

# Tear Staining Syndrome을 보이는 Poodle에 있어서 내안각의 세균총 및 눈물의 Lactoferrin 함량

서강문<sup>1</sup> · 박용호\* · 남치주  
서울대학교 수의과대학. 수의과학 연구소\*

## Ocular Bacteria and Concentration of Lactoferrin in Poodle Dogs with Tear Staining Syndrome

Kang-moon Seo<sup>1</sup>, Yong-ho Park\*, Tchi-chou Nam

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon, 441-744  
Veterinary Research Institute, RDA, Anyang, 430-016\*

### Abstract

This study was performed to evaluate the effects of ocular bacteria and tear lactoferrin on the Tear Staining Syndrome(TSS) in poodle dogs.

*Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Micrococcus* and *Pseudomonas* were the most prevalent microorganisms isolated in normal eyes of poodle dogs, whereas the predominant isolates in the poodle dogs with TSS were *Micrococcus*, *Streptococcus* and *Staphylococcus*.

There were no significant differences between the normal and tear-stained poodle dogs in the quantity of tear lactoferrin.

*In vitro* hair staining experiment, bacteria isolated from the eyes with TSS and lactoferrin didn't stain hair.

The results have shown that either ocular bacteria or tear lactoferrins were not related to the TSS.

Key words : Tear staining syndrome, Ocular bacteria, Lactoferrin, Poodle

### 서 론

Tear staining syndrome(TSS)을 보이는 환축은

만성적인 유루증으로 인하여 안면이 습윤해 있기 때문에 세균이 자랄 수 있는 상황이 형성되기 쉬우며 이러한 세균으로 인해 피모가 착색될 가능

<sup>1</sup> Correspondence

성이 있다고 생각할 수 있다. 실제로 TSS를 보이는 환축은 대부분 항상 눈 주위가 지지분하며, 눈곱도 많이 끼어 있다. Helper<sup>10</sup>는 TSS를 보이는 환축에게 tetracycline을 사용했을 때 피모착색이 줄어드는 것은 이 약제가 눈물성분에 영향을 주든지 또는 세균이 피모를 적갈색으로 착색시킨다는 가정 하에서 세균, 피부, 눈물간의 상호작용에 영향을 미칠 것이라고 하였다. 그러나 Slatter<sup>25</sup>는 TSS가 있는 환축에서 종종 결막염이나 편도선염이 존재하기는 하나 항상 병존하는 것은 아니라고 하였다. Bistner 등<sup>3</sup>도 TSS는 안구염증이나 세균성 질환과 관련이 없는 유루증에서도 발생한다고 하였다.

개에서 임상적으로 질병이 없는 눈에 존재하는 세균총은 연구자, 지역, 계절 및 품종에 따라 다른 분포도를 나타내고 있다.<sup>19,25,26</sup> Jones<sup>11</sup>는 Boston지역에서 조사한 결과 *Micrococcus* spp.가 주종을 이루고 있었다고 하였으며, Bistner 등<sup>3</sup>은 Western United States에서 Diphtheroids와 *Staphylococcus epidermidis*가, Urban 등<sup>26</sup>은 Midwestern United States에서 *Staphylococcus epidermidis*와 *Staphylococcus aureus*가, 그리고 McDonald와 Watson<sup>17</sup>은 Eastern Australia에서 *Staphylococcus*와 *Bacillus* spp.가 각각 가장 많이 분리되었다고 하였다. 그 외 안구에서 곰팡이를 분리 동정한 보고도 있다.<sup>22</sup>

TSS가 있는 poodle에서는 Gale<sup>8</sup>이 *Staphylococcus pyogenes*만 분리되었다고 한 보고 이외에는 아직 없으며 단지 안구질환이 있는 개의 세균총에 대해 보고한 것이 몇몇 있을 뿐이다.<sup>9,11,19</sup> Jones<sup>11</sup>는 안구질환이 있는 개에서 *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*가, 그리고 Murphy 등<sup>19</sup>과 Gerding 등<sup>9</sup>은 *Staphylococcus* spp.가 가장 많이 분리되었다고 하였다. 한편, Lavach 등<sup>15</sup>은 정상 눈을 가진 개와 안구염증질환을 보이는 개에서 안검결막을 scraping하여 세포학적으로 조사 보고하기도 하였다.

