

체외수정시술시 배아이식 후 배아이식도관 말단부에서의 미세균주 배양율과 임상적 임신율과의 관계

연세대학교 의과대학 산부인과학교실, 성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 산부인과학교실*

이경진 · 배상욱 · 김정연 · 김진영* · 이병석 · 박기현 · 조동제 · 송찬호

Incidence of Microbial Growth from the Tip of the Embryo Transfer Catheter after Embryo Transfer in Relation to Clinical Pregnancy Rate following In-vitro Fertilization and Embryo Transfer

**Kyoung Jin Lee, Sang Wook Bai, Jeong Yeon Kim, Jin Young Kim*,
Byung Seok Lee, Ki Hyun Park, Dong Jae Cho and Chan Ho Song**

*Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Yonsei University,
Department of Obstetrics and Gynecology, Kangbuk Samsung Hospital Center,
Sungkyunkwan University School of Medicine**

Objective: To evaluate incidence of microbial growth from the tip of the embryo transfer catheter after embryo transfer in relation to clinical pregnancy rate following in-vitro fertilization and embryo transfer.

Method: This study was performed prospectively at the time of transcervical embryo transfer following conventional in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection procedures. Sixty three patients were enrolled in this study. Microbiological cultures were performed on endocervical swabs and embryo transfer catheter tips.

Results: Positive microbial growths were observed from endocervical swabs in 45 (71.4%) women and from catheter tips in 30 (47.6%) women. There was no statistically significant difference seen in the mean number of oocytes fertilized or number and grade of embryos transferred between the group of patients without growth and the group of patients with positive microbial growth from catheter tips. The clinical pregnancy rate were 30.3% in the group of patients without growth and 13.3% in the group with positive microbial growth from catheter tips. This difference in clinical pregnancy rates was statistically significant.

Conclusion: Our finding is that microbial contamination at embryo transfer may influence implantation rates. The major questions arising from our finding are whether eradication of endocervical micro-organisms is possible and whether their eradication will improve implantation rates.

Key Words: Embryo transfer, Endocervical organisms, Transfer catheter

정상 남성으로부터 채취된 정액을 사용한 일반
적인 체외수정시술시, 대략 60~70%의 수정율을

보이고 있다. 그리고, 최근에는 남성 불임의 경우
에서 세포질내 정자주입술을 이용하여 유사한 결

과의 수정율이 보고되어지고 있다 (Van Steirteghem *et al.*, 1993; Payne *et al.*, 1994). 또한, 일반적인 체외수정술 및 세포질내 정자주입술을 시행하였을 경우 세포유전학적으로 항상 정상적이지는 않지만 형태학적으로는 정상적인 배아가 생산되고 있다 (Plachot *et al.*, 1988). 그럼에도 불구하고 착상율은 이에 상응하는 증가 없이 12~15%에 머물고 있는데 (Edwards and Brody, 1995), 이러한 현상의 원인으로서는 자궁내막의 수용성 (receptivity) 및 배아의 착상 능력과 같은 다소 애매한 변수들이 거론되어지고 있다. 반면 경자궁경부적 배아이식의 경우 자궁강내로 세균 감염의 가능성에 대한 분야는 아직 충분히 검증되지 못했다. 배아이식시술은 경자궁경부적 시술인 자궁-난관 조영술 (hysterosalpingography)과 다소 유사점이 있는데, 자궁-난관 조영술 후 난관염은 잘 알려진 합병증이다 (Peters *et al.*, 1993). 게다가, Mark와 Paulson (1992)은 난자채취를 시행받지 않았던 무난소 여성에서 경자궁경부적 배아이식 후 합병증으로 심한 골반염이 발생했던 증례를 보고한 바 있다. 이는 경자궁경부적 배아이식시 자궁강내로 세균 감염이 일어날 수 있음을 강력히 시사하는 것이라 하겠다.

