그리고 면역 반응 조사를 실시하여 산업적인 이용방안을 제시코자 하였다.

## 재료 및 방법

### 공시동물 및 시험장소

본 연구에서는 38일령 이유자돈([Landrace × Yorkshire] × Duroc) 69두(10.1±0.12)를 사용하였으며, 23두씩하여 3개 돈방에 임의로 배치하였다. 시험장소는 경상남도 김해에 소재하는 P농장에서 실시하였다.

### 혼합 미생물(MR-1)의 준비 및 기초사료

본 연구에 이용한 미생물은 목장토에서 자체 분리 동정한 19종(*Micrococcus luteus*, MR-WR, *Acetobacter Pasteurianus*, MR-R1, *Acetobacter sp.*; MR-R2, *Corynebacterium imitans*, MR-L1, *Bacillus subtilis*; MR-L2, *Gluconobacter cerinus*, MR-C1, *Lysinibacillus fusiformis nov.*; MR-C2, *Sphingomonas sp. Novel*, MR-HR1, *Pseudomonas saccharophila*, MR-HR2, *Methylobacterium sp.*; MR-HR3, *Mesorhizobium sp.*; MR-HR4, *Burkholderia gladioli*; MR-OS1, *Bacillus subtilis*, MR-OS2, *Sporolactobacillus nakayamae*, MR-O2, *Lactobacillus plantarum*, MR-O3, *Bacillus racemilactius*, MR-O4, *Pichia sp.*; MR-CD1, *Bacillus sp.*;

MR-CD3, *Lactobacillus casei*; MR-CD)을 이용하였으며, MR-1 제조 공정은 배양 및 준비과정을 거쳐 탈지미강(defatted rice bran)에 H<sub>2</sub>O와 19종 균 주를 1:1비율로 혼합하여 분사, 교반, 숙성, 건조 과정을 거쳐 포장한 제품을 이용하였다. 기초사료는 NRC의 요구수준으로 배합된 Crude protein 18.0%, Crude fat 6.0%, Crude ash 10.0%, Crude fiber 5.0%, P 1.0%, Ca 0.7%, Lysine 1.35% 그리고 ADE (Apparent Digestible Energy) 3.6%, DCP (Digestible Crude Protein) 15.0%인 사료를 시험 전 기간 동안 급여시켰다.

### 시험설계 및 사양기준

38일령 이유자돈 69두를 처리구 당 23두씩 체중이 유사하도록 배치한 후 실험에 이용하였다. 각 처리구별 사료급여 기준은 1) C (basal diet; No-Antibiotics), 2) T1 (Antibiotics; Tiamulin 0.1%/feed), 3) T2 (No-Antibiotics + MR-1 0.2%/feed)로 설계하여 45일 동안 급여시켰다. 시험기간 동안 처리별 사료와 물은 자유채식토록 하였다.

### 조사 항목 및 실험방법

#### 축 종별 병원성 미생물에 대한 항균효과 검사

축 종별 병원성 미생물(*Escherichia coli* K88: K88, *Escherichia coli* K99: K99, *Salmonella Typhimurium* ST)에 대한 MR-1의 항균효과를 검증하기 위하여 구축된 agar diffusion assay 방법을 이용하여 최종 혼합 미생물을 선정하였다. K88 균의 경우 돼지에서 이유기의 자돈에서 설사를 일으키는 가장 중요한 원인 균이며 [39,40], K99 균은 송아지에서 설사를 일으키는 다양한 병원체 중 항원형 K를 표현하는 균이다 [8]. 그리고 ST의 경우 감염 및 발병 대상에 대한 특이성이 없이 사람과 동물 모두에서 식중독이나 만성 장염을 일으키는 균으로 알려져 있다 [7]. Agar diffusion assay 방법은 다음과 같다. Petri-dish (90×15 mm)에 MRS agar (BD Difco, USA) 20 ml를 먼저 분주하여 bottom agar를 형성시킨 후 tryptic soy broth (TSB; BD Difco, USA)와 0.7% agarose (Certified Molecular Biology Agarose, Bio-Rad Laboratories, Spain)의 혼합액 3 ml를 제조한 후 병원균 희석액(K88, K99, ST: 10<sup>3</sup>) 50 ul를 넣고 bottom agar 위에 분주하여 굳혔다. 굳힌 후 plate 3부분에 well을 소독된 cork bore로 뚫고 MR-1을 40 ul 분주시켰다. 분주 후 37°C (24 hr)에서 배양 후 clear zone의 직경을 측정하였다. 측정된 clear zone의 직경은 0 mm (-; 항균효과 없음), 15 mm > (+; 약한 항균효과), 15~25 mm (++; 보통 항균효과), 26~35 mm (+++; 강한 항균효과), 35 mm < (++++; 아주 강한 항균효과)으로 표현하였다. 본 MR-1의 항균효과를 검증하기 위해 사용된 병원성 미생물의 종류와 특성에 관한 정보는 Table 1에서 나타내었다.

Table 1. Strain and property of pathogenic bacteria

Strain	Property
<i>Escherichia coli</i> K88	Porcine / diarrhea ( <i>E. coli</i> )
<i>Escherichia coli</i> K99	Cattle (calf) / diarrhea ( <i>E. coli</i> )
<i>Salmonella</i>	Chicken, porcine /
<i>Typhimurium</i> (ST)	diarrhea (typhoid)

**일 당 증체량, 사료섭취량 및 사료요구율**

체중은 시험개시(0)와 45일에 조사하였으며, 일 당 증체량 (weight gain)은 15일간의 증체량을 1일로 나누어 1두 당 1일 증체량(Dairy weight gain)으로 표시하였다. 일 당 사료섭취량 (Feed intake)은 사료 총 급여량에서 잔량을 제하여 총 섭취량을 구하고 사육 두수로 나누어 1두 당 증체량으로 표시하였으며, 15일을 나누어 1두 당 1일 사료섭취량(Dairy feed intake)로 표시하였다. 사료효율(Gain / Feed)은 일 당 증체량을 일 당 사료섭취량으로 나누어 계산하였으며, 사료요구율(Feed / Gain)은 일 당 사료섭취량을 일 당 증체량으로 나누어 계산하였다.