눈물성분과 관련되어 피모가 착색되는 이론은 다양하게 설명되고 있다. Slatter<sup>25</sup>는 넘쳐흐른 눈물 중에 포함되어 있는 lactoferrin양 색소 때문에 착색이 될 것이라고 하였으며, Severin<sup>24</sup>은 눈물

성분 중 porphyrins와 catecholamines가 빛과 반응하여 내안각의 피모를 적갈색으로 착색시킬 것이라고 하였다. 그러나 이러한 이론들은 단지 가설일 뿐 실험적으로 증명된 것은 아니다.

Brightman 등<sup>4</sup>은 소, 염소, 양의 눈물에서 lysozyme농도에 대해 보고한 바 있으며, 사람에서는 SDS-minigel 전기영동법<sup>13</sup> 및 HPLC법<sup>6,12</sup>으로 분석하여 보고한 바 있다. 그러나 아직 동물에서는 눈물의 성분분석에 대한 구체적인 보고는 거의 없다.

이에 본 연구는 내안각에 존재하는 세균과 눈물성분 중에 존재하는 lactoferrin이 TSS에 영향을 미치는 지 알아보고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 내안각에서의 세균총 조사

실험동물 : 모든 실험동물은 서울 퇴계로 일대의 집단 사육가에 의해 사육되고 있는 poodle 24마리를 선정하였다. Tear staining syndrome (TSS)를 보이지 않는 poodle 12마리와 TSS를 보이는 poodle 12마리로 나누어 좌우측 눈에서 시료를 채취하였다.

시료 채취 : 상하안검을 위·아래로 잡아당겨 안구의 내안각을 노출시킨 상태에서 culture swab(transport system, Difco, U.K.)으로 결막에서 시료를 채취하였다. 이때 안검연에 닿지 않도록 주의하였다.

### 세균의 분리동정

장내세균의 분리동정 : 시료를 Thioglycollate broth(Difco)에 접종하여 증균 하였다. 순수 집락을 얻기 위해 MacConkey agar(Difco)에 접종하고 육안으로 관찰한 후 서로 다른 형태의 집락을 따서 다시 계대 배양한 후 다시 순수 분리된 집락을 채취하여 동정실험에 착수하였다.

그람 양성 구균의 분리동정 : 시료를 Mannitol Salt Agar(Difco)와 Streptococcus Selective Agar(Difco)에 접종하여 그람 양성 구균을 분리하였다. 순수한 집락을 취하여 보존하고 그람염색을 검사하여 그람 양성 구균임을 확인하였다. 다시

catalase test를 실시하여 *Staphylococcus*양 구균과 *Streptococcus*양 구균을 분리하고 동정실험에 착수하였다.

호기성 아포형성 간균 : 시료를 Bacillus 속 선택배지인 Cereus Selective Agar를 제조하여 접종하였다. 회백색의 깃털처럼 퍼지는 특징적인 집락을 관찰하고 순수 분리하여 동정실험에 착수하였다.

Non-Glucose Fermentative 그람 음성 간균 : 시료를 MacConkey Agar(Difco), Hektone-Enteric Agar(Difco), Pseudomonas Isolation Agar(Difco)를 사용하여 다른 집락을 순수 분리한 다음 동정실험에 착수하였다.

SDS-minigel electrophoresis에 의한 눈물의 lactoferrin 함량조사

실험동물 : TSS를 보이지 않는 poodle 6마리와 TSS를 보이는 poodle 6마리를 선정하여 암수구별 없이 실험에 사용하였다.

눈물 시료채취 : 머리를 치켜올려 둔 상태에서 눈물이 외안각으로 모일 수 있게 한 다음 PCV용 capillary tube 끝을 외안각에 갖다 대어 눈물이 모세관 현상에 의해 tube에 모이게 하였다. 눈물채취도중 함유된 불순물을 제거하기 위해 12,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다.

전기 영동 : 채취한 눈물을 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)을 실시하였으며, 영동조는 AE-6440 (ATTO Co., Japan)을 사용하였다. 눈물 시료는 시약들의 최종 농도가 다음과 같이 되도록 PBS 완충액으로 희석하여 혼합한 후 2분간 가열하였다.

Tear	10 %
SDS	12.5 %
2-mercaptoethanol	5 %
Tris - HCl buffer(pH 6.8)	20 mM
Bromophenol blue	1 %
Glycerin	20 %

SDS-polyacrylamide gel 제조는 30 % acrylamide용액 3.3 ml, 1.5 M Tris-buffer(pH 8.8) 2.5 ml와 증류수 4.0 ml를 잘 혼합한 후 10% SDS 0.

