

Relationship between the Deposition of Tear Constituents on Soft Contact Lenses according to Material and Pigmentation and Adherence of *Staphylococcus aureus*

So Hyun Park, Ill-suk Park, So Ra Kim, and Mijung Park*

Dept. of Optometry, Seoul National University of Science and Technology Seoul 01811, Korea

(Received May 9, 2016; Revised May 26, 2016; Accepted June 9, 2016)

Purpose: The study was aimed to figure out the effect of materials and pigmentation of soft contact lens on the adherence of *Staphylococcus aureus* upon soft contact lenses deposited with tear components. **Methods:** The number of adherent *S. aureus* on clear and circle soft contact lenses made of etafilcon A, hilafilcon B, nelfilcon A was measured before and after incubation in artificial tear. Furthermore, the denaturalization level of tear protein with time after incubation in artificial tear was estimated by electrophoresis. **Results:** The adherence of *S. aureus* was significantly different according to the lens materials. The pattern of bacterial adherence on clear and circle contact lenses was different. That is, the adherent amount of *S. aureus* was somewhat larger on circle lens made of etafilcon A however, amount on circle lenses made of hilafilcon B and nelfilcon A was 89.3% and 71.3% of the number on clear lenses. When the tear protein was deposited on contact lenses, the number of adherent bacteria decreased and its degree was varied according to the lens material. The degree of decrease was the biggest in clear soft lens made of etafilcon A. Anti-bacterial effect of tear protein decreased with time after deposition of tear protein on soft contact lens and the amount of lysozyme also decreased. The reduction of anti-bacterial effect and quantity of lysozyme was different according to contact lens materials and pigmentation. **Conclusions:** It was revealed that the adherence of *S. aureus* depends on contact lens materials and pigmentation, and the specification of lens material affects more on adherence of *S. aureus* than pigmentation. It was further figured out the denaturalization level of anti-bacterial protein on soft contact lens varies according to lens materials and pigmentation, which produces an effect on the quantity of bacterial adherence.

Key words: Clear soft contact lens, Circle soft contact lens, Material, Pigmentation, *S. aureus*, Tear protein, Lysozyme, Electrophoresis

서 론

2015년 콘택트렌즈의 사용자 중 96.7%가 소프트콘택트렌즈를 사용하며, 소프트콘택트렌즈 사용자 중 42.8%가 써클 소프트콘택트렌즈(이하 써클렌즈) 사용자였으며, 써클렌즈의 사용이 증가 추세라고 보고되었다.^[1] 또한 미용콘택트렌즈는 시력교정의 목적이 아닌 미용 목적인 이유로 사용하는 경우가 전체 미용 콘택트렌즈 사용자의 30% 정도라고 보고되었다.^[2]

콘택트렌즈의 사용이 증가함에 따라 이와 관련된 안질환 등의 합병증도 증가하고 있다. 착용자의 연령은 계속 낮아지고 있으며,^[3] 이에 따라 합병증 환자의 연령도 낮아지고 있다고 보고되었다.^[4] 렌즈의 착용에 대한 교육 없이 비교적 쉽게 구매할 수 있어 잘못된 세척방법, 사용기간

미준수,^[5] 잘못된 보관방법^[6] 등으로 인한 합병증이 발병할 수 있다고 하였다.^[7] 콘택트렌즈의 사용 중 눈물단백질과 지방은 콘택트렌즈에 침착하게 되는데 이로 인하여 착용감 저하, 시력저하가 유발되며 심하면 합병증이 발생하게 된다.^[8] 합병증으로 가장 흔하게 발병하는 것은 각막미란, 찰과상 및 점상 각막염이 가장 흔하게 발병하며 이어 신생혈관, 각막궤양 등이 발생한다고 보고되었다.^[9] 미생물로 인한 감염의 주원인균은 포도상구균과 녹농균이며,^[10] 가시아메바^[11]와 곰팡이류^[12]는 상대적으로 적은 빈도로 발생한다. 콘택트렌즈 관련 부작용 중 미생물 관련 각막염은 콘택트렌즈의 산소투과율이 낮은 경우 각막표피에 미생물 부착이 증가한다는 연구가 보고된바 있다.^[13] 또한 미용콘택트렌즈는 특히 각막염 및 궤양 등의 세균성 감염에 의한 합병증이 많은 것으로 알려져 있으나, 착색여부나 표면

*Corresponding author: Mijung Park, TEL: +82-2-970-6228, E-mail: mjpark@seoultech.ac.kr
본 논문의 일부내용은 2015년도 한국인광학회 동계학술대회에서 구연으로 발표되었음.

의 물성에 따른 균 흡착에 대한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 포도상구균의 흡착에 대한 소프트콘택트렌즈 재질 특성 및 착색여부의 영향을 밝히고자 하였다. 또한 소프트콘택트렌즈 착용 시 공존하게 되는 눈물단백질의 균 흡착에 대한 영향이 소프트콘택트렌즈 특성에 따라 달라지는 지를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 콘택트렌즈

실험에 사용된 콘택트렌즈는 Table 1, 2와 같다. 국내 시판되고 있는 콘택트렌즈 가운데 FDA 기준 IV그룹으로 분류되는 고탍수 비이온성 특성을 가진 etafilcon A 재질의 투명 소프트콘택트렌즈(이하 투명렌즈), 씨클렌즈 및 습윤제(PVP, polyvinyl pyrrolidone)가 함유된 씨클렌즈(Johnson & Johnson사)와 저합수 이온성 특성을 가진 II그룹으로 분류되는 hilafilcon B 재질의 투명렌즈 및 씨클렌즈(Bausch & Lomb사), 역시 II그룹으로 분류되는 nelfilcon A 재질의

투명렌즈 및 씨클렌즈(CIBA Vision사)를 실험 대상으로 하였다(Table 1, Table 2).

2. 균 배양 및 흡착 정도 평가

균의 흡착은 ISO 14729를 기준으로 실시하였으며, ISO 14729는 콘택트렌즈에 흡착된 균에 대한 살균력 검사를 평가하는 데 사용되는 방법에 대한 기준이다. 실험에 사용한 균은 포도상구균(*Staphylococcus aureus*, ATCC 6538)이었으며, 균배양은 tryptone soya agar(TSA)배지를 사용하였다. 배양조건은 37°C의 온도에서 24시간이었다. 멸균된 plate에 1.0×10^5 cfu/ml의 균 10 μ l를 넣은 후 렌즈의 불록한 부분을 plates 바닥에 닿게 놓았고, 다시 10 μ l의 균을 렌즈 위에 올리고 10분간 흡착시켜 주었다. 균이 흡착된 렌즈를 각각 5 ml의 PBS가 담겨있는 12 well plate에서 3번 헹군 후 여과장치 위에 올린 후 12 well plate에 있는 멸균 PBS 5 ml를 올려 3분 동안 유지 후 여과시켰다. 여과시킨 렌즈는 새 plate에 불록한 면이 접촉하도록 올린 후 포도상구균은 TSA 배지를 부어 굳혔다. 1일 뒤

