

In Vitro Antimicrobial Activities of NanoSilver-coated Gauze against Clinical Isolates

Young Uh, Gyu Yul Hwang, Kap Jun Yoon, Hyo Youl Kim¹, Hong Sun Uh², O Kab Kwon³

Departments of Laboratory Medicine and ¹Infectious Diseases, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju; ²Uh Urologic Clinic, ³Nepes Corporation, Seoul, Korea

Background: It is well-known that silver ions and silver compounds are broad-spectrum antimicrobial agents effective against gram-positive and gram-negative bacteria, and yeasts. Thus, silver ions, as an antibacterial agent, have been used in the components of materials used in medical devices or coatings. Recently, advances in nanotechnology have enabled manufacturers to develop silver particles of a nanometer size with a safer and more effective antimicrobial activity. So, we evaluate the antimicrobial activity of nanoSilver-coated gauze against clinical isolates.

Methods: Three kinds of nanoSilver-coated gauzes (100Å, 800Å, and 1,500Å) were tested for antimicrobial activity by the disk diffusion method. The organisms tested included clinical isolates of nonfermentative gram-negative bacilli (143 isolates), aerobic gram-negative bacteria (188), aerobic gram-positive bacteria (397), anaerobic bacteria (46), and yeasts (161), and three reference ATCC strains.

Results: The susceptible rates to NanoSilver of nonfer-

mentative gram-negative bacilli (NFB), aerobic gram-negative bacteria and aerobic gram-positive bacteria were 87%, 87% and 78%, respectively. Antimicrobial activity of NanoSilver against imipenem-resistant NFB, extended spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae*, and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was similar to that against imipenem-sensitive NFB, ESBL non-producing *Enterobacteriaceae*, and methicillin-susceptible *S. aureus*.

Conclusion: NanoSilver-coated gauze exhibits broad spectrum antimicrobial activities to a large number of gram-negative and gram-positive bacteria including imipenem-resistant NFB, ESBL producing *Enterobacteriaceae*, and MRSA. (Korean J Clin Microbiol 2007; 10:37-43)

Key Words: Silver nanoparticle, Antimicrobial activity, Nonfermentative gram-negative bacilli, Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria

서 론

은(silver)은 원소번호 47인 고가의 금속으로 화학명은 Argentum (Ag)이며, 금속 가운데 전기 및 열 전도율이 가장 높다. 은의 발견 시기는 정확히 알려진 바 없으나 기원전 3,500년 경에 이집트에서 화폐로 사용하였고, 기원전 1,000년경에는 물을 깨끗이 하는 위생학적 용도로 은주전자나 음료수에 은 동전을 넣어 이용하였다. 또한 500년 전에는 수술 봉합에 은을 사용한 바가 있으며, 18세기 후반에는 0.5~1.0% 질산은 용액이 신생아 안감염의 빈도를 줄일 수 있다는 것이 보고되었고, 19세기 초에는 창상감염의 예방에도 사용되었다[1-3]. 이후로 1920년대까지 은은 항균제의 가장 중요한 물질로 자리를 잡았다. 1920~1940년 사이에는 은의 항균 작용에 대한 약물학적 연구

가 활발히 진행되었고, 최근의 연구에 의하면 대부분의 병원성 세균은 생체의 시험에서 10~40 ppm Ag⁺ 농도에 사멸되는 것으로 보고되었다[1]. 이처럼 은의 항균력은 강력할 뿐만 아니라 항균 범위가 매우 넓어 그람음성과 그람양성 세균, 효모, 바이러스 등에도 항균 효과를 가진 것으로 알려져 있다[2,3]. 이런 이유로 드레싱에 은을 입혀 창상 치료나 화상 치료에 사용하였고, 인공삽입물, 요도 카테터를 포함한 다양한 카테터나 체내 삽관 튜브에 은을 입혀 감염을 예방하는 데 사용되어 왔다[1].

