

냉장 및 실온 보존에 따른 모유와 환원조제분유 중의 총균수와 대장균수의 변화

이조윤[†] · 배형철^{*}

중부대학교 생명과학부

^{*}충남대학교 동물자원학부

The Changes on Total Bacterial Counts and Coliform Counts of Human Milk vs Formula Milk Stored under Cold and Room Temperature Conditions

Jo-Yoon Lee[†] and Hyoung-Churl Bae^{*}

Division of Life Science, Joongbu University, Chungnam 312-940, Korea

^{*}Division of Animal Resources, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

Abstract

Human milk is normally contaminated with various microorganisms, which seem to produce no ill effects. A contamination of hand-expressed and pump-expressed human milk is a major concern in the collection of storage milk. In this study we compared milks collected by two methods, hand expression and suction breast pump, to quantify differences in the degree of bacterial contamination. Thirty-one samples had been manually expressed. The mean of total bacterial counts was 10,600 CFU/mL (range: 360~59,200 CFU/mL) and coliform counts was 43 CFU/mL (range: 20~1,060 CFU/mL) in these samples. Whereas in the 118 breast pump-expressed samples, the mean of total bacterial counts was 20,200 CFU/mL (range: 240~492,000 CFU/mL) and coliform counts was 158 CFU/mL (range: 4~10,600 CFU/mL). There was no bacterial growth when the samples were incubated for 10 days at 4°C. We also compared total bacterial growth in colostrum and in matured human milk for 24 hr at 20°C and 30°C. Although bacterial growth had not shown for 24 hr at 20°C, but shown slight growth in colostrum and rapidly increase in matured human milk for 24 hr at 30°C. The coliform bacteria in all samples, particularly in formula milk, had grown at 20°C and 30°C.

Key words: pump-expressed human milk, manually-expressed human milk, bacterial contamination, human milk banking

서 론

최근에 이르러 여성의 사회 참여와 함께 산모의 질병, 수술에 따른 약물의 잔류, 허약 체질 등으로 인하여 우유를 가공한 조제분유를 비롯하여 각종 이유식과 같은 인공영양이 상당히 보편화되어있는 추세이다. 더불어 생명과학의 진보와 함께 각종 기능성 물질들을 모유화시키는 연구가 활발히 진행되고 있어 인공영양의 수준 또한 상당히 괄목할만한 업적을 이루어왔다. 그럼에도 불구하고 현재 선진 각 국에서는 모유영양의 중요성을 새삼 인식하고 모유 수유를 적극 권장하고 있는 것은 모유 중에 존재하는 각종 기능성 물질들을 완벽하게 모유화시키는데 한계가 있을 뿐만 아니라 아직까지 알려져 있지 않은 영양 또는 생물적 기능을 간과할 수 없다. 그러나 우리나라의 경우, 의료의 선진화에도 불구하고 모유영양에 대한 정책, 홍보, 교육 그리고 개인적인 인식 부족으로 모유영양 실천도는 매우 미약한 실정이다. 더욱이 1990년대 이후부터 우리나라에서도 모유영양의 중요성을 널리

홍보하고 있으나 이에 대한 연구결과와 정보가 미흡한 상태에서 인공영양 또는 혼합영양의 의존도가 너무 높다는 점은 간과해서는 안될 중요한 문제로 여겨진다.

한편 최근 들어 산모의 교육 및 경제수준의 증가와 함께 모유영양에 대한 관심이 고조되고 있지만 병원에서의 신생아실 격리와 수유실 설치 미흡 및 가정에서 시간 및 환경의 영향으로 인한 수유 장애로 모유영양을 실천할 수 없는 경우가 상당히 존재하는 것으로 보여진다. 이와 같은 경우 선진 국에서는 이미 모유 bank system을 시행하고 있으며 그에 따른 많은 연구가 수행되어 왔다(1-4). 특히 미숙아, 조산아, 모유영양을 일시적으로 중단해야 할 정상분만아, 만성적인 설사병을 앓고 있는 신생아, short-gut syndrome 및 우유나 대두단백질에 과민성을 나타내는 유아에게 있어서 모유를 수집, 저장하고 이를 가운 처리해서 수유시키는 방법을 많은 학자들은 권장하고 있는 실정이다. 그러나 직접 젖을 물려서 먹이지 못하고 손착유에 의해 모유를 수집하여 저장한 모유를 분석한 결과를 보면, 다양한 병원성 미생물이 잠재하고

[†]Corresponding author. E-mail: joyoon@joongbu.ac.kr
Phone: 82-41-750-6729, Fax: 82-41-753-8489

있고(5) 또한 그것들을 방어하는 항감염성 물질들이 동시에 존재하고 있으며(6), 이들 항감염성 물질에 대한 열변성에 관한 연구도 많은 학자들이 보고하고 있다(7-10).