Table 1. The specification of clear soft contact lenses tested

USAN	etafilcon A	hilafilcon B	nelfilcon A
Commercial name	1-Day Acuvue	Soflens One Day	Focus Dailies
Manufacturer	Johnson & Johnson	Bausch & Lomb	CIBA Vision
Water content (%) (@-3.00 D)	58	59	69
Oxygen transmissibility (Dk/t) (@-3.00 D)	33	11	26
Monomers	HEMA+MA	HEMA+NVP	HEMA+PVA
FDA group	IV	II	II
Packing buffer system	borate	phosphate	phosphate

Table 2. The specification of circle soft contact lenses tested

USAN	Etafilcon A		Hilafilcon B	Nelfilcon A
Commercial name	Define	New Define	Naturrelle	Illuminate
Manufacturer	Johnson & Johnson		Bausch & Lomb	CIBA Vision
Water Content (%) (@-3.00 D)	59		59	69
Oxygen transmissibility (Dk/t) (@-3.00 D)	33		11	26
Monomers	HEMA +MA	HEMA +MA +PVP	HEMA+NVP	HEMA+PVA
FDA group	IV		II	II
Tinting method	BWIC (Beauty-Wrapped-In-Comfort)		Micro encapsulation	Dual Printing
Tinting dye	Iron oxide		Iron oxide	Iron oxide black Carbazole violet

자란 균 수를 투명렌즈와 씨클렌즈에 자란 균 수와 면적당 균 수로 나누어 비교하였다.

3. 인공눈물 침착 및 정량

인공눈물은 라이소자임 0.18 g, 글로불린 0.18 g, 알부민 0.54 g, 뮤신 0.18 g을 0.01 M 인산완충액(pH 7.4) 100 ml에 녹여 제조하였다.^[14] 오염을 방지하기 위해 인공눈물용액은 membrane filter로 살균 후 사용하였다. 콘택트렌즈가 담긴 튜브에 인공눈물 8 ml를 각각 넣어 진탕기(CR300, FINEPCR, Korea)를 이용하여 50 rpm의 속도로 실온 20°C에서 24시간 동안 인공눈물 성분을 콘택트렌즈에 침착시켰다. 인공눈물 성분 침착 후 콘택트렌즈는 인산완충액으로 3번 세척 후 인산완충액 8 ml만으로 다시 7일, 14일, 28일 동안 인공눈물 침착 조건과 동일한 조건으로 진탕시켰다. 인공눈물에 24시간 동안 침착시킨 렌즈와 인공눈물 침착 후 7일, 14일 및 28일 동안 유지시킨 렌즈를 250 μ l의 추출용매(SDS 완충용액:2% sodium dodecyl sulfate, 0.1% dithiothreitol, 0.01 M Tris buffer, pH 8)에 넣은 후 95°C로 15분간 가열한 후 상온에서 20분 동안 식혀서 단백질을 추출하였다. 단백질을 추출한 후 Lowry 방법을 이용하여 정량하였다.^[15]

4. 콘택트렌즈에 침착된 단백질 분석

인공눈물에 1일 동안 침착시킨 콘택트렌즈와 침착 후 7일, 14일, 28일 동안 인산완충용액에 진탕시킨 콘택트렌즈에 침착된 단백질을 SDS 완충용액으로 추출하여 SDS 폴리크릴아미드 젤 전기영동(SDS PAGE, 13.5%)을 하였으며 Coomassie blue로 염색하여 단백질을 분석하였다.

5. 통계처리

결과는 평균±표준편차로 표시하였고 SPSS 12.0 K를 사용하여 분석하였다. 콘택트렌즈 재질과 종류에 따른 균 흡착 정도와 씨클렌즈의 투명부와 착색부의 흡착 정도의 통계적 유의성은 독립표본 t-검정(Independent T-test), 인공눈물 침착에 따른 흡착된 균 수는 일원분산분석(One-way ANOVA)을 실시하여 유의성을 확인하였다. 분석에서 $p < 0.05$ 일 경우 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 콘택트렌즈에 흡착된 균 수 비교

투명렌즈의 경우 렌즈에 흡착된 포도상구균의 수는 etafilcon A 재질에서 16.13 ± 4.88 cfu/lens, hilafilcon B 재질에서 12.06 ± 8.11 cfu/lens, nelfilcon A 재질에서 $6.45 \pm$

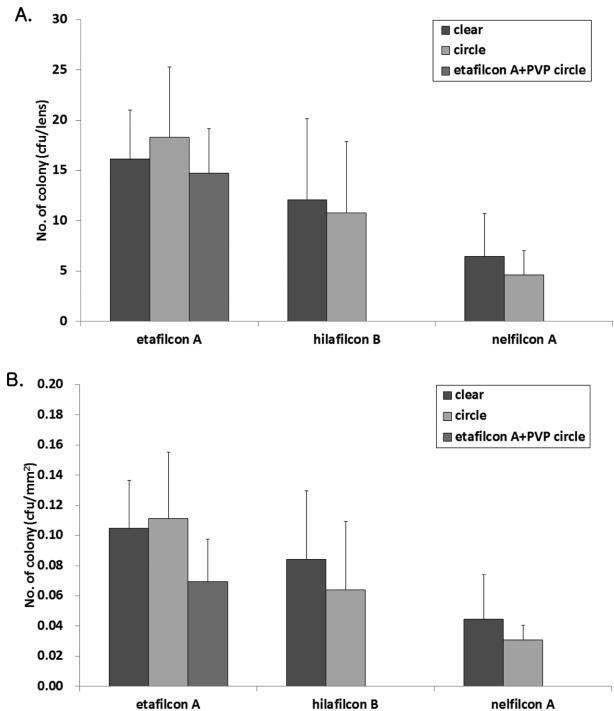


Fig. 1. The colony forming unit of *S. aureus* on clear and circle soft contact lenses.

A. colony per lens, B. colony per area

4.27 cfu/lens이었다. 씨클렌즈의 경우 포도상구균의 수는 etafilcon A 재질에서 18.31 ± 6.99 cfu/lens, 습윤제가 함유된 동일 재질에서 14.72 ± 4.47 cfu/lens, hilafilcon B 재질에서 10.77 ± 7.09 cfu/lens, nelfilcon A 재질에서 4.60 ± 2.45 cfu/lens이었다. 투명렌즈와 씨클렌즈 모두에서 포도상구균은 etafilcon A, hilafilcon B, nelfilcon A 순으로 흡착균 수가 많았으며(Fig. 1A), 모든 재질에서 투명렌즈와 씨클렌즈 간 흡착 균 수는 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).

