

정전류 전해를 이용한 은전극의 항균효과

최인호 · 이덕용 · 김익상*

서울대학교 의과대학 정형외과학교실 · 미생물학교실*

=Abstract=

Antibacterial Effects of Silver Electrodes Using Constant Current Electrolysis

In Ho Choi, M.D., Duk Yong Lee, M.D., and Ik Sang Kim, M.D.*

Department of Orthopedic Surgery, Department of Microbiology*, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

In order to investigate the mechanism of antibacterial effect of electrical stimulation on bone and joint infection, 5, 50 and 500 μ A constant currents were passed through the silver electrodes and stainless electrodes on the Brain Heart Infusion agar culture plates which contained *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*. After 24 hours of incubation, the widths of inhibitory zone around the electrodes were measured. The broth dilution susceptibility test was also used to verify the antibacterial effects of electrically generated silver in the Brain Heart Infusion broth. The results were as follows.

1. Silver anodes using constant currents manifested antibacterial effects definitely on the three bacteria, but stainless anodes showed none.
 2. Antibacterial effects of silver anodes on the three bacteria increased in proportion to current density. However, antibacterial effects were negligible when current density was under 2 nA/mm^2 .
 3. When current density was between 6.6 and 660 nA/mm^2 , there were no statistically significant differences in the antibacterial effects among 5, 50 and 500 μ A constant currents.
 4. The culture broth containing silver ions generated by constant current electrolysis also manifested antibacterial effects. The retentate showed stronger antibacterial effects than the filtrate.
- From these results, following conclusions were drawn.
1. The antibacterial effect of silver electrode using constant current was due to silver ions rather than electricity itself.
 2. The substance which showed most effective antibactericity effects was silver complex larger than 2,000 m.w. and heat-unstable.

Key Words: Silver electrode, Constant current electrolysis, Antibacterial effect.

서 론

1975년 Brighton¹⁾ 등과 Dwyer²⁾ 가 불유합된 골절예에서 5~20 μ A의 직류를 사용하여 좋은 성적을 얻었다고 보고한 이래 직류자극법을 이용한 불본 논문의 요지는 1986년 대한정형외과학회 제256차 월례집 담회에 발표되었음.

본 논문은 1985년도 서울대학교병원 특진연구비 보조로 이루어진것임.

유합의 치료는 하나의 유행을 이루었으며, 현재 직류자극법은 불유합된 골절치료의 한 방법으로 확고한 위치를 차지하고 있다. 우리나라에서도 1980년 이동³⁾에 의하여 준삽입성 직류자극기가 개발된 이후 이를 임상적으로 활발히 응용하고 있으며, 이 방법에 의한 치료에가 누적되면서 경험적으로 직류자극이 감염된 불유합의 치료에도 상당한 효과가 있음을 알게 되었다. 그러나 과연 감염이 골절치유과정에서 이차적으로 치료되는 것인지 혹은 직류자가 항균효과를 나타내어 감염이 치료되는 것인지

는 항상 의문시 되어 왔으며 본 연구를 시작하게 된 동기도 바로 여기에 있다.

전기의 항균효과에 대한 연구는 1925년 Beattie과 Lewis⁴⁾가 최초로 우유의 살균에 전기를 사용하고자 시도한 바 있으며, 1955년 Rosenberg²²⁾ 등과 1970년 Parielleux 와 Sicard²⁰⁾는 낮은 전압의 교류가 대장균에 항균효과를 나타낸다고 보고하였다. 한편 1972년 Rowley²³⁾는 교류가 대장균의 세대기간에는 별 영향을 끼치지 않아 직류가 세대기간을 상당히 증가시킨다고 하였다. 그러나 1974년 Barranco³⁾ 등은 이들의 실험결과는 전기분해 부산물에 의한 이차적인 현상일 뿐 전기자체가 항균효과를 나타내는 것은 아니라고 주장하였다. 1975년 Wilson 과 Miles²⁸⁾ 도 이에 동조하여 저주파 혹은 고주파의 직류이전간에 열이나 이차적으로 유리된 화학물질이 아닌 전기자체는 항균효과가 없다고 하였다.

이와같이 전기자체의 항균효과에 대한 정설이 세워지지 않은 가운데 1974년 Barranco³⁾ 등 및 Spadaro²⁶⁾ 등, 1976년 Berger^{6, 7)} 등, 그리고 1981년 Webster²⁷⁾ 등은 직류를 사용한 은전극이 우수한 항균효과를 나타낸다고 보고하였다. 이들은 과거부터 화상, 피부궤양등의 치료에 사용되어온 silver nitrate, silver sulfadiazine 등의 은제재가 큰 항균효과를 발휘하지 못한 것은 은이 용해도가 낮고 쉽게 단백질 또는 영화물등과 결합하여 국소조직에 침착하기 때문이라 생각하였으며, 낮은 전류량의 직류를 은전극에 통하여 계속적으로 은이온이 방출될 수 있도록 한다면 이러한 난점을 극복할 수 있다고 주장하였다. 그러나 아직까지 직류자극에 의한 은전극의 작용기전은 정확히 밝혀진바 없고, 어느 범위의 전류 밀도로 어느 기간동안 전기자극을 가하는 것이 가장 효과적인 항균효과를 나타내는지도 밝혀진바 없으며, 또한 항균효과를 나타내는 물질의 성상에 대하여도 확실히 알려져 있지 않다.