본 연구는 체외수정시술시 배아이식 후 자궁경관으로부터 자궁내강으로 미세균주의 감염 가능성을 임상적 임신율과 관련하여 알아보고자 시행하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구 대상

1996년 1월부터 1997년 12월까지 연세의대 세브란스병원 산부인과 불임클리닉을 방문하여 일반적인 체외수정술 및 세포질내 정자주입술을 시행받은 환자 63명을 대상으로 전향적인 연구를 시행하였다. 대상 환자는 난관 요인, 무배란 요인, 남성 요인, 원인 불명 요인에 의한 불임환자였다.

2. 연구 방법

모든 환자들은 황체기 중기에 Decapeptyl (D-Trp-6-LH, Fering, Sweden) 0.1 mg을 매일 피하주사하여 뇌하수체 탈감작을 시작하였으며 과배란 유도 전 난포 기초기 3일째에 난포 자극 호르몬, 난포 호르몬, 황체 호르몬을 측정하였고, 질식 초음파를 시행하여 뇌하수체 탈감작이 충분히 된

것을 확인하였다. 난포 기초기 3일째에 HMG 및 FSH를 사용하여 배란유도를 시작하였다. 배란 유도 5일째부터 혈중 난포 호르몬과 질식 초음파를 이용한 난포 크기의 측정을 시행하였으며 질식 초음파 상 적어도 3개 이상의 난포가 평균 지름 16 mm에 도달하면 hCG (Profasi; Serono Laboratories) 10,000 IU를 근주하였고 34~36시간 후 질식 초음파를 이용하여 난자채취를 시행하였다. 난자채취 48시간 후 배아이식을 시행하였으며 황체기 보강을 위하여 Progesterone 50 mg을 2주간 근주하였다.

배아이식은 철저한 무균 조작하에서 시행되었으며, 배아이식 직전에 endocervical swab이 실시되었다. 배아이식시 도관 (catheter)이 질벽과 접촉하지 않도록 하였고, 완전히 배아이식이 끝난 후 도관 말단부 1 cm을 멸균 가위로 잘라내어 이송 배지에 보관하였다. Endocervical swab과 도관 말단부는 수집된지 2시간 내에 5가지 기본 배양 배지에 각각 접종되었다. 사용된 배지는 다음과 같다: (1) 5% horse blood agar; (2) MacConkey's bile salt agar; (3) Sabouraud's glucose-peptone agar; (4) 0.0075% neomycin blood agar; (5) tomato juice agar. 각 배지들은 유산소, 무산소, 이산화탄소 환경 하에 37°C에서 48시간동안 배양되었다. 균주가 배양되지 않거나 10개 미만의 균주 군락이 배양된 배지는 균주 배양이 음성인 것으로 간주되었다. 배양된 미세균주들은 표준 미생물학적 방법에 의해 분류되었다 (Corbishley, 1977). 미세균주 배양이 양성인 균과 음성인 균으로 나누어, 두 군간에 임상적 임신율 등의 체외수정시술 결과를 비교하였다.

임상적 임신은 질식 초음파를 통하여 태낭이 존재하는 경우로 정의하였고, 통계처리는 unpaired t-test와 χ^2 test를 사용하였으며, 유의수준은 5%로 하여 $p < 0.05$ 인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

연구된 총 63명 중 endocervical swab에서는 45명 (71.4%)에서, 배아이식도관 말단부에서는 30명 (47.6%)에서 미세균주가 배양되었다. Endocervical swab에서 균주가 배양되지 않았던 경우에는 배아이식도관 말단부에서도 역시 균주가 배양되지 않았다. 총 63명 중 33명 (52.6%)에서 배아이식도관

말단부로부터 미세균주가 배양되지 않았는데, 이 33명 중 15명 (45.5%)에서는 endocervical swab에서 미세균주가 배양되었다. Endocervical swab에서 미세균주 배양이 양성이었던 45명과 음성이었던 18명을 두 군으로 나누어 비교했을 경우, 수정을

과 임상적 임신율에 있어서 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 자궁경부내구와 배아 이식도관 말단부에서 배양된 미세균주의 종류나 그 횟수는 Table 1에 나타나 있다. 배아이식도관 말단부에서 미세균주 배양이 음성을 보인 경우

Table 1. Microbial organisms isolated from endo-cervical swabs and embryo transfer catheter tips (N=63)