은은 다양한 형태로 의료 분야에 이용되고 있으나, 질산은 용액은 자극성 때문에 콜로이드 재질로 바뀌었고, penicillin과 silver sulphadiazine이 개발된 1940년대까지만 사용되었다. 이후 은이온의 창상 부위 침투를 증가시킬 수 있는 기술이 개발됨에 따라 methicillin 내성 포도알균, vancomycin 내성 장알균 등에도 안전하고 효과적으로 항균 작용을 할 수 있게 되었고, 창상 재감염의 예방에도 효과가 증대되었다[1]. 최근에는 지속적으로 은이온이 방출되는 드레싱이 개발되어 창상 치료에 획기적인 발전의 계기가 마련되었으나, 회사별로 은이온

Received 4 January, 2007, Accepted 12 January, 2007

Correspondence: Young Uh, Department of Laboratory Medicine, Yonsei University Wonju Christian Hospital, 162, Ilsan-dong, Wonju 220-701, Korea. (Tel) 82-33-741-1592, (Fax) 82-33-731-0506, (E-mail) u931018@yonsei.ac.kr

방출 속도와 구성물, 작용기전에 차이가 많다[1-3]. 또한, 나노 화학 기술의 발전으로 직경 20 nm 이하의 은나노(silver nanoparticle, NanoSilver)를 만들 수 있게 되었다[1]. 은나노는 은이온의 용해도가 높고, 다른 은 형태와는 달리 세포독성이 거의 없으며, 은금속에 비해 가격이 저렴한 장점이 있기 때문에 감염 예방과 치료에 많은 도움을 줄 것으로 기대되고 있다 [1,4].

이에 저자들은 (주)네패스(Nepes Co. Ltd., 서울)의 silver ion cluster beam (ICB) sputtering 기술[5]을 응용하여 나노실버를

코팅한 거즈(gauze)의 각종 병원성 세균과 효모에 대한 항균력을 검증하였다.

재료 및 방법

은이온(Ag⁺) 거즈는 2006년 8월 ICB sputtering 기술을 이용하여 은나노를 100Å, 800Å과 1,500Å의 세 종류의 두께로 입힌 천(거즈)을 대략 1 cm²로 잘라 ethylene oxide 가스로 멸균 하였다.

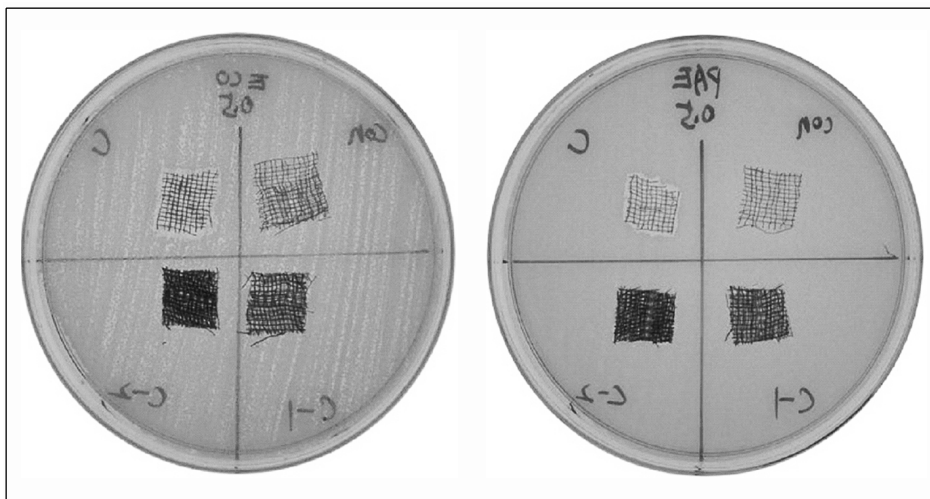


Fig. 1. Growth inhibition of *E. coli* left and *P. aeruginosa* right by nano-Silver. (Left) Upper gauze, 1,500Å nanoSilver-coated gauze; (Right) Upper gauze, control gauze without Nano-Silver; Left and right lower gauzes; NanoSilver-coated gauze was reversely attached to Mueller-Hinton medium.