실험에 사용한 콘택트렌즈의 전체 직경이 상이하서 실제 동일 면적당 균 수의 차이가 있는지를 평가하기 위해 단위면적당 흡착 포도상구균 수를 알아보았다. 투명렌즈의 경우 포도상구균은 etafilcon A 재질에서는 0.105 ± 0.032 cfu/mm², hilafilcon B 재질에서 0.084 ± 0.046 cfu/mm², nelfilcon A 재질에서는 0.045 ± 0.030 cfu/mm² 흡착되었다. 씨클렌즈의 경우 포도상구균은 etafilcon A 재질에서 0.111 ± 0.044 cfu/mm², 습윤제가 함유된 etafilcon A 재질에서는 0.093 ± 0.028 cfu/mm², hilafilcon B 재질에서 0.064 ± 0.045 cfu/mm², nelfilcon A 재질에서는 0.031 ± 0.010 cfu/mm²이었다. 투명렌즈와 씨클렌즈 모두 Fig. 1의 렌즈당 흡착된 균 수에서와 동일한 순서인 etafilcon A, hilafilcon B, nelfilcon A 재질 순으로 흡착된 수가 많았으나 렌즈 재질 간 차이는 단위면적당 균 수에서 더 적었으며(Fig. 1B), 모든 재질에서 투명렌즈와 씨클렌즈 간

흡착 균 수는 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).

Etafilcon A 재질과 습윤제가 함유된 etafilcon A 재질에서의 균 수의 흡착량을 비교하였을 때 습윤제가 함유된 써클렌즈의 경우 습윤제가 포함되지 않은 etafilcon A 재질의 써클렌즈에 비해 80%에 불과하여 습윤제가 함유된 재질에서의 포도상구균 흡착량이 더 적음을 알 수 있었다. 투명렌즈와 써클렌즈의 흡착 균 수를 비교하였을 때 etafilcon A 재질에서 써클렌즈에 흡착된 균 수는 투명렌즈의 113.5%로 많았으나, hilafilcon B 재질과 nelfilcon A 재질에서는 써클렌즈에 흡착된 균 수가 각각 투명렌즈의 89.2%, 71.31%였다.

2. 써클렌즈에서 투명부위와 착색부위에서의 흡착 균 수 비교

써클렌즈의 투명부분과 염료가 착색된 착색부분에서 균의 흡착정도의 차이를 비교하였다. Etafilcon A 재질의 써클렌즈에 흡착된 포도상구균 수는 투명부에서는 12.62 ± 5.26 cfu/lens, 착색부에 5.00 ± 2.50 cfu/lens이었고, 습윤제가 함유된 etafilcon A 재질의 투명부에서는 10.33 ± 3.03 cfu/lens, 착색부에는 4.39 ± 2.09 cfu/lens이었다. Hilafilcon B 재질의 투명부에는 6.89 ± 5.66 cfu/lens, 착색부에는 3.24 ± 2.19 cfu/lens, nelfilcon A 재질의 투명부에는 3.53 ± 1.36 cfu/lens, 착색부에는 1.07 ± 0.46 cfu/lens이 흡착되었다. 포도상구균의 흡착은 모든 재질의 써클렌즈에서 착색부보다 투명부의 흡착량이 많았으나(Fig. 2A), 렌즈 재질에 따라 통계적으로 유의한 정도가 달라 etafilcon A 및 hilafilcon B 재질의 투명부와 착색부의 균 흡착량은 통계적으로 유의하였으나, 습윤제가 함유된 etafilcon A 및 nelfilcon A 재질의 경우는 통계적으로 유의하지 않았다.

단위면적당 균 수는 etafilcon A 재질 써클렌즈의 투명부에서는 0.133 ± 0.056 cfu/mm², 착색부에 0.079 ± 0.040 cfu/mm²였으며, 습윤제가 함유된 etafilcon A 재질의 투명부에서는 0.109 ± 0.032 cfu/mm², 착색부에서는 0.069 ± 0.033 cfu/mm²로 나타났다. Hilafilcon B 재질 써클렌즈의 투명부에서는 0.084 ± 0.064 cfu/mm², 착색부에서 0.046 ± 0.030 cfu/mm²이었으며, nelfilcon A 재질의 투명부에서는 0.063 ± 0.024 cfu/mm², 착색부에 0.011 ± 0.005 cfu/mm²이었다. Etafilcon A, hilafilcon B, nelfilcon A 재질의 써클렌즈에서 착색부의 경우 투명부의 각각 59.4%, 54.8%, 17.5%로 포도상구균 흡착량이 착색부분에서 더 적은 경향을 보였다. 또한 동일 etafilcon A 재질이지만 습윤제 성분의 함유 유무에 따라 투명부분의 흡착 균 수가 통계적으로 유의한 차이가 있었으나($p < 0.05$), 착색부위의 경우는 차이가 거의 없었다($p > 0.05$) (Fig. 2B).

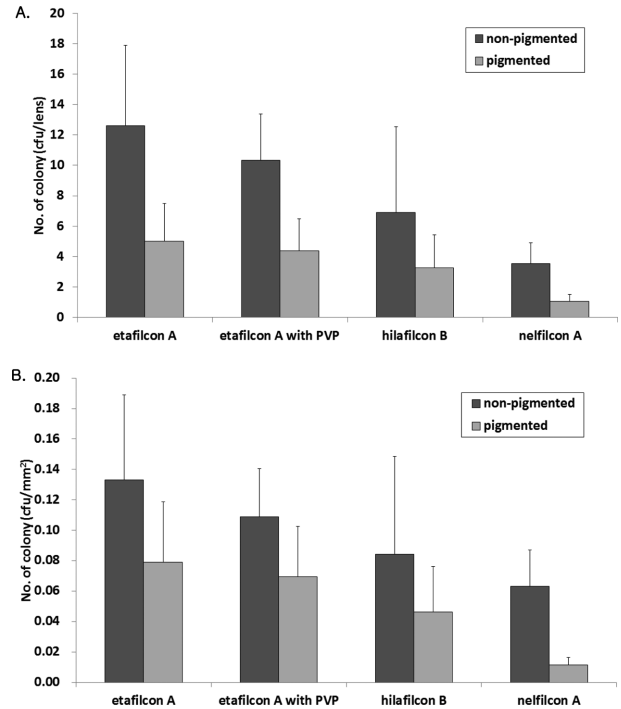


Fig. 2. The colony forming unit of *S. aureus* on pigmented and non-pigmented area of circle soft contact lenses.