1 ml, 10% ammonium persulfate 0.1 ml와 TEM-ED (N,N,N,N-tetramethylene diamine) 0.004 ml를 혼합하여 만든 용액을 유리판 사이에 채운 후 30분 동안 정치하여 분리겔을 제조하였고, 30 % acrylamide용액 0.5 ml, 1.0 M tris-buffer(pH 6.8) 0.38 ml와 증류수 2.1 ml를 잘 혼합한 후 10 % SDS 0.1 ml, 10 % ammonium persulfate 용액 0.03 ml와 TEMED 0.003 ml를 혼합한 용액을 분리 겔 상부에 부어 30분간을 정치시켜서 농축 겔을 제조하였다. 제조된 겔을 영동장치에 장착한 후 marker protein(BIO-RAD사, U.S.A.)을 포함한 염색액과 처리된 시료를 농축겔 상부의 요면에 분주하여 15 mA로 150분간 영동하였다. 대조용 lactoferrin(Sigma Chemical Co., U.S.A.)은 bovine milk로 부터 분리 정제된 것을 사용하였다.

전기영동이 끝난 후 겔을 분리하여 Coomassie brilliant blue로 1시간 동안 염색하였고, 탈색액은 최종농도가 25 % methanol, 7.5 % acetic acid 수용액으로 단백질의 관찰이 용이할 때까지 탈색하였다.

Lactoferrin의 함량조사 : 전기영동상에 나타난 lactoferrin 분획을 중심으로 scanning densitometer(Biomed instruments, Model SLR-2D/1D, U.S.A.)를 이용하여 각 균간의 lactoferrin 함량을 측정하였다.

통계처리 : 각 균간의 lactoferrin 함량의 유의성 검정은 Student's T-test를 이용하였다.

세균과 lactoferrin의 피모착색 조사 : Lactoferrin과 세균이 피모착색을 일으키는 지 알아보기 위해 건강한 poodle 1마리를 선정하여 피모를 자른 후, 피모를 E.O. gas로 멸균하여 24 well cell culture cluster(Costar Co., U.S.A.)에 각각 0.5g 씩 분주한 다음 대조군으로 생리식염수에 액상 broth 배지만을 100  $\mu$ l씩 떨어뜨리고, 실험 I 군으로는 정상 및 TSS가 있는 군에서 분리된 세균을 액상 broth 배지에 배양, 증균하여 100  $\mu$ l씩 떨어뜨렸으며, 실험 II 군에서는 실험 I 군과 동일하게 처치한 후 lactoferrin을 50  $\mu$ g씩 첨가하였다. 대조군 및 실험군은 72 시간동안 37°C incubator에서 배양한 후 피모의 착색여부를 관찰하였다.

## 결 과

내안각에 상존하는 세균, 그리고 눈물 중의 lactoferrin과 세균의 복합작용이 tear staining syndrome(TSS)에 영향을 미치는지 알아보하고자 poodle에서 TSS가 없는 군과 TSS가 있는 군으로 나누어 세균총 및 lactoferrin 함량조사와 분리된 세균과 정제된 lactoferrin을 피모에 접종한 후 피모가 착색되는지 알아보하고자 *In vitro* 실험을 하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

내안각에서의 세균총 조사 : TSS가 없는 군에서는 10종의 세균이 분리되었고 *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Micrococcus* 및 *Pseudomonas*가 각각 33%, 29%, 25% 및 21%로 주종을 이루고 있었으며, 그 외 *Providencia*, *Mollerella*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pedicococcus*, *Citrobacter*가 분리되었다. TSS가 있는 군에서는 7종의 세균이 분리되어 *Micrococcus*, *Streptococcus* 및 *Staphylococcus*가 각각 38%, 33% 및 29%로 주종을 이루고 있었으며, 그 외 *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Pedicococcus*, *Providencia*순으로 분리되었다. 특히 TSS가 없는 군에 비해 TSS가 있는 군에서 *Streptococcus* spp.가 많이 분리되었다(Table 1).