**혈액 생화학적 분석**

혈액 생화학적 분석은 실험 개시 후 15일과 30일에 이우자돈의 경정맥에서 채혈하여 EDTA 튜브(BD vacutainer, BD Franklin, USA)에 보관한 혈액을 이용하여 분석하였다. 4℃ 하에 EDTA 튜브에 보관된 혈액은 자동혈액분석기(ACT-Diff, Beckman-Coulter, USA)를 이용하여 WBC (백혈구; white blood cells), RBC (적혈구; red blood cells), HGB (혈색소; hemoglobin concentration), HCT (헤마토크리트; hematocrit), MCV (평균적혈구용적; mean corpuscular volume), MCH (평균적혈구혈색소량; mean corpuscular hemoglobin), MCHC (평균적혈구혈색소농도; mean corpuscular hemoglobin concentration), PLT (혈소판; platelet)를 측정하였다.

**혈장 내 cytokine production의 농도 측정**

Cytokine production의 농도 분석은 실험 개시 후 20일에 각 그룹으로부터 채혈한 혈액 내 혈장을 이용하였다. 이우자돈 경정맥에서 채혈한 혈액 sample (5 ml)을 EDTA 튜브에 옮겨 담은 후 원심분리(3,500 rpm, 15 min)하여 혈장을 얻었으며, clean bench하에서 혈장을 1.5 ml 튜브에 옮겨 담고 cytokine production (TNF $\alpha$ : Tumor Necrosis Factor-alpha, IFN $\gamma$ : Interferon gamma) 분석을 하기 전까지 -80℃에 보관하였다. 혈장 내 TNF $\alpha$ 와 IFN $\gamma$ 의 cytokine production 농도는 ELISA kit (Abcam plc., Cambridge, MA, USA)내 Instruction's guide에 따라 측정하였다.

**통계 분석**

시험 및 분석 등을 통해서 얻어진 성적들은 SPSS 14.0K의 ANOVA Procedure로 분산분석을 실시하고, Duncan New

Multiple Range Test를 이용하여 유의성 검정을 실시하였으며, 처리구간의 비교는 Student's *t*-test를 이용하였다. 이 때 유의수준은  $p < 0.05$ 일 때 유의성이 있다고 판단하였다.

**결과 및 고찰**

**축 종별 병원성 미생물에 대한 항균효과 검사**

축 종별 병원성 미생물(K88, K99, ST)에 대한 MR-1의 항균 효과 결과는 Table 2에서 나타내었다. 목장토에서 자체 분리 동정한 각 19종에 대한 축 종별 병원성 미생물의 항균 효과는 *E. coli* K88 균에서 8종류의 균 종(MR-WR, MR-R1, MR-R2, MR-C1, MR-HR2, MR-HR3, MR-CD3, MR-CD4)에서 약한 항균효과(+)만을 나타내었으며, *E. coli* K99 균에서는 2종류의 균 종(MR-L2, MR-O4)에서 약한 항균효과(+), 9종류의 균 종(MR-R1, MR-R2, MR-C1, MR-C2, MR-OS2, MR-O3, MR-CD1, MR-CD3, MR-CD4)에서 보통 항균효과(++) 그리고 6종류의 균 종(MR-HR1, MR-HR2, MR-HR3, MR-HR4, MR-OS1, MR-O2)에서 강한 항균효과(+++)를 나타내었다. 그리고 *S. Typhimurium* 균에서는 1 종류의 균 종(MR-HR3)에서 약한 항균효과(+), 2종류의 균 종(MR-HR2, MR-HR4)에서 보통 항균효과(++)를 나타내었다. *Bacillus* 속은 다양한 종류의 peptide계 항균물질을 분비하여 넓은 범위의 항균효과를 가지고 있으며[19], Bactericin (항균물질)이나 bacteriocin-like substances (BLS)를 생산하는 *Bacillus*속으로는 *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*등에 관한 보고들이 있다[56]. 19종의 혼합 배양액(Mix)의 경우 *E. coli* K88 균에서는 약한 항균효과(+), *E. coli* K99균에 대해서는 강한 항균효과(+++), *S. Typhimurium* 균에서는 보통 항균효과(++)를 나타내어 결과적으로는 단독 균주인 MR-HR2와 동일한 항균효과를 나타내었다. 하지만 *in vivo* 연구일 경우 단일 균주보다 혼합 미생물을 이용하였을 때 일당증체량 및 사료효율 등 생산성 효과가 크다는 연구가 많으며[17, 20, 28, 46], 이러한 이유는 일반적으로 건강한 동물의 소화기에는 혐기성 세균이 우점하고 있으며, 소화기 상부에는 *L. acidophilus*, 중부에는 *B. subtilis*, 하부에는 *S. faecium*이 정착하기 알맞게 되어있으므로 이를 고려하여 혼합 미생물제를 사용하면 그 효과를 증진시킬 수 있다고 하였다[45]. 최종적으로 19 종의 혼합 배양액을 제품으로 생산된 혼합 미생물 제제 MR-1의 경우 *E. coli* K88와 *S. Typhimurium*균에서는 약한 항균효과(+)를 나타내었으며, *E. coli* K99균에 대해서는 아주 강한 항균효과(++++)를 나타내는 것으로 나타났다.