Table 1. Antimicrobial activity of NanoSilver-coated gauze against nonfermentative gram-negative bacilli (NFB)

| Organisms (No. of isolates) | Imipenem | NanoSilver-coated gauze | | | | | | | | |
|--|----------|-------------------------|---|---|------|----|----|--------|---|----|
| | | 100Å | | | 800Å | | | 1,500Å | | |
| | | R | I | S | R | I | S | R | I | S |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (74) | S (41) | 28 | 6 | 7 | 5 | 3 | 33 | 0 | 1 | 40 |
| | I/R (33) | 29 | 4 | 0 | 0 | 4 | 29 | 0 | 2 | 31 |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (22) | I/R (22) | 20 | 1 | 1 | 11 | 10 | 1 | 5 | 9 | 8 |
| | S (19) | 17 | 0 | 2 | 4 | 6 | 9 | 0 | 2 | 17 |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> (22) | I/R (3) | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 3 |
| | S (4) | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 4 |
| <i>Burkholderia cepacia</i> (11) | I/R (7) | 6 | 1 | 0 | 0 | 3 | 4 | 0 | 0 | 7 |
| | S (4) | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 4 |
| <i>Alcaligenes xylosoxidans</i> ssp. <i>xylosoxidans</i> (2) | I/R (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | S (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Pseudomonas putida</i> (2) | S (2) | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Chryseobacterium indologenes</i> (1) | R (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Acinetobacter junii</i> (1) | S (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Ochrobactrum anthropi</i> (1) | S (1) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Pseudomonas</i> spp. (1) | R (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Unidentified NFB (6) | S (6) | 5 | 1 | 0 | 0 | 1 | 5 | 0 | 0 | 6 |

Abbreviations: R, resistant; I, intermediate; S, susceptible; NFB, nonfermentative gram negative bacilli.

Table 2. Antimicrobial activity of NanoSilver-coated gauze against *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas* and *Haemophilus influenzae*

| Organisms (No. of isolates) | ESBL (No.) | NanoSilver-coated gauze | | | | | | | | |
|---|------------|-------------------------|---|---|------|----|----|--------|---|----|
| | | 100Å | | | 800Å | | | 1,500Å | | |
| | | R | I | S | R | I | S | R | I | S |
| <i>Escherichia coli</i> (78) | - (72) | 61 | 9 | 2 | 1 | 13 | 58 | 0 | 2 | 70 |
| | + (6) | 5 | 1 | 0 | 0 | 1 | 5 | 0 | 0 | 6 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> (49) | - (32) | 24 | 8 | 0 | 3 | 9 | 20 | 1 | 8 | 23 |
| | + (17) | 14 | 3 | 0 | 1 | 4 | 12 | 0 | 4 | 13 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> (7) | - (6) | 1 | 5 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 6 |
| | + (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| <i>Klebsiella ornithinolytica</i> (1) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| <i>Klebsiella planticola</i> (1) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> (11) | | 8 | 3 | 0 | 0 | 2 | 9 | 0 | 2 | 9 |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> (6) | | 4 | 1 | 1 | 0 | 1 | 5 | 0 | 0 | 6 |
| <i>Enterobacter intermedium</i> (1) | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Serratia marcescens</i> (9) | | 6 | 3 | 0 | 0 | 1 | 8 | 0 | 0 | 9 |
| <i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i> (8) | | 7 | 1 | 0 | 0 | 1 | 7 | 0 | 0 | 8 |
| <i>Proteus mirabilis</i> (4) | | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 4 |
| <i>Proteus vulgaris</i> (3) | | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| <i>Citrobacter freundii</i> (2) | | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Citrobacter farmeri</i> (1) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Citrobacter koseri</i> (1) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Citrobacter species</i> (1) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Salmonella group C</i> (2) | | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| <i>Providencia stuartii</i> (1) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> (1) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Aeromonas</i> spp. (1) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |

Abbreviations: ESBL, extended spectrum β-lactamase; R, S, I, see Table 1; -, negative; +, positive.

은이온(Ag⁺) 거즈의 항균력은 디스크확산법과 동일한 방식으로 시험하였다. 시험 대상 균종은 표준균주로 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922와 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 각 1주를 사용하였다.

임상분리 균주는 원주기독병원 진단검사의학과에 배양이 의뢰된 검체에서 분리된 균종을 대상으로 하였다. 통성 혐기성 세균은 2006년 11월 15일부터 2006년 12월 22일까지 임상검체에서 분리된 균주를 대상으로 통상적인 디스크확산법[6]과 은이온(Ag⁺) 거즈 시험을 동시에 시행하였으며, 동일 환자에서 반복되어 분리되는 균주는 처음 분리된 균주만을 분석 대상으로 하였다. Vancomycin 내성에 따른 은이온(Ag⁺) 거즈의 항균력을 평가하기 위해 대변의 vancomycin 내성 장알균 선별검사에서 분리된 장알균을 분석 대상에 포함하였다. 통성 혐기성 세균 가운데 CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 항균제 감수성검사 기준이 없는 균종의 항균제감수성 배지는 Mueller-Hinton 배지를 이용하였고, 균 부유액은 0.5 McFarland 탁도로 맞추었다. 혐기성 세균은 2006년에 임상검체에서 분리되어 냉