이들 보고에 따르면 모유를 고온으로 열처리할 경우 모유 중의 항감염성 성분에 영향을 주게 되고 특히 lymphocytes, macrophage 등과 같은 면역관련 물질들의 경우 동결저장할 경우 상당히 파괴되는 것으로 보고하고 있다(10). 또한 모유를 4°C, 6°C, 8°C에서 7일 동안 저장하여 실험한 결과, 세균의 증식이 나타나지 않았다고 보고하고 있으며, 일반적으로 열처리하지 않은 모유를 4~6°C에서 냉장 저장할 경우, 72시간 동안 안전하다고 보고하고 있다(11).

또한 비누로 손과 유방을 청결히 한 후 손착유를 했을 때, 처음 5 mL를 착유한 것과 그 이후의 것에 대한 bacteria colony 수를 측정된 결과, 후에 착유한 것이 전에 착유한 것에 비해 5배 정도의 세균수가 적은 것으로 나타났다고 보고하고 있다(12). 한편 모유를 손으로 착유한 경우와 breast pump를 이용하여 착유한 경우 미생물 오염 정도를 보고한 결과, breast pump를 이용하여 착유한 모유가 손으로 착유한 모유보다 미생물 오염 정도가 월등히 높았으며 이 경우 *Staphylococcus aureus*와 *Pseudomonas aeruginosa*가 특히 많이 나타났음을 보고하고 있다(13).

따라서 본 시험은 모유와 환원조제분유의 보존 온도에 따른 저장성을 파악함으로써 유아의 건강에 대한 안정성을 확보하고 더 나아가 우리나라에서도 모유 bank system을 시행할 경우 중요한 기초 자료로 활용할 수 있을 것이다.

재료 및 방법

공시 모유의 수집 및 저장

공시 모유는 대전지역에 위치한 산후조리원 두 곳으로부터 약 4개월 동안 149명의 산모에게 모유를 수집하였으며, 이 중 31명으로부터 손착유에 의한 모유를 수집하였고 118명으로부터 전동식 breast-pump를 이용한 기계착유를 통하여 모유를 수집하였다. 또한 이들 중에서 12명의 산모로부터는 분만 후 72시간 이내의 모유 초유를 수집하여 시험에 사용하였다.

모유 수집 방법은 breast-pump expression 또는 manually expression 방법으로 멸균된 50 mL Conical tube(FALCON Co., USA)에 1회 수집량을 30 mL 이상 수집하고 이를 즉시 냉장 운반하여 총균수와 대장균수를 측정하였다. 이때 손착유와 기계착유의 착유방법에 대한 선택은 산모들이 원하는 방법으로 수행하였으며, 산모들의 일반적인 착유 습관에 따른 미생물 오염 정도를 측정하기 위해 산모에게 착유방식 또는 착유시 위생과 관련된 교육을 하지 않았다.

모유 중의 총균수와 대장균수의 측정

모유 중에 오염되어 있는 세균의 총균수와 대장균수 시험은 평판배양법으로 측정하였으며, 총균수 측정 배지는 try-

tone-glucose-yeast agar(DIFCO, Detroit, MI, USA)와 대장균수 측정 배지는 MacConkey agar(DIFCO, Detroit, MI, USA)를 시험에 사용하였고, 37°C에서 48시간 배양 후에 colony 수를 계측하였다. 또한 대장균수는 Coliform plate count 방법에 따라 MacConkey배지 상에 나타난 붉은 집락을 계측한 후에 이들 중의 typical colony를 EMB agar와 Brilliant Green Bile Broth를 통하여 추정 및 확정 시험을 하였다.

공시 균주

저장온도에 따른 대장균수의 변화를 측정하기 위한 공시 균주 *Escherichia coli* KCTC 1021은 한국생명공학연구원 유전자원센터 유전자은행으로부터 분양받아 시험에 사용하였다.