A. colony per lens, B. colony per area

3. 눈물단백질의 침착량

투명 및 써클렌즈를 인공눈물에 1일 침착시킨 경우와 1일 침착 후 PBS에서 다시 7일, 14일, 28일 유지시킨 경우의 각 렌즈에 부착된 단백질을 정량 비교하였다. Etafilcon A 재질의 투명렌즈를 1일 동안 인공눈물에 침착시킨 경우 각각 총 단백질량은 4732.7 ± 589.1 $\mu\text{g/lens}$ 이었으며, 1일 동안 침착시킨 후 PBS에 7일, 14일 및 28일 간 유지시킨 경우 3738.6 ± 265.4 $\mu\text{g/lens}$, 3005.2 ± 126.6 $\mu\text{g/lens}$ 및 3022.9 ± 208.4 $\mu\text{g/lens}$ 로 측정되었다. 써클렌즈의 경우 1일간 인공눈물에 침착시킨 경우의 단백질량은 4850.2 ± 440.5 $\mu\text{g/lens}$ 이었으며, 1일 침착시킨 후 PBS에 7일, 14일 및 28일 동안 유지시킨 경우는 각각 3796.1 ± 138.7 $\mu\text{g/lens}$, 2836.6 ± 84.2 $\mu\text{g/lens}$ 및 2905.0 ± 118.0 $\mu\text{g/lens}$ 로 측정되었다. 습윤제가 함유된 etafilcon A 써클렌즈를 1일 동안 인공눈물 침착시킨 경우의 단백질량은 5037.8 ± 624.2 $\mu\text{g/lens}$ 이었으며, 1일 인공눈물 침착 후 PBS에 7일, 14일 및 28일 동안 유지시킨 경우는 각각 3996.0 ± 131.2 $\mu\text{g/lens}$, 3482.1 ± 223.7 $\mu\text{g/lens}$ 및 3350.5 ± 396.6 $\mu\text{g/lens}$ 로 측정되었다. Hilafilcon B 재질의 투명렌즈를 인공눈물에 1일 동안 침착시킨 경우 총 단백질량은 129.6 ± 2.4 $\mu\text{g/lens}$ 이었고, 인공눈물 침착 후 7일, 14일 및 28일 동안 PBS에 유지시킨 경우에는 각각 114.0 ± 15.6 $\mu\text{g/lens}$, 106.7 ± 21.5 $\mu\text{g/lens}$ 및 77.6 ± 11.5 $\mu\text{g/lens}$ 로 나타났다. 써클렌즈의 경

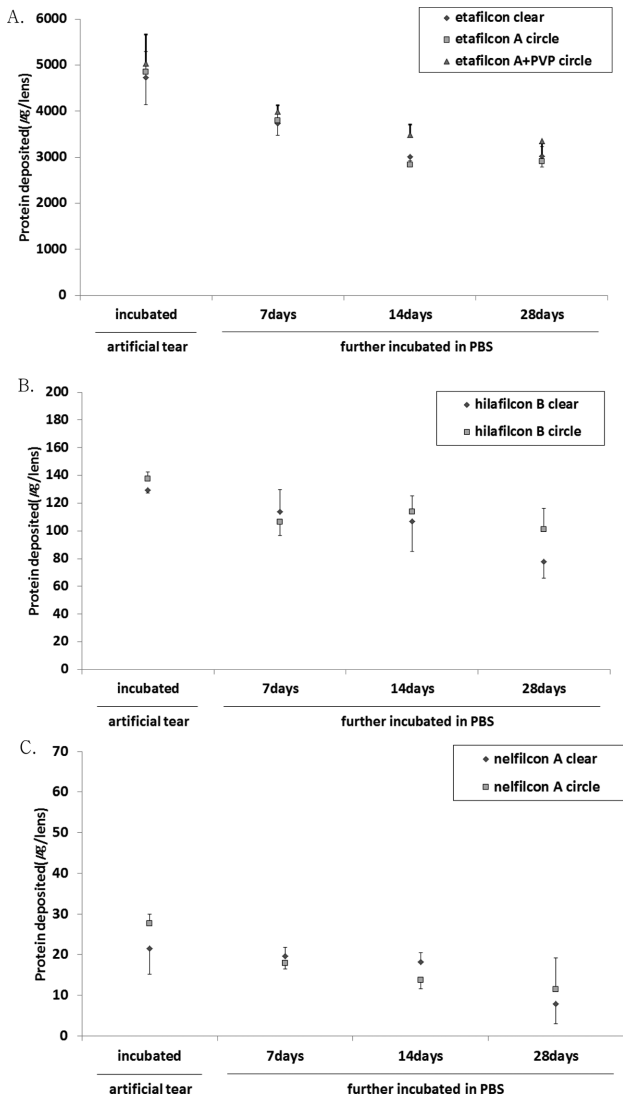


Fig. 3. The amount of protein deposited soft contact lenses. A. etafilcon A, B. hilafilcon B, C. nelfilcon A

우 1일 동안 인공눈물에 침착시켰을 때 총 단백질량은 $137.7 \pm 4.7 \mu\text{g/lens}$ 이었고, 1일 동안 인공눈물에 침착 후 PBS에 7일, 14일 및 28일 동안 유지시킨 경우는 $106.6 \pm 9.9 \mu\text{g/lens}$, $114.0 \pm 11.3 \mu\text{g/lens}$ 및 $101.0 \pm 15.2 \mu\text{g/lens}$ 의 단백질이 침착되었다. Nelfilcon A 재질의 투명렌즈를 1일 동안 인공눈물에 침착시킨 경우 총 단백질량은 $21.4 \pm 6.3 \mu\text{g/lens}$ 이었던 반면, 인공눈물에 1일 동안 침착 후 7일, 14일 및 28일 동안 PBS에서 유지시킨 경우는 $19.6 \pm 2.2 \mu\text{g/lens}$, $13.8 \pm 5.9 \mu\text{g/lens}$ 및 $7.9 \pm 4.8 \mu\text{g/lens}$ 로 단백질 흡착량이 나타났다. 씨클렌즈의 경우 1일 동안 인공눈물에 침착시킨 총 단백질량은 $27.7 \pm 2.2 \mu\text{g/lens}$ 이었던 반면, 1일 동안 인공눈물에 침착시킨 후 PBS에서 7일, 14일 및 28일 동안 유지시킨 경우는 $17.9 \pm 1.4 \mu\text{g/lens}$, $18.2 \pm 2.3 \mu\text{g/lens}$, $11.5 \pm 7.8 \mu\text{g/lens}$ 로 단백질이 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 3).

4. 인공눈물침착에 의한 균 수 변화

포도상구균이 인공눈물 단백질이 침착된 투명 및 씨클렌즈에는 어떠한 양상으로 흡착되는가를 알아보았다. 즉, 1) 인공눈물에 침착하지 않은 렌즈와 2) 인공눈물에 1일 침착시킨 렌즈, 인공눈물에 1일 침착 후 각각 3) 7일, 4) 14일, 5) 28일 동안 PBS에서 유지시킨 렌즈에 균을 흡착시키고 그 수를 비교하였다. 인공눈물에 1일 동안 인공눈물 침착시킨 경우 렌즈와 1일 침착 후 PBS에 7일, 14일, 28일 경과된 경우 포도상구균의 균 수와 면적당 균 수를 비교하였을 때 1일 인공눈물에 침착시켰을 때의 균 흡착이 가장 적었고, 침착 후 경과기간 7일부터 28일까지 균의 흡착량이 계속 증가하였다. 모든 실험 대상렌즈에서 인공눈물 침착 경과시간과 균 수 증가와의 상관성에서 통계적으로 유의한 차이가 있었다(모두 $p < 0.001$).