동 보관된 46균주를 대상으로 5% 면양혈액 한천배지에 접종한 후 혐기성 상자(Forma Scientific Co., Marieta, Ohio, USA)에서 배양하였다. 혐기성 세균의 동정은 rapid ID A (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France)를 이용하였다. 효모균은 2006년 8월부터 10월까지 분리된 161균주를 대상으로 발아관 시험을 시행한 후 양성이면 *Candida albicans*로 동정하였고, 발아관 시험 음성인 균주는 ID 32C (bioMérieux)를 이용하여 동정하였다. 효모균의 은이온(Ag⁺) 거즈 항균력 검사를 위한 배지는 1 리터의 탈이온수에 34.53 g의 MOPS (4-morpholinepropanesulfonic acid)를 첨가하여 만든 완충액 900 mL에 RPMI- 1640 배지 (Sigma Co., St Louis, Mo, USA) 10.4 g, 포도당(Sigma) 18 g, 한천(Bacto agar, Difco, Detroit, MI, USA) 15 g을 첨가한 후 pH를 7.0으로 맞추고, MOPS 100 mL를 첨가한 뒤에 가압 멸균한 배지를 4 mm 배지 두께가 되도록 평판접시에 분주하였다. 효모균과 혐기성 세균의 접종 균 부유액은 0.5 McFarland 탁도로 맞추었다.

은이온(Ag⁺) 거즈는 균종별로 항균력 측정용 배지에 균액을

접종한 후 은나노가 입혀진 쪽을 배지에 붙여 CLSI의 권장 방법대로 배양한 후 판독하였다. 은이온(Ag⁺) 거즈의 항균력 판독은 은이온(Ag⁺) 거즈와 주변에서 균증식이 완전히 억제되면 감수성, 은이온(Ag⁺) 거즈 내부에만 균증식이 억제되면 중간, 은이온(Ag⁺) 거즈 내부에 균증식이 있으면 내성으로 판독하였다. 또한 본 연구의 예비 실험으로 은이온(Ag⁺) 거즈를 입힌 면과 입히지 않은 면을 정도관리 군주와 임상분리주를 대상으로

항균력 시험용 배지에 각각 붙여 시험하였다(Fig. 1).

결 과

3군주의 표준군주에 대한 은이온(Ag⁺) 거즈의 항균력은 100Å에서는 모두 내성이었고, 800Å과 1,500Å에서는 모두 감수성이었다.

Table 3. Antimicrobial activity of NanoSilver-coated gauze against aerobic gram-positive organisms

