

전기자극이 세균성장에 미치는 영향

대구대학교 재활과학대학원 재활과학과 물리치료전공

박 영 한

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과

김 진 상·박 래 준

The Effect of Electrical Stimulation on Bacterial Growth

Park, Young-Han, R.P.T.

Dept. of Physical Therapy, Graduate School of Rehabilitation Science, Taegu University

Kim, Jin-Sang, Ph.D., Park, Rae-Joon, Ph.D., R.P.T.

Dept. of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Taegu University

<Abstract>

The study was carried out to investigate the change of bacterial growth in vitro according to polarity, current intensity and time, to prepare the basic data for electrotherapy and clinical research. The Gram positive *Staphylococcus aureus* and Gram negative *Escherichia coli* from infect wound were cultured in Trypticase Soy Brath and Trypticase Soy Agar.

The results were as followings.

1. The current stimulated group was changed in bacterial growth according to polarity, current intensity and time respectively.
2. The bacteriolytic effect revealed in the anode but the inhibitory effect of bacterial growth revealed in the cathode.
3. The number of *E. coli* reduced after 6-hours but the numbers of *S. aureus* reduced after 2 hours in Trypticase Soy Brath.
4. The anode showed acid reaction and cathode showed alkaline reaction in Trypticase Soy Agar.

I. 서 론

환자재활시 상처회복의 지연 및 적절한 시기의 상실로 인해 장애가 유발된 경우를 임상에서 흔히 찾아 볼 수 있는데 이 상처치유를 촉진시키기 위한 노력은 다양한 형태로 이루어져 각종 항생제의 개발, 혈액순환을 촉진시키기 위한 히스타민제의 투여 및

완벽한 외과적 처치는 그 좋은 예라 할 수 있다.

이외에 물리적 방법으로서 흔히 사용되는 전기자극은 조직 재생과정을 촉진시켜 상처치유에 효과가 있다 (Brown과 Golgia, 1987). 상처치유를 위한 직류의 세균성장지연효과는 $6\mu A \sim 14\mu A$ 의 전류를 사용하는데 Rowley 등(1974)은 낮은 강도의 전류가 *Esecherichia coli*와 *Pseudomonas ae-ruginosa*의 성장에 지연효과가 있다고 보고하였고 Barranco 등(1974)은 $6\mu A$ 의 음극

직류를 *Staphylococcus* 속에 감염된 쥐와 토끼에게 자극을 하였을 때 세균의 성장이 감소되는 것을 확인하였다.

Pilla(1939)와 Wheeler 등(1971)은 미생물 성장 비율 감소에 대하여 전기자극은 미생물의 항상성 기전의 방해를 유발시키고, 효소생성의 파괴로 세포막의 물질수송이 중지되어 세포파괴가 온다고 하였다.

한편, 조직손상시 세포막 파괴와 세포구성성분의 변성으로 손상부위와 건강한 조직사이에 전위차가 유발되는데 이를 손상전위(injury potential)라 한다(Guyton, 1988). Burr 등(1940)은 손상전위는 상처가 회복 될 때까지 다양하게 변하는데 조직손상초기에는 세포내 전위가 양성을 나타내며 손상후 48시간이 최고가 되어 차차 감소하여 손상후 8-9일 후에는 음성으로 변한다고 하여 상처의 전기적 변동은 회복 과정과 관계가 있다고 하였다.

상처 부위의 혈액성분 이동에 대하여 Caroy와 Lepley(1955)는 상처가 생긴지 2-3일이 지난 토끼에게 0.2-0.3 mA의 직류를 적용 시켰을 때 양극에서는 백혈구의 응집과 모세혈관의 생성이 나타나며 음극에서는 위와 같은 조직학적 활동이 없었다고 하였다.