이에 저자는 곧 관절계 감염의 가장 빈번한 원인균이 되는 포도구균, 녹농균 및 대장균을 대상으로 각기 5, 50 및 500μA의 정전류 자극을 은전극에 가한 후 첫째, 은전극이 각균에 대하여 어떠한 항균효과를 나타내는가? 둘째, 각균에 대한 효과적인 전류 밀도의 범위는 무엇인가? 세째, 항균효과를 나타내는 물질의 성상은 무엇인가를 규명하고자 다음과 같은 실험을 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

아래와 같은 전기자극기, 전극 및 균주를 준비하여 실험에 임하였다.

가. 전기자극기 I.C.(Integrated Circuit)와 전류설정용 가변저항기가 부착되어 저항이 변함에도 불구하고 각기 5, 50 및 500μA의 정전류를 공급할 수 있는 능력을 갖고 있으며, 이것은 맵박형 직류와는 달리 일정한 전기량의 직류를 지속적으로 공급하는 특징을 갖고 있다. 전원으로는 가정용 9V짜리 건전지를 사용하였다²⁹⁾ (Fig. 1).

나. 전극 : 직경 8mm의 순도 99.8% 은사(silver wire)와 직경 6.4mm의 수술용 316L 스테인레스사(stainless wire)를 사용하였다.

다. 균주 : 1984년 2월부터 1985년 2월까지 서울대학교병원에서 치료받은 환자로부터 분리한 후 서울대학교 의과대학 미생물학교실에 보관중인 포도구균(Staphylococcus aureus), 녹농균(Pseudomonas aeruginosa) 및 대장균(Escherichia coli)을 사용하였다.

2. 실험방법

가. 전극설치 : 전극은 직경 8cm와 17cm의 배양접시 바닥에 양극과 음극이 서로 3cm 멀어지도록 평행하게 고정하였으며 원하는 길이의 노출부분을 제외하고는 teflon으로 절연시켰다 (Fig. 2).

나. 세균배양 및 전기자극 : 실험에 사용한 포도구균, 녹농균 및 대장균은 각각 BHI(Brain Heart Infusion)액체 배지에서 37°C, 24시간동안 배양한 후 균농도가 10⁹/ml가 되도록 조정한 다음 45°C로 유지된 살균된 BHI한천배지에 잘 섞어 균농도가 10⁹/ml가 되도록 하였다. 혼합액은 곧 전극이 놓여있는 배양접시에 20ml씩 부은뒤 실온에서 굳히고 각기 5, 50 및 500μA의 정전류가 흐르도록 전기자극기를 단후 37°C 부란기에서 24시간동안 호

Fig. 1. Pictorial view of constant current suppliers.

Fig. 2. BHI agar plates of *P. aeruginosa* incubated for 24 hours with 0.5, 50, and 500 μ A constant currents, respectively. Note the inhibition at the silver anode.

기성 배양한 후 결과를 관찰하였다.

다. 전류밀도와 항균효과의 관계 : 항균효과는 BHI 한천배지상에 나타난 전극주위의 균발육 억제대의 폭을 양각측정기(caliper)로 쟀어 서로 비교하였다.

길이를 일정하게 하고 전류량에 변화를 주었을 때 나타나는 항균효과를 알아보기 위하여 전극의 노출부분을 3cm로 일정하게 한 후 각 군마다 서로 다른 20군주가 들어있는 BHI 한천배지에 5, 50 및 500 μ A의 정전류 자극을 가하여 전류밀도가 각기 6.6, 66 및 660 η A/mm² ($5, 50, 500\mu$ A $\div 3.14 \times 8\text{ mm} \times 30\text{ mm}$)가 되도록 하였다.

또한 전류량을 일정하게 하고 전극의 길이에 변화를 주었을 때 나타나는 항균효과를 알아보기 위하여 전극의 노출부분에 각기 1.0, 3.3, 5.0, 6.5, 10.0 및 20.0cm인 전극에 5 μ A의 정전류 자극을 가하여

전류밀도가 각기 20, 7, 4, 3, 2, 1 μ A/mm²이 되도록 하였으며, 동일한 방법으로 37°C 부란기에서 24시간 동안 배양한 후 균발육 억제대의 폭을 측정하여 항균효과를 서로 비교하였다. 이 실험은 각 군마다 3회 반복 시행하였다.