| Organisms (No. of isolates) | Methicillin | Vancomycin | NanoSilver-coated gauze | | | | | | | | |
|---|-------------|------------|-------------------------|---|---|------|----|----|--------|----|-----|
| | | | 100Å | | | 800Å | | | 1,500Å | | |
| | | | R | I | S | R | I | S | R | I | S |
| <i>Staphylococcus</i> and <i>Micrococcus</i> | | | | | | | | | | | |
| <i>S. aureus</i> (149) | S (24) | | 23 | 1 | 0 | 2 | 18 | 4 | 0 | 2 | 22 |
| | R (125) | | 119 | 6 | 0 | 2 | 40 | 83 | 0 | 3 | 122 |
| CNS (53) | S (12) | | 12 | 0 | 0 | 1 | 2 | 9 | 0 | 0 | 12 |
| | R (41) | | 41 | 0 | 0 | 2 | 10 | 29 | 0 | 5 | 36 |
| <i>S. epidermidis</i> (21) | S (5) | | 3 | 1 | 1 | 0 | 2 | 3 | 0 | 0 | 5 |
| | R (16) | | 14 | 1 | 1 | 0 | 4 | 12 | 0 | 1 | 15 |
| <i>S. hominis</i> (11) | S (8) | | 7 | 0 | 1 | 1 | 2 | 5 | 0 | 0 | 8 |
| | R (3) | | 3 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| <i>S. capitis</i> (1) | S (3) | | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 3 |
| | R (1) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>S. haemolyticus</i> (1) | R (1) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| <i>S. xylosus</i> (1) | S (1) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>M. luteus</i> (1) | | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Streptococcus</i> | | | | | | | | | | | |
| <i>β-hemolytic group A</i> (3) | | | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| <i>β-hemolytic group B</i> (6) | | | 3 | 2 | 1 | 0 | 2 | 4 | 0 | 0 | 6 |
| <i>β-hemolytic group C</i> (1) | | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>β-hemolytic group F</i> (5) | | | 4 | 0 | 1 | 1 | 2 | 2 | 0 | 1 | 4 |
| <i>β-hemolytic group G</i> (2) | | | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| <i>S. pneumoniae</i> (7) | | | 7 | 0 | 0 | 0 | 1 | 6 | 0 | 0 | 7 |
| <i>S. salivarius</i> (1) | | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Enterococcus</i> and <i>Leuconostoc</i> spp. | | | | | | | | | | | |
| <i>E. faecium</i> (59) | S (34) | | 33 | 0 | 1 | 12 | 17 | 5 | 1 | 5 | 28 |
| | R (47) | | 47 | 0 | 0 | 37 | 10 | 0 | 14 | 21 | 12 |
| <i>E. faecalis</i> (24) | S (35) | | 33 | 0 | 2 | 27 | 5 | 3 | 10 | 13 | 12 |
| <i>E. raffinosus</i> (1) | R (1) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| <i>E. casseliflavus</i> (3) | NR (3) | | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 2 |
| <i>E. gallinarum</i> (1) | NR (1) | | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| <i>Enterococcus</i> spp. (2) | S (2) | | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| <i>Leuconostoc</i> spp. (1) | NR (1) | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Bacillus</i> | | | | | | | | | | | |
| <i>B. licheniformis</i> (1) | | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Corynebacterium</i> | | | | | | | | | | | |
| <i>C. jeikeium</i> (3) | | | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 |
| <i>C. renal</i> group (3) | | | 3 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 2 |

Abbreviations: R, I, S, See Table 1; CNS, coagulase-negative staphylococci; NR, natural resistance.

Table 4. Antimicrobial activity of NanoSilver-coated gauze against yeast species

| Organisms (No. of isolates) | NanoSilver-coated gauze | | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------|---|---|------|---|---|--------|----|---|
| | 100Å | | | 800Å | | | 1,500Å | | |
| | R | I | S | R | I | S | R | I | S |
| <i>Candida albicans</i> (63) | 63 | 0 | 0 | 62 | 1 | 0 | 0 | 63 | 0 |
| <i>Candida famata</i> (5) | 5 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 5 | 0 |
| <i>Candida glabrata</i> (21) | 21 | 0 | 0 | 21 | 0 | 0 | 0 | 21 | 0 |
| <i>Candida krusei</i> (2) | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| <i>Candida lusitanae</i> (2) | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| <i>Candida parapsilosis</i> (9) | 9 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 |
| <i>Candida pelliculosa</i> (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Candida sphaerica</i> (1) | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| <i>Candida tropicalis</i> (31) | 31 | 0 | 0 | 30 | 1 | 0 | 2 | 29 | 0 |
| <i>Cryptococcus laurentii</i> (2) | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> (2) | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (18) | 18 | 0 | 0 | 10 | 8 | 0 | 0 | 18 | 0 |
| <i>Trichosporon asahii</i> (4) | 4 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 |

Abbreviations: R, I, S, See Table 1.

143주의 포도당비발효그람음성간균의 100Å, 800Å과 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈의 감수성률은 각각 7% (10/143), 66% (95/143) 및 87% (124/143)였으며, *Stenotrophomonas maltophilia*를 제외하고는 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈에 내성인 균주는 없었고, imipenem 내성과도 상관없이 항균력을 보였다(Table 1).

188주의 통성 혐기성 그람음성세균의 100Å, 800Å과 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈의 감수성률은 각각 2% (3/188), 76% (142/188) 및 87% (164/188)였으며, 한 주의 *Klebsiella pneumoniae* 만이 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈에 내성이었고, ESBL (extended spectrum β-lactamase) 생성 균주에서도 우수한 항균력을 보였다(Table 2).