Harrington, Heyer와 Kelin 등(1974)은 쥐의 상처 부위에서 피부세포의 움직임에 대해 200-800 μ A의 전류를 24시간 적용하였을 경우 음극보다는 양극에서 상피세포와 결합조직세포 이동이 많음을 보고 하여 임상에서 양극전류가 상처부위의 세포이동을 촉진시키므로 상처의 초기단계에 유익한 영향을 주는 활성전극으로 이용되는데 이론적 근거를 마련하였다. Newton과 Karselis(1983)는 육창을 가진 14명의 환자를 대상으로 하여 고압맥동 평류전류자극이 상처치유에 효과가 있는데 그러나 Ross와 Segal(1981)은 교정수술에 따른 상처치유의 과정에서 음극은 혈액의 이동과 혈류의 증가가 상처치유과정을 촉진시키고 양극은 살균효과가 있다고 하였고 Newton과 Karselis(1983)는 음극은 상처치유와 촉진 및 미생물 성장 억제 효과를 나타내고 양극은 세포이동을 촉진시킨다고 하여 서로 상반된 견해를 보이고 있어 이 분야에 대한 연구가 절실히 요구되는 실정이다.

본 연구는 전류의 극성, 자극시간 및 강도에 따른 전기자극이 세균성장에 미치는 영향을 규명하여 앞으로 전기치료 분야의 임상 또는 연구에 기초자료를 제공하고자 시행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

1) 전기 자극기

저전압 자극치료기 (Medcoproducts Company NOG 84443)의 전류는 직류로 하여 액체 및 고형 배지에 적당한 전극의 면적과 두께(20mm²×0.1mm)를 원형으로 만들어 전극으로 부터 연결되는 전선을 0.8 mm의 동선으로 하였고 표면전도성을 높이기 위하여 전극과 전선에 금도금을 하였다.

2) 배지

액체 배지 Trypticase Soy Brath 를 500ml의 실험비이커에 넣어 사용하였으며 세균수 측정용을 위한 고형배지로는 Trypticase Soy Agar 1회용 플라스틱 용기에 넣어 사용하였다.

3) 균주

보통상처로 부터 분리시킨 대표적인 화농균인 Gram 양성 Staphylococcus aureus 와 Gram 음성인 장내세균인 Escherichia coli를 대상으로 하여 실험에 사용하였다.

4) 배양기

37도의 대형 배양기에 전기자극장치를 설치하고 실험을 진행하였다.

5) 전류측정

Pluke 8842A Multitest 를 사용해서 전류를 측정하였다.

6) pH 측정

Model Dp - 135M Digital pH/ionmeter를 사용 pH를 측정하였다.

2. 방법

1) 액체 배지에 전기자극

전기자극기를 설치한 500ml의 실험용 비이커에 Trypticase Soy Brath를 100ml넣고 양쪽에 음극과 양극을 구분해 전극과 전극사이를 5cm 간격으로 고정하였고 (Fig. 1), 실험세균인 *S. aureus* 와 *E. coli*를 1ml씩 각 배지에 접종시킨 후 0mA, 2mA, 5mA의 전압을 연결하고 각 0시간, 2시간, 4시간, 6시간, 18시간에 1ml씩 취하여 적당히 계단희석한 다음 고형배지에 도말하여 18시간 배양후 나타나는 집락수를 동일한

조건하에서 전기 자극 하지 않은 0mA 배지를 대조로 사용하여 비교분석 하였다.

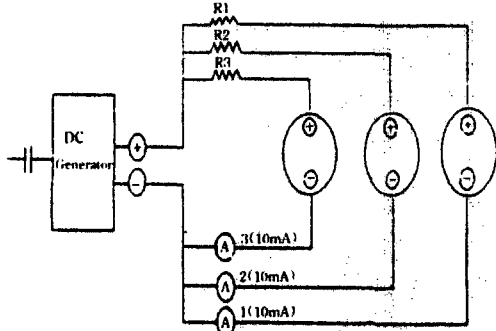


Fig. 1. The circuit of electrical current.