라. 균발육억제대와 은농도 : BHI 한천배지내 은농도 측정은 균발육 억제대의 중간에 위치하는 전극으로부터 길이 30mm, 폭 1mm 간격으로 배지를 세분하여 양측으로 7mm씩 잘라낸 뒤 각각의 질량을 측정하고 냉동건조시킨후 은량을 측정하였다. 은량은 냉동건조된 배지절편을 0.05ml의 전한 질산에 녹인후 2.05ml의 이차증류수로 희석시킨다음 0.03 μ g/ml의 은농도까지 측정이 가능한 원자흡광분석계(atomic absorption spectrophotometer)를 사용하여 측정하였다. 억제대의 가장자리의 배지절편내에 함유하고 있는 은량은 BHI 한천액체배지 1ml 가

0.92 gm에 해당하므로 이를 환산하여 해당 균주의 최소발육억제농도로 간주하였다.

정전류 자극을 가하여 미리 은이 유리되도록 한 BHI 배양액의 항균효과를 검정하고, 항균효과를 나타내는 물질의 성상을 밝히기 위하여 100 ml의 BHI 배양액이 담긴 두개의 플라스크에 각기 50 cm 길이의 은사를 넣고 생물학적으로 무해하고 전기적으로 안정된 티타늄선으로 다리를 놓은 뒤 은전극에 500 μ A의 정전류 자극을 가하여 5°C에서 48시간동안 전기 분해가 일어나도록 하였다. 배양액의 항균효과 유무는 상기방법으로 처리된 양극과 음극의 배양액을 세균여과기(Millipore filter)에 통과시켜 무균상태로 만든 뒤 두배씩 연속희석시킨 BHI 배양액에 각기 10⁷/ml의 균을 식균하고 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 균성장 유무를 관찰하여 판정하였다. 또한 항균효과를 나타내는 물질의 성상을 밝히기 위하여 은이 유리된 양극쪽의 BHI 배양액 90 ml를 분자량 2,000이상의 물질을 여과할 수 있는 여과막에 48시간동안 여과시켜 저류액 9 ml와 여과액 81 ml를 얻은 후 상기와 같은 2배 연속희석법으로 균성장 유무를 관찰하였다. 그리고 항균효과를 나타내는 물질의 열에 대한 성질을 알아보기 위하여 원액을 56°C에서 30분간, 121°C에서 15분간 가열한 뒤 동일한 방법으로 균성장 유무를 관찰하였다. 저류액, 여과액 및 원액의 은농도 측정은 역

시 원자흡광분석계를 이용하였다.

실험 결과

1. 은전극의 항균효과

37°C 부란기에서 24시간동안 배양한 BHI 한천 배지상의 억제대는 은을 양극으로 하였을 경우에만 나타났고, 양극 및 음극을 모두 은을 사용하였을 때 양극에서 보다 큰 5~10 mm의 억제대가 형성되어 은양극이 항균효과와 밀접한 관계를 이루는 것을 알 수 있었다(Table 1).

5, 50 및 500 μ A의 정전류를 24시간동안 유지시킨 경우 양극쪽의 전극이 50 μ A에서 일부 검게 변색된 반면 500 μ A에서는 전극의 전 노출부위가 흑회색으로 변색되었다. 은양극의 변색을 유발하는 물질은 금속전자 현미경으로 정밀검정해본 결과 silver chlorde(AgCl)와 silver sulfide(Ag₂S)로 확인되었다.

2. 전류밀도와 항균효과의 관계

은전극의 노출부분의 길이를 3 cm로 일정하게 한 후 각 군마다 서로 다른 20균주가 들어있는 한천 배지에 5, 50 및 500 μ A의 정전류 자극을 가하고 억제대의 폭을 측정하여 t-검정한 결과 각 군의 모든 균주는 통계학적으로 유의한 차이가 없는 거의

Table 1. Bacterial growth inhibition near metal electrodes with constant current

Current (μ A)	Growth Inhibition Near Electrode*										Corrosion	
	Electrode		<i>S. aureus</i>				<i>P. aeruginosa</i>					
	Anode	Cathode	Anode	Cathode	Anode	Cathode	Anode	Cathode	Anode	Cathode		
0	Silver	Silver	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Silver	Stainless	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Stainless	Stainless	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Stainless	Silver	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5	Silver	Silver	++	0	++	0	++	0	0	0	0	
	Silver	Stainless	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Stainless	Stainless	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Stainless	Silver	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
50	Silver	Silver	++	0	++	0	++	0	±	0	0	
	Silver	Stainless	+	0	+	0	+	0	±	0	0	
	Stainless	Stainless	0	0	0	0	0	0	±	0	0	
	Stainless	Silver	0	0	0	0	0	0	±	0	0	
500	Silver	Silver	++	0	++	0	++	0	+	0	0	
	Silver	Stainless	+	0	+	0	+	0	+	0	0	
	Stainless	Stainless	0	0	0	0	0	0	+	0	0	
	Stainless	Silver	0	0	0	0	0	0	+	0	0	

* Inhibition was judged after 24 hours of incubation on the BHI agar plate.