397주의 통성 혐기성 그람양성세균의 100Å, 800Å과 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈의 감수성률은 각각 3% (13/397), 45% (178/397) 및 78% (309/397)였고, 포도알균에서는 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈에 내성인 균주가 없었으며 methicillin 내성과도 상관없이 없었다. 장알균은 균종과 vancomycin 내성에 따라 *Enterococcus faecium*의 경우에 vancomycin 내성과 감수성 균주의 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈에 대한 내성률은 각각 30% (14/47)와 3% (1/34)였으며, *E. faecalis*는 29%가 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈에 내성이었다. *Streptococcus pneumoniae*는 7주 모두가 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈에 감수성이었으며, β 용혈성 연쇄구균에서는 A군과 G군에서 내성률이 높았다(Table 3).

161주의 효모균은 100Å 은이온(Ag⁺) 거즈에서 모두 내성이었고, 800Å에서도 92%의 내성률이었다. 1,500Å 은이온(Ag⁺) 거즈에서는 내성과 감수성이 각각 2주와 1주로 대부분이 거즈 중앙에만 미약한 증식 억제제를 보였으며, *Saccharomyces cere-*

*visiae*는 다른 효모균에 비해 800Å에서 중간을 보인 균주의 비율(44%)이 높았다(Table 4).

46주의 혐기성 세균은 100Å 은이온(Ag⁺) 거즈에서 1주를 제외한 모든 균주가 내성이었고, 800Å과 1,500Å에서는 74%와 46%가 내성이었다(Table 5).

고찰

은은 Ag¹⁰⁷과 Ag¹⁰⁹의 두 개의 동위원소가 비슷한 비율로 자연에 존재하며, Ag¹⁺, Ag²⁺와 Ag³⁺의 세 가지 산화 상태가 있고, Ag⁺만이 의외기구나 용품의 항균제 용도로 사용하기에 안정하다[2]. 은이온은 다른 금속이온과 마찬가지로 단백질과 음이온에 강한 결합력이 있으며, 인접 세포, 세균과 진균 표면의 수용체 군(receptor group)과도 결합한다[1]. 은금속과 대부분의 은화합물은 물, 체액, 조직 삼출물과 반응하여 이온화됨으로써 항균력이 있는 Ag⁺ 또는 다른 형태의 생물학적 활성 은이온을 유리하거나 인접한 인체 조직에 흡수된다[1]. 그러므로 은금속 또는 은화합물의 이온화능은 항균력과 인체 독성을 예측하는 데 가장 중요한 성질이다. 그러나 아직까지도 의료용품에 사용되는 각종 은이온과 은화합물의 상대적인 이온화율에 대한 정확한 자료가 없다. 은 성분이 병원성 미생물을 효과적으로 죽이기 위해서는 은이온을 유리해야만 한다. 활성화(activated, hydro-activated) 은이온이란 표현은 은이온의 생물학적 활성 상태를 뜻한다. 활성화된 Ag⁺은 sulphur (-SH), 산소와 질소 등을 포함하고 있는 미생물의 전자공여그룹과 강하게 결합하는 특성을 가지고 있다[1]. 은나노의 항균력은 표면적과 밀접한 관

Table 5. Antimicrobial activity of NanoSilver-coated gauze against anaerobic organisms

| Organisms (No. of isolates) | NanoSilver-coated gauze | | | | | | | | |
|---|-------------------------|---|---|------|---|---|--------|----|---|
| | 100Å | | | 800Å | | | 1,500Å | | |
| | R | I | S | R | I | S | R | I | S |
| <i>Bacteroides fragilis</i> (28) | 27 | 1 | 0 | 21 | 6 | 1 | 12 | 12 | 4 |
| <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Bacteroides vulgatus</i> (1) | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Clostridium perfringens</i> (3) | 3 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Clostridium baratii</i> (1) | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Clostridium clostridioforme</i> (1) | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Clostridium glycolicum</i> (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Clostridium paraputrificum</i> (1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>Clostridium tetani</i> (1) | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| <i>Peptostreptococcus magnus</i> (8) | 8 | 0 | 0 | 7 | 1 | 0 | 5 | 3 | 0 |

Abbreviations: R, I, S, See Table 1.

면이 있기 때문에 부피에 비해 상대적으로 큰 표면적을 가진 작은 입자일수록 항균력이 더 커지므로, 이러한 은나노를 드레싱이나 카테터 등의 매체에 입힐 때에는 매체 표면에 고르게 높은 밀도로 부착시키는 기술이 핵심이다[4].