2) 고형배지에 전기자극

고형배지(Trypticase Soy Agar)를 1회용 플라스틱 용기에 넣고 적당히 건조 한 다음 전극을 음극과 양극으로 구분해서 전극과 전극사이가 5cm간격으로 고정된 다음 실험세균인 *S. aureus* 와 *E. coli*를 고형배지에 도말하여 전류와 시간을 액체배지와 같이 하여 18시간 배양기에 배양한 후 세균성장 억제 및 살균된 직경을 계산하여 극성, 시간, 및 전류강도에 따른 변화를 비교분석하였다.

3) pH 측정

전기자극되고 있는 각 배지의 양극과 음극주위에서 pH/ionmeter를 이용해 30분간격으로 측정하여 극성과 전류강도에 따른 변화를 비교분석하였다.

III. 결 과

1. 액체배지의 전기 자극

액체배지에 Gram 양성균인 *S. aureus*와 Gram 음성균인 *E. coli*를 넣고 배양을 하면서 전기자극을 한 결과 *E. coli*는 배양 후 2시간 까지는 전류강도에

상관없이 대조군과 비슷한 성장양상을 보였다. 2시간 이후 4시간까지는 대조군이 실험군보다 약간 높은 증가를 보였고 그 이후는 대조군이 지속적인 증가를 보였다. 그러나 전기자극군은 2시간까지는 대조군과 비슷한 성장을 보이다가 4시간째부터 대조군보다 성장이 지연되는 양상을 보였으며 6시간째부터는 세균의 수가 줄어들어 전기자극 6시간 이후는 세균의 성장이 억제됨을 알 수 있었다(Table 1, Fig. 2).

Gram 양성균인 *S. aureus* 대조군은 2시간까지 급격한 증가를 보이다가 그 이후 부터는 완만한 성장을 보였고 6시간째부터는 균의 수가 감소하였다. 그러나 실험군은 2시간까지는 대조군과 같은 증가를 보이다 그 이후는 감소를 보였고, 특히 5mA에서는 6시간 이후에 급격한 감소를 보여 전류강도가 강할수록 살균효과가 큰것으로 나타났고 전기자극의 살균효과는 2시간 이후부터 살균효과가 있는 것으로 알 수 있었다 (Table 1, Fig. 3).

전류자극시 음극 주위에서는 수소가스가 발생하였고 양극 주위에서는 전류강도에 따라 약간의 차이는 있

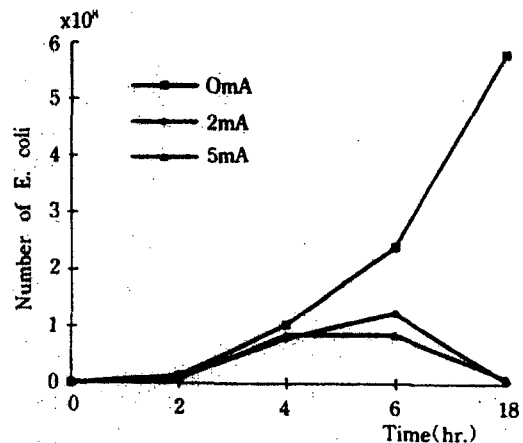


Fig. 2. The Numbers of *E. coli* according to the graded electrical stimulation

Table 1. The Effect of Electrical Stimulation on the Bacterial Growth in the Trypticase Soy Broth.

Duration	(x10 ⁴)														
	0			2			4			6			18		
sp	0	2	5	0	2	5	0	2	5	0	2	5	0	2	5
<i>E. coli</i>	111	92	141	1410	1190	780	10500	8100	8700	24000	12600	8700	58000	360	870
<i>S. aureus</i>	81	111	92	510	420	465	614	361	324	807	232	237	300	1900.0074	

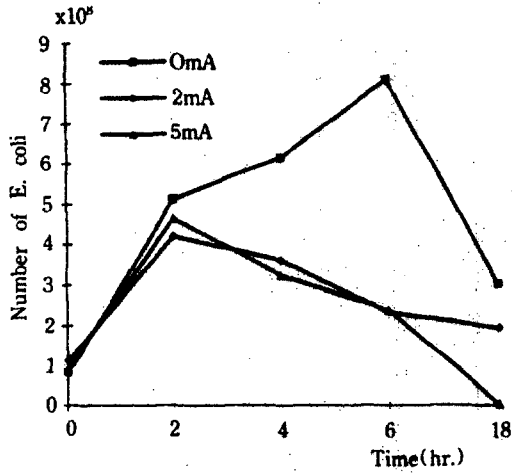


Fig. 3. The Numbers of *S. aureus* according to the graded electrical stimulation.