Etafilcon A 재질의 투명렌즈, 씨클렌즈, 습윤제가 포함된 씨클렌즈 각각 인공눈물에 침착시켰을 경우 포도상구균 흡착량은 침착시키기 전의 51.0%, 66.7%, 56.0%로 나타났으며, 28일 경과하였을 경우 각각 97.1%, 101.0%, 78.1%로 나타났다. 습윤제가 포함된 씨클렌즈는 28일이 경과하여도 투명렌즈와 씨클렌즈에 비해 적은 양의 균이 흡착되었다. 또한 전기영동 결과에서 28일 경과하였을 때 습윤제가 포함된 씨클렌즈에 가장 많은 양의 침착단백질이 남아있는 것을 통하여 습윤제가 단백질 침착에 영향을 주었으며, 경과기간 28일에도 항균력이 남아 있어 포도상구균 흡착에도 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. Hilafilcon B 재질의 투명렌즈 및 씨클렌즈에서는 인공눈물을 침착시킨 경우는 균 흡착량이 감소하여 침착시키기 전의 각각 84.9%, 76.7%로 나타났으며, 침착 후 7일 경과하였을 때는 각각 99.5%, 99.9%였다. Nelfilcon A 재질의 경우 인공눈물 침착 후 흡착된 균 수는 침착 전의 각각 77.5%, 66.6%로 나타났으며, 경과기간 14일이 되었을 때 각각 98.8%, 106.3%로 나타나 hilafilcon B 재질은 경과기간 7일, nelfilcon A 재질은 경과기간 14일이 되었을 경우 침착된 항균단백질의 항균력이 소실된 것을 알 수 있었다(Fig. 4).

5. 소프트렌즈에 침착된 라이소자임의 변성

인공눈물의 성분 중 항균작용을 가지는 라이소자임이 소프트렌즈에 침착된 후 시간경과에 따른 변성 여부를 알아보기고자 전기영동을 실시하였다. 단백질의 침착량이 가장 많았던 etafilcon A 재질의 투명렌즈, 씨클렌즈와 etafilcon A 재질에 습윤제가 함유된 씨클렌즈를 선택하여 전기영동 분석을 시행하였다. 전기영동을 실시하였을 때 15 kDa의 위치에서만 밴드가 나타나 렌즈에 침착된 대부분의 단백질은 라이소자임이며 다른 눈물단백질은 양이 적어 검출

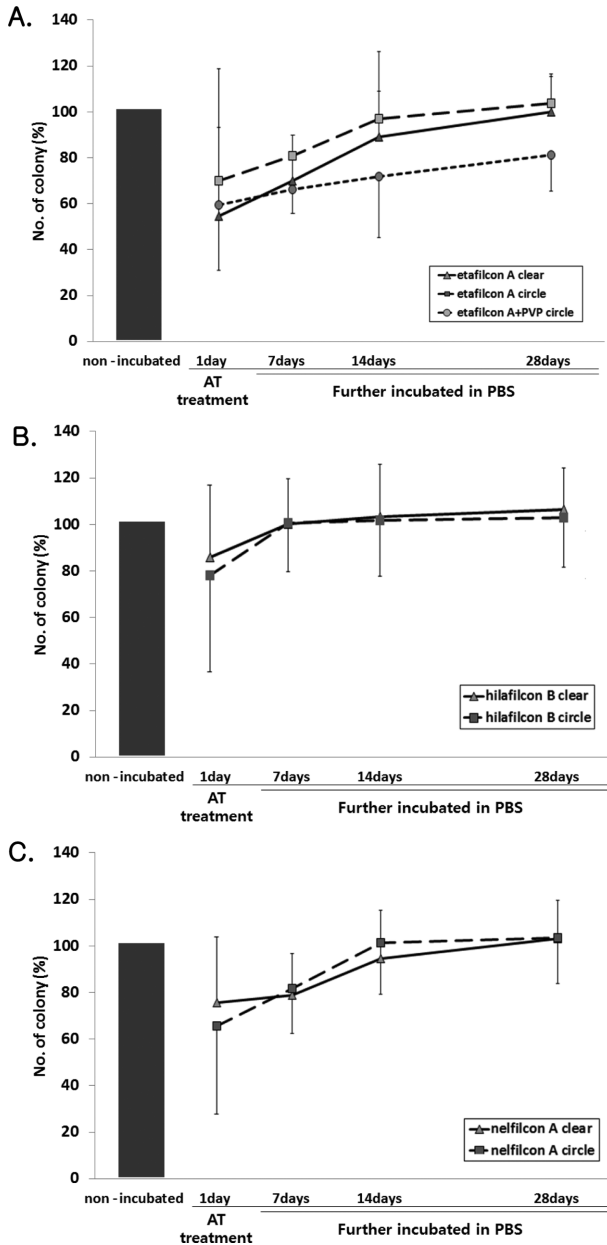


Fig. 4. Changes in the colony forming unit of *S. aureus* on soft contact lens after 1 day- treatment of artificial tear and further incubation in PBS for 7, 14 and 28 days. A. etafilcon A, B. hilafilcon B, C. nelfilcon A

되지 않은 것을 확인할 수 있었다. 인공눈물을 1일 동안 침착시켰을 때 세 가지 종류의 렌즈 가운데 습윤제를 함유하는 etafilcon A 재질의 써클렌즈에서 가장 많은 양의 라이소자임이 침착된 것으로 나타났으며, 다른 렌즈에 침착된 라이소자임의 양과 비교하였을 때 통계적으로 유의한 차이였다($p < 0.05$)(Fig. 5, 6). Etafilcon A 재질의 투명렌즈, 써클렌즈 및 습윤제를 함유한 써클렌즈 모두 1일 침착 후 PBS에 유지시켰을 때에는 그 기간이 증가함에 따라 침착된 라이소자임의 양이 감소하여 28일 제에 가장 낮은 값을 나타내었다. 즉, etafilcon A 재질의 투명렌즈에서 써

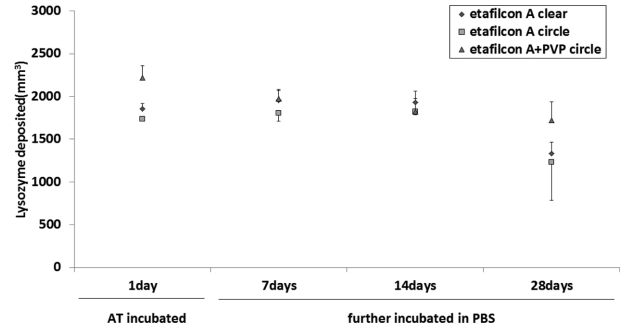


Fig. 5. The change in lysozyme amount on soft contact lens after 1 day-treatment of artificial tear and further incubation in PBS for 7, 14 and 28 days.