Table 1. Ocular bacteria isolated from the conjunctiva of poodle dogs without or with tear staining syndrome

Bacteria	Percentage of isolation	
	Tear staining syndrome	
	without	with
<i>Staphylococcus</i> spp.	33	29
<i>Klebsiella</i> spp.	29	17
<i>Micrococcus</i> spp.	25	38
<i>Pseudomonas</i> spp.	21	17
<i>Providencia</i> spp.	8	4
<i>Mollerella</i> spp.	8	0
<i>Bacillus</i> spp.	8	0
<i>Streptococcus</i> spp.	4	33
<i>Pedicococcus</i> spp.	4	13
<i>Citrobacter</i> spp.	4	0

눈물의 lactoferrin 함량조사 : SDS-minigel electrophoresis법으로 눈물의 lactoferrin 함량을 조사해 본 결과 TSS가 없는 군에서는  $1.2 \pm 0.6 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 이고, TSS가 있는 군에서는  $0.8 \pm 0.3 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 로 TSS가 있는 군이 약간 적게 나타났으나 통계상 유의성 있는 차이는 아니었다(Table 2, Fig 1, 2).

Table 2. Concentrations of lactoferrin of tears measured by densitometer in poodle dogs without or with tear staining syn-

	Tear staining syndrome	
	without	with
Lactoferrin( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	$1.2 \pm 0.6$	$0.8 \pm 0.3$

세균과 lactoferrin의 피모착색 조사 : TSS가 없는 군과 TSS가 있는 군에서 분리된 *Staphylococcus* spp. 외 9종의 세균과 정제된 lactoferrin을 피모에 접종한 후 피모의 착색여부를 조사한 결과 어느 세균도 피모를 착색시키지 않았다(Table 3).

Table 3. Effect of lactoferrin and ocular bacteria on the hair stain in poodle dogs

	Bacteria	Bacteria+ Lactoferrin
<i>Staphylococcus</i> spp.	-	-
<i>Klebsiella</i> spp.	-	-
<i>Micrococcus</i> spp.	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp.	-	-
<i>Providencia</i> spp.	-	-
<i>Mollerella</i> spp.	-	-
<i>Bacillus</i> spp.	-	-
<i>Streptococcus</i> spp.	-	-
<i>Pedicococcus</i> spp.	-	-
<i>Citrobacter</i> spp.	-	-

- : The hair is not stained.

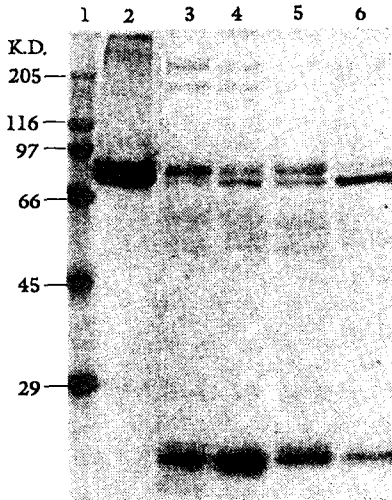


Fig 1. SDS-PAGE gel-electrophoresis of tears of poodle dog and control Lactoferrin treated under reducing conditions. lanes represent : 1. marker protein; 2. lactoferrin; 3, 4. normal tears; 5, 6. tears with tear staining syndrome.

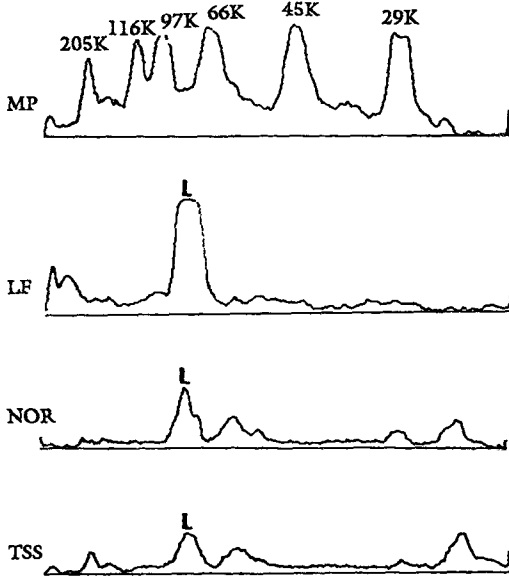


Fig 2. SDS-PAGE gel-electrophoresis profiles tears of poodle dog with tear staining syndrome by scanning densitometer. MP: marker protein, LF: lactoferrin, NOR: normal, TSS: tear staining syndrome.

