

양수의 대장균에 대한 세균증식 억제효과

서울대학교 의과대학 미생물학교실 및 암연구소

김수용 · 최명식 · 장우현 · 차창룡

—Abstract—

Bacterial Growth-inhibiting Activity of Amniotic Fluid Against *E. coli*

Soo Yong Kim, Myung Sik Choi, Woo Hyun Chang and Chang Yong Cha

Department of Microbiology and Cancer Research Institute, College of Medicine,
Seoul National University

The amniotic fluid provides a medium in which the fetus can readily move, cushions him against possible injury and helps him maintain an even temperature. Besides above mentioned functions, investigators reported that human amniotic fluid contains host-resistance factors which prevent bacteria from producing infectious disease and this activity shows difference among human racial groups or bacterial genera, species and strains.

40 amniotic fluid specimens from Korean women in their second and third trimesters of pregnancy were examined for inhibiting the growth of *Escherichia coli*. And various factors which might affect bacterial growth inhibiting activity such as pH, initial inoculum size, concentration of amniotic fluid, and heat resistance, were also tested using a strongly inhibitory amniotic fluid specimen. Finally plate diffusion tests were carried out using other strongly inhibitory amniotic fluid.

The following results were obtained:

1. Of the 40 fluid samples examined, 18 specimens(45%) had inhibitory activity and samples from women in their second trimester of pregnancy showed non-inhibitory activity(2 specimens).
2. The pH of the fluids varied between 7.43 and 8.33. There was no correlation between pH and inhibitory activity.
3. No. 19 amniotic fluid showed bacteriostatic activity after 24 hours incubation when an inoculum of 10^8 organisms per milliliter was used, but non-inhibitory with an inoculum of 10^3 and 10^4 bacteria per milliliter.
4. The content of amniotic fluid in culture media influenced *E. coli* growth. At 90 percent, *E. coli* was inhibited growth but at 10 percent and 50 percent.
5. Inhibitory activity of No. 19 amniotic fluid was retained after heating to 50°C for 30 minutes or 100°C for 30 minutes.
6. Plate diffusion tests with No. 27 amniotic fluid showed that 0.7ml amniotic fluid gave clear zone of growth inhibition around the central well but 0.2ml and 0.1ml amniotic fluids were not.

Key Words: Amniotic fluid. Bacterial growth-inhibiting activity.

서 론

양수는 태아의 운동을 돕고 외부의 자극으로 부
* 1987년도 서울대학교병원 임상연구비 보조로 이루어진 것임.

터 태아를 보호하며, 온도를 일정하게 유지해 주는 등 태아에 대한 물리적 보호작용을 한다. 그러나 그 뿐만이 아니고 양수는 우리 몸을 구성하는 여타 체액들과 마찬가지로 세균감염에 대한 저항력을 나타내는 항균기능을 지니고 있다는 것을 시사하는 여러 간접적 증거가 있다.

즉, 진통시 카테터등의 기구사용이나 내진 등에 의해 질이나 자궁경부에 감염이 유발될 기회가 빈번함에도 불구하고 양수막내 또는 태아에게 감염이 발생하는 빈도는 극히 드문 것이 그 하나이다. 또한 Rh 부적합시 용혈관별을 위해 복부양수천자를 시행할 경우에도 그 합병증으로서의 양수내 감염의 빈도가 극히 낮음을 볼 때 양수가 감염으로부터 태아를 보호하는 기능을 한다는 것을 암시하고 있는 것이다.

양수내에 항균능력이 존재하는가 여부를 알아보기 위해 Walsh 등²³⁾은 양수에 세균을 배양하여, Kitzmiller 등²⁴⁾은 양수에 세균배양배지를 첨가한 후 세균을 배양하여 세균증식 양상을 살펴본 결과 양수내에는 항균효과를 나타내는 세균증식억제 인자가 존재하는 것이 아니라 세균증식에 필요한 영양분이 불충분하여 그 결과 세균의 증식이 저하된다고 보고하였다.

그러나 그후 여러 저자들은^{12, 13, 14)} 양수내에 항균작용을 나타내는 억제인자가 존재한다는 실험증거를 제시하고 있으며, Larsen 등¹⁴⁾은 이러한 항균작용을 나타내는 가능한 억제제로써 양수내에 존재하는 리소짐(lysozyme), 항체, 보체, transferrin, 과산화효소, 양이온 펩티드 억제물질 및 스테로이드 등을 들고 있다.

한편 Appelbaum 등¹⁾은 인종에 따라 양수의 균증식억제작용이 다르며, 백인이 흑인보다 더 높은 억제작용을 나타낸다고 보고하였으며, 이 차이는 유전적 요인보다는 산모의 영양상태의 영향으로 추정하고 미국내에서 양수감염율이 흑인에게 더 많이 발생하는 것도 이에 기인할 것으로 보고하였다.