**일 당 증체량, 일 당 사료섭취량 및 사료요구율**

이우자돈에 있어서 MR-1의 사료 내 첨가가 일 당 증체량, 일 당 사료섭취량 및 사료요구율에 미치는 영향에 대한 결과는 Table 3에 표기하였다. 일 당 증체량의 경우 MR-1를 사료

Table 2. Antibacterial activity of MR-1 against pathogenic bacteria by agar diffusion assay

Strain	Pathogenic bacteria		
	<i>E. coli</i> K88	<i>E. coli</i> K99	<i>S. Typhimurium</i>
<i>Micrococcus luteus</i> MR-WR	+	-	-
<i>Acetobacter pasteurianus</i> MR-R1	+	++	-
<i>Acetobacter sp.</i> MR-R2	+	++	-
<i>Corynebacterium imitans</i> MR-L1	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> MR-L2	-	+	-
<i>Gluconobacter cerinus</i> MR-C1	+	++	-
<i>Lysinibacillus fusiformis nov.</i> MR-C2	-	++	-
<i>Sphingomonas sp. Novel</i> MR-HR1	-	+++	-
<i>Pseudomonas saccharophila</i> MR-HR2	+	+++	++
<i>Methylobacterium sp.</i> MR-HR3	+	+++	+
<i>Mesorhizobium sp.</i> MR-HR4	-	+++	++
<i>Bukholderia gladioli</i> MR-OS1	-	+++	-
<i>Bacillus subtilis</i> MR-OS2	-	++	-
<i>Sporolactobacillus nakayamae</i> MR-O2	-	+++	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> MR-O3	-	++	-
<i>Bacillus racemilactius</i> MR-O4	-	+	-
<i>Pichia sp.</i> MR-CD1	-	++	-
<i>Bacillus sp.</i> MR-CD3	+	++	-
<i>Lactobacillus casei</i> MR-CD4	+	++	-
Mix	+	+++	++
MR-1	+	++++	+

<sup>1)</sup>Growth inhibition size of clear zone; -, not detected; +, smaller than 15 mm; ++, 15~25 mm; +++, 26~35 mm; +++++, large than 35mm.

Table 3. Effects of dietary MR-1 on the growth performance in weaning piglets

	Days	Treatment <sup>1)</sup>		
		C	T1	T2
Body weight (kg)	0	9.65±0.272	10.22±0.215	9.92±0.269
	45	36.48±0.687	37.09±0.550	38.19±0.724
Weight gain (kg/head)	1-45	26.83±0.782	26.87±0.614	28.27±0.781
Dairy weight Gain	1-45	0.60±0.017	0.60±0.014	0.63±0.017
Feed intake (kg/head)	1-45	41.85 <sup>a</sup>	40.50 <sup>b</sup>	40.05 <sup>c</sup>
Dairy feed intake	1-45	0.93 <sup>a</sup>	0.90 <sup>b</sup>	0.89 <sup>c</sup>
Gain/Feed (Feed efficiency)	1-45	0.64±0.019 <sup>b</sup>	0.66±0.015 <sup>ab</sup>	0.71±0.019 <sup>a</sup>
Feed/Gain (Feed conversion ration)	1-45	1.59±0.057 <sup>a</sup>	1.52±0.033 <sup>ab</sup>	1.44±0.043 <sup>b</sup>

Values were expressed as mean ± SEs (n=23).

<sup>a,b,c,d</sup>Means with different superscripts in the same row significantly differ ( $p < 0.05$ ).

<sup>1)</sup>C, basal diet; T1, Antibiotics 0.1%, T2, MR-1 0.2%.

내 첨가함에 있어서 대조구와 항생제구에 비해 유의하게 영향을 주지 않았으나, 다른 처리구에 비해 일당 증체량이 30 g 증가된 것으로 나타났다. 그리고 일당 사료섭취량의 경우 항생제구와 MR-1구에서 대조구 대비 유의하게 감소한 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 결과적으로 사료효율과 사료요구율에 있어서 MR-1구는 항생제구와는 유의적인 차이가 없었으나, MR-1구는 대조구와 비교하여 유의하게 개선된 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 일반적으로 가축에 있어서 생균제 급여 시 유기산, 항생물질, 소화효소, 비타민 등의 유익한 대사산물의 생성[16]

과 사료의 소화촉진[5, 48], 영양소 흡수촉진[63] 등 영양적인 효과가 있으며, 본 *in vivo* 실험에서는 모든 처리구에서 설사증세가 나타나지 않아 특별히 확인할 수 없었으나, 항균물질 생성으로 장내 부패균 및 유해균의 증식 억제[27], 유익균의 증식 촉진[62]으로 인해 설사 예방 등 살균효과가 있는 것으로 보고되었다.