지만 20-30분 경과후 부터 전기 화학적 종말 산화물이 생성하여 약간의 변색을 보였다(Fig. 16, 17).

대조군의 pH와 자극전의 pH는 동일하게 음극과 양극 주위에서 6.5로 나타났지만 대조군은 시간이 경과하여도 변화는 없었으며 2mA와 5mA의 실험군에서는 자극시부터 변화하여 30분 경과후에 2mA의 실험군은 양극에서는 4.5, 음극에서는 10.2로 나타났다. 5mA 실험군에서도 30분 경과 후 양극에서 3.2 음극에서 11.5로 나타났으며 전극주위로 부터 멀어질수록 음극에서는 하락했고 양극에서는 상승했다. 전극과 전극사이에서의 pH는 7.4로 중성을 나타냈으며 자극을 중단한 후에 액체배지를 흔들어서 pH검사를 한 결과는 8.0 ± 1 로 나타났다.

2. 고형배지의 전기자극

고형배지에서의 세균배양시 대조군에서는 *E. coli*나 *S. aureus* 모두가 전극 가까이 까지 고르게 세균성장이 나타났으나(Fig. 8,9), 전기자극군은 균주에 관계없이

양극에서는 살균효과 나타났고 음극에서는 세균성장 억제 효과가 나타났다(Fig. 8~25).

세균배양후 면적을 계산한 결과 전류강도와 자극 시간에 따라 세균성장 억제 및 살균효과가 비례하였고 (Table 2) 극성에 따른 유의성 검정 결과 *E. coli*에서는 유의성이 있었고($p < 0.01$), *S. aureus*는 유의성이 없었다 (Fig. 4,5). 특히 *S. aureus* 양극에서 전류강도와 자

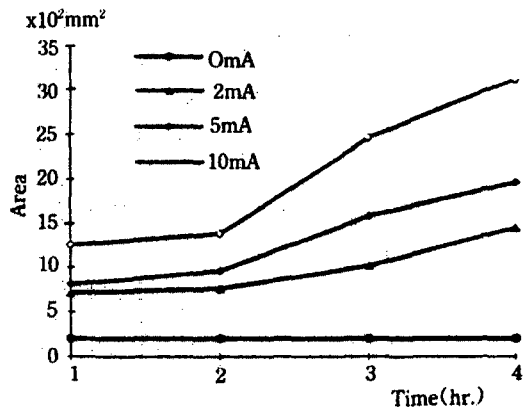


Fig. 4. The Bacteriolytic change in anode area by graded electrical stimulation on *E. coli*.

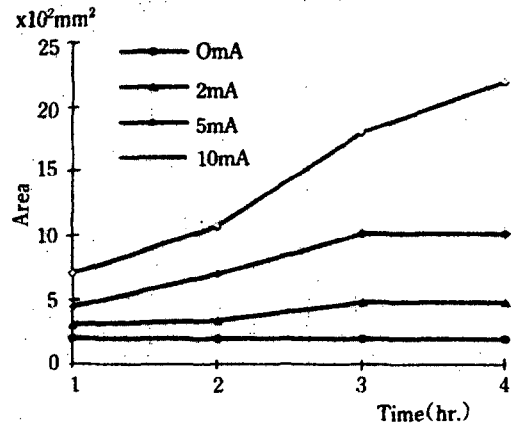


Fig. 5. The Bacteriolytic change in anode area by graded electrical stimulation on *E. coli*.