저자는 우리나라 임신부에게서 채취한 양수를 대상으로 대장균에 대한 증식억제효과의 여부를 검토하고 양수의 pH, 반응량, 균수변화 및 열처리 등에 따른 양수의 대장균에 대한 증식억제효과의 변화를 관찰하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 양 수

1986년 3월부터 7월 사이에 국립의료원 및 신영순병원에 내원한 임신중기 이후의 산모 40명을 대상으로 하여 무균적으로 제왕절개 수술시 천자하거나 아두하양수낭형성시 천자하여 양수를 채취하였다.

모든 검체에서 양수채취전 일주일안에 항생제를 투여받은 병력이 있는 산모, 파막 또는 양막염이 있는 산모, 채취중 혈액이 섞인 양수나 대변이 섞

인 양수등은 대상에서 제외하였다.

양수는 채취직후 각 병원에서 -20°C 에서 일차 보관하였으며, 각각의 양수를 녹인 후 pH를 측정하고 4°C 에서 11,000g로 20분간 원심분리 후 상청액을 millipore filter로 여과 멸균하고(0.45μ) 사용할 때까지 -50°C 에 보관하였다.

2. 균 주

본 실험에서 사용한 대장균은 서울대학교 의과대학 미생물학 교실에서 분리 동종되어 보관중인 Uropathogenic *Escherichia coli* 323을 사용하였다.

3. 양수의 대장균 증식억제효과 및 판정

Nutrient broth에 18시간 배양한 대장균 배양액을 균수가 $10^8/\text{ml}$ 이 되게 조정하고 이 균액 0.1ml와 No. 19 양수 0.9ml를 시험관내에 혼합하여 37°C 항온수조에서 배양하면서 배양 0시간 6시간 및 24시간에 각각의 시험관내에서 0.1ml씩 채취후 생균집락 측정법을 시행하여 균수를 측정하였으며, 생균집락측정은 3배수로 시행하였다.

대조군으로는 세균수가 $10^8/\text{ml}$ 되게 조정된 균액 0.1ml와 nutrient broth 0.9ml를 시험관 내에 혼합하여 같은 방법으로 배양하면서 균수를 측정하였다.

대장균 증식억제 판정은 실험군의 균수가 대조군에 비해 배양 24시간 후 1/10이상일 때는 비억제, 1/10~1/10²사이일 때는 약억제, 1/10²미만일 때는 강억제된 것으로 판정하였다.

4. 균수에 따른 양수의 대장균 증식억제 효과

Nutrient broth에 18시간 배양한 대장균 배양액을 균수가 ml당 10^8 , 10^6 및 10^4 이 되게 생리식염수로 세척 및 희석하여 제조하고 이들 균액 0.1ml씩을 각각 0.9ml의 No. 19 양수 또는 0.9ml의 nutrient broth에 혼합한 후 37°C 항온수조에서 배양하면서 앞서와 같은 방법으로 배양 0시간, 6시간 및 24시간에서의 생균집락수를 측정하였다.

5. 양수의 양에 따른 대장균 증식억제효과

No. 19 양수를 0.1ml, 0.5ml 및 0.9ml되게 시험관내 분주후 nutrient broth로 균수를 달리 조정된 대장균 균액 0.9ml, 0.5ml 및 0.1ml를 순서대로 혼합하였다. 이때 각 시험관의 종말세균농도는 ml당 10^8 되게 동일하게 조정하였으며, 37°C 항온수조에서 반응시키면서 0시간, 6시간 및 24시간째의 생균집락수를 앞서와 같은 방법으로 측정하였다.

Table 1. Effects of amniotic fluids on *E. coli* growth

No. of <i>E. coli</i> (/ml) after exposure to AF	Sampling after 6 hrs		Sampling after 24 hrs	
	Number of sample	Percent	Number of sample	Percent
$10^4 \leq \sim < 10^4$	8	20.0	—	—
$10^4 \leq \sim < 10^5$	18	45.0	3	7.5
$10^5 \leq \sim < 10^6$	10	25.0	5	12.5
$10^6 \leq \sim < 10^7$	4	10.0	8	20.0
$10^7 \leq \sim < 10^8$	—	—	2	5.0
$10^8 \leq \sim < 10^9$	—	—	22	55.0
Total	40	100	40	100.0

Note: Initial inoculum size of *E. coli*; $2.22 \pm 0.12 \times 10^7$ /ml

Note: Number of *E. coli* at control group after 6 hours incubation; $1.65 \pm 0.22 \times 10^7$ /ml

Note: Number of *E. coli* at control group after 24 hours incubation; $1.07 \pm 0.14 \times 10^9$ /ml

6. 열처리에 따른 양수의 대장균 증식억제효과에 대한 영향

56°C 및 100°C에서 30분간 처리 또는 열처리하지 않은 No. 19 양수를 각각 0.9ml씩 시험관에 분주 후 ml 당 10^8 되게 조정된 대장균 균액 0.1ml를 각 시험관에 혼합하였다(종말세균 농도; 10^8 /ml). 각 시험관을 37°C 항온수조에 반응시키면서 0시간, 6시간 및 24시간 배양액내의 세균집락수를 앞서와 같은 방법으로 측정하였다.