특히 *Bifidobacteria*, *Latobacillus*, *Bacillus* 및 *Yeast*는 가축의 성장을 증진시킨다고 하였는데[1, 2, 3, 9, 37], Smith와 Jones [54]는 돼지에 있어서 유산균의 급여는 결과적으로 장내 *E*

Table 4. Effects of dietary MR-1 on biochemical analysis of blood collected from weanling piglets

	Days	Treatment <sup>1)</sup>		
		C	T1	T2
WBC (10 <sup>3</sup> /ul)	0	20.62±2.456	16.41±2.663	17.93±0.593
	45	22.90±2.843	27.70±1.941	29.32±1.954
	AVG	21.38±1.854	19.73±2.318	21.73±1.604
RBC (10 <sup>6</sup> /ul)	0	6.75±0.087	6.31±0.223	6.59±0.175
	45	6.52±0.648	7.57±0.216	7.27±0.204
	AVG	6.68±0.210	6.68±0.220	6.82±0.156
HGB (g/dl)	0	9.55±0.166	9.01±0.413	9.79±0.247
	45	10.26±0.871	11.28±0.231	11.62±0.263
	AVG	9.79±0.304	9.68±0.392	10.40±0.293
HCT (%)	0	30.54±0.485	28.09±1.347	30.74±0.683
	45	31.78±2.643	35.38±0.721	36.00±0.873
	AVG	30.95±0.889	30.24±1.268	32.49±0.844
MCV (fl)	0	45.24±0.341 <sup>ab</sup>	44.39±0.705 <sup>b</sup>	46.80±1.112 <sup>a</sup>
	45	49.12±1.238	46.84±1.112	49.64±1.573
	AVG	46.53±0.659 <sup>ab</sup>	45.11±0.640 <sup>b</sup>	47.75±0.946 <sup>a</sup>
MCH (pg)	0	14.15±0.119	14.23±0.205	14.91±0.423
	45	15.84±0.397	14.96±0.409	16.00±0.523
	AVG	14.71±0.258 <sup>ab</sup>	14.44±0.199 <sup>a</sup>	15.27±0.349 <sup>b</sup>
MCHC (g/dl)	0	31.24±0.143 <sup>b</sup>	32.09±0.099 <sup>a</sup>	31.85±0.160 <sup>b</sup>
	45	32.26±0.147	31.94±0.108	32.24±0.075
	AVG	31.58±0.165 <sup>b</sup>	32.05±0.077 <sup>a</sup>	31.98±0.118 <sup>a</sup>
PLT (10 <sup>3</sup> /ul)	0	431.80±40.486	532.60±68.119	533.25±22.383
	45	64.75±39.552 <sup>b</sup>	219.60±43.335 <sup>a</sup>	183.00±46.934 <sup>ab</sup>
	AVG	319.20±51.813	428.27±61.013	416.50±53.769

Values were expressed as mean ± SEs (n=5).

<sup>a,b,c</sup>Means with different superscripts in the same row significantly differ ( $p<0.05$ ).

<sup>1)</sup>C, basal diet; T1, Antibiotics 0.1%, T2, MR-1 0.2%.

*coli* 수가 감소하고, 유산균 수가 증가하여 성장률과 사료효율이 개선되며, 영양소 이용률이 증가된다고 하였다. Collington 등[6]은 생균제가 이유자돈의 성장과 사료효율을 개선할 뿐만 아니라 lactase의 활성을 높인다고 하였으며, Newman 등[43]은 *Lactobacillus faecium*은 lysine을 분비하여 lysine의 공급량이 부족한 육성돈의 성장률을 개선시키며, 건강한 돼지에게 *Lactobacillus*를 급여하면 칼슘의 흡수량이 증가된다고 하였다.

따라서 본 연구결과는 이유자돈에 혼합 미생물 제제인 MR-1을 사료 내 첨가함으로써 유의한 대사산물의 생성과 더불어 장내 병원성 미생물 감소 및 유익균 증가에 따른 사료의 소화촉진 및 영양소 흡수 촉진이 진행되었으며, 결과적으로 사료효율을 개선시킨 것으로 판단된다.

**혈액 생화학적 분석**

혈액학 분석결과 MR-1구에서 다른 처리구보다 시험개시전 보다 WBC (백혈구)의 증가가 가장 높은 것으로 확인되었으며, MCH (평균 혈구 헤모글로빈 량)농도와 MCHC (평균 혈구 헤모글로빈 농도)농도가 각각 항생제 처리구와 대조구보다 유

의하게 증가하였다( $p<0.05$ ). 이는 MR-1의 사료 내 첨가에 인하여 면역과 깊은 관련성이 있는 백혈구 수치를 증가시켜 항병력이 증가되는 결과를 가져왔을 것으로 예상된다. 일반적으로 비병원성 물질인 생균제의 균체는 병변을 유도하지 않는 수준에서 가축의 면역기능을 자극함으로써 장내 유해 세균에 대한 면역능력을 증강시켜주며 장기간에 걸친 생균제의 급여는 장관 내 면역기능을 개선하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. Jang 등[21]은 probiotics를 사료 내 첨가에 의해 백혈구의 활성이 증가할 수 있다고 하였는데, 이러한 이유는 probiotics에 의해 질병저항성에 중요한 역할을 하는 식세포 활성이 증가되는 것과 연관이 있다고 하였다.

**혈장 내 cytokine production의 농도 측정**

이유자돈에 있어서 MR-1의 사료 내 첨가가 혈장 내 cytokine production의 농도에 미치는 영향에 대한 결과는 Fig. 1에 제시하였다. 면역 세포의 조절에 의해 염증반응에 밀접한 연관이 있는 TNF $\alpha$ 의 경우 처리구간의 유의한 차이는 나타나지 않았다. 하지만 인체에 바이러스가 침투해 오거나 암세포