보존 온도의 설정 및 환원조제분유의 제조

본 시험을 수행하기 위한 보존 온도와 시간은 냉장저장 온도인 4°C의 냉장고에서 10일간 보존하면서 48시간 간격으로 총균수와 대장균수의 변화를 측정하였으며, 실온저장 온도는 20°C와 30°C로 조정된 BOD Incubator에서 24시간 보존하면서 6시간 간격으로 총균수와 대장균수의 변화를 측정하였다.

모유 중의 총균수 변화를 시험하기 위해 대장균이 검출되지 않고 총균수가 평균치에 가까운 3인의 초유와 5인의 성숙유를 대조구로 하여 설정 온도로 보존하면서 시험에 사용하였고, 또한 보존에 따른 대장균수 변화 시험을 수행하기 위해 48시간 동안 lactose broth에서 배양된 *E. coli* KCTC 1021을 희석하여 동일한 샘플에 초기 대장균수가 대략 10^4 CFU/mL 가 되도록 접종하였고 이를 총균수 시험 방법과 동일한 조건으로 배양한 후 측정하였다. 한편 시험에 사용한 환원조제분유는 시중에서 판매하는 조제분유(Similac Co., 0~12개월 유아용) 131.7 g을 멸균수 1 L에 넣어 환원조제분유를 제조하고 이를 시험에 사용하였다.

결과 및 고찰

모유 중의 총균수와 대장균수

모유를 착유하는 방법에 따라 모유 중의 총균수와 대장균수를 시험한 결과는 Table 1, 2와 같다. Table 1에 나타난 결과와 같이, 손을 이용하여 착유했을 때 모유 중의 총균수 범위는 360~59,200 CFU/mL로서 평균 1.06×10^4 CFU/mL가 존재하는 것으로 나타났고, breast-pump를 이용하여 착유했을 때 총균수 범위는 240~492,000 CFU/mL로서 평균 2.02×10^4 CFU/mL가 존재하는 것으로 나타났다. 따라서 breast-pump를 이용한 착유가 손을 이용한 착유보다 약 2배 가량 세균수가 많이 나타났으며, 대장균수 또한 3배 이상 많이 나타났다.

또한 Table 2에 나타난 결과와 같이, 수집한 sample로부터 대장균 감염율을 조사한 결과 손에 의한 착유방법은 대장균

Table 1. Bacterial colony counts in human milk samples using hand-expressed and pump-expressed methods

| Methods of milk collection | Total bacterial counts (CFU/mL) | | Coliform counts (CFU/mL) | |
|----------------------------|---------------------------------|---------------|--------------------------|------------|
| | Mean | Range | Mean | Range |
| Hand-expressed | 1.06×10^4 | 360 ~ 59,200 | 4.32×10^1 | 20 ~ 1,060 |
| Pump-expressed | 2.02×10^4 | 240 ~ 492,000 | 1.58×10^2 | 4 ~ 10,600 |

Table 2. Distribution of total bacterial and coliform counts collected from the breast milk of nursing women

| Pump-expressed milk samples (118) | | | | | |
|-----------------------------------|------|---------------------------------|--------------|------|--------------------------|
| No. of cases | % | Total bacterial counts (CFU/mL) | No. of cases | % | Coliform counts (CFU/mL) |
| 0 | 0 | ND | 94 | 79.7 | ND ¹⁾ |
| 0 | 0 | $10^0 \sim 10^2$ | 12 | 10.2 | $10^0 \sim 10^2$ |
| 17 | 14.4 | $10^2 \sim 10^3$ | 8 | 6.8 | $10^2 \sim 10^3$ |
| 67 | 56.8 | $10^3 \sim 10^4$ | 3 | 2.5 | $10^3 \sim 10^4$ |
| 30 | 25.4 | $10^4 \sim 10^5$ | 1 | 0.8 | $10^4 \sim 10^5$ |
| 4 | 3.4 | $> 10^5$ | 0 | 0 | $> 10^5$ |
| Hand-expressed milk samples (31) | | | | | |
| No. of cases | % | Total bacterial counts (CFU/mL) | No. of cases | % | Coliform counts (CFU/mL) |
| 0 | 0 | ND | 27 | 87.1 | ND |
| 0 | 0 | $10^0 \sim 10^2$ | 1 | 3.2 | $10^0 \sim 10^2$ |
| 7 | 22.6 | $10^2 \sim 10^3$ | 2 | 6.5 | $10^2 \sim 10^3$ |
| 16 | 51.6 | $10^3 \sim 10^4$ | 1 | 3.2 | $10^3 \sim 10^4$ |
| 8 | 25.8 | $10^4 \sim 10^5$ | 0 | 0 | $10^4 \sim 10^5$ |
| 0 | 0 | $> 10^5$ | 0 | 0 | $> 10^5$ |

¹⁾ND: Not detectable.