Microbial organisms isolated	Endocervical swabs	Embryo transfer catheter tips
E-coli	11	9
Lactobacillus	8	-
Enterococcus faecalis	8	6
β-streptococcus group B	6	4
α-streptococcus	4	3
Pseudomonas aeruginosa	3	3
Gardenerella vaginalis	3	-
Morgagni morganii	3	-
Staphylococcus sp. (coag.-)	1	5
Total number of isolates	47 ^a	30

^a In 2 cases two organisms were isolated

Table 2. Indications for in-vitro fertilization embryo transfer

	Group A (n=33)	Group B (n=30)
Tubal infertility	25 (75.8)	24 (80)
Anovulatory infertility	8 (9.1)	3 (10)
Male infertility ^a	3 (9.1)	3 (10)
Unexplained infertility	2 (6.1)	-

Values in parentheses are percentages, Group A: no growth from catheter tips (n=33)
Group B: positive microbial growth from catheter tips (n=30), ^aICSI cases

Table 3. Number of oocytes fertilized, number and grade of embryos transferred and the clinical pregnancy rate per transfer

	Group A (n=33)	Group B (n=30)	p-value
No. of oocytes fertilized	4.5 ^c	4.9 ^c	NS ^a
No. of embryos transferred	3.5 ± 0.7 ^d	3.8 ± 1.3 ^d	NS ^a
Grade of embryos transferred	1.2 ± 0.4 ^d	1.3 ± 0.1 ^d	NS ^a
Clinical pregnancy rate/transfer	10 (30.3)	4 (13.3)	<0.05 ^b

Values in parentheses are percentages.

Group A: no growth from catheter tips (n=33), Group B: positive microbial growth from catheter tips (n=30)

^aNS = not significant, unpaired t-test, ^bχ² test, ^cData are means, ^dData are means ± SD

(group A)와 양성을 보인 경우 (group B)에서의 결과들이 각각 서로 비교되어졌다. 평균연령은 32.7 ± 4.0 (group A)와 32.0 ± 2.8 (group B)로 두 군간에 차이가 없었다. 또한, 체외수정술에 대한 적응증의 빈도도 두 군간에 차이가 없었다 (Table 2). 두 군간의 결과를 비교하였을 경우, 수정란 수, 이식된 배아 수, 그리고 이식된 배아 등급은 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나, 임상적 임신율은 두 군간에서 통계학적으로 유의한 차이를 보이고 있었다 (30.3% vs 13.3%; $p < 0.05$) (Table 3).

고 찰

체외수정시술시 세포질내 정자주입술 등의 기술적인 발달로 인하여 수정율은 약 60~70%의 높은 성공율을 보이고 있으나, 착상율은 이에 상응하는 증가 없이 약 12~15%에 머물고 있다 (Edwards and Brody, 1995). 이에 대한 원인 규명을 위하여 여러 가지 가설들이 발표되어 왔는데 주로 자궁내막의 수용성 (receptivity) 및 배아의 착상 능력과 같은 다소 애매한 변수들이 거론되어져 왔다. 이에 반해 경자궁경부적 배아이식의 경우, 자궁경부내구로부터 자궁내강으로 세균 감염의 가능성 및 이에 의한 착상을 저하와의 관계 등은 아직 충분히 연구되지 않았던 분야이다. 경자궁경부적 배아이식 시술이 자궁-난관 조영술과 유사한 방법의 시술이라는 점에서 자궁-난관 조영술과 유사한 합병증이 발생할 것이라고 생각할 수 있고, 난자채취를 시행받은 적이 없었던 무난소 여성에서 경자궁경부적 배아이식 후 합병증으로 심한 골반염이 발생했던 증례 (Mark and Paulson, 1992)는 경자궁경부적 배아이식시 자궁경부내구에서 자궁내강으로 세균의 감염이 있을 수 있음을 시사한다고 하였다. 그래서, 본 저자들은 경자궁경부적 배아이식시 endocervical swab 및 배아이식도관 말단부에서 미세균주 배양을 시행하여 자궁경부내구로부터 자궁내강으로 세균 감염의 가능성을 입증하고자 하였다. 또한 배아이식도관 말단부에서 세균 배양이 양성인 군과 음성인 군으로 나누어 두 군간에 체외수정시술의 결과를 비교함으로써 체외수정시술에 대한 세균 감염의 영향을 알아보하고자 하였다.