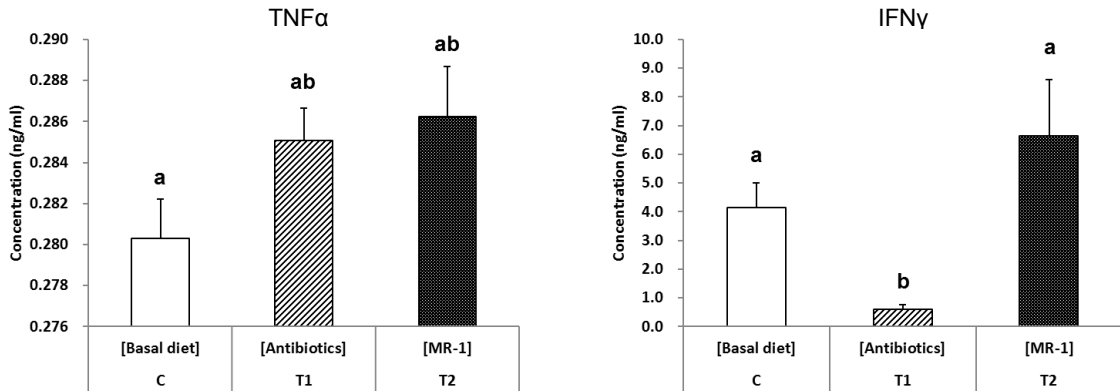


Fig. 1. Changes in the production of TNF $\alpha$  and IFN $\gamma$  in plasma of weanling piglets given diet containing MR-1. Values were expressed as mean  $\pm$  SEM (n=6). <sup>a,b</sup>  $p < 0.05$ , by Tukey HSD test

가 생기면 그것을 저항하기 위해 생체 내의 세포들을 자극을 유도하는 물질인 IFN $\gamma$ 의 경우 대조구와 비교하여 MR-1구에서는 변화가 나타나지 않았으나, 항생제구에서는 IFN $\gamma$ 의 농도가 유의하게 감소된 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). Sacha 등[50]의 논문에 의하면 진균 세팔로스포름에서 얻어진 항생 물질인 cephalosporines 계열과 gentamicin, streptomycin 등이 포함된 aminoglycosides 계열의 항생 물질은 쥐의 림프구 T에 의해 IFN $\gamma$ 의 생산을 억제시켰다고 보고하였다. 이러한 항생제구의 IFN $\gamma$  production 수치의 감소 현상은 Tiamulin이라는 항생제에 의해 장관 환경 내 내재성 박테리아들의 변화에 따른 항바이러스 인자(INF $\gamma$ )가 급속도로 감소한 것으로 사료된다. 결과적으로 이유자돈에 있어서 MR-1의 사료 내 첨가 급여는 생체에 있어서 어떠한 유해한 염증반응을 나타내지 않았으며, 항생제구와 같이 항바이러스 인자를 감소시키는 현상은 나타나지 않았다.

일반적으로 probiotics 중 *Lactobacillus*의 경우 장관 및 비뇨생식기의 미생물 균 총을 유지시키고[51], 식품의 영양학적 가치를 증진시키며[49], 면역력을 증강시키는 작용[23] 등의 유의한 효과가 있는 것으로 보고되었다. 그리고 이러한 면역 증강 작용은 *Lactobacillus*이 특이 및 비특이적 면역체계의 증강에 의해 숙주를 보호하는 역할을 한다고 한다[13]. Kim 등[29]과 Kim 등[31]의 논문에 의하면 *Lactobacillus*에 의해 선천성 면역계(백혈구, 대식세포 탐식능 증가 및 NK세포 활성화)와 후천성 면역계(림프구 증식 및 항체생산 증가)의 증강작용 등 다양한 면역작용을 보이는 것으로 밝혀졌으며, Shin 등의 연구에 의하면 *in vivo* [52]와 *in vitro* [53] 상에서 또 다른 probiotics인 *bifidobacteria*의 세포벽 획분에 의해 장관면역 활성을 통한 골수세포 증식활성이 보고되는 등 장관면역 활성화를 통한 전신 면역계 활성이 증명되었다고 하였다. 그리고 *Yeast*의 세포벽에서 추출한 고분자 다당류인  $\beta$ -glucan은 바이러스 증식 억제 물질인 T-cell IFN $\gamma$  수준을 증진시킨다고 하였는데[59], 이러한 긍정적인 효과는 숙주와 장내미생물의 상호작용이 항체생산을 증가시키고 점막 입파조직(GALT)을 발달시켜 전반적인

면역력을 높인다고 밝혔다[18, 57, 58].

하지만 본 연구 결과에서는 아쉽게 혼합 미생물제제인 MR-1에서 면역 지표인 TNF $\alpha$ 와 IFN $\gamma$ 의 변화에 의해 면역력을 높였다는 결과는 보여주지 못하였다. 하지만 또 다른 한편으로는 본 연구 결과를 통하여 항생제를 대체제로서는 우수한 역할을 할 수 있을 것으로 판단된다. 본 연구에서 사용된 MR-1은 축 종별 병원성 미생물에 대한 항균력이 뛰어났으며, 대조구와 비교하여 사료효율을 개선시켰다. 그리고 또 다른 면역 지표인 WBC (백혈구)와 MCV (평균 적혈구 용적) 그리고 MCH (평균 혈구 혈색소)의 경우 항생제구보다 증가하였으며, MR-1은 항생제에 의한 IFN $\gamma$ 의 수치 감소현상을 나타내지 않았다. 그러므로 결과적으로 MR-1은 항생제 대체용 사료 첨가제로서 개발 가능한 잠재력 물질임을 시사하고 있다.