0 : No inhibition

+ : Slight inhibition (< 5 mm clear zone)

++ : Strong inhibition (5~10 mm clear zone)

Table 2. Inhibitory zone of silver electrode

Current (μA)	Current Density ($\eta\text{A}/\text{mm}^2$)	<u>S. aureus</u>		<u>P. aeruginosa</u>		<u>E. coli</u>	
		Anode	Cathode	Anode	Cathode	Anode	Cathode
0	0	0.0±0.0*	0	0.0±0.0	0	0.0±0.0	0
5	6.6	5.6±0.8	0	16.6±1.3	0	6.4±1.2	0
50	66.0	5.1±1.0	0	11.0±1.2	0	6.8±0.7	0
500	660.0	5.2±1.2	0	10.7±0.9	0	6.4±0.7	0

* : (Mean±Standard deviation)mm, inhibitory zone width

Note : 20 different strains were tested on each bacteria.

Table 3. Effect of current density on the magnitude of inhibitory zone of silver anode

Current Density ($\eta\text{A}/\text{mm}^2$)	Electrode Length (cm)	<u>S. aureus</u>	<u>P. aeruginosa</u>	<u>E. coli</u>
1	20.0	0.0±0.0*	0.0±0.0	0.0±0.0
2	10.0	1.1±1.0	3.7±0.8	3.5±1.3
3	6.5	3.7±0.8	6.5±0.7	4.6±0.8
4	5.0	4.8±0.4	10.0±0.5	6.0±0.3
7	3.3	5.3±0.7	10.7±0.5	6.5±0.5
20	1.0	5.6±0.5	10.7±0.2	6.5±0.6

* (Mean±Standard deviation)mm, inhibitory zone width.

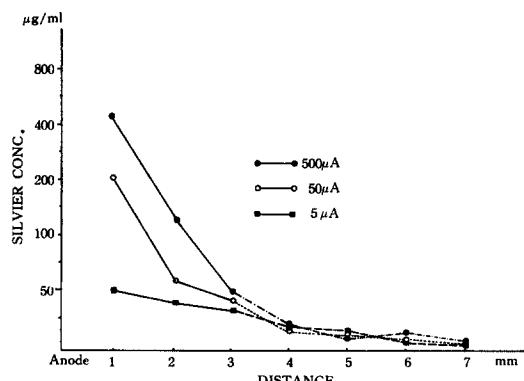


Fig. 3. Changes in Silver concentration within the inhibitory zone for S. aureus

같은 크기의 억제대를 형성하였으며 ($p<0.05$) (Fig. 2), $6.6 \sim 660 \text{ } \mu\text{A}/\text{cm}^2$ 의 전류밀도하에서 은전극은 세 가지 균종 농농균에 대하여 가장 큰 항균효과를 나타내었다 ($p<0.01$) (Table 2).

한편 은전극의 노출부분의 길이를 1.0, 3.3, 5.0, 6.5, 10.0 및 20.0 cm로 변화시키면서 각 균에 대하여 $5 \mu\text{A}$ 의 정전류 자극을 가하여 억제대의 폭을 측정하여 항균효과를 비교한 결과 세 가지 균에 대하여 은양극의 항균효과는 전류밀도에 비례하여 증가하였으나 $2 \text{ } \mu\text{A}/\text{mm}^2$ 이하에서는 현격히 감소하였다 ($p<0.05$) (Table 3).

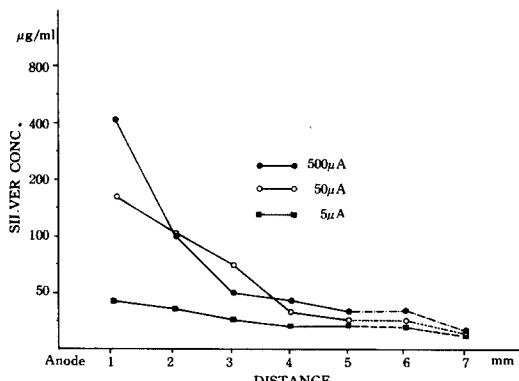


Fig. 4. Changes in silver concentration within the inhibitory zone for P. aeruginosa

3. 균발육억제와 은농도

균발육억제와 은농도와의 관계를 밝히기 위하여 BHI 한천배지를 억제대의 중심으로부터 1 mm 간격으로 세분하여 은농도를 측정한 결과 $5 \mu\text{A}$ 의 정전류로 자극한 경우에는 전극으로부터 멀어지더라도 은농도가 서서히 감소한 반면, 50 및 $500 \mu\text{A}$ 의 정전류로 자극한 경우에는 은농도가 급격히 감소하여 전극으로부터 3 ~ 4 mm 멀어진 지점에 이르면 5, 50 및 $500 \mu\text{A}$ 의 전류량 변화에 따른 은농도의 차이는 훨씬 줄어들었다. 실제로 각 균의 최소 발육억제농도로 간주될 수 있는 억제대 가장자리의 은