7. 평판확산법을 이용한 양수의 대장균 증식억제 효과

직경이 9cm인 평판의 가운데에 직경이 6mm인 원통 3개를 놓고 20ml의 nutrient agar를 부어 굳힌 후 3개의 원통을 제거하여 흠이 있는 배지를 제작하였다.

이 흠에 No. 27 양수를 0.1ml, 0.2ml 및 0.7ml씩 분주하고 나머지 평판배지면은 면봉으로 10^8 /ml되게 조정된 대장균 균액을 식균하였다. 이것을 37°C에서 18시간 배양후 세균발육억제대의 직경을 측정하여 증식억제 여부를 판정하였다.

연구성적

1. 양수의 대장균 증식억제효과

총 40례의 양수에 대한 대장균 증식억제 효과를 시험한 결과를 도시하였다(Table 1 참조). 배양초기 대장균 생균수는 $2.22 \pm 0.12 \times 10^7$ /ml이었으며, 배지에 넣어 배양한 대조군에서는 배양 6시간후에 $1.65 \pm 0.22 \times 10^7$ /ml 및 배양 24시간 후에는 $1.07 \pm 0.14 \times 10^9$ /ml로 대장균의 생균수가 증가하였다.

그러나 양수에 대장균을 배양한 실험군에서는 크

게 3가지 형태로 대별하여 대장균 증식억제 효과가 관찰되었다(Fig. 1 참조). 즉, 배양 24시간 후 대장균의 생균수가 10^8 /ml 이상인 실험군(비억제군)이 40례중 22례(55%)이었으며, 배양 24시간 후 대장균의 생균수가 10^6 /ml~ 10^8 /ml 사이인 실험군(약억제군)이 15례(37.5%)이었고, 10^6 /ml미만의 대장균 생균수를 보인 실험군(강억제군)이 3례(7.5%) 관찰되었다.

또한 임신주수에 따라 분류해 보면 40례중 2례는 임신 제 2기였고, 모두 비억제군이었으며, 나머지 38례는 임신 제 3기였고 억제군이 18례(47.3%)였다.

2. 양수의 pH와 대장균 증식억제효과와의 관계

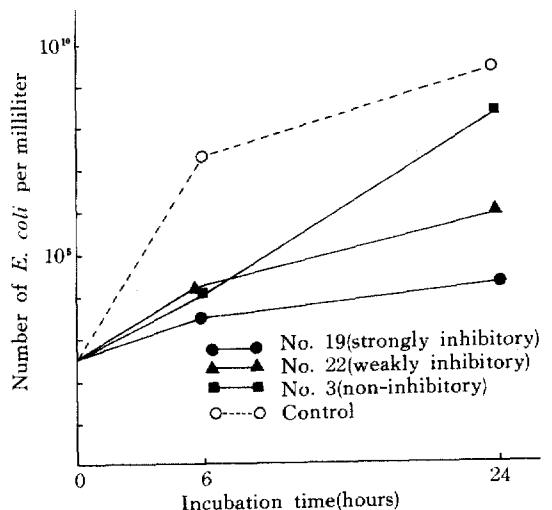


Fig. 1. Patterns of bacterial growth-inhibiting activity of three different amniotic fluids. These three patterns are representative of those seen with the different fluids in this study. Nutrient broth served as control.

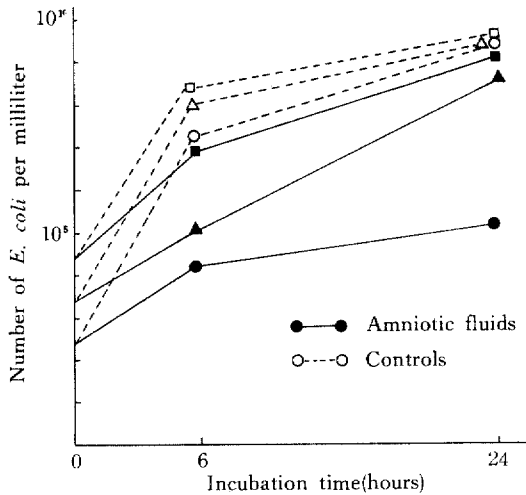


Fig. 2. Changing patterns of inhibiting activity of No. 19 amniotic fluid on *E. coli* growth by varying the initial inoculum size. Nutrient broth served as controls.

총 40례의 양수의 pH를 측정된 결과 양수의 pH는 8.33에서 7.43사이였으며, 평균 및 표준편차는 7.93 및 0.21이었다. 한편 배양 24시간 후 대장균 생균수가 10^5 /ml 이하였던 실험군의 양수 pH가 7.9, 7.82 및 7.76으로 비교적 약알카리였던 반면 10^4 /ml 이상이었던 실험군의 양수에서도 pH가 8.0 이상인 것이 많은 것을 보아 이 정도의 pH범위에서는 pH의 증가가 양수의 대장균 증식억제에 커다란 영향을 미치지 않았다고 사료되었다.