여성 하부 생식기관의 미세균주는 lactobacilli가 주된 균락을 이루는 균주이고 이외에 피부 및 배

설물에 존재하는 균주가 때때로 균락을 이루는 균주로 생각되어져 왔다. 특히, lactobacilli는 보고자들에 따라 다소 다른 결과들이 보고되어졌으나 대체적으로 50~80%의 비율로 질 및 자궁경부에서 배양된 것으로 보고되어져 왔다 (Corbhisley, 1977). 본 연구에서는 총 63명 중 8명에서만 lactobacilli가 배양되고, 그 외 4명에서 내산성 균주인 α -streptococcus가 배양되었다. 그리고, E-coli, Enterococcus faecalis 등의 faecal organism이 높은 비율로 배양되었다. endocervical swab에서 균주가 배양되지 않았던 경우에는 배아이식도관 말단부에서도 역시 균주가 배양되지 않았다. 본 연구에서는 배아이식도관 말단부에서 균주가 배양된 군과 배양되지 않은 군으로 나누어 두 군간에 체외수정시술의 결과를 비교하였는데, 착상 전 단계인 수정란 수, 이식된 배아 수 및 이식된 배아 등급 등에는 통계학적으로 차이가 없었으나, 임상적 임신율에서는 통계학적으로 유의하게 차이를 보이고 있었다.

저자들은 본 연구에서, 배아이식시술 중 배아 이식도관 말단부에 세균 감염이 일어날 수 있으며 도관 말단부에 정상 자궁경부 균주가 존재하는 것이 낮은 임상적 임신율과 관련이 있다는 결론을 내릴 수 있었다. 이 결론에서, 기전은 확실하지 않지만 배아이식도관 말단부에 이러한 균주들이 존재하는 것이 착상에 악영향을 미칠 수 있다는 추론을 세울 수 있었다. 배아이식도관 말단부의 세균감염이 자궁경부내구의 세균을 자궁내강으로 유입시킬 수 있고, 이에 의해 불형성 자궁내막염이 유발될 가능성이 높아지며 또한, 세균의 endotoxin 등이 배아에 대해 악영향을 유발할 가능성이 높아진다고 생각할 수 있겠다. 또, 본 연구의 결과 중 endocervical swab에서 미세균주 배양이 양성인 군과 음성인 군간에는 수정율 및 임신율을 비교했을 때 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았는데, 이는 기존의 보고와 같은 결과를 보이고 있다 (McCaffrey et al., 1996). 이로서 자궁경부내구에서 세균 배양의 유무와 체외수정시술의 결과와는 서로 관련이 없지만, 배아이식도관의 세균 감염은 착상율에 영향을 미친다고 할 수 있겠다. 한편 blastocyst가 착상 전 hatching시에 상실하는 zona pellucida는 감염에 대한 방어기능을 가지고 있다고 알려져 왔다 (Lavilla-Apelo et al., 1992).

체외수정시술을 위해 난소 과자극을 시행받게

될 여성들에서 cervical and vaginal swab을 시행할 수 있는데, 이로써 숨겨진 생식기관 감염의 존재를 확인할 수 있다. 이렇게 하여 cervical and vaginal swab에서 세균 감염이 확인되었을 경우 예방적 광범위 항생제를 사용하여 잠재성 감염을 최대한 줄일 수 있다. 이의 목적은 질벽을 통한 난자채취 도중 잠재성 골반염의 재활성 및 세균의 골반 내로의 유입을 최소화하는 것이다 (Evers *et al.*, 1988). 그러나, 골반염에 의한 발열성 부작용의 발생은 매우 드물고, 난자채취시에 예방적 광범위 항생제의 임상적 사용이 감염을 예방할 수 있는지에 대해서도 아직 논란이 일고 있다 (Peters *et al.*, 1993). 그래서, 비용-효과에 대한 면을 고려하였을 때 효과가 비용에 비해 훨씬 낮으므로 일반적으로 예방적 광범위 항생제의 임상적인 사용은 행하여지고 있지 않다. 하지만, 경자궁경부적 배아이식시에 자궁경부내구의 미세균주가 자궁내강으로 유입될 수 있고 이에 의해 임상적 임신율이 낮아진다는 결론에 도달한 본 연구는 잠재성 생식기관 감염의 중요성을 다시 부각시킨다고 하겠다. 특히, 자궁경부내구에서 미세균주가 배양되지 않았던 경우에는 배아이식도관 말단부에서도 균주가 배양되지 않았던 본 연구의 결과로 미루어 보아 자궁경부내구의 미세균주를 제거할 수 있다면 경자궁경부적 배아이식시 배아이식도관을 통한 미세균주의 자궁내강 감염을 막을 수 있고 이에 의한 임상적 임신율의 향상을 기대해 볼 수 있겠다.