본 실험에서 tear staining syndrome(TSS)이 없는 poodle에서는 10종의 세균이 분리되었으며 *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Micrococcus* 및 *Pseudomonas*가 각각 33%, 29%, 25% 및 21%로 주종을 이루고 있었다. *Staphylococcus* spp.에 있어서는 주로 *Staphylococcus epidermidis* 및 *Staphylococcus aureus*가 보고되어 Bistner 등<sup>3</sup>은 46%와 24%, Urban 등<sup>26</sup>은 55% 및 45%, 그리고 McDonald와 Watson<sup>17</sup>은 16%와 39%가 각각 분리되었다고 보고하여 본 실험의 결과보다는 높은 비율을 나타내고 있었으나, 이 세균이 제일 많이 분리되었다는 면에서 일치한다고 할 수 있다. 그러나 Jones<sup>11</sup>는 이 세균이 분리되지 않았다고 하였다. *Klebsiella* spp.는 다른 보고에서 전혀 분리되지 않거나<sup>11,17</sup> 3.3%만<sup>26</sup> 분리되었다고 하였으나 본 실험에서는 29%의 높은 비율을 차지하고 있었다. *Micrococcus* spp.는 Jones<sup>11</sup>의 보고에서 57% 분리되었다고 하여 본 실험의 25%보다 높게 나타났으나, McDonald와 Watson<sup>17</sup>은 3%, Urban 등<sup>26</sup>은 4% 분리되었다고 하여 본 실험보다는 낮게 나타내고 있었다. *Pseudomonas* spp.는 Urban 등<sup>26</sup>의 보고에서 14% 분리되었다고 하여 본 실험과 유사하였으나 Bistner 등<sup>3</sup>과 McDonald와 Watson<sup>17</sup>은 적은 비율로 분리되어 본 실험과 상이하였다. Jones<sup>11</sup>의 보고에서는 이 세균이 분리되지 않았다고 한다.

이상과 같이 연구자에 따라 내안각의 결막낭에 상존하는 세균의 분포도가 다른 것은 지역, 계절 및 품종에 따른 차이라고 생각된다.<sup>19,25,26</sup> Urban 등<sup>26</sup>은 150마리의 개에서 계절별로 *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Diplococcus pneumoniae* 및 *Neisseria* spp.를 분리동정하였던 바 *Staphylococcus* spp.는 2, 6, 7, 8월에 평균 92.5%로 가장 많이 분리되었다고 하였으며, *Streptococcus* spp.는 6월 ~ 10월까지는 31%였는데 비해 11월에서 2월까지는 55.6%가 분리되었다고 하였고, *Diplococcus pneumoniae*는 7, 8월에서만 10% 분리되었다고 하였으며 *Neisseria* spp.는 평균 48.7%이었던 것이 12월에서 2월 사이에는 10%로 감소되었다고 하였다. 그러나 Gerding 등<sup>9</sup>은 안구질환이 있는 131마리

의 개에서 안구 분포 세균을 조사해 본 결과 이와 같은 계절적인 변화를 확인할 수 없었다고 하였다. 본 실험에서는 4월~6월 사이에 표본을 채취하였는데, *Staphylococcus* spp.가 위 연구자보다는 낮은 비율로 분리되었으나 제일 많이 분리된 세균이라는 점에서 일치한다고 할 수 있다.

품종에 따른 세균의 분포도에 관해서는 Urban 등<sup>26</sup>의 보고에서 Poodle이 기타 다른 품종에 비해 안구세균이 가장 적게 분리된다고 하였으며, Basset Hounds, Basenjis, Cocker Spaniels 및 German Shepherd에서는 많은 세균이 분리된다고 하였다. Gerding 등<sup>9</sup>은 Cocker Spaniel에서 가장 많이 세균이 분리된다고 하였다. Moore 등<sup>18</sup>도 말에서 정상 안구와 질병이 존재하는 안구에서 세균총을 분리하였는데, 말의 안구에 존재하는 세균총은 나이, 품종, 식이, 계절, 피부세균총, 다른 동물과의 접촉여부 또는 피모손질과정 등으로 인해 영향을 받을 것이라고 하였다.