Table 2. The Bacteriolytic Area by Electrical Stimulation in the Typticase Soy Agar. (mm²)

sp	Duration	mA	1				2				3				4			
			0	2	5	10	0	2	5	10	0	2	5	10	0	2	5	10
<i>E. coli</i>	A		200	706	803	1256	200	753	256	1384	200	1017	1589	2461	200	1451	1962	3115
	C		200	314	452	706	200	346	706	1074	200	490	1017	1808	200	490	1017	2205
<i>S. aureus</i>	A		200	706	1256	1962	200	1256	1586	1962	200	1384	1962	2640	200	161	2374	3215
	C		200	314	490	961	200	490	803	1133	200	530	1256	2826	200	1256	2640	3419

극시간에 따라 강한 살균효과가 있었고, 음극에서는 완만한 세균성장 억제 효과가 있었다(Fig. 6,7).

2mA로 1시간 전류자극을 했을 때 부터 양극에서는 살균효과, 음극에서는 세균성장 억제효과가 나타나기 시작하였고 10mA로 1시간 자극했을 때 2mA때 보다 더 넓은 면적으로 같은 효과가 나타났다(Fig. 10,11). 특히 10mA로 자극했을 때 2시간 때부터 양극과 음극의 경계가 없어지는 경향을 나타내었다(Fig. 16,17).

Gram 음성균인 *E. coli*를 양극과 음극에서 시간별로 비교했을 때 양극에서는 1시간 때 부터 살균효과가 완만하게 있었고(Fig. 6), 음극의 10mA의 전류강도에서는 2시간까지는 완만하게 세균성장지연효과가 있다가 2시간 이후부터는 급격한 성장지연을 보였으며 5mA에서는 3시간 이후부터 급격한 세균성장지연효과가 나타났다(Fig. 7).

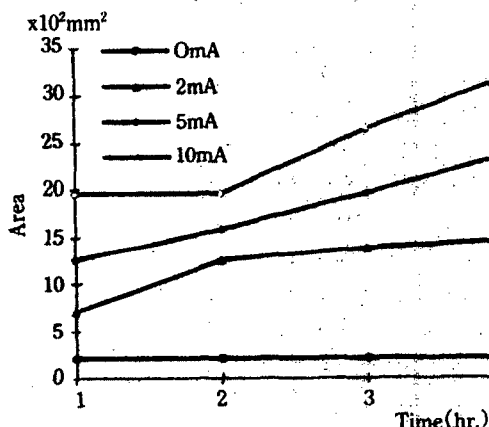


Fig. 6. The Bacteriolytic change in anode area by graded electrical stimulation on *S. aureus*.

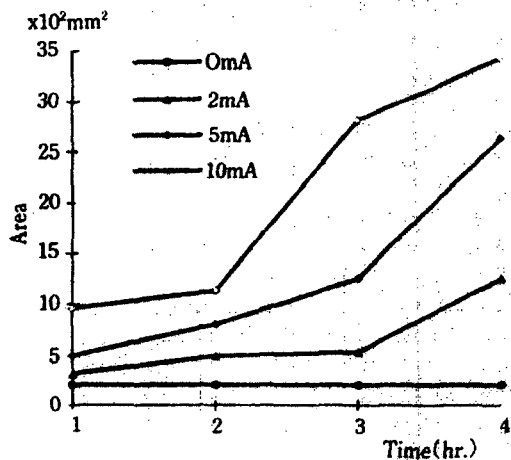


Fig. 7. The Bacteriolytic change in anode area by graded electrical stimulation on *S. aureus*.

극성에 따라서는 음극쪽에 수소가스에 의한 기포를 관찰할 수 있었고(Fig.17,18), pH 측정 결과는 양극에는 산성 반응이 음극에는 알칼리 반응이 보였는데 전류강도와 시간에 따라 큰 변화를 보였다.

특히 실험균인 *S. aureus*의 음극에서는 세균성장억제가 되었다가 전기자극이 중단된 뒤 부터는 세균성장을 확인할 수 있었고 양극에서는 이와같은 현상을 관찰할 수 없었다(Fig. 10~25).