본 연구에서 야기되는 주요한 숙제는 자궁경부 또는 배아이식도관 말단부에서 미세균주를 완전히 제거할 수 있는지에 대한 것이다. 또한, 이것이 이루어질 경우 임상적 임신율이 향상될 것인지에 대한 점이다. 이에 대해서는 앞으로 전향적인 연구를 통한 충분한 검토가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구는 체외수정시술시 배아이식 후 배아이식도관 말단부에서의 미세균주 배양율과 임상적 임신율과의 관계를 알아보려고 시행하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 연구된 총 63명 중 endocervical swab에서는 45명 (71.4%)에서, 배아이식도관 말단부에서는 30명 (47.6%)에서 미세균주가 배양되었다.

2. 배아이식도관 말단부에서 미세균주 배양이 양성인 군과 음성인 군을 비교했을 경우, 수정란 수, 이식된 배아 수, 그리고 이식된 배아 등급은 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나, 임상적 임신율은 두 군간에서 통계학적으로 유의한 차이를 보이고 있다 (30.3% vs 13.3%; $p < 0.05$).

이상의 결과를 바탕으로, 배아이식시술 중에 배아이식도관 말단부에 세균 감염이 일어날 수 있으며 도관 말단부에 정상 자궁경부 균주가 존재하는 것이 낮은 임상적 임신율과 관련이 있다는 결론을 내릴 수 있다. 향후 자궁경부 또는 배아이식도관 말단부에서 미세균주를 완전히 제거할 수 있는지 또한 이를 통해 임상적 임신율을 향상시킬 수 있는지에 대해 연구되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

- Corbushley CM. Microbial flora of vagina and cervix. *J Clin Pathol* 1997; 30: 745-8.
- Edward RG, Brody SA. Rates of implantation during IVF. In *Principle and Practice of Assisted Human Reproduction*. WB Saunders, Philadelphia 1995; 491-511.
- Evers JL, Larson JF, Gnany GG, Sieck W. Complications and problems in transvaginal sector scan guided follicle aspiration. *Fertil Steril* 1988; 49: 278-89.
- Lavilla-Apelo C, Kida H, Kanagawa H. The effect of experimental infection of mouse preimplantation embryos with paramyxovirus Sandai. *J Vet Med Sci* 1992; 54: 335-40.
- McCaffrey M, Cottell E, Mallon E, et al. The prevalence of abnormal genital tract flora in women undergoing in-vitro fertilization. *J Br Fert Soc* 1996; 1: 19A.
- Payne D, Flaherty SP, Jeffery R, et al. Successful treatment of severe male factor infertility in 100 consecutive cycles using intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1994; 9: 2051-7.
- Peters AJ, Hecht B, Durinzi K, et al. Salpingitis or oophoritis: what causes fever following oocyte aspiration and embryo transfer? *Obstet Gynecol* 1993; 81: 876-7.
- Plachot M, Veiga A, Montagut J, et al. Are clinical

and biological IVF parameters correlated with chromosomal disorders in early life: a multicentre study. *Hum Reprod* 1988; 3: 627-35.

Sauer MV, Richard JP. Pelvic abscess complicating transcervical embryo transfer. *Am J Obstet Gy-*

necol 1992; 166: 148-9.

Van Steirteghem AC, Nagy Z, et al. High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1993; 8: 1061-6.