활성 은이온의 항균작용은 다양한 기전이 복합적으로 관여하는 것으로 알려져 있으나 정확히 규명되진 않았다[7]. 활성 은이온은 미생물 세포벽의 단백질과 결합한 후 투과공을 통해 원형질막공간(periplasm)에 도달하게 되면 세포질막의 전자공여 수용체인 disulphide, amino, imidazole, carbonyl 잔기, phosphate 잔기 등에 결합한 다음 세포질 내이입 공포(endocytic vacuoles)와 탐식작용에 의해 세포질 내로 흡수된다[1-3]. 이 과정에서 은이온은 세포벽 구조를 변화시킬 수도 있으며, 세포질막에서는 양자 투과를 증가시켜 막 내외의 양자 농도 차이가 소실되면 미생물은 이를 극복하기 위하여 산화적 인산화에 의한 정상적인 ATP 생성이 없는 호흡(uncoupling)을 증가시킨 후 결국엔 포도당을 포함하여 숙신산(succinate)과 젖산(lactate)의 산화가 중단되어 세포가 죽게 된다[7]. 이러한 항균 작용기전은 세포질막의 thiol (SH)기를 갖는 cysteine, NADH dehydrogenase 또는 다른 유형의 dehydrogenase 효소와 결합하기 때문이다[7]. 은이온이 세포막의 phosphomannose isomerase와 결합하면 세포막 변성, 인산, 숙신산 등과 같은 영양성분의 세포 내 확산의 감소와 필수 전해질과 대사물질의 교환의 제한 등이 초래된다[1,7]. 이외에도 은이온은 미생물 DNA와 RNA의 염기와 결합하여 항균작용을 할 수 있다[2,3].

은이온의 광범위한 항균범위는 이와 같은 다양한 항균작용 기전을 갖고 있기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 은나노의 항균력 평가는 표준화된 방법이 없을 뿐만 아니라 은이온의 종류, 은이온을 입힌 매질 유형과 농도 등 고려해야 할 변수가 너

무 많기 때문에 균종별 내성과 감수성을 평가하기가 매우 어렵다. 또한 의약품 제품의 제형과 목적에 따라 적정 항균력이 유지되는 기간이 고려되어야 하며, 은이온의 농도와 제형에 따른 약물역동학적 연구와 독성 평가가 이루어져야 할 것이다.

본 연구의 예비시험에서 은이온(Ag^+) 거즈는 균주와 접촉했을 때 항균력이 있었으나 균과 접촉하지 않을 때에는 항균력이 없었으며, 은이온(Ag^+) 거즈의 억제대 지름도 가장자리에서 1~2 mm 사이인 점으로 보아 확산에 의한 효과는 미약한 것으로 생각되었다. 그러나 본 연구에서는 마른 은이온(Ag^+) 거즈를 직접 배지에 붙여 시험하였기 때문에 실제 상처부위 드레싱에 사용할 때와는 항균력의 차이가 있을 것으로 생각되었다. 은나노는 물 성분이 있을 때 항균력이 증가하므로 은이온(Ag^+) 거즈를 혈청 성분 또는 탈이온수 등으로 적서 인체환경과 유사한 조건[8]으로 배지에 접촉하는 시험과 은이온(Ag^+) 거즈의 보관 조건, 제조 후 기간에 따른 은나노의 항균력 변화 등에 대한 연구도 향후 추가되어야 할 것으로 생각되었다. 본 연구에서 혐기성 세균에 대한 은이온(Ag^+) 거즈의 항균력이 통성 혐기성 세균에 비해 약한 이유는 혐기성 세균의 특성과 산소가 없는 상태에서 은이온(Ag^+) 거즈를 시험한 것이 주된 원인으로 생각되었다. 대부분의 효모균이 은이온(Ag^+) 거즈에 중간 정도의 항균력을 보인 원인은 효모균 고유의 세포벽 성분과 세포 대사 특성도 일부 영향을 주었을 가능성이 있으나[9] 주된 원인은 효모의 항균력 검사에 사용한 배지 특성과 검사법의 차이[10] 때문으로 생각된다. 본 연구에서는 CLSI의 효모균 디스크 확산법의 표준방법을 적용하기 위하여 RPMI-1640 배지에 2% 포도당이 첨가된 배지를 사용하였는데 이 배지는 진균의 성장에는 매우 유용하였으나 은이온(Ag^+) 거즈의 항균력을 평가하는 데는 부적절한 것으로 생각된다. 즉, 배지 내의 포도당 성분