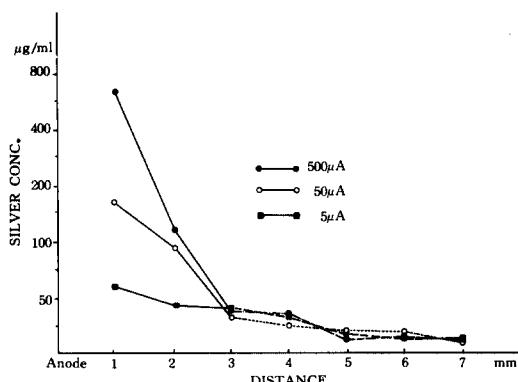


Fig. 5. Changes in silver concentration within the inhibitory zone for *E. coli*

을 여과하는 여과막에 통과시켜 여과액 및 분자량 2,000 이상의 물질이 원액보다 10배로 농축된 저류액을 분리하였으며, 이들의 항균효과를 2배 연속 회석 법으로 검정해 본 결과 원액에서는 은농도가 $45\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 균이 성장하지 않았으나 여과액에서는 은농도가 $2\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 회석하지 않은 경우에도 균이 성장하였고, 저류액에서는 은농도가 $400\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 $2^{\circ}, 2^{\circ}, 2^{\circ}$ 배까지 회석하여도 균이 성장하지 않다가 2° 배 회석하면 균이 성장하였다 (Table 4). 그러나 원액을 다시 56°C 에서 30분간, 그리고 121°C 에서 10분간 가열한 후 같은 방법으로 실험을 실시한 결과 전자의 경우에서는 균성장이 그리 심하지 않았으나 후자의 경우에는 균성장이 아주 극심하

Table 4. Inhibitory effects of silver treated broth

Dilution of Broth	<i>S. aureus</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>E. coli</i>		
	Original*	Retentate†	Filtrate°	Original	Retentate	Filtrate	Original	Retentate	Filtrate
2^{-0}	NG	NG	G	NG	NG	G	NG	NG	G
2^{-1}	G	NG	G	G	NG	G	G	NG	G
2^{-2}	G	NG	G	G	NG	G	G	NG	G
2^{-3}	G	NG	G	G	NG	G	G	NG	G
2^{-4}	G	G	G	G	G	G	G	G	G

NG : No growth

G : Growth

* : Concentration of silver is $45\mu\text{g}/\text{ml}$.

+ : Concentration of silver is $400\mu\text{g}/\text{ml}$.

° : Concentration of silver is $2\mu\text{g}/\text{ml}$.

Table 5. Effect of heat on antibacterial effects of silver treated broth

Heat	Growth
Control	-
56°C , 30min	+
121°C , 10min	++

- : No growth

+ : Slightly increased turbidity after 24 hours at 37°C

++ : Markedly increased turbidity after 24 hours at 37°C

농도는 5, 50 및 $500\mu\text{A}$ 의 전류량에 대하여 포도구균은 $35.5, 44.6$ 및 $51.1\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었고, 녹농균은 $23.9, 26.3$ 및 $39.9\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며, 대장균은 $46.3, 31.6$ 및 $45.7\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다 (Fig. 3, 4, 5).

이 결과는 왜 $6.6\sim660\mu\text{A}/\text{mm}^2$ 의 전류밀도 하에서 5, 50 및 $500\mu\text{A}$ 로 전류량에 변화를 폐하더라도 억제대의 폭에는 유의한 차이가 없었는지를 설명해준다.

또한 은이 미리 유리된 BHI 배양액의 항균효과와 항균효과를 나타내는 물질의 성상을 밝히고자 양극쪽의 BHI 배양액을 분자량 2,000이상의 물질

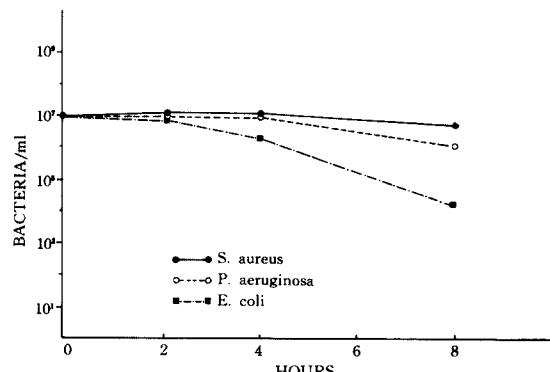


Fig. 6. Inhibitory effects of silver treated broth.

였다 (Table 5). 이 결과는 항균효과를 나타내는 물질의 대부분이 분자량이 2,000이상인 은복합물이고 열에 약한 속성을 갖는다는 것을 의미한다. 또한 배양액이 각 균에 대하여 어떻게 살균, 정균작용을 하는지 알아보기자 $45\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 은이 유리된 BHI 배양액에 $10^7/\text{ml}$ 의 균을 식균하고 8시간까지 배양하면서 집락계수법으로 2, 4, 8시간에 균수를 측정한 결과 배양액이 포도구균과 녹농균에 대하여는

정균효과를 나타낸 반면 대장균에 대하여는 살균효과를 나타내었다(Fig. 6).