본 실험에서는 TSS가 있는 군에서는 7종의 세균이 분리되어 *Micrococcus*, *Streptococcus* 및 *Staphylococcus*가 각각 38%, 33% 및 29%로 주종을 이루고 있었다. 보통 동물에서 많이 발생하는 외안구 질병(external ocular diseases)에는 결막염, 창상성 각막염, 안검염, 누낭염, 각막제양 등이 있다. 이러한 질환들은 항생제 감수성 시험결과가 나오기 전에 미리 치료를 하기 위해서 안구의 세균총 연구만을 조사하여 왔으며<sup>9,11,19</sup> TSS가 있는 환축의 세균총에 대한 연구는 Gale<sup>8</sup>이 *Staphylococcus pyogenes*만을 분리한 것 이외에는 거의 보고되지 않고 있다. Jones<sup>11</sup>는 안구질환이 있는 개에서 가장 많이 분리된 세균이 *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*라고 하였다. 그러나 Gerding 등<sup>9</sup>의 보고에서는 외안구질환이 있는 개에서 *Micrococcus* spp.가 분리되지 않았으나, *Staphylococcus* spp.가 39.3%로 가장 많이 분리되었다고 하였고 Murphy 등<sup>19</sup>의 보고에서도 외안구질환이 있는 개에서 가장 많이 분리된 세균은 *Staphylococcus aureus*로 68%가 분리되었다고 하였다. 본 실험에서는 이 두 보고와는 달리 *Staphylococcus* spp.가 29%로 적게 분리되었는데, 이러한 차이는 표본수, 질병 종류 및 품종의 차이 때

문인 것으로 사료된다. Murphy 등<sup>19</sup>은 연구자에 따라 안구내 세균총이 다르게 나타나나, *Staphylococcus* spp.가 공통적으로 많이 분리되고 있다고 하였다. 또한 본 실험에서는 *Streptococcus* spp.가 33% 분리되었는데, 이것은 Murphy 등<sup>19</sup>이 36%, Gerding 등<sup>9</sup>이 25.2% 분리되었다는 보고와 유사하였다. Jones<sup>11</sup>는 4%만 분리되었다고 하였다. 본 실험에서 TSS가 없는 군에 비해 TSS가 있는 군에서 특히 *Streptococcus* spp.가 많이 분리되었는데 이것은 TSS가 있는 poodle은 의견상 안면이 지지분하며, 눈곱도 많이 끼어 있어 세균총의 변화가 있는 것으로 사료된다. 또한 이것은 표본수가 많지 않기 때문에 나타난 결과일 수도 있다.

눈에 세균성 감염이 생기면 결막부종과 함께 누점주위의 조직도 부종 되거나 결막에서 분비되는 물질로 인해 누점이 일부 폐쇄 될 수 있기 때문에 본 실험에서 인위적으로 생리식염수를 비루관에 관주하였을 때는 개통성이 유지하고 있었어도, 자연적인 상태에서는 눈물이 비루관 내로 흘러 들어가지 못했던 것으로 사료된다. Lavach<sup>14</sup>도 눈의 감염으로 비루계가 종창 되어 기능적인 폐쇄가 일어나 유루증이 발생될 것이라고 하였다. 즉, 눈의 감염성 질환은 TSS에 직접적인 영향을 미치지 않는나 간접적인 영향을 미칠 수 있을 것이라고 생각된다.

한편, 사람에서도 만성 결막염이나 안검염이 있는 경우 가장 많이 분리되는 것이 *Staphylococcus aureus*와 *Streptococcus* spp.라고 하였으며, 눈에 존재하는 세균총과 안면피부나 상부호흡기계에 존재하는 세균총이 서로 유사하다고 하였다<sup>16</sup>. Peiffer 등<sup>20</sup>도 안구와 그 부속물은 감염위험이 많은 조직으로 인근조직으로 부터 전염되어 안구질환이 발생할 수 있다고 하였다. 이와 같이 눈에서 분리된 세균들은 자연상태에서 신체 피부 어디에서든지 널리 분포되어 있기 때문에 눈에 상존하고 있으면서 언제든지 신체가 허약해질 때 병원성을 나타낼 수 있는 잠재력을 갖고 있다<sup>19</sup>.

눈에는 여러 가지 방어기전 즉, lysozyme, 탐식 백혈구, 눈물의 세정작용, 체온보다 낮은 온도 및 세균탐식성분이 포함된 결막의 상피세포 등이 존재하여 상존하는 세균이 병원성을 나타내지 못한

다<sup>19,23,25,27</sup>. Roberts와 Erickson<sup>21</sup>은 lysozyme이 사람 눈물에서보다 개의 눈물에서는 적게 존재하나 이 양만으로도 항균효과가 있다고 하였다. 또한 항체 형성도 중요한 생물학적 방어기전인데 특히 눈물 중에 가장 중요한 immunoglobulin은 IgA로 안구 질환이 있을 때 첫 번째로 작용하며 그 밖에 IgG, IgM, 및 IgE도 중요한 역할을 한다<sup>19,23,27</sup>. 이러한 눈의 방어기전이 동물에 따라, 또는 주위 환경에 따라 다를 수 있기 때문에 연구자에 따라 안구 질환이 있는 눈에 존재하는 세균총이 서로 약간씩 다르게 나타난 것으로 사료된다.