IV. 고 찰

생체에 대한 전기자극의 연구는 Galvani(1939)가 개구리에 직류자극을 한 것이 시초로 그 이후부터 다양한 분야에서 연구해왔는데(이재학, 1992) 특히, 통증(Je-tte, 1986; Barr등, 1986), 관절부종(Mohr, Aker & Landry, 1987), 탈신경근(박래준, 배성수, 김진상과 박상욱, 1992), 근재교육(Eriksson & Haggmark, 1979), 순환장애(T-ichy & Zankel, 1949; Thomas, Thoms & Henry, 1987), 관절기능장애(John, 1987) 및 자세교정(Eckerson, 1984) 등에 많이 이용되고 있다. 이런 의미에서 많은 전문가들은 최근에 관심이 증가되어 새로운 전기자극기를 개발하여 여러가지 임상결과를 발표하였는데, 물리의학과 재활의학에서는 전기 자극치료를 직류와 맥동전류(pulsatile current)로 분류하였으며 이 맥동 전류의 파동 형태에 따라 여러가지 전기자극기의 이름이 붙여져 왔다.

직류전류는 한 방향으로 흐르는 것으로 이 전류를 변조 할 수 있는 형태는 역전직류(reversed D.C), 단축직류(interrupted D.C) 및 서어지직류(surged D.C)가 있다.

직류가 생체의 모세 혈관에 대하여 화학적 자극을 일으키며 이 화학적 효과는 극성에 따라 양극에서는 조직을 응고시키고 혈관을 수축시키며, 음극에서는 조직액화와 혈관을 확장시키므로 피부 및 피하의 혈액순환 뿐만 아니라 조직내의 영양 공급을 증진시키는데 음극가까이 있는 용액은 알칼리성이 되며 음이온(anion)의 전해질세포는 양극(anode)을 향해 이동하고 양이온(cation)의 전해질세포는 음극(cathode)으로 이동하여 양극(anode)가까이 있는 용액은 산성이 된다고 하였다.

한편, 직류전류가 세균성장애 어떻게 영향을 미치

는지 알려져 있지 않지만 Brown과 Gorgia(1987)는 전기자극시 음극에서는 세포막의 파괴와 단백질의 변성이 나타나며, 양극에서는 상처치유의 효과가 나타나는데 이러한 현상은 순환, 감염, 상처주위의 pH, 연령 및 개인의 의학적 상태에 따라 다양하게 관찰된다. 전기자극은 상처부위의 콜라겐 생성과 섬유성세포의 증가를 기대할수 있다고 하였다.

Brown, McDonell 및 Menton(1988)은 고압맥동전류를 이용해서 손상 후 4일에서 7일된 토끼의 상처에 자극하여 음극에서는 상처치유가 저해되었고, 양극에서는 피부거저층의 세포분열율이 급증 하였다고 하며 Gault와 Gatens(1976)는 전기자극 치료과정에서 극성을 변화 시켰을때 상처치유가 개선 되었다고 하였다.

본 연구에서는 세균에 감염된 상처의 치유에 있어서 전기자극이 세균의 성장에 미치는 영향을 극성별로 비교했을때 시간과 전류강도별 약간의 차이는 있었지만 음극에서는 세균성장 지연효과가 있는 것으로 나타나 Newton등(1987)이 음극은 세균성장의 억제효과가 나타난다고 한 보고와 일치하였다.

Ross와 Segal(1981)과 Kloth와 Feedar(1988)은 욕창환자 60명에게 전기자극을 실시하여 음극 보다 양극에서 욕창치유율이 1주일당 44.8%의 높은 효과가 나타난다고 하였는데 본연구에서도 양극에서는 음극 보다 살균효과가 월등히 높았다. Kincaid 와 Lavoie (1989)는 고압단상맥동전류(High Voltage Monophasic Pulsed Current)를 사용하여 Staphylococcus aureus, Escherichia coli 및 Pseudomonas aeruginosa를 시험관내에 배양하면서 전기자극으로 세균성장 억제효과에 대한보고를 하였는데 균종에 따라 세균성장이 눈에 띄게 나타나지 않고 전류강도와 자극시간에 세균성장억제가 관계된다고 하였으며 음극에서의 pH 증가는 일시적이고 세균성장 억제에 직접적으로 영향을 미치는 수준은 아니고 양극에서는 pH 변화가 없었으나 전기 화학적 독성물질 생성으로 세균성장 억제가 나타났다고 보고하였다.