### 감사의 글

본 연구는 농림식품부의 농업기술개발사업((No. 61005-03-3-SB310)과 (좌)명륜 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### References

1. Abe, F., Ishibashi, N. and Shimamura, S. 1995. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *J Dairy Sci* **78**, 2838-2846.
2. Alexopoulos, C., Georgoulakis, I. E., Tzivara, A., Govaris, A. and Kyriakis, S. C. 2004b. Field evaluation of the effect of a probiotic-containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores on the health status, performance and carcass quality of grower and finisher pigs. *J Vet Med A Physiol Clin Med* **51**, 306-312.
3. Ixopoulos, C., Georgoulakis, I. E., Tzivara, A., Kritas, S. K., Siochu, A. and Kyriakis, S. C. 2004a. Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and perform-

- ance of sows and their litters. *J Anim Physiol Anim Nutr* **88**, 381-392.
4. Barnes, H. 1958. Regarding the southern limits of *Balanus balanoides* (L.). *Oikos* **9**, 139-157.
  5. Bougon, M., Launay, M. and Le Menec, M. 1988. Influence d'un probiotique, l'Biocroissance, sur les performances des poules. *Bull Inf St Exp Avicult Ploufragan* **28**, 110-115.
  6. Collington, G. K., Parker, D. S., Ellis, M. and Armstrong, D. G. 1988. The influence of probings or tyrosine on growth of pigs and development the gastro-intestinal tract. *Anim Prod* **46**, 521.
  7. Cover, T. L. and Aber, R. C. 1989. Medical Progress. *Yersinia enterocolitica*. *N Engl J Med* **321**, 16-21.
  8. Chon, S. K., Lee, H. K. and Kim, N. S. 2007. Detection of *Escherichia coli* (K99), *Clostridium perfringens* and *Cryptosporidium parvum* in Diarrhetic Feces of Korean Native Calves. *J Vet Clin* **24**, 588-592.
  9. Danek, P., Novak, J., Semradova, H. and Diblikova, E. 1991. Administration of the probiotics *Lactobacillus casei* CCM-4160 to sows-its effects on piglet efficiency. *Zivocisna Vryoba* **36**, 411-415.
  10. Dugas, B., Mercenier, A., Lenoir-Wijnkoop, I., Arnaud, C., Dugas, N. and Postaire, E. 1999. Immunity and probiotics. *Immunol Today* **20**, 387-390.
  11. Elliot, S. D. and Barnes, E. M. 1959. Changes in serological type and antibiotic resistance on Lancefield group D streptococci in chickens receiving dietary chlortetracycline. *J Gen Microbiol* **20**, 426-433.
  12. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* **66**, 365-378.
  13. Gill, H. S. 1998. Stimulation of immune system by lactic acid cultures. *Int Dairy J* **8**, 535-544.
  14. Han, I. K., Park, J. H., Lee, S. C., Yoo, M. I. and Kwon, K. 1982. Growth-stimulating effects of Salinomycin for growing-finishing swine. *Korean J Anim Sci* **24**, 336.
  15. Havenaar, R. and Huis in't Veld, J. 1992. Probiotics: A general view. In: wood ed. The lactic acid bacteria in health and disease. *London Elsevier Applied Science*, 209-224.
  16. Helle, S. S., Duff, S. J. B. and Cooper, D. G. 1993. Effect of surfactants on cellulose hydrolysis. *Biltechnol Bioengin* **42**, 611-617.
  17. Hong, J. W., Kim, I. H., Kwon, O. S., Kim, J. H., Min, B. J. and Lee, W. B. 2002. Effects of dietary probiotics supplementation on growth performance and fecal gas emission in nursing and finishing pigs. *J Anim Sci Technol (Kor)* **44**, 305-314.
  18. Hooper, L. V. and Gordon, J. I. 2001. Commensal host-bacteria relationships in the gut. *Science* **292**, 1115-1118.
  19. Jack, R. W., Tagg, J., Tagg, R. and Ray, B. 1995. Bacteriocin of gram-positive bacteria. *Microbiol Rev* **59**, 171-200.
  20. Jang, H. D., Kim, H. J., Cho, J. H., Chen, Y. G., Yoo, J. S. and Kim, I. H. 2007. Effects of dietary probiotic complex on growth performance, blood immunological parameters and fecal malodor gas emission in growing pigs. *J Anim Sci Technol (Kor)* **49**, 501-508.
  21. Jang, I. S., Kim, D. H. and Heo, M. S. 2013. Dietary administration of probiotics, bacillus sp. IS-2, Enhance the innate immune response and disease resistance of *Paralichthys olivaceus* against streptococcus *iniae*. *Korean J Microbiol* **49**, 172-178.
  22. Jang, Y. D., Oh, H. K., Piao, L. G., Choi, H. B., Yun, J. H. and Kim, Y. Y. 2009. Evaluation of probiotics as an alternative to antibiotic on growth performance, nutrient digestibility, occurrence of diarrhea and immune response in weaning Pigs. *J Anim Sci Technol (Kor)* **51**, 25-32.
  23. Jayaprakasha, H. M., Yoon, Y. C. and Paik, H. D. 2005. Probiotic functional dairy foods and health claims: An overview. *Food Sci Biotechnol* **13**, 523-528.
  24. Jukes, T. H., Stokstad, E. L. R., Taylor, R. R., Cunha, T. J., Edwards, H. M. and Meadows, G. B. 1950. Growth-promoting effect of aureomycin on pigs. *Arch Biochem* **26**, 324-325.
  25. Kang, S. N., Kim, J. D., Kim, I. S., Jin, S. K. and Lee, M. H. 2007. Effect of replacing antibiotics by herb extracts and digestive enzymes containing vitamin E and oriental medicinal plants byproduct on blood serum cholesterol and meat qualities in the hong loin meat. *Korean J Food Sci Ani Resour* **27**, 87-94.
  26. Kim, D. W., Chae, S. J., Kim, Y. H., Jung, H. J., Lee, S. D., Park, J. C., Cho, K. H., Sa, S. J., Kim, I. C. and Kim, I. H. 2013. Effects of Prebiotics and probiotics on swine intestinal microflora and fermentation products *in vitro* fermentation. *Korean J Microbiol* **49**, 24-29.
  27. Kim, J. D., Chung, H. W., Shim, K. S., Park, S. Y., Ju, J. C., Song, J. J., Lee, K. H., Park, J. K., Park, D. Y. and Kim, C. H. 2010. Effects of probiotics as an alternative for antibiotics on growth performance, nutrient digestibility, noxious gas emission and fecal microbial population in growing piglets. *Korean J Organic Agric* **18**, 527-539.
  28. Kim, J. H., Kim, C. H. and Ko, Y. K. 2001. Effect of dietary supplementation of fermented Feed (Bio-a<sup>®</sup>) on performance of finishing pigs and fecal ammonia gas emission. *J Anim Sci Technol (Kor)* **42**, 193-202.
  29. Kim, J. H., Shin, K. S. and Lee, H. 2002. Characterization and action mode of anti-complementary substance prepared from *Lactobacillus plantarum*. *Korean Food Sci Technol* **34**, 290-295.
  30. Kim, K. H., Kim, K. S., Kim, J. E., Jung, H. J., Lee, S. D., Sa, S. J., Hong, J. K., Hur, T. Y., Park, J. C. and Kim, Y. H. 2013. Effects of dietary supplementation of *Codonopsis pilosula* extract powder on the productivity and immunity in sows and piglets. *Korean J Organic Agric* **21**, 423-435.
  31. Kim, S. Y., Shin, K. S. and Lee, H. 2004. Immunopotentiating activities of cellular components of *Lactobacillus brevis* FSB-1. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **33**, 1552-1559.
  32. Kim, Y. H., Lee, S. D., Kim, D. H., Jeong, H. J., Kim, D. W., Cho, K. H., Sa, S. J., Hur, T. Y., Kim, S. H. and Kim, I. C. 2011. Effect of warm curtain installation on growth performance, blood hormone levels and immunity of weaning pigs. *J Lives Hous Env* **17**, 115-122.
  33. Korea pork producers Association, 2010. Research of the actual condition for the pig farms management in whole country.