고 찰

본 실험에서 5, 50 및 $500\mu\text{A}$ 의 정전류를 사용한 경우 스테인레스전극은 전혀 항균효과를 나타내지 못한 반면 은양극은 포도구균, 녹농균 및 대장균에 대하여 뚜렷한 항균효과를 나타내어 직류자극 보다는 은이 항균효과와 밀접한 관계에 있음을 알게 되었다. 그리고 억제대와 pH의 변화와의 관계유무를 알아보기 위하여 pH측정종이 (Toyo pH test paper)를 사용하여 억제대의 중앙으로부터 억제되지 않은 부분까지 2mm간격으로 pH를 측정해본 결과 전기자극을 가하지 않은 정상적인 BHI 배지는 pH가 7.4이었으나 전기자극을 가한 BHI 배지는 억제대와 억제되지 않은 부분 모두 pH가 8.2~8.4로 상승되어 있었다. pH의 상승은 균성장시의 단백질분해에 따른 ammonium hydroxide 양의 증가에 의한 것으로 해석되며 pH의 상승과 균억제대 형성과는 직접적인 관계가 없는 것으로 사료되었다.

은은 극히 드문 내성균을 제외하고는 대부분의 균에 대하여 광범위한 항균효과를 나타낸다^{14, 16, 18} 고 알려져 있으며 본 실험에서도 포도구균, 녹농균 및 대장균에 대하여 뚜렷한 항균효과를 나타내었다.

은이온은 sulfhydryl, amino, imidazole, carboxyl 및 phosphate 군등과 쉽게 결합하여 또한 chloride 와 결합하여 불용성의 비독성인 silver chloride를 형성한다^{10, 14, 15, 17, 24, 25, 27}. 은단백 부합물을 살균제로 사용되기도 한다²⁰. 본 실험에서도 $500\mu\text{A}$ 의 강한 정전류를 은전극에 통할 때 은양극이 흑회색으로 변색되었는데 이것은 전기분해 결과 은양극이 산화되면서 BHI 배지속에 풍부히 존재하는 sulfur 및 chloride이온과 결합하여 각기 silver sulfide와 silver chloride를 형성하기 때문이었다. 또한 본 실험에서 은전극의 노출부분의 길이를 3cm로 일정히 하고 5, 50 및 $500\mu\text{A}$ 의 전류량에 변화를 피하더라도 억제대 형성에 차이가 없었던 것은 이러한 은의 속성때문에 직류자극에 의하여 유리된 은이온이 배지내 여러 성분과 쉽게 은복합체를 이루어 분자량이 커짐으로써 전류량의 세기를 크게 하더라도 전극으로부터 멀리 확산되지 못하였기 때문이라고 설명될 수 있다.

Silver sulfadiazine의 항균효과에 대하여 Carr⁹ 등과 Rosenkranz 와 Rosenkranz²¹ 는 은이 세포막에 작용함으로써 생긴다고 한 반면, Modak 와 Fox¹⁹ 는 은이 DNA에 작용하여 생긴다고 하였고, Berger

"등은 직류자극에 의하여 유리된 은이온이 포도구균의 mesosme의 기능을 변경시킨다고 하였다.

Berger⁷ 등은 직류자극에 의하여 은양극으로부터 유리된 은이온의 상당부분은 재빨리 배지의 일정한 성분과 결합하여 불활성이 되며 아마도 초기에 유리된 은이온이 가장 효과적인 항균효과를 나타내는 것 같다고 한 반면, Kramer¹⁸ 등은 은이 골의 교원기질에 결합한 후에도 지속적인 항균효과를 나타낸다고 하였다. 본 실험결과는 각 균에 대한 은전극의 항균효과가 BHI 배양액의 항균효과에서 보듯이 은이온이 배지내 여러 성분과 결합하여 은복합물을 형성하더라도 항균효과가 없어지지는 않는다는 것을 의미한다.

은전극이 효과적인 항균효과를 나타내기 위하여 Becker 와 Spadaro⁸ 는 $1\mu\text{A}/\text{cm}^2$ 의 정전류를 은전극에 통하는 것이 효과적이라고 하였다. 반면 Webster²² 등은 흘수염의 치료에 은을 피복한 나이론직물을 이용하였는데 최소한 $0.7\sim1.6\mu\text{A}/\text{cm}^2$ 전류밀도를 유지하면서 전류밀도를 가해야만 유효한 항균효과를 얻을 수 있다고 하였고, Barranco⁹ 등은 은전극에 $10^{-4}\text{A}/\text{mm}^2$ 의 정전류자극을 가할때 포도구균에 대한 항균효과가 나타났다고 하였다. 본 실험의 결과는 세 가지 균에 대하여 전류밀도가 $2\eta\text{A}/\text{mm}^2$ 이하일 경우 균발육억제효과가 현저히 감소한 사실과 전류밀도가 $6.6\sim660\eta\text{A}/\text{mm}^2$ 일 경우 5, 50 및 $500\mu\text{A}$ 의 전류량 변화에 따른 억제대형성에 유의한 차이가 없던 점에 비추어 전류밀도를 최소한 $3\eta\text{A}/\text{mm}^2$ 이상으로 유지 할 수 있다면 보다 낮은 정전류로도 유효한 항균효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