클렌즈보다 더 많은 양의 라이소자임이 있는 것으로 나타났으며, 인공눈물에 1일 침착 후 7일, 14일 동안 PBS에 유지시킨 렌즈는 1일 인공눈물에 침착시킨 렌즈와 비슷한 양의 라이소자임이 있었던 것으로 나타났다. 투명렌즈와 써클렌즈 사이의 통계적인 유의성을 관찰할 수 없었지만 ($p > 0.05$) 1일 침착 후 28일 동안 PBS에 유지시킨 경우에는 라이소자임의 양이 감소하였던 반면, 습윤제가 함유된 써클렌즈에서의 라이소자임 양은 인공눈물에 1일 동안 침착시킨 경우, 인공눈물 침착 후 7일, 14일, 28일 동안 PBS에 유지시킨 경우 통계적으로 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$)(Fig. 5, 6).

투명렌즈 만을 대상으로 포도상구균의 흡착량을 알아본 Kodjikian L 등^[16]의 연구에서는 etafilcon A, galyfilcon A, balafilcon A, lotrafilcon B 재질 투명렌즈 중에서 etafilcon A 재질 렌즈에서 포도상구균이 가장 적게 흡착된다고 보고된 바 있다. 본 연구에서의 연구대상인 투명렌즈는 etafilcon A, hilafilcon B, nelfilcon A 재질이었으며 etafilcon A 재질에서 포도상구균이 가장 많이 흡착되었고, hilafilcon B, nelfilcon A 재질 순으로 통계적으로 유의한 흡착량 차이가 있었다. Etafilcon A 재질은 HEMA와 MA의 공중합체이며, hilafilcon B 재질은 HEMA와 NVP, nelfilcon A 재질은 HEMA와 PVA의 공중합체로 렌즈간 재질 차이가 존재한다. Fleiszig SM 등^[17]은 hydroxyethyl methacrylate (HEMA)로만 되어있는 재질보다 HEMA와 methacrylic acid(MA)가 함께 들어있는 렌즈에서 포도상구균의 흡착이 더 많았다고 보고되어 재질 특성이 균 흡착에 영향을 주는 주요 요인인 것으로 보고 한 바 있으며, 본 연구결과에서도 역시 재질특성에 따라 균 흡착이 달라지는 것으로 나타났다. 또한 본 연구에서 사용한 hilafilcon B 재질과 nelfilcon A 재질은 모두 FDA 그룹 II로 표면의 성격이 고함수, 비이온성으로 동일하나 균의 흡착량이 hilafilcon B 재질에서 더 많은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 OnurdaFK 등^[18]의 연구에서 동일 표면 특성을 갖는 FDA

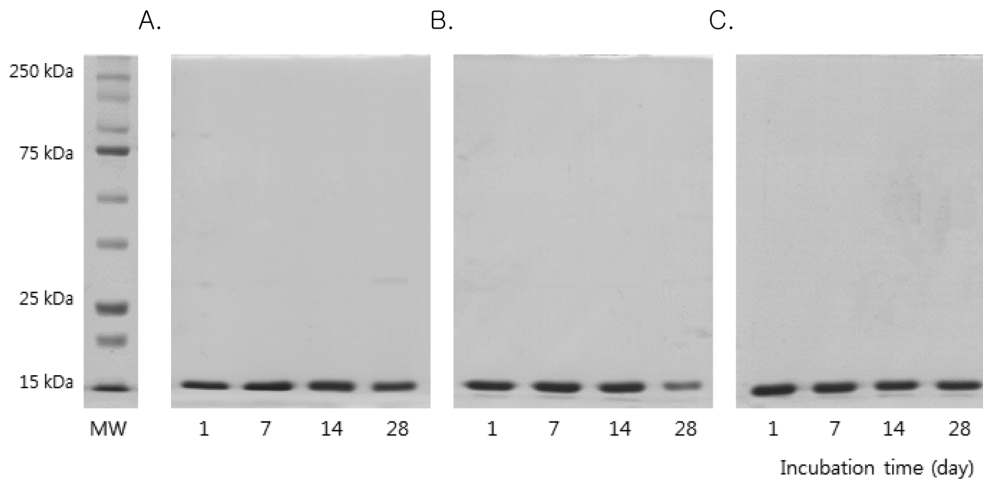


Fig. 6. Electrophoretic pattern of lysozyme deposit on soft contact lenses after 1 day-treatment of artificial tear and further incubation in PBS for 7, 14 and 28 days.

A. etafilcon A clear, B. etafilcon A circle, C. etafilcon A with PVP circle

그를 렌즈에서도 모노머의 종류에 따라 균의 흡착량이 달라질 수 있다는 결과에서와 유사한 결과가 나타났으며, 미세한 재질의 특성이 균 흡착에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

Etafilcon A 재질과 습윤제(PVP)가 함유된 etafilcon A 재질에서의 균 흡착량을 비교하였을 때 etafilcon A 재질에서 포도상구균의 흡착량이 119.4%로 더 많았다. Bruinsma GM 등^[19]과 Giraldez MJ 등^[20]의 연구에 의하면 표피포도상구균은 생체막이 친수성인 균으로 렌즈표면이 소수성을 띠수록 잘 부착되었다. 따라서 본 연구에서 친수성 모노머인 PVP가 포함된 etafilcon A 재질에 더 적은 양의 균이 흡착되는 것은 표면의 친수성화에 기인한 것으로 보이며 PVA가 함유된 nelfilcon A 재질의 경우는 마찬가지로 균의 흡착량이 적은 것으로 보인다.

Chan 등^[21]의 연구결과로 유추해 볼 때 써클렌즈의 착색부에서 더 많은 양의 균이 흡착될 것으로 예상할 수 있지만, 본 연구에서 착색공법이 모두 다른 세 가지 재질의 렌즈를 투명부와 착색부로 나누어 균 흡착량을 비교하였을 때 착색부의 포도상구균 흡착량은 투명부의 최대 77.1%에서 최소 17.5%로 투명부의 균 흡착량이 많았으며, 통계적으로도 유의한 차이를 보였다. 이러한 결과는 Chan 등^[21]의 주장과 같이 단순히 염료의 용출여부만으로 균 흡착량을 예측하는 것은 무리가 있다는 것을 의미한다. 즉, 염료의 친수성 정도와 렌즈의 거칠기 차이가 균 흡착에 영향을 미칠 수 있을 것으로 보이며, 이를 밝히기 위해 추가 연구가 이루어져야 할 필요성이 있다고 생각된다.