3. 배양초기 대장균 식균수에 따른 양수의 대장균 증식억제효과

대장균에 대한 증식억제효과를 가장 강하게 나타낸 19번 양수를 사용하여 배양초기 대장균 식균수 변화에 따른 양수의 대장균 증식억제효과를 관찰하였다.

배양초기 대장균 생균수가 $2.91 \pm 0.29 \times 10^8$ /ml 인 경우에는 배양 6시간 후 대조군에서는 생균수가 $1.65 \pm 0.22 \times 10^7$ /ml 인 반면 실험군에서는 $1.18 \pm 0.11 \times 10^4$ /ml이었으며, 배양 24시간 후 대조군에서는 $1.07 \pm 0.14 \times 10^9$ /ml이었으나, 실험군에서는 $9.85 \pm 0.42 \times 10^4$ /ml로 대장균에 대한 증식억제 효과가 관찰되었다. 그러나 배양초기 대장균 생균수가 $2.91 \pm 0.29 \times 10^8$ /ml 인 경우에는 배양 6시간 후 대조군의 생균수는 $9.82 \pm 0.82 \times 10^7$ /ml이나, 실험군의 생균수는 $8.65 \pm 0.45 \times 10^4$ /ml로 배양 6시간까지는 대장균에 대한 증식억제효과가 관찰되었으나, 배양 24시간 후에는 대조군에서 $1.53 \pm 0.10 \times 10^9$ /ml, 실험

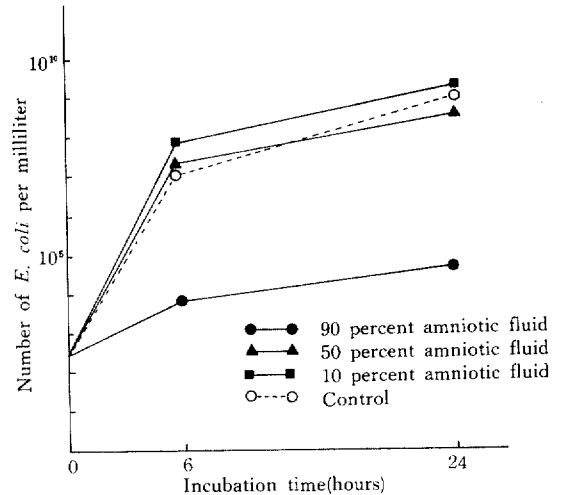


Fig. 3. Effects of varying the concentration of amniotic fluid on the bacteriostatic activity of No. 19 amniotic fluid. Nutrient broth served as control.

군에서는 $5.39 \pm 0.45 \times 10^8$ /ml로 대장균에 대한 증식억제효과가 거의 관찰되지 않았다.

또한 배양초기 생균수가 $2.91 \pm 0.29 \times 10^8$ /ml 인 경우에는 대조군에서는 배양 6시간 후에는 $2.00 \pm 0.15 \times 10^8$ /ml, 배양 24시간 후에는 $1.23 \pm 0.04 \times 11^9$ /ml이었으며, 실험군에서는 배양 6시간 후 $8.22 \pm 0.62 \times 10^6$ /ml, 배양 24시간 후에는 $1.15 \pm 0.17 \times 10^8$ /ml로 대장균에 대한 증식억제효과가 관찰되지 않아 양수는 일정균수 이상의 대장균에 대해서는 증식억제효과를 나타내지 못하였다(Fig. 2 참조).

4. 양수의 양에 따른 대장균 증식억제효과의 변화

2.91×10^8 /ml 되게 조정된 균액 0.1cc와 양수 0.9 cc를, 0.58×10^8 /ml 되게 조정된 균액 0.5cc와 양수 0.5cc를, 그리고 0.32×10^8 /ml 되게 조정된 균액 0.9cc와 양수 0.1cc를 각각 혼합하고 대조군으로는 2.91×10^8 /ml 되게 조정된 균액 0.1cc와 nutrient broth 0.9cc를 혼합, 37°C 항온수조에 배양하여 양수의 양에 따른 대장균 증식억제효과에 대한 양상을 관찰하였다.

이때 사용한 양수는 대장균에 대한 증식억제효과가 가장 강한 19번 양수이다.

대조군에서는 배양 6시간째에 생균수가 $1.65 \pm 0.22 \times 10^7$ /ml, 배양 24시간째에 생균수가 $1.07 \pm 0.14 \times 10^9$ /ml이었으나, 양수가 90% 포함된 실험군에서는 배양 6시간째에 생균수가 $1.18 \pm 0.11 \times 10^4$ /ml, 배양 24시간째에 생균수가 $9.85 \pm 0.42 \times 10^4$ /ml로 대장균에 대한 증식억제효과가 관찰되었다.

