

A Novel Wound Management Strategy with Silver-coated Vacuum Dressing on Infected Wound: In Vitro Study

Il-Jae Lee¹, Jung Hwa Choi², Min Ki Hong², Hyung-Min Hahn¹, Bo Young Park²

¹Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Ajou University School of Medicine, Suwon; ²Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Ewha Womans University, School of Medicine, Seoul, Korea

Abstract

Background: Nowadays, although Negative Pressure Wound Therapy's (NPWT) efficacy on healing wounds is widely known, it still has limited applications on infected wounds. Meanwhile, silver-containing foam dressings have been used for infected wounds ever since silver established a notable place in the material industry for its antibacterial properties. In this study, we design an experiment to investigate quantitatively the efficacy of silver-coated dressing materials and its antibacterial effects.

Methods: We prepared a NPWT device with silver-coated foam (Curavac®) and freeze-dried standard laboratory strains that are common wound pathogens: *S. aureus* (ATCC 25923), methicillin-resistant *S. aureus* (KCTC 3881), *E. coli* (KCTC 2571) and *P. aeruginosa* (KCTC 2513) bacteria and bouillon culture-medium, which were provided by the Hospital Microbiology laboratory. All reagents were used as-is without further purifications. Each pathogen was divided into five groups: 1) control, 2) pathogen with conventional pore foam (without pressure), 3) pathogen with silver-coated foam (without pressure), 4) pathogen with conventional pore foam (with pressure), and 5) pathogen with silver-coated foam (with pressure). The number of bacterial colonies in each agar plate was evaluated after 72 hours by applying dressings and measuring inhibition zones.

Results: The number of bacterial colonies of the a silver-coated foam group was significantly lower than the control group except one pathogen (*E. coli*) without pressure, and the bacterial colonies of silver-coated foam were significantly lower in all pathogen groups with pressure.

Conclusion: This study demonstrated that the antibacterial effects of silver-coated dressing materials using quantitative analysis. Severely injured patients often develop wound infections, for which there is no obvious therapeutic approach yet. This study can suggest a novel wound management tool for such patients while also expecting to achieve faster surgical intervention with definite antibacterial effects.

Keywords: Negative pressure wound therapy, Silver, Wound infection



Original Article

서론

감염된 창상에 적절한 드레싱 제재를 고르는 것은 상처 치유에 있어 매우 중요한 문제이다. 현재 음압 창상 치료제(negative pressure wound therapy, NPWT)는 다양한 종류의 열린 상처에 있어 표준 치료로 사용되고 있다. 하지만, 금기증이 아님에도 불구하고, 감염된 창상에 있어서는 그 사용을 꺼리는 경향이 있어 왔다. 뿐만 아니라 감염 정도가 심한 연부 조직 손상의 경우 음압 창상 치료제만으로 치료하기에는 한계가 있어 ‘항균 기능’을 가진 음압 창상 치료제의 필요성이 절대적으로 대두되고 있다. 최근에는 이러한 문제를 보완하고자, 은(silver)을 함유한 음압 창상 치료제가 개발하여 임상에서 사용하고 있다. 은 함유 창상 피복제는 일정한 농도의 은이 은을 배출하여 창상 감염 감소에 도움이 되어, 육아 조직의 빠른 형성 및 상피화를 촉진하여 결과적으로 빠른 상처 치유를 유도할 수 있는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 은 제재와 음압 창상 치료제 자체의 효과에 대해서는 많은 임상 보고들이 있어 왔으나, 은을 함유한 음압 창상 치료제의 항균 효과에 대해서는 허가 임상 정도 외에는 적절한 보고는 없는 실정이다. 이에 저자들은 임상에서 흔히 접할 수 있는 균주들을 배지에 접종하여 감염을 유발한 환경을 조성한 후, 음압 창상 치료제와 은을 함유한 음압 창상 치료제를 적용하여 그 항균 효과 및 억제 구역(inhibition zone)의 형성 정도를 비교해 보았다.

Received: May 17, 2017
Revised: June 21, 2017
Accepted: July 14, 2017

Corresponding author:
Bo Young Park, M.D., Ph.D.

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, School of Medicine, Ewha Womans University, 1071 Anyangcheon-ro, Yangcheon-gu, Seoul 07985, Korea
Tel: +82-2-2650-5149
Fax: +82-2-3410-0036
E-mail: byps@icloud.com

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2017 Korean Wound Management Society

재료 및 방법

실험 재료

균주

임상에서 흔히 창상 감염을 일으키는 균주 네 가지를 사용하여 실험을 진행하였다. 메티실린 저항성 포도상구균(Methicilin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 표피포도상구균(*Staphylococcus epidermidis*), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 대장균(*Escherichia coli*) *E. coli*의 네 균주를 선정하였으며, 각각 표준화된 균주인 ATCC 25923, KCTC 3881, KCTC 2513, KCTC 2571을 사용하였다.

