
배양된 *Pseudomonas aeruginosa*의 소프트 콘택트 렌즈 표면부착에 대한 미세구조적 연구

김덕훈 · 박용태 · 유해병 ·

마산대학 안경광학과 · 고신대학교 의과대학 해부병리과 ·

소프트 콘택트렌즈는 취급이 간단하고 착용감이 좋고 미용효과를 가지며 운동과정에서 좋은 부착상태를 가지므로 피검자들은 시력교정으로 많이 사용되고 있다. 그러나 사용의 부주의로 눈에 부작용을 일으킬 수 있다.

본 연구는 배양된 *P. aeruginosa*의 소프트 콘택트렌즈 표면부착에 대한 미세구조적 상태를 규명하기 위해서 저자들은 주사전자현미경을 이용해서 소프트 콘택트렌즈 표면을 관찰하였다. 샘플 제작과정에서 OsO₄의 후고정과 tannic acid에 염색한 것이 가장 좋은 관찰이 되었다. 균의 모양은 막대모양으로 섬모가 형성되어 있었다.

후고정을 하지 않는 샘플에서는 많은 이물질과 인공산물로서 균의 동정이 어려웠다.

A Study of Ultrastructure on attachment of Soft Contact Lens Surface of Incubated *Pseudomonas aeruginosa*

Douk Hoon Kim · Yong Tae Park · Hae Byung You ·

Department of Ophthalmic Optics, Masan College

Department of Anatomy-pathology, Koshin Medical school, Pusan ·

The soft contact lens was very simple technique in handling, good sensation in fitting, good effect of a beauty, and good attachment state on the cornea in physical movement. So that, the subjects have used the correct of visual acuity.

If the contact lens handling have not skill, they have acquired the side effect on eye.

To analysis of a study of ultrastructure on soft contact lens surface of incubated *P. aeruginosa*. We have observed the soft contact lens surface by SEM. We have founded the good technical method.

On the method of sample process of manufacture, the best observation of sample tissue was OsO₄ postfixation and tannic acid treatment.

In this case, *P. aeruginosa* was a rod shape and one cilia in ultrastructure and the identification was very good.

But, On the process of manufacture have not used the OsO₄ and tannic acid treatment, this tissue sample appeared the foreign body materials and artifacts, and the identification of the *P. aeruginosa* was very difficult.

I 서 론

시력 교정을 위한 콘택트렌즈의 사용은 안경에 비해서 훨씬 증가하는 경향이며, 콘택트렌즈의 사용에 의한 여러 가지 안 부작용도 많이 보고되고 있다.

소프트 콘택트렌즈는 1964년 체코의 Otto Wichterle가 처음으로 소개한 후, 1966년 Bausch & Lomb 회사의 실험에 기초를 둔 spin-cast 소프트 렌즈의 개발과 1967년 미국에서 Lathe cut 소프트렌즈의 임상 활용의 승인으로 이용이 활성화되었다.^[1]

특히 소프트 콘택트렌즈는 착용감이 쉽고, 취급이 간단하며, 착용 후 잘 떨어지지 않는 등의 장점이 있어 국내 외적으로 하드렌즈에 비해 훨씬 많이 이용한다.

그러나 이 같은 장점에도 불구하고 소프트렌즈도 역시 생체의 눈에서는 이 물질이기 때문에 잘못된 취급에서 많은 안질병, 이물감, 시력저하 등을 유발할 수 있다.^[2]

이 같은 부작용은 주로 괴검자의 직업, 눈의 건강상태, 안질환, 약물사용, 전신질환, 미용, 렌즈와 눈의 광학적인 관계, 재료의 성질, 눈의 생리적인 상태, 렌즈 디자인 등을 충분히 고려하지 않는데서 오는 경우가 많다.^[3]

소프트 콘택트렌즈에서 눈의 부작용 유발을 일으키는 원인 균은 현재 *Pseudomonas*균이 가장 많은 것으로 보고되며, 렌즈 착용에 따른 부작용을 일으키는 원인균인 *Pseudomonas*균에 대한 각종 안질환의 발생빈도와 종류에 대한 연구가 있다.^[4, 5]

그러나 이 균의 미세 구조적인 형태의 특성에 대한 연구는 주로 주사전자현미경을 이용하는데, 좋은 조직의 제작과정을 보고한 것은 거의 없다.

본 연구는 소프트 콘택트렌즈 사용에 따른 안부작용을 가장 많이 유발시키는 *P. aeruginosa* 균을 인공 배양시켜 새로운 소프트 콘택트렌즈를 이용하여 이 균이 렌즈에서의 부착했을 때의 미세구조적인 형태를 규명하는데 어떤 표본 제작 방법이 가장 좋은 가를 비교 분석하였다.

II 재료 및 방법

1. 실험재료

실험균주는 *P. aeruginosa*로서 배양증인 것은 사용하였다. 소프트 콘택트렌즈는 ACUVE 콘택트렌즈를 사용하였다. 콘택트렌즈의 직경은 14.00 mm, 베이스 커브는 8.8 mm,

굴절력은 -11.00 diopter였다.