실제로 콘택트렌즈를 착용하였을 때에는 눈물 성분이 침착되게 되고 이로 인하여 균의 흡착량이 달라질 수 있을 것으로 예상되어 본 연구에서는 눈물 구성 성분 중 항

균력을 가지고 있는 단백질 성분을 렌즈에 침착시킨 후 흡착된 균 수를 측정하여 보았다. 단백질의 침착은 렌즈의 재질 중 FDA그룹 IV의 렌즈에서 다른 그룹의 렌즈들보다 10배가 넘는 단백질이 침착되며 Suwala M 등^[22]은 강한 양전하를 띠는 라이소자임의 침착이 가장 많으며, 반대로 음전하를 띠는 알부민의 침착은 적다고 보고하였다. 본 연구에서 FDA그룹 IV인 etafilcon A 재질의 렌즈에 hilafilcon B와 nelfilcon A 재질에 침착된 단백질양의 10배가 넘는 단백질이 침착되는 것을 알 수 있었다.

이러한 눈물단백질의 침착은 오히려 콘택트렌즈에 흡착되는 포도상구균 수의 감소를 초래하였으며, 이것은 눈물 단백질의 항균력에 의한 것으로 보인다. 그러나, 침착된 단백질 양과 항균력이 나타나는 정도에 차이가 있었다. 즉, 침착된 눈물단백질의 양과 항균력이 나타나는 정도가 비례하여 나타나지 않았다. 이러한 결과는 소프트콘택트렌즈 pore 속으로 들어간 눈물단백질의 항균력이 발휘되지 않았거나 소프트콘택트렌즈 표면 특성의 차이에 의해 눈물단백질의 항균력에 영향을 주어 나타났을 가능성이 있을 것으로 보인다. 본 연구에서는 소프트콘택트렌즈 표면 특성에 의한 눈물단백질의 항균력 변화에 초점을 맞춰 연구를 진행하였으며, 전기영동법 결과에서 etafilcon A 재질에 침착된 단백질은 대부분이 라이소자임이며 렌즈종류에 따라 침착량 차이가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 눈물단백질을 침착시킨 후 PBS 용액에서 soaking 시키면서 소프트콘택트렌즈의 표면 특성에 따라 눈물단백질 변성 정도에 차이가 있는지를 분석하였다.

Sariri R 등^[23]은 단백질이 안정성을 가지고 있지만 구조적 변화를 거치게 되면 그 기능을 잃게 된다고 보고하였다. Norde W^[24]는 침착된 단백질은 삼차구조와 이차구조

를 잃게 되어 변성이 되는데 생물학적 기능도 잃게 된다고 하였고, Subbaraman LN 등^[25] 보고에 의하면 콘택트렌즈에 부착된 라이소자임은 항균력을 갖지 않는다고 하였지만, Suwala M 등^[22] 은 FDA그룹 IV인 etafilcon A 재질에 침착된 라이소자임은 14일이 지난 후에도 90%이상의 생물학적 기능을 한다고 보고하였고, FDA그룹 II에서는 7일에 40~60% 정도의 라이소자임의 활성도가 남아있다고 보고한 바 있는 것처럼 연구마다 다소 상이한 결과가 보고되었다. 본 연구에서는 동일 재질 렌즈라도 습윤제 함유 여부나 착색 여부에 따라라도 눈물단백질에 의한 항균력 유지 기간이 다른 것으로 나타나 소프트콘택트렌즈 재질의 미세한 재질 특성 차이에 의해서도 눈물단백질의 활성이 달라질 가능성이 있음을 알 수 있었다.

결 론

콘택트렌즈의 재질에 따른 포도상구균의 흡착은 etafilcon A 재질에서 가장 많으며, hilafilcon B, nelfilcon A 순으로 나타난 것으로 보아 고탍수, 이온성인 렌즈가 고탍수, 비이온성인 렌즈보다 포도상구균의 흡착이 더 잘 되는 것을 알 수 있었다. 또한, 고탍수, 비이온성인 hilafilcon B 재질과 nelfilcon A 재질에서의 균 흡착량에서도 차이가 있어 동일 재질에서도 중합된 모노머의 종류 혹은 표면의 특성에 따라 균의 흡착량이 다를 수 있음을 알 수 있었다. Etafilcon A 재질 씨클렌즈와 습윤제가 함유된 etafilcon A 재질 씨클렌즈 비교에서 습윤제가 함유된 etafilcon A 재질에 흡착량이 적어 습윤제로 인한 균 흡착 차이가 있었다. 투명렌즈와 씨클렌즈의 흡착된 균 수 비교에서는 etafilcon A 재질 중 씨클렌즈에 균의 흡착량이 가장 많았고, hilafilcon B, nelfilcon A 재질의 경우 투명렌즈에서의 균의 흡착량이 많았다. 투명부와 착색부로 구분하여 비교하였을 경우 착색부보다 투명부에 흡착된 면적당 균 수가 많아 균의 흡착은 착색제로 인한 거칠기보다 렌즈의 재질에 영향을 많이 받음을 알 수 있었다.

인공눈물 침착 후 항균단백질의 항균력으로 인해 렌즈에 흡착된 균의 수는 감소하였으며, 렌즈에 침착된 항균단백질은 시간이 경과함에 따라 침착량과 항균력이 감소하여 결과적으로 렌즈에 흡착된 균 수 증가를 초래하였다. 인공눈물 침착 후 렌즈에 흡착된 균 수의 증가는 재질마다 차이가 있었으며, etafilcon A 재질에서 침착 후 28일 경과하였을 경우, hilafilcon B 재질에서는 침착 후 7일 경과하였을 경우, nelfilcon A 재질에서는 침착 후 14일 경과하였을 경우에 인공눈물에 침착전과 비슷한 수의 균이 흡착되었다. 이를 통하여 소프트콘택트렌즈 재질 특성에 따라서 침착되는 눈물단백질량의 차이뿐 아니라 침착된

눈물단백질의 활성도에도 차이가 있음을 밝혔다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 서울과학기술대학교 교내 학술연구비로 수행되었습니다.