실험 제재

은 함유 음압 창상 치료제로는 Curavac silver® (CGbio, Seoul, Korea)를 사용하였으며, 대조군으로는 일반 음압 창상 치료제인 Curavac® (CGbio, Seoul, Korea)을 적용하였다. 은 함유 음압 창상 치료제는 462 µm+75의 기공을 보이는 폴리우레탄 폼에 은-키토산을 3-5 µm의 얇은 피막을 입힌 것으로서, 상처에 적용 시에 일정한 농도의 은 이온을 방출하면서 항균력을 나타내게 된다.

실험 방법

Sachsenmaier 등[1]이 제시한 항균 모델을 적용하여 실험을 시행하였다. 대조군을 포함하여 5개의 군으로 배정하였으며, 각각의 군은 다음과 같다. 제1군: 대조군(pathogen only), 제2군: 일반 음압 창상 치료제 스펀지만 적용한 군(압력 적용 안함, pathogen + Sponge without pressure), 제3군: 은 함유 음압 창상 치료제 스펀지만 적용한 군(압력 적용 안함, pathogen + silver Sponge without pressure), 제4군: 일반 음압 창상 치료를 시행한 군(압력 적용함, pathogen + NPWT with pressure), 제5군: 은 함유 음압 창상 치료를 시행한 군(압력 적용함, pathogen + silver NPWT with pressure) (Fig. 1).

실험에는 Mueller-Hinton agar (MHA)를 사용하였다. MHA는 sulfonamide제, trimethoprim, tetracycline 감수성 결과에 영향을 주는 억제제의 함량이 낮으며, 병원균의 증식이 잘되는 장점이 있다. 접종할 균주를 취하여 0.5 McFarland 표준 탁도의 부유액을 제조한다. 표준 탁도 부유액을 식염수에 1:1,000으로 희석하여 아가 플레이트에 접종한다(spreading). 대조군에는 균주만 접종하고 아무런 처치를 시행하지 않으며(1군), 균주 접종 후 동일한 크기(3 cm×3 cm 직사각형)의 일반 음압 창상 치료제 스펀지(2군)와 은 함유 음압 창상 치료제 스펀지(3군)를 1개씩 올린다. 음압 유무에 따른 효과 비교를 위하여 동일 제품 플레이트에 음압기에 연결하여 음압을 가한 후(4군 및 5군) 총 5개의 플레이트를 상온에서 72시간 배양하는 과정을 10회 시행한다. 72시간이 경과한 후 각 플레이트 별로 균주 계수(colony count)를 측정하여 음압 치료의 항균성 및 은 함유 음압 창상 치료제의 효과를 확인한다. 또한, 동일한 방법으로 균주 접종 후 음압 창상 치료제(2군)와 은 함유 음압 창상 치료제(3군)를 적용하고, 37도에서 48시간 배양(incubation)한 후 억제대를 측정한다(Fig. 2).