2. 실험방법

준비된 실험균주 *P. aeruginosa*는 평판배지에 37도 온도에 2일간 배양시킨 후 백금이(loop)를 이용해서 분리시켰다.

분리된 균은 생리식염수로 희석한 후 1000 rpm으로 균을 농축하여 분리시켰다.

다음 소프트 렌즈와 균주는 혼탁액에서 혼합한 후 24시간 배양시켰다.

그 후 다음과 같은 과정으로 나누어서 실험하였다.

방법 1은 2.5%의 glutaraldehyde에 소프트 렌즈를 고정한 후 phosphate buffer solution(PBS)으로 세척하였다.

그 후 탈수한 다음 critical point dryer(CPD)로 건조한 후 ion gold coating을 하였다.

방법 2는 2.5%의 glutaraldehyde에 소프트 콘택트를 고정한 후 PBS으로 세척하였다.

다음 1% OsO₄에 후고정한 다음 PBS로 세척후 탈수하고 CPD로 건조한 후 ion gold coating을 하였다.

방법 3은 2.5%의 glutaraldehyde에 소프트 콘택트렌즈를 고정한 후 PBS으로 세척하였다.

다음 1% OsO₄에 후고정한 다음 PBS로 세척하였다. 그 후 tannic acid로 염색한 후 PBS로 탈수 후 CPD로 건조한 다음 ion gold coating을 실시하였다.

방법 4는 2.5%의 glutaraldehyde에 소프트 콘택트렌즈를 고정한 후 PBS으로 세척하였다.

다음 tannic acid로 염색한 후 PBS로 고정하고 탈수 후 CPD로 건조시킨 다음 ion gold coating 하였다.

이상의 조직을 만든 후 관찰은 DMS 940 A형(made in Germany)의 주사전자현미경을 이용하여 관찰하고 사진의 현상과 인화를 한 후 상호 비교 분석하였다.

III 결 과

2.5%의 glutaraldehyde에 소프트 콘택트렌즈를 전 고정한 후 PBS에 세척과 탈수 후 CPD에 건조한 다음 ion coating 한 다음 주사전자현미경으로 본 샘플은 다수의 *P.aeruginosa*가 구형 또는 막대모양으로 보이며 이들의 주변에는 많은 사상형과 입자형의 이물질이 산재되어 있었다(la).

그러나 1%은 사상형과 입자형의 이물질이 산재되어 있었다(la).의 OsO₄에 후고정한 과정을 거친 샘플은

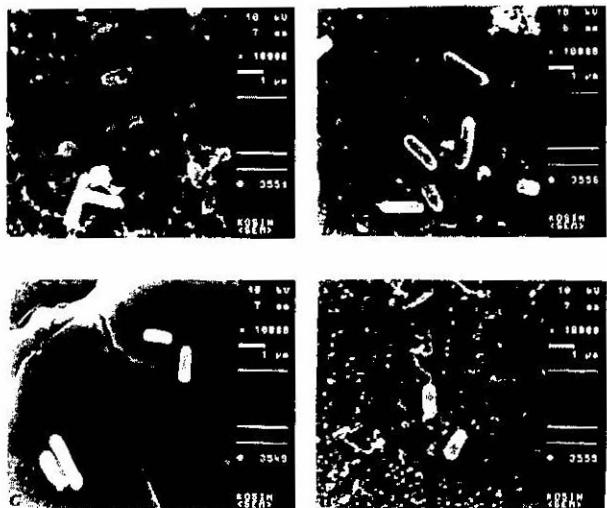


Figure 1. Scanning electron microscopy of soft contact lens surface after 24hrs of mixed with *P. aeruginosa*.

- a : Soft contact lens used only 2.5% glutaraldehyde prefixation.
Several foreign body was attach on the surface of *P.aeruginosa*. (SEM, X 1000).
- b : Soft contact lens used the OsO₄ postfixation.
Some foreign body was attach on the surface of *P.aeruginosa*.
A cilia of *P. aeruginosa* was presented on some samples. (SEM, X 1000).
- c : Soft contact lens used the OsO₄ and tannic acid. *P. aeruginosa* was well identified on the contact lens surface.
The body shape was rod style and the cilia was presented on some samples (SEM, X 1000).
- d : Soft contact lens used the tannic acid.
Several foreign body and debries appeared the background (SEM, X 1000).

분명한 막대형태의 *P.aeruginosa*가 섬모의 모습을 가지나 일부 바탕에는 입자형태의 이물질이 관찰되었다(1b).

한편 OsO₄에 후고정한 후 tannic acid에 염색한 샘플은 바탕과 *P.aeruginosa*에는 이물질이 거의 없으며 균은 구형의 물체와 섬모가 관찰되었다(1c).

그러나 전고정 후 tannic acid에 염색한 샘플은 수많은 입자와 사상형의 이물질이 무정형으로서 *P.aeruginosa*와 그 주변 전체에 산재되어 관찰되었다(1d).