34. Kyriakis, S. C., Tsiloyiannis, V. K., Vlemmas, J., Sarris, K., Tsinas, A. C., Alexopoulos, C. and Jansegers, L. 1999. The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. *Res Vet Sci* **67**, 223-228.
35. Männer, K. and Spieler, A. 1997. Probiotics in piglets-An alternative to traditional growth promoters. *Micoecol Ther* **26**, 243-256.
36. Martin, S. A. and Nisbet, D. J. 1992. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci* **75**, 1736-1744.
37. Mathew, A. G., Chattin, S. E., Robbins, C. M. and Golden, D. A. 1998. Effects of a direct fed yeast culture on enteric microbial populations, fermentation acid, and performance of weanling pigs. *J Anim Sci* **76**, 2138-2145.
38. Mee, B. J. 1984. The selective capacity of pig feed additives and growth promotants for coliform resistance in antimicrobials in agriculture (M. Woodbine ed). *Butter worths, London*, 349-358.
39. Moon, H. W., Kohler, E. M., Schneider, R. A. and Whipp, S. C. 1980. Prevalence of pilus antigens, enterotoxin types, and enteropathogenicity among K88-negative enterotoxigenic *Escherichia coli* from neonatal pigs. *Infect Immun* **27**, 222-230.
40. Moon, H. W. and Bunn, T. O. 1993. Vaccines for preventing enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in farm animals. *Vaccine* **11**, 213-220.
41. Moore, P. R., Evenson, A., Luckey, T. D., McCoy, E., Elvehjem, C. A. and Hart, E. B. 1946. Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick. *J Biol Chem* **165**, 437-441.
42. National Agricultural Cooperative Federation. 2010. Competitiveness reinforcement symposium of domestic animal type for the FTA policies; competitiveness reinforcement plans of pig industry for the FTA preparation.
43. Newman, C. W., Sands, D. C., Megeed, M. E. and Newman, R. K. 1988. Replacement of soybean meal in swine diets with L-lysine and *Lactobacillus* ferments. *Nutr Rep Int* **37**, 347.
44. Noh, S. H., Moon, H. K., Han, I. K. and Shin, I. S. 1995. Effect of dietary growth promoting substances on the growth performance in pig. *Korean J Anim Sci* **37**, 66-72.
45. Paik, I. K. 1989. Probiotics in animal production. *Korean J Anim Nutr Feed* **13**, 175-183.
46. Ra, J. C., Han, H. J. and Song, J. E. 2004. Effect of probiotics on production and improvement of environment in pig and broilers. *Korean J Vet Publ Hlth* **28**, 157-167.
47. Rowghani, E. and Akbarian, A. 2007. Effects of a probiotic and other feed additives on performance and immune response of broiler chicks. *Int J Poult Sci* **6**, 261-265.
48. Rychen, G. and Nunues, S. 1995. Effects of three microbial probiotics on postprandial concentration differences of glucose, galactose and amino-nitrogen in the young pig. *Br J Nutr* **74**, 19-26.
49. Saarela, M., Lahteenmaki, L., Crittenden, R., Salminen, S. and Mattila-Sandholm, T. 2002. Gut bacteria and health foods-the European perspective. *Int J Food Microbiol* **78**, 99-117.
50. Sacha, P. T., Zaremba, M. L. and Jakoniuk, P. 1999. The effect of selected antibacterial antibiotics on production of interferon gamma (IFN-G) by mouse T lymphocytes stimulated by *Listeria monocytogenes*. *Europ J Immunol* **51**, 413-419.
51. Sanders, M. E. 1999. Probiotics. *Food Technol Chicago* **53**, 67-77.
52. Shin, M. S., Yu, K. W., Shin, K. S. and Lee, H. 2004. Enhancement of immunological activity in mice with oral administration of cell wall components of *Bifidobacterium bifidum*. *Food Sci Biotechnol* **13**, 85-89.
53. Shin, M. S., Yu, K. W., Shin, K. S. and Lee, H. 2004. *In vitro* bone marrow cell proliferation of cell wall preparation from *Bifidobacterium bifidum* SL-21. *Korean J Food Sci Technol* **6**, 484-489.
54. Smith, J. W. and Jones, J. W. 1963. Observation on the alimentary tract and its bacterial flora in healthy and diseased pigs. *J Path Bact* **86**, 387-412.
55. Starr, M. P. and Reynolds, D. M. 1951. Streptomycin resistance of coliform bacteria from turkeys fed streptomycin. *Proceedings of the 51st General Meeting of the Society of American Bacteriology* **41**, 1375-1380.
56. Tagg, G. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. W. 1976. Bacteriocin of gram-positive bacteria. *Bacteriol Rev* **40**, 722-756.
57. Tlaskalova-Hogenova, H., Stepankova, R. and Hudcovic, T. 2004. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Lett* **93**, 97-108.
58. Wilson, M., McNab, R. and Henderson, B. 2002. Bacterial Disease Mechanisms. Cambridge: *Cambridge University Press*.
59. Xiao, Z., Trincado, C. A. and Murtaugh, M. P. 2004. Beta-glucan enhancement of T cell IFN gamma response in swine. *Vet Immunol Immunopathol* **8102**, 315-320.
60. Yan, L., Hong, S. M. and Kim, I. H. 2012. Effect of bacteriophage supplementation on the growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, and fecal microbial shedding in growing pigs. *Asian Aust J Anim Sci* **25**, 1451-1456.
61. Yoon, H. K., Kim, Y. H. and Han, J. H. 2009. Effects of organic acids on prevention against *S. Typhimurium* in weaning pigs. *Korean J Vet Serv* **32**, 77-82.
62. Zani, J. L., Dacruz, F. W., Dossantos, A. F. and Gilturmes, C. 1998. Effect of probiotic CenBiot on the control of diarrhoea and feed efficiency in pigs. *J Appl Microbiol* **84**, 68-71.
63. Zhang, Q., Ma, H. M., Mai, K. S., Zhang, W. B., Liufu, Z. G., and Xu, W. 2010. Interaction of dietary *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on the growth performance, non-specific immunity of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. *Fish Shellfish Immunol* **29**, 204-211.