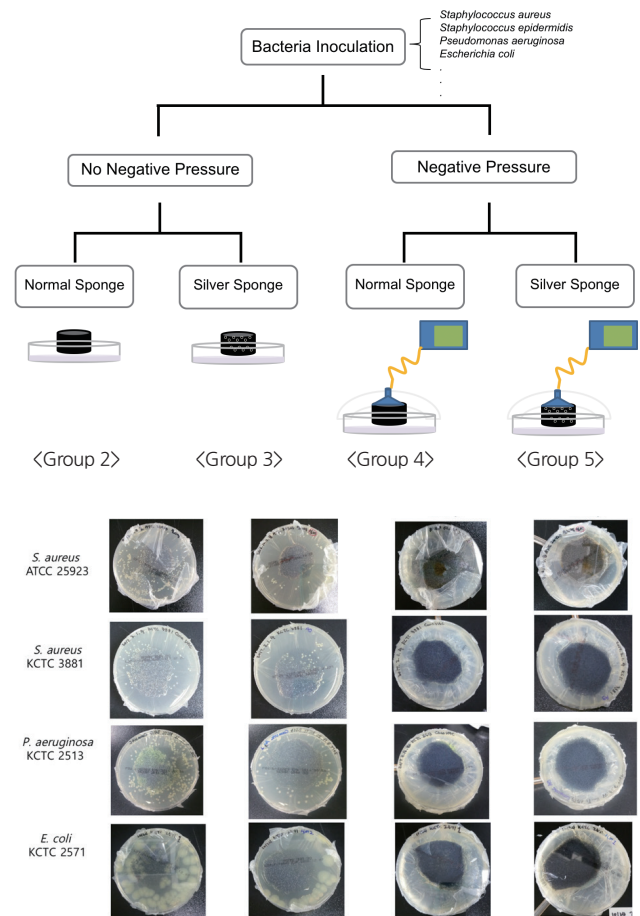


Fig. 1. A schematic diagram of experiment without or with silver-coated sponge: Group 2-pathogen with conventional pore foam (without pressure), group 3-pathogen with silver-coated foam (without pressure), group 4-pathogen with conventional pore foam (with pressure), and group 5-pathogen with silver-coated foam (with pressure).

통계

압력을 적용하지 않은 군(1, 2, 3군)에 대한 항균 효과 비교는 비모수 검정 방법인 Kruskal-Wallis H test를 시행하였다. 또한, 항균력 자체의 비교를 위해서는 압력을 적용하지 않은 군(2, 3군) 내와 압력을 적용한 군(4, 5군) 내의 비교는 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 통계 분석 소프트웨어는 SPSS (SPSS for Windows 15.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하였다.

결과 및 고찰

균주 계수를 이용한 항균 효과 비교

단순 수치 비교상 균주 접종 72시간 후 각 군 별로 측정된 균주 계수의 평균값은 대장균을 제외하고는 모든 군에서 '대조군(1군) > 일반 음압 창상 치료제 사용군(2군) > 은 함유 음압 창상 치료제 사용군(3군) > 압력을 적용한 일반 음압 창상 치료제 사용군(4군) > 압력을 적

용한 은 함유 음압 창상 치료제 사용군(5 군)의 순서로 나타났다(Figure 1). 하지만, 이 값은 통계적으로 유용성은 보이지 않았고, 비정규 분포를 나타내는 양상이었다. 은 함유 음압 창상 치료제 자체의 항균력을 알아보기 위하여, 압력을 걸지 않은 경우(제1, 2, 3 군)와 압력을 건 경우(제4, 5 군)내에서 각각의 군 간 균주 계수의 평균값을 측정해 본 결과, 음압을 걸지 않은 경우에 있어서는 대장균을 제외한 모든 균에서 은 함유 음압 창상 치료제가 통계적으로 유의미하게 균주 계수 평균값이 낮은 양상을 보였다(포도상 구균: $P=0.024$, 내성 포도상 구균: $P=0.016$, 녹농균: $P=0.037$). 음압을 건 경우에 있어서는 모든 균에서 은 함유 음압 창상 치료제가 유의한 균주 계수 평균값 감소를 나타내었다(포도상 구균: $P=0.029$, 내성 포도상구균: $P=0.019$, 녹농균: $P=0.021$, 대장균: $P=0.043$) (Table 1).

억제대 측정

대조군이 일반 스폰지의 경우에는 억제대가 전혀 나타나지 않았다. 은 함유 스폰지의 경우 모든 균주에서 억제대가 관찰되어 감수성이 있는 것으로 나타났다. 억제대 크기는 포도상 구균, 내성 포도상 구균, 녹농균, 대장균에서 0.3 cm에서 1.5 cm의 값으로 나타났고, 내성 포도상 구균(KCTC 3881: MRSA)에서 가장 큰 평균값을 보여, 항균력이 가장 좋은 것으로 나타났다. 하지만, 군 간 억제대의 평균값 비교

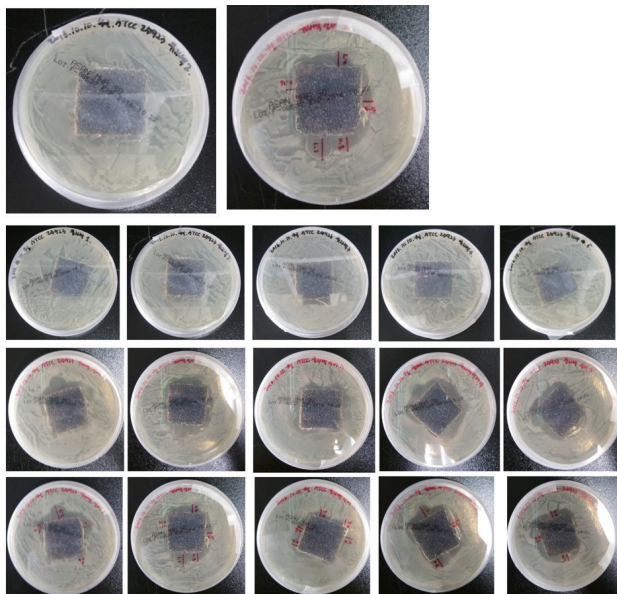


Fig. 2. Measurement of inhibition zone.