Berger⁷ 등은 BHI 배양액 속에 담겨있는 은전극에 $75\mu\text{A}$ 의 정전류를 4시간 동안 통하여 은이유리된 배양액을 이용하여 포도구균, 녹농균등 16종의 균주에 대한 최소발육억제 은농도를 측정한 결과 $1.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 은농도에서 모든 균의 성장이 억제되었고 $10.05\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 은농도에서 모든 균이 살균되었다고 보고하였으나 그들의 실험은 $10^4\sim10^6/\text{ml}$ 의 적은 양의 균을 식균한 후 균성장억제여부를 관찰하였기 때문에 $10^3/\text{ml}$ 의 균을 식균하고 실험을 진행시킨 본 실험의 결과와 비교하는 것은 다소 무리가 있을 것 같다.

은은 흘수가 제한되어 있고 단백질, Chloride 등과 쉽게 결합하여 국소조직에 침착하기 때문에 전신적인 반응을 잘 나타내지 않으며^{11, 12, 14}, 직류자극에 의하여 유리된 은이 생체조직을 변색시키거나 육아조직 또는 상피조직의 발육을 억제하지 않았다는 보고²³는 직류를 이용한 은전극의 임상적 활용을 더

우 고취시키는 것이지만 이를 보다 효과적으로 감염된 불유합, 골수염 등의 골 관절 질환에 사용하기 위해서는 향후 동물실험을 통하여 본 실험결과에서 나타난 은전극의 항균효과를 재입증하고, 은전극이 정상조직 및 세포에 미치는 영향에 대한 연구가 뒤따라야 되리라 사료된다.

요약 및 결론

골 관절의 감염에 대한 전기 자극의 항균효과의 기전을 규명하기 위하여 포도구균, 녹농균 및 대장균에 대하여 5, 50 및 $500\mu\text{A}$ 의 정전류 자극을 은전극과 스테인레스 전극에 가한 후 그 항균효과를 관찰하고, 또한 정전류 전해로 은이온이 미리 유리된 배양액의 항균효과도 관찰하여 다음과 같은 결과와 결론을 얻었다.

1. 정전류 자극을 가한 은양극이 세 가지 균에 대하여 뚜렷한 항균효과를 나타낸 반면, 스테인레스 양극은 항균효과가 없었다.
2. 은양극의 항균효과는 전류밀도에 비례하여 증가하였으나 $2\eta\text{A}/\text{mm}^2$ 이하에서는 세 가지 균에 대하여 거의 항균효과가 없었다.
3. $6.6\sim660\eta\text{A}/\text{mm}^2$ 범위의 전류밀도일 때는 각 균주별로 전류량에 따른 항균효과의 차이가 없었다.

4. 정전류 전해로 은이온이 미리 유리된 배양액도 항균효과를 나타내었고, 특히 저류액에서 가장 강력한 항균효과가 나타났다.

이상의 실험결과들을 토대로 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정전류를 이용한 은전극의 항균효과는 전류 자체라기 보다는 은이온의 효과 이었다.
2. 항균효과를 나타내는 종묘 물질은 2,000 이상의 분자량을 가지며, 열에 약한 특성을 갖는 은복합물이었다.