REFERENCES

- [1] Korean Optometric Association. Contact lens market conditions in the first half of 2015, 2015. http://www.optic.or.kr/Cate_03/eOpticnews.asp?nmode=view&OnsSeq=2686&search_type=4(2 December 2015).
- [2] Ruben M, Guillon M. Contact lens practice, 1st Ed. London: Chapman & Hall, 1994:667-720.
- [3] Kim JH, Song JS, Hyon JY, Chung SK, Kim TJ. A survey of contact lens-related complications in Korea: the Korean contact lens study society. J Korean Ophthalmol Soc. 2014;55(1):20-31.
- [4] Choi HJ, Yum JH, Lee JH, Lee DH, Kim JH. Clinical features and compliance in patients with cosmetic contact lens-related complications. J Korean Ophthalmol Soc. 2014;55(10):1445-1451.
- [5] Boost M, Poon KC, Cho P. Contamination risk of reusing daily disposable contact lenses. Optom Vis Sci. 2011;88(12):1409-1413.
- [6] Ma KJ, Lee KJ. Contact lens, 1st Ed. Seoul: Daihak-seolim, 1995:82-322.
- [7] Singh S, Satani D, Patel A, Vhankade R. Colored cosmetic contact lenses: an unsafe trend in the younger generation. Cornea. 2012;31(7):777-779.
- [8] Michaud L, Giasson CJ. Overwear of contact lenses: increased severity of clinical signs as a function of protein adsorption. Optom Vis Sci. 2002;79(3):184-192.
- [9] Lee DK, Choi SK, Song KY. Clinical survey of corneal complications associated with contact lens wear. J Korean Ophthalmol Soc. 1994;35(8):895-901.
- [10] Green M, Apel A, Stapleton F. Risk factors and causative organisms in microbial keratitis. Cornea. 2008;27(1):22-27.
- [11] Yoder JS, Verani J, Heidman N, Hoppe-Bauer J, Alfonso EC, Miller D et al. Acanthamoeba keratitis: the persistence of cases following a multistate outbreak. Ophthalmic Epidemiol. 2012;19(4):221-225.
- [12] Tuli SS, Iyer SA, Driebe WT Jr. Fungal keratitis and contact lenses: an old enemy unrecognized or a new nemesis on the block?. Eye Contact Lens. 2007;33(6 Pt 2):415-417.
- [13] Ladage PM, Jester JV, Petroll WM, Bergmanson JP, Cavanagh HD. Role of oxygen in corneal epithelial homeostasis during extended contact lens wear. Eye Contact Lens. 2003;29(1):S2-S6.
- [14] Park M, Kwon MJ, Hyun SH, Kim DS. The adsorption

- pattern of protein to the soft contact lens and its effect on the visible light transmission and the contact angle. *J Korean Ophthalmic Opt Soc.* 2004;9(1):53-68.
- [15] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-275.
- [16] Kodjikian L, Casoli-Bergeron E, Malet F, Janin-Manificat H, Freney J, Burillon C et al. Bacterial adhesion to conventional hydrogel and new silicone-hydrogel contact lens materials. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008; 246(2):267-273.
- [17] Fleiszig SM, Evans DJ, Mowrey-McKee MF, Payor R, Zaidi TS, Vallas V et al. Factors affecting *Staphylococcus epidermidis* adhesion to contact lenses. *Optom Vis Sci.* 1996;73(9):590-594.
- [18] OnurdaFK, Ozkan S, Ozgen S, OlmuH, Abbasolu U. *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa* adhesion on soft contact lenses. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2011;249(4):559-564.
- [19] Bruinsma GM, van der Mei HC, Busscher HJ. Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. *Biomaterials.* 2001;22(24):3217-3224.
- [20] Giraldez MJ, Resua CG, Lira M, Oliveira ME, Magarios B, Toranzo AE et al. Contact lens hydrophobicity and roughness effects on bacterial adhesion. *Optom Vis Sci.* 2010; 87(6):E426-E431.
- [21] Chan KY, Cho P, Boost M. Microbial adherence to cosmetic contact lenses. *Cont Lens Anterior Eye.* 2014;37(4):267-272.
- [22] Suwala M, Glasier MA, Subbaraman LN, Jones L. Quantity and conformation of lysozyme deposited on conventional and silicone hydrogel contact lens materials using an in vitro model. *Eye Contact Lens.* 2007;33(3):138-143.
- [23] Sariri R, Tighe B. Effect of surface chemistry on protein interaction with hydrogel contact lenses. *Iran Polym J.* 1996;5(4):259-266.
- [24] Norde W. Adsorption of proteins from solution at the solid-liquid interface. *Adv Colloid Interface Sci.* 1986;25(4): 267-340.
- [25] Subbaraman LN, Borazjani R, Zhu H, Zhao Z, Jones L, Willcox MD. Influence of protein deposition on bacterial adhesion to contact lenses. *Optom Vis Sci.* 2011;88(8): 959-966.

소프트콘택트렌즈 재질과 착색에 따른 눈물성분 침착과 포도상구균 흡착의 상관관계

박소현, 박일석, 김소라, 박미정*

서울과학기술대학교, 안경광학과, 서울 01811

투고일(2016년 5월 9일), 수정일(2016년 5월 26일), 게재확정일(2016년 6월 9일)

목적: 본 연구에서는 소프트콘택트렌즈의 재질 특성과 착색 여부가 눈물 성분이 침착된 소프트콘택트렌즈의 포도상구균 흡착에 미치는 영향을 알아보았다. **방법:** Etafilcon A, hilafilcon B, nelfilcon A 재질의 투명 소프트콘택트렌즈(이하 투명렌즈)와 씨클 소프트콘택트렌즈(이하 씨클렌즈)를 대상으로 하여 인공눈물에 침착시키기 전과 후의 흡착 균 수를 측정하였다. 또한, 전기영동법을 통해 인공눈물의 침착 경과시간에 따른 눈물단백질의 변성 정도를 측정하였다. **결과:** 포도상구균의 흡착은 콘택트렌즈 재질에 따라 통계적으로 유의하게 차이가 있었다. 투명렌즈와 씨클렌즈의 균 흡착 양상에 차이가 있어 etafilcon A 재질에서는 씨클렌즈의 균 흡착량이 다소 많았지만, hilafilcon B 및 nelfilcon A 재질에서는 씨클렌즈에 흡착된 균수가 각각 투명렌즈의 89.3%, 71.3%였다. 눈물단백질이 침착되었을 경우 흡착된 균의 수가 감소하였으며 감소 정도는 재질에 따라 차이가 있어 etafilcon A 재질 투명소프트콘택트렌즈에서 가장 감소 정도가 컸다. 이러한 눈물단백질의 항균효과는 눈물단백질이 소프트콘택트렌즈에 침착된 시간이 경과될수록 감소하였으며 침착된 라이소자임의 양 역시 감소하였다. 또한, 항균효과의 감소 및 라이소자임 양의 감소가 콘택트렌즈 재질 특성 및 착색여부에 따라 달라졌다. **결론:** 본 연구를 통하여 소프트콘택트렌즈의 재질 및 착색여부에 의해 포도상구균의 흡착량이 달라지며, 착색여부보다 렌즈의 재질 특성이 균의 흡착에 많은 영향을 주는 것을 밝혔다. 또한 소프트콘택트렌즈에 침착된 항균단백질의 변성 정도가 렌즈 재질 및 착색여부에 따라 달라지며 이러한 결과가 균의 흡착량에 영향을 미친다는 것을 확인하였다.

주제어: 투명 소프트콘택트렌즈, 씨클 소프트콘택트렌즈, 재질, 착색, 포도상구균, 눈물단백질, 라이소자임, 전기영동