Table 1. Mean colony count

	Group 1	Group 2	Group 3	P-value	Group 4	Group 5	P-value
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	476.3	287.3	74.3	0.024	65.8	12.8	0.029
<i>S. aureus</i> (KCTC 3881): MRSA	446.4	298.8	112.1	0.016	28.4	8.0	0.019
<i>P. aeruginosa</i> (KCTC 2513)	342.4	85.6	48.0	0.037	40.2	14.7	0.021
<i>E. coli</i> (KCTC 2571)	190.3	66.0	25.5	0.095	35.3	10.3	0.043

는 통계적으로 의미 있는 값을 보이지는 않았다($P>0.05$).

고찰

연조직 결손으로 인한 창상에서 오염으로 인한 감염증은 치료 기간이 오래 걸리며, 심할 경우 전신적인 염증으로 퍼져 생명에 중대한 영향을 줄 수 있다. 따라서, 항균력을 보유한 창상 치료제를 만들기 위한 노력은 지속되어 왔다. 임상에서 사용되는 창상 치료제 중 항균력을 가진 제품은 주로 '은 제재(silver-containing material)'에 초점이 맞추어져 있다. 은은 효과적인 항균 제재로써 오랜 기간에 걸쳐 상처 치료에 사용되어 왔다[2]. 이러한 은 제재는 국소적으로 상처 부위에 작용하여 세균 내성의 위험을 낮추는 역할을 하게 된다[3]. 또한, 은 나노 입자는 입자의 크기가 작아 세포 표면으로 흡수되는 것이 용이하며, 뛰어난 환원 능력과 항균능력으로 각종 항균 드레싱의 기본 재료로 인정받고 있다[4]. 최근에는 감염증의 소견을 보이는 창상에 은이 일종의 항균장벽(antimicrobial barrier)으로 작용하는 것으로 알려져서[5], 국소적 창상 감염을 보이거나 혹은 감염의 위험도가 높은 상처에 있어서 은 제재가 널리 사용되고 있다.

음압 창상 치료 시스템(NPWT)은 일반적인 드레싱으로 치유하기 힘든 만성 또는 급성 상처의 치유를 위하여 진공원을 이용한 일정한 음압을 상처에 가해 삼출물을 제거하면서 상처 혈류를 증가시켜, 창상 감염을 막고 빠르게 상처를 치유하는 방법이다. 이러한 음압 창상 치료법은 대부분의 급만성 창상으로 그 적응증이 확대되고 있다. 하지만, 음압 창상 치료법은 국소적 감염증이 있는 삼출물이 많은 창상의 경우에는 일종의 상대적 금기증처럼 생각되어, 감염증이 어느 정도 호전된 후부터 음압 창상 치료법을 적용하고 있다. 항균력을 가진 은제 제품을 창상에 닿는 스폰지 부분에 코팅한 은 함유 음압 창상 치료 시스템이 개발되어 있으나, 항균력에 대한 정확한 근거가 없어 임상에서 널리 사용되고 있지 못하고 있다. 기존의 연구에서도 항균성 음압 창상 드레싱을 적용한 사례는 거의 없으며, Sachsenmaier 등이 2013 년도에 본 실험의 근간이 되는 실험 모델을 제시하며, 은 함유 스폰지의 시간에 따른 은 방출 농도를 측정하는 논문 정도가 보고되어 있다.

이에 저자들은 항균력에 초점을 맞추어 흔히 감염증을 일으키는 균을 접종한 실험 모델에, 음압을 적용하지 않은 '항균 스폰지 자체'와 음압을 적용했을 때의 은 함유 스폰지의 항균력에 대해서 실험을 시행해 보았다. 즉, 본 실험은 은 함유 스폰지 자체의 독립적인 항균력에 대한 정량적인 실험이라 할 수 있다. 실험 결과 음압을 적용하지 않은 상태에서, 은 함유 스폰지는 대장균을 제외한 포도상 구균, 메티실린 내성 포도상구균, 녹농균에서 의미 있게 균주 계수를 감소시키는 것으로 나타났다. 또한, 흥미롭게도 음압을 적용한 경우에는 통계적

으로 의미 있는 값은 나오지는 않았으나, 대장균을 제외한 모든 균의 단순 균주 계수 비교에서 음압을 적용하지 않은 은 함유에서 보다 균주 계수가 낮게 나타났다. 즉, 앞으로 추가적인 연구 및 검증이 필요할 것이나, 음압 자체도 균주 계수를 낮추는 효과가 충분히 있을 것으로 생각된다.