감염율이 12.9%인 반면 기계착유에 의한 감염율은 20.3%로 높게 나타났다.

이와 같은 결과는 Myron 등(13)이 캐나다인 195명의 산모로부터 착유방식에 따른 연구에서 손착유 모유 중의 총균수는 평균 2,500 CFU/mL가 존재하였고 기계착유 모유 중의 총균수는 135,000 CFU/mL가 존재하는 것으로 보고하였는 바, 이를 본 시험결과와 비교하면 손으로 착유할 때가 breast-pump를 이용하여 착유했을 때보다 오염 정도가 낮았다는 결과와 일치하였으며, 개체간의 편차가 큰 것으로 미루어 손착유의 경우 개인의 위생상태와 기계착유의 경우 breast-pump와 수집용기의 위생상태에 따라 크게 영향을 받는 것으로 보여진다. 또한 Pittard 등(14)은 모유 중에 존재하는 세균을 동정한 결과, 모유 중에 존재하는 세균과 유두와 유륜의 피부에 존재하는 세균의 양상에 대한 유사성을 보고하였다. 일반적으로 이와 같은 연구 결과에서 breast-pump를 이용하여 모유를 착유할 경우 총균수를 비롯한 대장균 감염율이 높은 것으로 나타났으며, 특히 모유가 대장균에 오염되었을 경우 병원성 세균의 잠재 가능성이 의심되므로 breast-pump를 이용하여 착유할 경우 위생에 매우 주의를 기울여야 할 것으로 여겨진다.

모유와 환원조제분유의 보존 중 총균수와 대장균수의 변화 냉장(4°C) 및 실온(20°C, 30°C) 보존에 따른 총균수와 대장균수의 변화에 대한 결과는 Fig. 1, 2와 같다. 총균수의 변화는 4°C에서 10일 동안 보존한 결과, 초유와 성숙유 모두 약간

감소하는 경향을 보여주었으며, 20°C에서 24시간 보존한 결과, 초유와 성숙유 모두 균수의 증감없이 초기 균수를 유지하는 것으로 보여진다. 또한 30°C에서 24시간 보존한 결과, 초유의 경우 균의 증가 추세가 매우 미약하였으나 성숙유의 경우 6시간 이후부터 급속히 증가하는 경향을 보여주었다.

이와 같은 결과는 냉장보존 상태에서 10일 동안 균의 증식이 없었다는 Bengt 등(11)의 보고와 일치하였다. 또한 30°C의 보존에서 초유의 경우 균의 증가 추세가 나타나지 않은 것은, Pittard 등(14)이 분비된 모유를 실온에서 24시간 저장하면서 총균수를 시험한 결과에서 초유가 성숙유보다 bacteriostatic effect가 높았다는 검사와 일치하는 것으로, 이는 초유 중에 존재하는 SIgA, lysozyme, lactoferrin과 같은 항감염성물질의 농도에 기인하는 것으로 보여진다.

한편 4°C에서 10일 동안 보존 중의 대장균수 변화는 거의 나타나지 않았으며, 20°C에서 24시간 보존에서는 모유 초유와 성숙유가 거의 동등하게 완만한 증식을 보여준 반면 환원조제분유의 경우 배양시간 12시간 이후부터 급속한 증가 추세를 보여주었다. 30°C의 보존 조건에서도 비슷한 양상을 보여 주었는데 특히 대장균의 증식 속도가 모유에 비하여 환원조제분유가 매우 높은 것으로 나타났다.

한편 이러한 연구는 모유 bank system을 갖춘 선진국에서 많이 이루어졌는데, Myron 등(13)에 의하면 손에 의한 착유가 breast-pump에 의한 착유보다 세균의 감염이 적었다고 보고하고 있으며, Sauve 등(3)은 Calgary Mothers' Milk Bank에서 모유를 안전하게 이용하기 위한 미생물학적 양상을 시