그러나 양수가 50% 포함된 경우 배양 6시간째

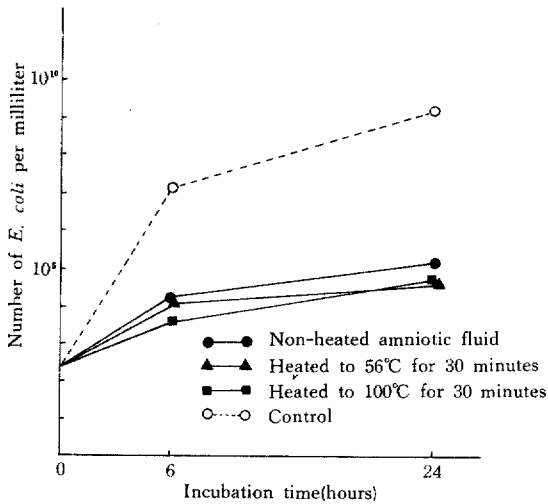


Fig. 4. Effects of heating on the bacteriostatic activity of No. 19 amniotic fluid. Nutrient broth served as control.

에 생균수가 $7.54 \pm 1.18 \times 10^7$ /ml, 배양 24시간째 생균수는 $3.94 \pm 1.07 \times 10^8$ /ml이었으며, 양수가 10% 포함된 경우에는 배양 6시간째 생균수가 $7.96 \pm 0.45 \times 10^7$ /ml, 배양 24시간째 생균수는 $1.48 \pm 0.19 \times 10^8$ /ml로 대장균에 대한 증식억제효과가 관찰되지 않았다(Fig. 3 참조).

5. 열처리가 양수의 대장균에 대한 증식억제효과에 미치는 영향

56°C에서 30분 열처리한 양수, 100°C에서 30분 열처리한 양수 및 열처리를 하지 않은 양수 0.9cc에 2.91×10^8 /ml 농도의 대장균 균액 0.1cc를 각각 혼합하고 대조군으로 0.9cc의 nutrient broth에 같은 농도의 대장균 균액 0.1cc를 혼합, 37°C 항온수조에서 배양하여 열처리가 양수의 대장균에 대한 증식억제효과에 미치는 영향을 알아보았다. 이때 실험에 사용한 양수는 대장균에 증식억제효과가 가장 강한 19번 양수였다.

그 결과 56°C, 30분 처리한 양수에서는 배양 6시간째 대장균 생균수가 $1.14 \pm 0.19 \times 10^4$ /ml, 배양 24시간째 대장균 생균수가 $2.41 \pm 0.16 \times 10^4$ /ml이었으며, 100°C, 30분 처리한 양수에서도 배양 6시간째 대장균 생균수가 $4.26 \pm 0.76 \times 10^3$ /ml, 배양 24시간째 대장균 생균수가 $3.27 \pm 0.13 \times 10^4$ /ml로, 열처리하지 않은 양수에서 배양 6시간째 대장균 생균수가 $1.18 \pm 0.11 \times 10^4$ /ml, 배양 24시간째 대장균 생균수가 $9.85 \pm 0.42 \times 10^4$ /ml인 결과와 비교하여 열처리에 의해 양수의 대장균에 대한 억제효과가 약화되지 않았다.

한편, 대조군에서는 배양 6시간째 생균수는 $1.65 \pm 0.22 \times 10^7$ /ml이었으며, 배양 24시간째 생균수는 $1.07 \pm 0.14 \times 10^8$ /ml이었다(Fig. 4 참조).

6. 평판확산법을 이용한 양수의 대장균 증식억제효과

Nutrient agar 평판배지에 흙을 뚫고 대장균에 대한 증식억제효과가 강한 27번 양수를 0.1ml, 0.2ml 및 0.7ml까지 양을 달리하여 각각 넣은 후 평판표면에 대장균을 도말하고, 37°C에서 24시간 배양하여 대장균 발육이 억제된 투명대를 관찰, 양수내에 대장균에 대한 증식억제인자의 존재유무를 판정하였다.

그 결과 0.1ml 및 0.2ml를 넣은 흙 주위에는 대장균의 발육억제대가 형성되지 않았으나, 0.7ml를 넣은 흙 주위에는 2mm 폭의 발육억제대가 관찰되어, 양수의 대장균에 대한 증식억제효과는 양수의 영양결핍에 의한 것이 아니라 양수내에 존재하는 발육억제 인자에 기인함을 확인하였다.

고 찰

1949년 Cattaneo⁵⁾ 처음 양수의 항균작용을 발표한 이래 일부 보고자들^{16, 23)}은 양수 단독 또는 영양원을 첨가했을 경우 양수는 세균증식을 억제하지 않으며, 오히려 어떤 경우에는 세균증식을 증식시킨다고 보고하였다. 그들은 양수에 억제물질이 존재하지 않으며, 세균증식에 필요한 충분한 영양분이 없을 뿐이라고 해석하였다.