또한, 음압을 적용한 환경에서, 은 함유 스폰지는 포도상 구균, 메티실린 내성 포도상구균, 녹농균, 대장균 등 모든 균에서 의미있게 균주 계수를 낮추는 결과를 보였다. 결과적으로 음압의 적용 여부와 관계없이 은 함유 스폰지는 의미 있게 균주 계수를 낮춘다고 할 수 있다. 억제대 연구에 있어서도 통계적으로 의미 있는 값은 아니었지만, 은 함유 스폰지 자체가 모든 균에 있어서 억제대를 형성하는 것을 볼 수 있었으며, 특히 메티실린 내성 포도상구균에서 크게 나타나는 양상을 보였다. 이는 이전의 연구와 일치하는 내용으로[6], 실제로 환자에게 적용하는 것처럼 음압이 추가적으로 적용된다면, 항균력이 증대될 수 있을 것이라고 추측해볼 수 있을 것이다.

상처 감염은 상처를 치유하는 임상의에 있어서 해결해야만 하는 중요한 문제이다. 창상 감염은 상처 치유를 지연 시키며, 결과적으로 환자의 의료 및 사회적 비용을 증가시키게 된다. 상처 감염을 치료하기 위하여 다양한 드레싱 재료들이 사용되고 있으나, 은 재료를 제외하고는 각각의 재료의 항균성에 대해서는 정확한 근거를 가지고 사용하고 있지는 않는 것이 현실이다. 저자들은 최근에 다양한 창상에 표준 치료로 적용되고 있는 음압 창상 치료제에 은이 함유된 제품의 항균력에 대하여 정량적 분석을 시행해 보았으며, 표준화된 실험 모델에서 은 함유 스폰지의 항균력에 대해서 확인할 수 있었다. 본 실험 결과 일정한 농도의 은을 방출하는 은 함유 스폰지를 적용한 음압 창상 치료제의 항균력에 대한 근거(evidence)를 확보할 수 있었으며, 이러한 제제는 감염된 상처를 치료하는데 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

하지만, 추후 은의 문제점이 세포 독성이나, 은의 함유량 및 방출량의 실제 측정, 임상 연구(clinical outcome)에 적용하여 실제 환자에 은 함유 음압 치료기를 사용할 때 조직에의 침투 정도(penetration) 및 항균력에 대한 연구는 추가적으로 시행되어야 할 것으로 생각된다.

결론

은을 함유한 음압 창상 치료제 자체의 항균력을 알아보기 위하여, 실험적 감염 모델을 만들어 음압이 적용되지 않은 환경과 음압이 적용된 환경 모두에서 평균 항균 계수와 억제대 측정을 시행하였다. 이 결과 음압이 적용되지 않은 경우 및 음압이 적용된 경우 모두에서 은 함유 음압 창상 치료제의 항균력을 확인할 수 있었다. 따라서, 은 함유 음압 창상 치료는 다양한 감염된 상처를 치료하는데 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

Acknowledgment

This research was supported by a grant of the Korea Health Technology R&D Project through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI), funded by the Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (grant number: HI16C0966).

References

1. Sachsenmaier S1, Peschel A, Ipach I, et al. Antibacterial potency of V.A.C. GranuFoam Silver(®) Dressing. *Injury* 2013; 44:1363-7.
2. Lansdown AB. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl Dermatol* 2006;33:17-34.
3. Percival SL, Bowler PG, Russell D. Bacterial resistance to silver in wound care. *J Hosp Infect* 2005;60:1-7.
4. Catledge SA, Fries MD, Vohra YK, et al. Nanostructured ceramics for biomedical implants. *J Nanosci Nanotechnol* 2002; 2:293-312.
5. An expert working group consensus. Appropriate use of silver dressings in wounds. *Wounds International* 2012:4-20
6. Kim JH, Park MC, Lee IJ, et al. The use of vacuum-assisted-closure therapy for the treatment of Methicillin-Resistant-Staphylococcus aureus infected wounds. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 2006;33:632-6.