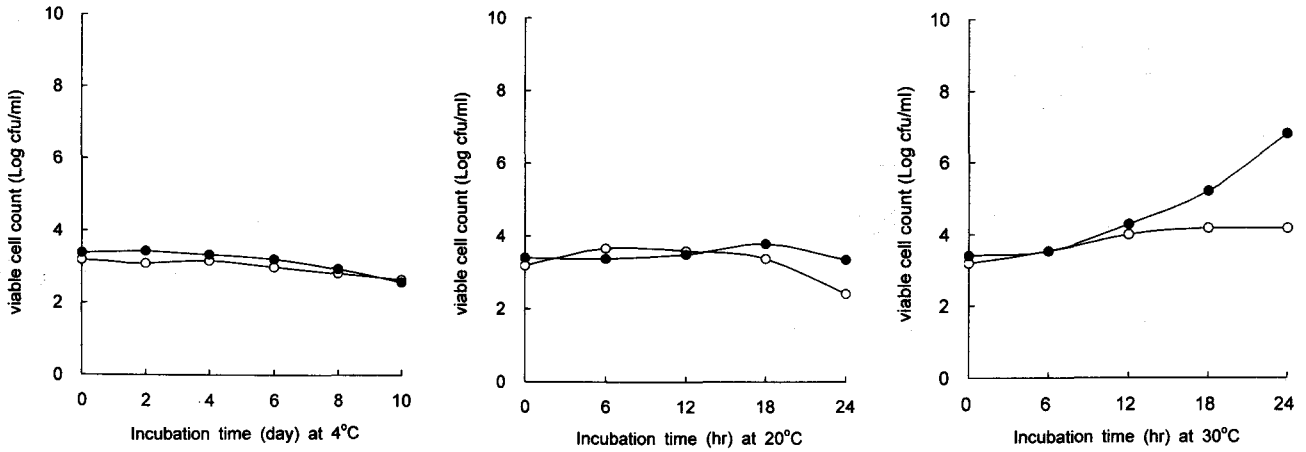


Fig. 1. Changes in total bacterial counts in samples of colostrum and matured human milk during storage at 4°C, 20°C and 30°C. (—○—: colostrum, —●—: matured milk)

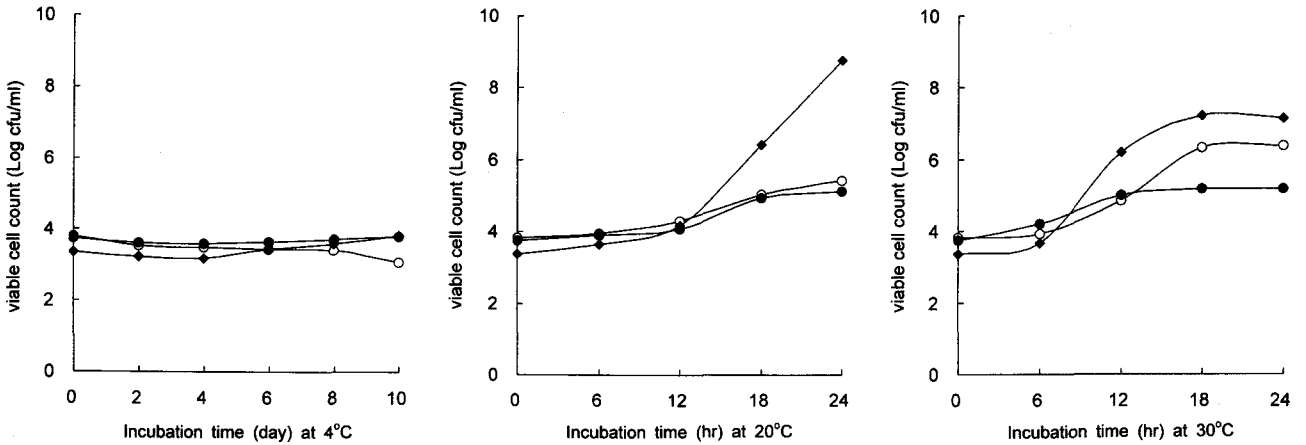


Fig. 2. Changes in coliform counts in samples of colostrum, matured human milk and formula milk during storage at 4°C, 20°C and 30°C. (—○—: colostrum, —●—: matured milk, —◆—: formula milk)

험하여 제시된 결과, 모유 내 총균수가 10^4 CFU/mL 이하, 병원성 미생물은 존재하지 않아야 한다고 제시하고 있다.