그러나 그 후 이러한 가설에 반대되는 명확한 보고들이 나오게 되었다. 즉, 양수에서의 세균증식은 nutrient broth에서의 세균증식보다 의미있게 억제되었고^{10, 15)}, 양수를 증류수로 희석하면 억제효과가 없어지며, 또한 이러한 억제효과가 사라졌을 때에도 양수는 영양적으로 균증식에 적합하다는 것이 밝혀졌다^{3, 11, 15)}. 그 이후 여러 저자들에 의해 여러 균주들에 대한 양수의 항균작용과 그 원인물질에 대한 연구는 최근까지 계속되고 있다.

Miller 등¹¹⁾은 과거에 항균효과를 나타내는데 실패했던 요인으로서는 실험에 사용한 균주의 식균양이 너무 많았거나 양수의 항균인자들에 민감하지 않은 균주를 사용한 때문이라고 하였다. 또한 그들은 여러 다른 양수들에서 세균의 각각 다른 균속, 균종, 또는 균주에 따라서도 양수의 항균인자에 대해 다른 민감도를 지닌다고 하였다.

양수의 세균증식억제효과는 저자마다 차이가 많아서 *E. coli*의 경우 Bergman 등³⁾은 27 균종 66.6

%, Schlievert 등¹⁰⁾은 50례중 60%, Miller 등¹¹⁾은 61례중 55%에서 억제력을 나타냈으나, Evans 등⁷⁾은 23례중 6례(26%)에서 억제력을 보여 많은 차이를 나타내었다. 이러한 차이는 양수의 채취시기의 차이, 즉 임신기간에 따른 양수의 항균작용의 변화와 대장균의 균주차이, 또한 각 저자들간의 결과 판정상의 차이 등에도 기인한다 하겠다.

본 연구에서는 40례중 45%에서 억제력을 나타내어 미국인들의 억제효과보다는 떨어지는 결과를 나타내었다.

또 양수는 *E. coli*뿐만 아니고, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococci* 등 여러 세균에 대해 억제효과를 나타내어 알려졌으나^{3,4,7,10,12)}, 각각의 병원균에 대해서 양수의 항균능력의 차이는 저자들간에 매우 심하며, 이러한 차이의 근원은 알려져 있지 않다. Evans 등⁷⁾은 이 세균들간의 성장요구나 영양원의 차이가 영향을 줄 것같다 했고, Bergman 등⁸⁾이나 Miller 등¹¹⁾은 여러 가지 억제인자가 단독 또는 혼합으로 작용하여 결과적으로 나타나는 억제효과에 기인할 것으로 설명하였다.

한편, 임신기간에 따라 양수의 증식억제 효과가 차이가 있다고 보고되고 있으며, Schlievert 등¹⁰⁾은 20주 이전의 양수는 호기성균주에 대해 항균효과가 없으며, 36~40주 경에는 항균효과가 증가한다고 하였다. Ford 등⁹⁾은 임신 14~16주의 양수에서 리소짐이나 베타리신 같은 항균물질이 있음을 발견하였다. Thadepalli 등¹³⁾은 임신 제1, 2기에는 *E. coli*에 항균효과가 없었고, 제3기에 *E. coli*와 *E. lentum*을 억제했고, *B. fragilis*는 제1기에 4시간 동안 및 제3기에 8시간 억제가 있었다 하였다.

Appelbaum 등⁵⁾은 양수 167례중 *S. aureus*에 대해서는 임신 제1기 끝무렵에 얻은 양수에서 항균효과를 나타내었으나 *E. coli*와 *S. agalactiae* 등에 대해서는 35주 후에야 항균효과를 나타내었다고 보고하였다. 본 실험에서는 임신 제2기 2례에서 *E. coli*에 대해 모두 비억제를 보였고, 임신 제3기 38례중 18례(47%)에서 억제력을 보였다.

또한 인종간에는 항균효과는 차이가 있어 Tafari 등¹⁴⁾은 에치오피아 여인들에서 임신 말기에 24%의 억제가 있었고, 1977년 Appelbaum 등¹⁾은 *E. coli* 등 여러 세균에 대하여 아프리카인들에게서 27례중 52%에서 억제작용이 있음을 보고하였다. 이렇게 인종간에 차이를 보이는 것은 그 원인이 아프리카 흑인 인종이 저단백과 아연결핍성의 식생활을 하는 것에 기인한다고 하였다¹⁵⁾. 우리나라 산모에 대한 본

실험의 성적은 40례중 45%에서 세균발육억제를 나타내었다.