한편, Gale<sup>8</sup>은 TSS가 metronidazole에 민감한 미생물에 의한 염증반응으로 눈물이 과잉생산되어 발생하기 때문에 TSS에 metronidazole을 사용할 것을 제시한 바 있다. Beaumont<sup>4</sup>는 metronidazole의 주요작용이 원충의 살균효과이기 때문에 원충이 누선염증을 일으켜 유루증이 발생한다고 생각할 수 있으나 그 대사산물인 azoxy hydrochlorides가 눈물생산을 억제하여 그 효과가 있을 것이라고 추측하였다. Carwardine<sup>5</sup>은 metronidazole은 원충을 죽이는 효과 뿐만 아니라 광범위하게 혐기성 세균에 효과가 있다고 하였다. 그러나 수의안과학에 관련된 저서에는 TSS치료약제에 이 약제가 포함되어 있지 않아 아직 공인 받지 않은 약제라고 생각되며 앞으로 이 약제에 대한 검토가 이뤄져야 할 것으로 사료된다.

Slatter<sup>25</sup>는 TSS에 lactoferrin이 관여할 것이라고 하였다. 본 실험에서는 눈물성분 중에 lactoferrin 함량을 측정하여 TSS를 나타내지 않은 군과 나타내는 군을 비교하여 유의성 여부를 조사하였으며, 정제된 lactoferrin과 본 실험에서 분리된 세균을 피모에 접종하여 피모의 착색여부를 확인하였다. 그러나 본 실험에서 분리된 세균을 broth배지에서 증균한 다음 피모에 접종해 본 결과 피모착색이 이뤄지지 않았으며, 이 세균에 약 50배 많은 양의 lactoferrin을 함께 접종했을 때에도 피모착색은 이뤄지지 않았다. 이러한 결과는 TSS의 원인이 넘쳐흐르는 눈물 중에 포함되어 있는 lactoferrin 양 색소 때문이라고 한 Slatter<sup>25</sup>의 가설과 일치하지 않는다. 한편, Severin<sup>24</sup>은 TSS는 눈물성분 중의 porphyrins와 catecholamine이 빛과 반응

하여 내안각의 피모를 적갈색으로 착색시킬 것이라고 말하고 있다.

Lactoferrin은 눈물뿐만 아니라 타액, 기관지 점액, 담즙, 정액, 오줌, 체장액, 자궁경 점액, 자궁 내막분비선 및 유즙 중에 포함되어 있는 단백질로써 lactoferrin이 미생물대사에 이용되는 철이온과 결합하기 때문에 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearotherophilus* 및 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 오히려 항균 효과가 있다고 알려져 있다<sup>23</sup>. 이와 같이 lactoferrin은 세균억제효과가 있기 때문에 TSS 유발과는 더욱 관련이 없음을 알 수 있다. 본 실험에서 TSS를 보이지 않는 군과 TSS를 보이는 군에서의 lactoferrin 함량이 서로 유의차가 없다는 것도 TSS와는 관련이 없음을 의미하는 것으로 사료된다.

이와 같은 결과를 미루어 볼 때 세균과 lactoferrin의 단기간 작용만으로는 피모착색에 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

## 결 론

Tear staining syndrome(TSS)이 있는 poodle에서 내안각에 존재하고 있는 세균과 눈물성분 중에 하나인 lactoferrin이 TSS에 관련이 있는지 알아보려고 TSS가 없는 군과 TSS가 있는 군으로 나누어 세균총 및 lactoferrin함량을 조사 비교하고, 이 실험에서 분리된 각 세균과 정제된 lactoferrin을 피모에 접종한 후 피모가 착색되는지 여부를 알아보려고 *In vitro* 실험을 하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

임상적으로 정상적인 TSS가 없는 poodle에서 세균총은 *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*가 주종을 이루고 있었으며, TSS가 있는 poodle에서는 *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*가 주요세균으로 분리되었다.