본 연구에서도 균종에 따라 약간의 차이가 나타났고 극성에 따른 변화도 관찰되었으며 양극은 pH측정 결과 양극은 산성반응을, 음극은 알칼리반응을 나타냈는데 자극시간과 전류강도에 따라 세균성장억제와 살균효과는 비례하였고 양전극주위에는 전기 화학적 독성물질이 약간 생성되었다.

IV. 결 론

전기자극이 세균성장에 미치는 영향을 관찰하기 위해 Gram양성균인 S. aureus와 Gram음성균인 E. coli를 대상으로 전류의 극성, 강도 및 시간에 따른 변화를 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 전류의 극성강도 및 시간에 따라 세균성장에 많은 변화가 있었다.
2. 양극에서는 살균효과가 관찰되었고 음극에서는 세균성장지연효과가 관찰되었다.
3. 액체배지에는 Gram 양성균인 S. aureus를 배양한 후 6시간 자극후부터 세균이 감소하였고 Gram 음성균인 E. coli는 배양한 후 2시간 자극후부터 세균감소를 나타나서 균종에 따라 차이가 있었다.
4. 실험배지의 양극에서는 산성반응이 나타났고 음극에서는 알칼리반응이 나타났다.

이와 같은 효과는 전류자극에 의한 세포막의 전기적인 변화에 세포막이 파괴되어 살균효과가 있는 것으로 추정할 수 있으며 수소이온농도에 의한 산알칼리의 변화는 단백질변성을 일으켜 살균효과가 있음을 확인되었다.

참 고 문 헌

1. 이재학. 전기치료학. 서울: 대학서림. 46-48, 1992.
2. 박래준, 배성수, 김진상, 박상옥. 전기자극이 흰쥐의 가지미근 무용성위축에 미치는 영향. 대한물리치료학회지. 제3권 1호, 175-180, 1992.
3. Barr, J.D., Nielsen, D.H., & Soderberg, G.L. Transcutaneous electrical nerve stimulation characteristics for altering pain perception. Phys Ther, 66, 1515-1521, 1986.
4. Barranco, S.D. In vitro effect weak direct current on staphylococcus aureus. Clin Orthop Relat, 100-250, 1974.
5. Brown, M., & Gogia, P.P. Effects of high voltage stimulation on cutaneous wound healing in rabbits. Phys Ther. 67-663, 1987.
6. Brown, M., McDonnell, M.K., & Mentan, D.N. Electrical Stimulation effects on Cutaneous Wound Healing in Rabbits. Phys Ther. 68, 955-960, 1988.
7. Barr, H.S., Harvey, S.C., & Taffel, M. Bio-electric correlates of wound healing. Yale J Biol med. 2, 103-107, 1940.
8. Carey, I.C., & Lepley, D. Effect of continuous direct