이상에서 양수의 세균증식억제 효과에 관해 그 존재여부와 *E. coli*에 대한 성적, 임신 기간이나 인종간의 차이가 미치는 영향들을 살펴보았으나, 실험내용에 대해 검토하면 우선 실험성적의 판정에 있어서 균증식억제의 개념에 대한 정의가 각 저자들간에 다소간 차이가 있다는 것이다. Schlievert 등¹⁰⁾은 12시간 후에 증류수의 생균수와 비교해서 실험균의 생균수가 감소했거나, 10배 미만으로 증가했을 때를 억제라 하였고, Bergman⁸⁾은 대조군이 10^8 /ml를 초과할 때 실험군에서 생균수가 10^4 /ml 이하를 억제라 하였다.

Blanco 등⁶⁾은 양수 단독과 Thioglycollate broth, 그리고 양수와 Phosphate의 3개군을 24시간 후에 비교하여 억제는 Thioglycollate broth에서 보다 100분의 1 이하로 감소했을 때를 억제라 하였다. 본 연구에서는 Evans 등⁷⁾의 방법을 사용하였는데 그것은 대조군보다 10분의 1 미만으로 감소했을 때부터 억제로 판정하였다. 24시간 후에 양수내에서 균수 농도가 대조군보다 10분의 1 내지 100분의 1 정도로 감소되는 경우의 의미는 알려지지 않고 있으나, 이러한 것은 태아가 심한 감염으로 진행되는데, 대한 생체안전의 경계를 나타내는 수치가 아닌가 한다¹⁶⁾.

pH와 증식억제효과와의 관계는 Bergman 등⁸⁾은 28례에서 pH가 8.7~9.4이었으며, pH와 억제간에는 아무런 상관관계를 보이지 않았음을 보고하였고 본 실험성적도 같은 양상이었다.

세균의 식균수에 대한 억제작용 변화는 Miller 등¹¹⁾도 식균수가 10^4 /ml 일 때는 살균(bactericidal)능을 나타내었던 양수에서 균수가 10^4 /ml에서는 비억제를 나타내었다고 보고하였으며, 본 실험성적도 이와 일치하였다.

또한 양수의 양을 변화시킨 실험에서도 Bergman 등⁸⁾이 양수가 1/2로 희석되었을 때 억제작용이 없어지는 결과를 보고하였고, 본 실험결과와 일치하였다. 그들은 이것이 항균인자들의 농도가 낮기 때문에 희석되었을 때 억제효과가 적어진다고 하였다.

열처리를 한 후에 억제효과의 변화를 본 실험에서는 내열성인 억제인자의 존재가능성을 시사하는 바 Bergman 등⁸⁾은 28례를 검토하여 균증식억제 인자를 ① 리소짐과 같은 작용인자, ② 100°C에 내열성인 분자량 50,000미만의 인자, ③ 100°C에 이열성인 분자량 50,000미만의 인자, ④ 100°C에 내열성인 분자량 100,000을 초과하는 인자, ⑤ 100°C에 이열성인 분자량 100,000을 초과하는 인자로 분류하였고, 이것들이 단일 또는 복합적으로 존재한다

고 하였다.

이러한 억제인자로는 변역글로블린¹⁰⁾, 리소짐¹¹⁾, peroxidase¹²⁾, β -lysin¹³⁾ 등을 들수 있다고 보고하였고, Schlievert¹⁴⁾ 등은 그것이 저분자량의 peptide-zinc 혼합체이며, phosphate 에 의해 불활성된다 하였다. 그외에도 아직 확실히 밝혀지지 않았으나, Larsen¹⁵⁾ 등은 transferrin, 보체, 스테로이드 등에 의한 항균작용도 논한 바 있다. 본 실험에서는 56°C 30분, 100°C 30분 등으로 양수를 처리하여도 대장균에 대한 증식억제효과가 소실되지 않음을 볼 때 이 정도의 열처리에도 증식억제력을 상실하지 않는 내열성 억제인자가 존재함을 알 수 있었다.

평판확산 검사에 의한 검정은 Galask 등¹⁶⁾ 은 실패했을 바 Appelbaum 등¹⁷⁾ 은 그 원인으로 양수의 양과 실험균주의 상대적 양을 조절하는데 관계되는 기술적 차이에 기인된다고 하였고, Schlievert 등¹⁸⁾ 은 한천의 높은 phosphate 농도에 의해 역제가 방해받을 것으로 보았다. 그러나 Appelbaum 등¹⁹⁾ 은 phosphate 의 변화를 주어도 같은 결과인 점으로 보아 phosphate 단독만으로 역진을 일으킨 것은 아니라고 하였다. 본 실험에서는 0.7ml 이상의 양수를 흠에 넣었을 때 비로소 대장균의 발육억제대를 관찰하였으며, 그 이하의 양에서는 역제가 일어나지 않았다.

지금까지 저자의 실험결과를 보면 양수내에 대장균을 억제하는 억제인자가 실제로 존재할 것으로 생각되며, 이 억제인자의 억제효과는 pH나 열처리에 영향을 받지 않는 것으로 보아 보체나 호소 또는 항체같은 단백질 성분보다는 양이온 펩티드억제제 등 내열성억제인자로 생각되어진다. 그러나 이 실험만으로는 판정을 내릴 수 없으며, 추후 억제인자의 성분분석 및 본태에 관한 광범위한 연구가 요구된다 하겠다.