## 초록 : 이유자돈에 있어서 복합 생균제(MR-1)의 사료 내 첨가가 성장 능력 및 생화학적 조성, 면역 반응에 미치는 영향

이상범<sup>1,2\*</sup> · 이재성<sup>2\*</sup> · 왕 도<sup>3</sup> · 김민정<sup>2</sup> · 정우석<sup>2</sup> · 전승우<sup>2</sup> · 박윤정<sup>2</sup> · 신태순<sup>1</sup> · 박상홍<sup>4</sup> · 이홍구<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>부산대학교 생명자원과학대학 동물생명자원학과, <sup>2</sup>건국대학교 동물생명과학대학 동물자원학과, <sup>3</sup>길림농업대학교 동물자원학과, <sup>4</sup>주명륜)

이 연구의 목적은 이유자돈에 있어서 목장토에서 자체 분리 동정한 19종의 혼합 미생물 제제인 MR-1이 *in vitro* 실험(축 종별 병원성 미생물에 대한 항균효과 검정)과 *in vivo* 실험(성장, 혈액 생화학, 면역력 검정)에 미치는 영향을 평가하고자 하였다. 38일령 이유자돈 69두를 처리구 당 23두씩 나누어 대조구(basal diet; No-Antibiotics), 항생제구(Antibiotics), MR-1구(No-Antibiotics + MR-1)로 배치하여 45일 동안 급여시켰다. MR-1에 대한 축 종별 병원성 미생물에 대한 항균 효과 결과 *E. coli* K88와 *S. Typhimurium*균에서 약한 항균효과(+)를 나타내었으며, *E. coli* K99균에 대해서는 아주 강한 항균효과(++++)를 나타내었다. MR-1에 대한 일 당 증체량, 일 당 사료섭취량 및 사료요구율 결과는 MR-1의 사료 내 첨가에 의해 일 당 증체량은 증가 30 g 증가된 반면, 일 당 사료 섭취량은 감소하여 결과적으로 사료요구율이 대조구에 비해 유의하게 개선된 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 혈액 생화학적 분석의 결과는 WBC (백혈구)농도가 다른 처리구보다 높게 변화하였으며, MCH (평균 혈구 헤모글로빈 량) 농도 및 MCHC (평균 혈구 헤모글로빈 농도)는 각각 항생제구와 대조구보다 유의하게 높아졌다( $p < 0.05$ ). 혈장 내 cytokine production의 농도 결과 MR-1의 사료 내 첨가에 의해 TNF $\alpha$ 의 경우 처리간 변화가 없었으나, IFN $\gamma$ 의 경우 항생제구에서 다른 처리구보다 유의하게 낮아진 반면, MR-1의 경우 대조구와 동일하게 유지된 결과를 나타내었다. 따라서 이유자돈에 있어서 혼합 미생물 제제인 MR-1은 병원성 미생물에 대한 항균력이 있을 뿐 만 아니라 사료 내 첨가 급여 시 생산성에서 효과가 유의하게 나타났으며, 항생제에 따른 바이러스 저항 인자인 IFN $\gamma$ 의 감소 없이 유지되는 것으로 나타나 이유자돈에 있어서 항생제 대체제로서 산업적으로 이용이 적합할 것으로 판단된다.