TSS가 없는 군과 TSS가 있는 군의 lactoferrin의 함량에는 서로 유의성있는 차이가 없었다.

Poodle의 피모에 대한 *in vitro* 착색실험에서 TSS가 있는 poodle에서 분리된 각 세균과 lac-

toferrin은 피모착색에 영향을 미치지 않았다.

## 참고문헌

1. Beaumont PR. Excessive lachrymation in the dog. *Vet Rec* 1976; 98: 180.
2. Bistner SI, Aguirre G, Batik G. Atlas of veterinary ophthalmic surgery. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1977: 119-120.
3. Bistner SI, Roberts SR, Anderson RP. Conjunctival bacteria: Clinical appearances can be deceiving. *Mod Vet Pract* 1969; 50: 45-47.
4. Brightman AH, Wachsstock RS, Erskine R. Lysozyme concentrations in the tears of cattle, goats, and sheep. *Am J Vet Res* 1991; 52: 9-11.
5. Carwardine PC. Excessive lachrymation in the dog. *Vet Rec* 1976; 98: 245-246.
6. Fullard RJ, Snyder C. Protein levels in non-stimulated and stimulated tears of normal human subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 1119-1126.
7. Fullard RJ, Tucker DL. Changes in human tear protein levels with progressively increasing stimulus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 2290-2301.
8. Gale VG. Use of metronidazole in treating "tear staining" in the dog. *Vet Rec* 1976; 98: 14.
9. Gerding PA, McLaughlin SA, Troop MW. Pathogenic bacteria and fungi associated with external ocular diseases in dogs. *JAVMA* 1988; 193: 242-244.
10. Helper LC. Magrane's canine ophthalmology. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger Co. 1986: 51-88.
11. Jones WG. A preliminary report of the flora in health and disease of the external ear and conjunctival sac of the dog. *JAVMA* 1955; 127: 442-444.
12. Kijlstra A, Polak BCP, Luyendijk L. Transient decrease of secretory IgA in tears during rigid gas permeable contact lens wear. *Curr Eye Res* 1992; 11: 123-126.
13. Kuizenga A, Van Haeringen NJ, Kijlstra A. SDS-minigel electrophoresis of human tears. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 381-386.
14. Lavach JD. The lacrimal system, In: Slatter DH. Textbook of small animal surgery, Vol II. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1993: 1184-1191.
15. Lavach JD, Thrall MA, Benjamin MM, Severin GA. Cytology of normal and inflamed conjunctivas in dogs and cats. *JAVMA* 1977; 170: 722-727.
16. Locatcher-Khorazo D, Seegal BC. Microbiology of the eye. St. Louis: Mosby Co. 1972: 20-35.
17. McDonald PJ, Watson ADJ. Microbial flora of normal canine conjunctivae. *J Small Anim Pract* 1976; 17: 809-812.
18. Moore CP, Heller N, Majors LJ, Whitley RD, Burgess EC, Weber J. Prevalence of ocular microorganisms in hospitalized and stabled horses. *Am J Vet Res* 1988; 49: 773-777.
19. Murphy JM, Lavach JD, Severin GA. Survey of conjunctival flora in dogs with clinical signs of external eye disease. *JAVMA* 1978; 172: 66-68.
20. Peiffer RL, Cook CS, Möller I. Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of ophthalmic disease in small animals. *JAVMA* 1984; 185: 1172-1175.
21. Roberts SR, Erickson OF. Dog tear secretion and tear proteins. *J Small Anim Pract* 1962; 3: 1-5.
22. Samuelson DA, Andresen TL, Gwin RM. Conjunctival fungal flora in horses, cattle,



- dogs, and cats. JAVMA 1984; 184: 1240-1242.
23. Selinger DS, Selinger RC, Reed WP. Resistance of infection of the external eye: The role of tears. *Surv Ophthalmol* 1979; 24: 33-38.
24. Severin GA. *Veterinary ophthalmology notes*. 2nd ed., Colorado: Colorado state university. 1976: 117-136.
25. Slatter D. *Fundamentals of veterinary ophthalmology*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1981: 44-249.
26. Urban M, Wyman M, Rheins M, Marraro RV. Conjunctival flora of clinically normal dogs. JAVMA 1972; 161: 201-206.
27. Van Haeringen NJ. Clinical biochemistry of tears. *Surv Ophthalmol* 1981; 26: 84-96.
-