이와 같은 결과를 종합할 때 모유 초유의 경우 20°C와 30°C의 보존 상태에서도 24시간 동안 총균수의 증식이 나타나지 않았으나 모유 성숙유의 경우 30°C의 보존 상태에서 24시간 내에 뚜렷한 균의 증식이 나타났다. 특히 실온 조건인 20°C와 30°C의 보존 상태에서 대장균수의 증식은 총균수에 비하여 월등히 높은 것으로 나타났다. 또한 이와 같은 균의 증식은 모유와 환원조제분유 중에 존재하는 초기 균수와 매우 밀접한 상관관계가 있으므로 모유 또는 환원조제분유 중에 미생물이 오염되지 않도록 손과 유방 그리고 수집하는 용기의 위생 상태에 매우 주의를 기울여야 할 것으로 여겨진다.

요 약

본 연구는 손착유 모유와 breast-pump에 의한 기계착유 모유 중의 총균수와 대장균수를 검사하고 또한 냉장 및 실온

보존에 따른 모유(초유, 성숙유)와 환원조제분유의 저장성을 파악하고자 시험하였다. 시험 결과 breast-pump로 수집한 모유 중의 총균수는 2.02×10^4 CFU/mL로 손착유에 의한 총균수 1.06×10^4 CFU/mL보다 약 2배 가량 많이 나타났으며 특히 대장균의 경우, 손착유에 의한 감염율이 12.9%인 반면 breast-pump로 수집한 모유의 감염율은 19.5%로 높게 나타났다. 또한 모유와 환원조제분유를 냉장(4°C) 및 실온(20°C, 30°C) 상태에서 보존하면서 총균수와 대장균수의 변화를 시험한 결과, 4°C에서 대장균수의 변화는 10일 동안 뚜렷한 변화를 보이지 않았으며 총균수는 지속적으로 약간 감소하는 경향을 나타냈다. 20°C에서 총균수의 변화는 모유 성숙유와 모유 초유에서 뚜렷한 증가 추세를 보이지 않았으나 대장균의 경우 지속적인 증가 추세를 보였으며, 특히 환원조제분유에서 대장균수는 12시간 이후 급속히 증가하는 경향을 나타냈다. 30°C에서 총균수의 변화는 모유 성숙유의 경우 12시간 이후 급속히 증가하는 경향을 보였으나 모유 초유의 경우 뚜렷한 증가 추세를 보여주지 않았다. 반면에 환원조제분유는 6시

간 이후 급속히 증가하는 추세를 나타냈다.

문 헌

1. American Academy of pediatrics. 1980. Committee on Nutrition : Human milk banking. *Pediatrics* 65: 854-857.
2. Williams FH, Pittard WB. 1981. Human milk banking: Practical concerns for feeding premature infants. *J Am Diet Assoc* 79: 565-568.
3. Sauve R, Buchan K, Clyne A, McIntosh D. 1984. Mother milk banking: Microbial aspects. *Can J Public Health* 75: 133-136.
4. Canadian Paediatric Society, Nutrition committee. 1985. Statement on human milk banking. *Can Med Assoc J* 132: 750-752.
5. John TM. 1979. Human milk-Tables of the antimicrobial factors and microbiological contaminants relevant to human milk banking. Proceedings of Breast Feeding: The Natural Advantage Conference. October, Sydney.
6. Wels JK, May JT. 1979. Anti-infective properties of breast milk. *J Pediatr* 94: 1-9.
7. Randall MG, Charles WD, Thomas BA, Edna SA, Cutberto G, Armond SG. 1984. Rapid high-temperature treatment of human milk. *J Pediatr* 104: 380-385.
8. Ford JE, Law BA, Valerie ME, Marshall VME. 1977. Influence of heat treatment of human milk on some of its protective constituents. *J Pediatr* 90: 29-34.
9. Maria RG, Marwick K, McClelland DBL. 1977. Antimicrobial proteins in sterilised human milk. *Br Med J* 1: 12-14.
10. Charles LP, Clarene CC. 1979. Survival of human milk leukocytes. *J Pediatr* 94: 61-64.
11. Bengt B, Lars GB, Peter DC, Bo F, Seif G, Olle H. 1981. Collecting and banking human milk: To heat or not to heat? *Br Med J* 281: 765-769.
12. Maria TA, James RH. 1979. Reduction of bacterial contamination in banked human milk. *Brief Clinical and Lab Observation* 95: 993-994.
13. Myron L, Norman JL, Maria TA, Philip S. 1978. Comparison of bacterial contamination with two methods of human milk collection. *J Pediatr* 92: 236-237.
14. Pittard III WB, Diane MA, Edward RC, Bernard B. 1985. Bacteriostatic qualities of human milk. *J Pediatr* 107: 240-243.

(2001년 11월 27일 접수; 2002년 4월 17일 채택)