IV | 논 의

소프트 콘택트렌즈는 1964년 체코의 Otto Wichterle가 최초로 소개한 후 1965년 미국에서 시험렌즈의 개발과 1966년 Bausch & Lomb 회사의 실험에 기초를 둔 spin-cast 소프트 렌즈의 개발과 1967년 미국에서 Lathe cut 소프트렌즈의 임상 활용을 하므로서 사용이 활성화되었다.^[1]

이 같은 소프트 콘택트렌즈는 짧은 역사에도 불구하고 많은 사람들이 렌즈를 사용하고 있는 것은 렌즈가 안경에 비해서 부동시 교정, 넓은 시야, 수차의 감소, 운동중 안경 착용에 따른 여러 가지 불편함의 해소, 시력의 증진 등과 특히 소프트 콘택트렌즈는 하드렌즈에 비해서 이물감이 적고, 착용감이 우수하며, 쉽게 눈에 적용할 수가 있는 등의 많은 좋은 점이 있기 때문이다.^[1]

그러나 이 같은 장점에도 불구하고 소프트 콘택트렌즈 착용은 잘못된 사용법에 의한 즉 각막염과 각막의 손상을 유발할 수가 있다.^[2~4]

대개 세균의 감염은 아마도 검사자가 피검자에게 렌즈에 대한 상세한 설명을 해주지 못하거나 또는 설명을 할 수 없는 지식 및 피검자 자신의 무관심으로 생기는 경우가 있다.

특히 *P. aeruginosa*는 많은 안질환을 유발할 수 있는데 본 연구에서는 이와 같은 검사에 필요한 표본조직의 제작 과정을 개발하여 좋은 세균 동정을 하므로서 안질환의 처방에 좋은 효과가 될 수 있다.

그러나 부작용을 모르는 경우는 아직 렌즈와 눈에 대한 지식이 적다고 할 수 있다.

소프트렌즈의 착용중 주요 자각증상에 대해서 거의 없는 경우가 상당히 눈에 잘 적용한다고 여겨진다. 그러나 주요 자각증상을 나타내는 것은 통통, 건조감과 적용이 잘 되지 않음을 알 수 있다.

한편 세균의 소프트 콘택트렌즈의 부작용은 세균의 섬모, 당쇄, 내독소, 외독소 등에 의한다.^[6~7] 특히 *P. aeruginosa*는 섬모가 소프트 콘택트렌즈의 표면에 부착하는데 중요한 역할을 한다.^[6] 따라서 소프트 콘택트렌즈의 착용에 따른 시력감소, 시야감소, 유루에 대한 것은 많은 사람들이 소프트 콘택트렌즈의 잘못된 사용법에 의해서 일어나는 것으로서, 이들에게 좋은 시환경을 제공하기 위해서 검사자는 렌즈에 대한 광범위한 지식과 처방과 부작용에 대한 깊은 지식을 가져야 한다.^[8] 그래서 이 같은 경미한 부작용에 대해서는 조기에 소프트 콘택트렌즈 표면의 세

균에 대한 정확한 동정을 파악 하는 것이 매우 중요하다.

본 연구에서 전고정과 후고정을 거친 후 주사전자현미경을 이용하는 것이 가장 좋은 검사법임을 입증되었다.

이 같은 동정 방법을 통해서 임상의는 항생제 처방을 하는 것이 가장 효과적인 처방이 될 수 있다고 여겨진다.

그러나 이 방법은 향후 임상에서 균의 확인에 많이 이용 할 것으로 여겨진다.

V 결 론

소프트 콘택트렌즈에 *P. aeruginosa*균의 부착에 대한 표면 미세구조에 대한 검사법의 관찰에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

전고정후 OsO₄의 후고정만 한 경우에 *P.aeruginosa*의 몸체와 섬모는 관찰되었으며, tannic acid를 추가로 염색한 경우도 몸체 및 섬모가 잘 관찰되었다.

그러나 후고정을 하지 않는 경우는 *P. aeruginosa*와 그 주변은 외부 이물질이 산재되어 정확한 균의 동정이 어려웠다.

따라서 세균의 소프트 콘택트렌즈 부착에 대한 미세구조의 관찰은 전고정과 후고정 및 tannic acid 염색을 거치는 과정이 좋은 표본으로 관찰을 할 수 있다.

참고문헌

- [1] Robert H. H. Contact lenses . A clinical approach to fitting. 2nd. Williams & Wilkins. pp (1982).
- [2] Gracer E. Am J. Ophthalmol 70: 833 (1970).
- [3] Buxton JN. Am J. Ophthalmol. 72: 532 (1971).
- [4] Liesegang T. S., Forster R. K. Am. J. Ophthalmol. 90: 38-47(1980).
- [5] Ormerod L. D., Smith R. E.. Arch. Ophthalmol. 104: 79-83 (1986).
- [6] Dart. J. K. G., Seal. D. V.. Eye. 1: 46-55 (1988).
- [7] Kaufamn. H. E. The Cornea. 2nd. Boston. Butterworth - Heinemann. pp 159-177 (1998).
- [8] 김덕훈. 황선영 한국안광학회지 3(1) : 249 (1998).