REFERENCES

- 1) 이덕용, 최인호, 이상훈, 정문상: 전기 자극을 이용한 선천성 경골가관절증 치료 1례 보고. 대한정형외과학회지, 15:350, 1980.
- 2) 최인호: 정형외과 영역에서의 전기자극의 이용 최신의학, 26:943, 1983.
- 3) Barranco, S.D., Spadaro, J.A., Berger, T.J. and Becker, R.O.: *In Vitro Effect of Weak Direct Current on Staphylococcus Aureus*. Clin. Orthop., 100:250, 1974.
- 4) Beattle, J.M. and Lewis, F.C.: *The Electric Current (Apart from Heat Generated). A Bacteriological Agent in the Sterilization of Milk and Other Fluids*. J. Hyg. 24:123, 1925. (Quoted in Barranco, S.D., Spadaro, J.A., Berger, T.J., and Becker, R.O.: *In Vitro Effect of Weak Direct Current on Staphylococcus Aureus*. Clin. Orthop., 100:250, 1974).
- 5) Becker, R.O. and Spadaro, J.A.: *Treatment of Orthopaedic Infections with Electrically Generated Silver Ions*. J. Bone and Joint Surg., 60-A:871, 1978.
- 6) Berger, T.J., Spadaro, J.A., Bierman, Richard, Chapin, S.E. and Becker, R.O.: *Antifungal Properties of Electrically Generated Metallic Ions*. Antimicrob. Agents and Chemother., 10: 856, 1976.
- 7) Berger, T.J., Spadaro, J.A., Chapin, S.E. and Becker, R.O.: *Electrically Generated Silver Ions: Quantitative Effects of Bacterial and Mammalian Cells*. Antimicrob. Agents and Chemother., 9:357, 1976.
- 8) Brighton, C.T., Friedenberg, Z.B., Zemskey, L. M. and Pollack, P.R.: *Direct Current Stimulation of Non-union and Congenital Pseudarthrosis*. J. Bone and Joint Surg., 57-A, 368, 1975.
- 9) Carr, H.S., Wlodkowski, T.J. and Rosenkranz H.S.: *Silver Sulfadiazine in Vitro Antibacterial Activity*. Antimicrob. Agents and Chemother., 4:585, 1973.
- 10) Cochran, G.V.B.: *A Primer of Orthopaedic Biomechanics*. 1st Ed. p. 386, N.Y., Edinburgh, London and Melbourne, Churchill Livingstone, 1982.
- 11) Doull, J., Klaassen, C.D. and Amdur, M.O: *Toxicology*. 2nd Ed. p. 456, N.Y. Macmillan Publishing Co., 1980.
- 12) Dreisbach, R.H.: *Handbook of Poisoning: Prevention, Diagnosis and Treatment*. 11th Ed. p. 409, California, Lange Medical Publications. 1983.
- 13) Dwyer, A.F.: *The Use of Electrical Current Stimulation in Spinal Fusion*. Orthop. Clin. North Am., 6:265, 1975.
- 14) Goodman, L.S. and Gilman, A: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 7th Ed. p. 966, N.Y., Macmillan Publishing Co., 1985.

- 15) Gruen, L.C.:*Interaction of Amino Acids with Silver Ions.* *Biochem. Biophys. Acta.*, 386: 270, 1975.
- 16) Hendry, A.T. and Stewart, I.O.:*Silver-resistant Enterobacteriaceae from Hospital Patients.* *Can. J.Microbiol.*, 25:915, 1979.
- 17) Hill, W.R. and Pillsbury, D.M.: *Argyria; The Pharmacology of Silver.* Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1939 (Quoted in Becker, R. O. and Spadaro, J.A.:*Treatment of Orthopaedic Infections with Electrically Generated Silver Ions.* *J. Bone and Joint Surg.*, 60-A: 871, 1978).
- 18) Kramer, S.J., Spadaro, J.A. and Webster,D.A.: *Antibacterial and Osteoinductive Properties of Demineralized Bone Matrix Treated with Silver.* *Clin. Orthop.*, 161:154, 1981.
- 19) Modak, S.M. and Fox. C.L., Jr.:*Binding of Silver Sulfadiazine to the Cellular Components of Pseudomonas Aeruginosa.* *Biochem. Pharmacol.*, 22:2391, 1973.
- 20) Pareilleux, A. and Sicard, N.:*Lethal Effects of Electrical Current on Escherichia Coli.* *Appl. Microbiol.*, 19:421, 1970.
- 21) Rosenkranz, H.S. and Rosenkranz S.:*Silver Sulfadiazine:Interaction with Isolated Deoxyribonucleic Acid.* *Antimicrob. and Chemother.*, 2:373, 1972.
- 22) Rosenberg, B., Camp, L.V. and Krigas, T.:*Inhibition of Cell Division of Escherichia Coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode.* *Nature*, 205:698, 1965.
- 23) Rowley, B.A.:*Electrical Current Effects in E. Coli. Growth Rates.* *Proc. Soc. Biol. Med.*, 139:929, 1972.
- 24) Spadaro, J.A. and Becker, R.O.:*Some Specific Cellular Effects of Electrically Injected Silver and Gold Ions Bioelectrochem. and Bioenergetics*, 3:49, 1976.
- 25) Spadaro, J.A., Becker, R.O. and Bachman, C. H.:*Sizespecific Metal Complexing Sites in Native Collagen*, *Nature*, 225:1134, 1970.
- 26) Spadaro, J.A., Berger, J.T., Barranco, S.D., Chapman, S.E. and Becker, R.O.: *Antibacterial Effects ef Silver Electrodes with weak Direct Currents.* *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 6 : 637, 1974.
- 27) Webster, D.A., Spadaro, J.A., Becker, R.O. and Kramer, S.J.:*Silver Anode Treatment of Chronic Osteomyelitis.* *Clin. Orthop.*, 161:105,1981.
- 28) Wilson, G.S. and Miles, A.A.: *Principles of Bacteriology, Virology and Immunity.* 6th Ed. p.150, London, Edward Arnold, 1975.
- 29) Windholz, M., Budavari, Susan, Blumetti, R. F. and Otterbein, E.S.:*The Merck Index.* 10th Ed. p.1222, N.Y., Merck and Co., 1983.