은 나노와 결합하여 은 나노의 항균력을 감소시킬 가능성이 있고, 세균의 은 나노 활성 유출에 관여할 수 있기 때문이다[7]. 앞으로 은 나노의 항효모균 활성을 평가하기 위한 다각적인 비교 연구가 필요할 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

- Lansdown AB. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl Dermatol* 2006;33:17-34.
- Lansdown AB. A review of the use of silver in wound care: facts and fallacies. *Br J Nurs* 2004;13(Suppl 6):S6-19.
- Russell AD and Hugo WB. Antimicrobial activity and action of silver. *Prog Med Chem* 1994;31:351-70.
- Baker C, Pradhan A, Pakstis L, Pochan DJ, Shah SI. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol* 2005;5:244-9.
- Szkal C, Kozole J, Russo MF Jr, Garrison BJ, Winograd N. Surface sensitivity in cluster-ion-induced sputtering. *Phys Rev Lett* 2006; 96:216104.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: sixteenth informational supplement. CLSI document M100-S16. Wayne, PA; CLSI, 2006.
- Holt KB and Bard AJ. Interaction of silver (I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag^+ . *Biochemistry* 2005;44:13214-23.
- Thomas S and Ashman P. In-vitro testing of silver-containing dressings. *J Wound Care* 2004;13:392-3.
- Espinel-Ingroff AV and Pfaller MA. Susceptibility Test Methods: Yeasts and Filamentous Fungi. In: Murray PR, ed. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed, Washington D.C.; American Society for Microbiology, 2003:1880-93.
- Wright JB, Lam K, Hansen D, Burrell RE. Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens. *Am J Infect Control* 1999; 27:344-50.

=국문초록=

임상분리균주에 대한 은이온(Ag^+) 거즈의 생체외 항균력 시험

연세대학교 원주의과대학 진단검사의학교실, ¹감염내과학교실, ²어비노기과, ³(주)네패스

어 영, 황규열, 윤갑준, 김효열¹, 어흥선², 권오갑³

배경: 은이온(Ag^+)과 은화합물은 그람양성과 그람음성 세균 및 효모균에 효력이 있는 광범위 항균제로 잘 알려져 있으며, 은이온은 항균제 용도로 의료가구나 의료용품의 코팅제로 사용되고 있다. 최근에는 나노기술의 발달로 더 안전하며 항균력이 증가된 은 나노 입자를 생산할 수 있게 되었다. 이에 본 연구에서는 임상분리주를 대상으로 은 나노를 코팅한 은이온(Ag^+) 거즈의 항균력을 평가하였다.

방법: 임상검체에서 분리된 143주의 포도당비발효그람음성간균, 188주의 통성 혐기성 그람음성세균, 397주의 통성 혐기성 그람양성세균, 46주의 혐기성세균과 161주의 효모균 및 3주의 정도관리 균주를 대상으로 세 종류의 은이온(Ag^+) 거즈 (100Å, 800Å, 1,500Å)의 항균력을 디스크확산법으로 시험하였다.

결과: 포도당비발효그람음성간균, 통성 혐기성 그람음성세균과 통성 혐기성 그람양성세균의 은이온(Ag^+) 거즈의 감수성은 각각 87%, 87%, 78%였으며, imipenem 내성 포도당비발효그람음성간균, extended spectrum β -lactamase (ESBL) 생성 장내세균, methicillin 내성 포도알균에 대한 은이온(Ag^+) 거즈의 항균력은 imipenem 감수성 포도당비발효그람음성간균, ESBL을 생성하지 않는 장내세균, methicillin 감수성 포도알균과 유사하였다.

결론: 은이온(Ag^+) 거즈는 imipenem 내성 포도당비발효그람음성간균, ESBL 생성 그람음성간균, methicillin 내성 포도알균을 포함한 다수의 통성 혐기성 그람양성과 그람음성 세균에 광범위 항균력을 보였다. [대한임상미생물학회지 2007; 10:37-43]

교신저자 : 어 영, 220-701, 강원도 원주시 일산동 162
연세대학교 원주기독병원 진단검사의학과
Tel: 033-741-1592, Fax: 033-731-0506
E-mail: u931018@yonsei.ac.kr