결 론

우리나라 40명의 산모에서 얻은 양수의 45%에서 대장균에 대한 증식억제효과를 나타내었으며, 임신 제 2 기에는 2례 모두 비억제이었고, 임신 제 3 기에서는 38례중 47%에서 억제로 나타내었다.

이러한 증식억제효과는 단순한 양수의 세균증식에 필요한 영양분의 결핍에 기인하는 것이 아니라 실제로 양수내에 있는 대장균 증식억제인자에 의해 일어남을 확인하였다.

또한 양수의 증식억제효과는 양수의 양이나 대장균수의 상대적 양에 의해 결정됨을 알 수 있었다.

이러한 양수의 대장균 증식억제효과는 양수 정상

범위내 pH에서는 pH의 약알카리성 정도에 영향을 받지 않으며, 열처리를 하여도 그 억제효과가 감소하지 않음을 볼 때 대장균 증식억제효과는 보체나 호소 또는 항체와 같은 단백질 성분에 기인하지는 않을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Appelbaum PC, Holloway Y, Ross SM et al: The effect of amniotic fluid on bacterial growth in three population groups. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **128**:868-871, 1977.
- 2) Appelbaum PC, Shulman G, Chambers NL et al: Studies on the growth inhibiting property of amniotic fluids from the two united states population groups. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **137**:579-582, 1980.
- 3) Bergman N, Bercovici B, and Sacks T: Antibacterial activity of human amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **114**:520-523, 1972.
- 4) Blanco JD, Gibbs RS, Krebs LF et al: The association btm the absence of amniotic fluid bacterial inhibitory activity and intraamniotic infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **143**:749-755, 1982.
- 5) Cattaneo P: Potere lisizimico del liquido amniotico postere antiliszimico del meconio, ricerche sperimentali. *Clin. Obstet. Ginecol.* **51**:60-63, 1949.
- 6) Cherry SH, Filler M and Harvey H: Lysozyme content of amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **116**:639-642, 1973.
- 7) Evans HE, Levy E and Glass L: Effect of amniotic fluid on bacterial growth. *Obstet. Gynecol.* **49**(1):35-37, 1977.
- 8) Ford LC, DeLange RJ and Lebherz TB: Identification of a bactericidal factor(B-lysin) in amniotic fluid at 14 and 40 weeks gestation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **127**:788-791, 1977.
- 9) Galask RP and Snyder IS: Bacterial inhibition by amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **102**:949-952, 1968.
- 10) Galask RP and Snyder IS: Antimicrobial factors in amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **106**:59-63, 1970.
- 11) Kitzmiller JL, Higby S and Lucas WE: Retarded growth of *Escherichia coli* in amniotic

- fluid. *Obstet. Gynecol.* **41**:38-42, 1973.
- 12) Larsen B, Galask RP and Snyder IS: Muremidase and peroxidase in human amniotic fluid. *Obstet. Gynecol.* **44**:219-223, 1974.
 - 13) Larsen B, Snyder IS and Galask RP: Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. I. In vitro evidence for bacterial growth inhibiting activity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **119**:492-496, 1974.
 - 14) Larsen B and Galask RP: Host resistance to intraamniotic infection. *Obstet. Gynecol. Surv.* **30**(10):675-691, 1975.
 - 15) Miller J, Michel J, Bercovici B et al: Studies on the antibacterial activity of amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **125**:212-214, 1975.
 - 16) Sarkany I and Gaylarde CC: The effect of amniotic fluid on bacterial growth. *Br. J. Dermatol.* **80**:241-244, 1968.
 - 17) Schlievert P, Larsen B, Johnson W. et al: Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. III. Demonstration of the variability of bacterial growth inhibition by amniotic fluid using a new plate count technique. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **122**:809-813, 1975.
 - 18) Schlievert P, Larsen B, Johnson W et al: Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. IV. Studies on the nature of bacterial inhibition with the use of plate-count determination. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **122**:814-819, 1975.
 - 19) Schlievert P, Johnson W and Galask RP: Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. V. Phosphate-to-zinc ratio as a predictor of bacterial growth-inhibitory action. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **125**:899-903, 1976.
 - 20) Schlievert P, Johnson W and Galask RP: Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. VI. Evidence for a zinc-peptide antibacterial system. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **125**:906-910, 1976.
 - 21) Tafari N, Ross SM, Naeye RL et al: Failure of bacterial growth inhibition of amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **128**:187-189, 1977.
 - 22) Thadepalli H, Bach VT and Davidson EC: Antimicrobial effect of amniotic fluid. *Obstet. Gynecol.* **52**(2):198-204, 1978.
 - 23) Walsh H, Hildebrant RJ and Prystowsky H: Growth inhibition factors in amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **93**:590-593, 1965.