- electric current on healing wounds. *surg forum*. 13,33-35, 1962.
9. Eckerson, L.F., & Axelgaard, J. Lateral electrical surface stimulation as an alternative to bracing in the treatment of idiopathic scoliosis. *Phys Ther*. 64,483, 1984.
 11. Eriksson, E., & Haggmark, T. Comparison of isometric muscle training and electrical stimulation supplementation isometric muscle training in the recovery after major knee ligament surgery: A preliminary report. *Am J Sport Med*, 7,169, 1979.
 11. Gault, W.R., & Gaten, P.F. Jr. Use of low intensity direct current in management of ischemic skin ulcers. *Phys Ther*, 56, 256-269, 1976.
 12. Guyton, A.C. *TEXT Book of Medical Physiology*. SAUNDERS U.S. A. 192, 1988.
 13. Harrington, D.B., Meyer, R., & Klein, R.M. Effects of small amounts of electric current at the cellular level. *Ann NY Acad Sci*. 238, 300, 1974.
 14. Jette, D.U. Effect of different forms of Transcutaneous electrical nerve stimulation on experimental pain. *Phys Ther*. 66(2), 187-190, 1986.
 15. John, F. Effect of electrical stimulation current frequencies on isometric knee extension torque. *Phys Ther*, 67, 37-38, 1987.
 16. Kincaid, C.B., & Lavoie, K.H. Inhibition of Bacterial Growth in vitro following stimulation with High Voltage Monophasic Pulsed current. *Phys Ther*. 69, 651-655, 1989.
 17. Kloth, L.C., & Feedar, J.A. Acceleration of wound healing with High Voltage Monophasic Pulsed current. *Phys Ther*, 68, 503-508, 1988.
 18. Mohr, Y.M., Akers, Y.K., & Landry, R.G. Effect of High voltage stimulation edema reduction in the hind limb. *Phys Ther*, 67(11), 1703-1707, 1987.
 19. Newton, R.A. & Karselis, T.C. Skin pH following high voltage pulsed galvanic stimulation. *Phys Ther*, 63, 1593-1596, 1983.
 20. Pilla, A.A. Electrochemical information Transfer and it's possible role in the control of cell function. In Brighton CT Bluck, J., Pollack, S.R. *Electroproperties of bone and cartilage*. New York: Grunel & Stratton. 455, 489, 1939.
 21. Rowley, B.A. Mckenna, J.M. & chase, G.R. The influence of electrical current on infecting microorganism in wounds. *Ann NY Acad Sci*. 238-543, 1974.
 22. Rowley, B.A. (1972). Electrical current effects on E. coli growth rates. *proc. Soc Exp Bio Med*, 139, 929-934.
 23. Ross, C.R., & Segal, D. High voltage galvanic stimulation An aid to Post-operative healing curr podiatry. 19-25. May, 1981.
 24. Thomas, M., Thomas, K.A., & Henry, C. Effect of the high voltage stimulation on blood flow in the rat hind limb. *Phys Ther*, 67, 526-532, 1987.
 25. Tichy, V.L., & Zankel, H.T. Prevention of venous thrombosis and embolism by electrical stimulation of calf muscles. *Arch Phys Med Rehabil*, 30: 711, 1949.
 26. Wheeler, P., Wolcott, L., & Morris, J. Neural considerations in the healing of ulcerated tissue by clinical electro therapeutic application of weak direct current. findings and theory in Reynolds DV, sjoberg AE (eds) *Neuroelectric Research Spring field*. I, II, III Thomas. 83-96 1971.

Fig. 8. Control group of *E. coli*. (24hrs cultured)

C : Control

Fig. 9. Control group of *S. aureus*. (24hrs cultured)

A : Anode C : Cathode

Fig.10. Experimental group of *E. coli*. (2mA. 1hrs Cultured)

A : Anode C : Cathode

Fig.11. Experimental group of *S. aureus*. (2mA. 1hrs Cultured)

B : Anode C : Cathode

Fig.12. Experimental group of *E. coli*. (10mA. 1hrs Cultured) A : Anode C : Cathode)

anode : acid reaction seen

cathode : alkaline reaction seen

Fig.13. Experimental group of *S. aureus*. (10mA.

Fig.17. Experimental group of *S. aureus*. (10mA. 2hrs. Cultured)

A : Anode C : Cathode

Fig.18. Experimental group of *E. coli*. (2mA. 3 hrs. Cultured)

A : Anode C : Cathode

Fig.19. Experimental group of *S. aureus*. (2mA. 3hrs Cultured)

A : Anode C : Cathode

Fig.20. Experimental group of *E. coli*. (10mA. 3hrs Cultured)

A : Anode C : Cathode

Fig.21. Experimental group of *S. aureus*. (10mA. 3hrs Cultured)

A : Anode C : Cathode

