

초음파가 세균성장에 미치는 영향

경상병원 물리치료실

최 현 주

대구대학교 물리치료학과

박 래 준

전남과학대학 물리치료학과

황 태 연

The Effect of Ultrasound on Bacterial Growth

Choe, Hyun-Ju, M.S, P.T.

Department of Physical Therapy, Kyungsang Hospital

Park, Rae-Joon, Ph.D., P.T.

Department of Physical Therapy, Taegu University

Hwang, Tae-Yeun, M.S, P.T.

Department of Physical Therapy, Chunnam Techno College

<Abstract>

The purpose of the study was carried out to investigate the change of bacterial growth in vitro according to intensities and exposure time, to basic data for ultrasound and clinical research.

The Staphylococcus aureus which are commonly isolated from open wound were incubated in an incubator for 24 hours following exposure 1MHz continuous ultrasound(CUS). Then quantitative bacterial counts were obtained.

The results were as following ;

1. The groups CUS was applied changed in bacterial growth according to intensities and time respectively.
2. The groups CUS was applied showed the inhibitory effect of bacterial growth.
3. The number of S. aureus significantly reduced to following exposure 3.0w/cm² CUS during 20min.

I. 서 론

초음파, 레이저, 자외선, 표재성 열, 맥동 전자파 그리고 전기자극과 같은 보조적인 치료들은 만성적 상처치유에 사용되어왔다. Houghton과 Compbell(1999)에 의하면 이러한 치료들은 새로운 조직성장에 직접적으로 자극을 주고 상처조직을 강화시키며 국소 혈액과 산소화를 향상시켜서 세균의 성장을 억제한다고 하였으며, 최근에는 만성 상처 치유에 있어 전기 자극과 초음파의 이용을

지지하는 임상적 연구가 이루어지고 있다고 하였다.

초음파는 치료를 목적으로 여러해 동안 사용되어 왔다. 초기에는 조직에 열을 가하기 위한 목적으로, 그리고 운동하는 동안에 손상당한 연부조직을 치료하는데 이용되어 왔으며, 근래에는 선택되어진 부위의 절제에 사용되어지는 고강도의 빔과 생물학적으로 의미있는 온도 상승없이 조직재생과 같은 생리학적 과정에 자극을 준다는 저강도 영역에 관심을 보이고 있다(ter Haar, 1999).

상처 치유 목적으로 사용되는 초음파에 대한 연구로는

1960년 Paul 등이 욕창환자 23명을 대상으로 실시되었고, 그리고 25년후 McDiarmid 등(1985)은 무작위로 시도한 욕창환자에 대한 초음파 효과를 보고하였으나, 모든 경우에 효율적 효과를 보여주지는 않았지만, 초음파 치료가 감염된 피부 궤양을 가진 환자의 소집단에서는 치유율이 향상되었음을 발견하였다고 보고하였다.

Dyson 등(1968)은 토끼의 귀에 창상을 유발시키고 2주후부터는 주당 3회씩 3.5mW 초음파를 여러 강도로 치료한 결과 20%의 맥동 초음파 0.25W/cm²와 0.5W/cm² 강도, 그리고 연속 초음파의 경우 0.1W/cm²의 강도가 상처치유의 가장 효과적인 용량이라고 하였다.

그러나 Lundeberg 등(1990)은 44명의 만성 하지 궤양환자를 1mW의 맥동 초음파(1:9)로 10분간씩 0.5W/cm²의 강도로 4주간 매일 3일씩 치료하였으나 아무런 효과를 나타내지 않았다고 하였다.

Nussbaum 등(1994)은 척수 손상 환자의 욕창을 3mW의 맥동 초음파로 0.2W/cm²의 강도로 5분씩 치료한 결과 간호 처치만 한 것보다 환자의 치유기간이 감소되었으며 사회 생활로 돌아가는 시기가 빨라졌다고 하였다.

그리고 0.5W/cm²의 낮은 강도로 2분 정도면 Escherichia coil를 파괴할 수 있으며, 일반적으로 3.5mW의 높은 강도로 15분간 치료하면 살균효과가 있다고 하였다.

Peschen 등(1997)은 24명의 만성 정맥 하지 궤양 환자를 낮은 주파수와 용량, 즉 30mW의 연속 초음파 100mW/cm²의 강도로 12분 동안 한 주에 3번씩 치료하였더니, 매우 효과있음을 보였다고 한다.

초음파의 이런 상처 치유 기전을 Gostishchev 등(1984)은 낮은 주파수의 초음파는 화농성 상처 조직의 세균감염을 감소시키고, 미세순환계를 정상화시키며 대식세포 반응을 활성화 및 섬유모세포의 통합활동과 증식을 증가시켜 콜라겐 원섬유 발생과 수화과정을 단축시키는데 공헌한다고 설명하였다.

Davis 등(1993)은 전기자극치료와 초음파 치료의 다양한 형태가 창상치유에 효과가 있다는 증거를 발표하였다. 그러나 임상 치료사들이 이러한 물리적이고 비전통적 치료에 대해서 익숙해있지않기 때문에 많은 환자들이 단지 간호적 처치만을 받고 있고 그래서 이러한 치료들이 상처 치유에 대한 유효성이 밝혀지고 있지 않다고 지적하였다.

본 연구는 초음파의 강도와 시간에 따른 초음파 적용이 세균성장에 미치는 영향을 확인하고 앞으로 초음파

치료 분야의 다양한 임상적 적용과 연구에 기초 자료를 제공하고자 시행했다.

II. 재료 및 방법

초음파 노출이 세균 성장에 미치는 영향을 알아보기 위해 다음과 같이 실험을 실시하였다.

1. 실험 재료

1) 실험 기구

초음파 강도의 조절이 가능하며 방사면(Radiating Surface) 출력이 W/cm²으로 측정될 수 있고 초음파가 발생되어 전파되지 않으면 자동으로 정지되는 초음파 치료 기기(Phyaction 190, Uniphy, Netherland)를 이용하였다.

2) 균주

실험 대상 세균 균주로는 경상병원 일반외과로 내원한 52세 남자 환자의 둔부 창상에서 채취한 검체를 일반 세균 배양법으로 혈액 한천 배지에 접종하여, 분리 동정된 포도상 구균(Staphylococcus aureus)균주를 이용하였다.

2. 실험 방법

소변 배양 및 집락수 검사(colony count)시 일반적으로 사용하는 세균검사 방법을 응용하여 다음과 같이 실시하였는데, 환자의 검체에서 배양, 분리된 실험 세균증한 집락을 취하여 멸균 증류수 120ml에 풀어 균질 세균 부유액을 만들어서 각각 20ml씩 6개의 멸균 용기에 나누어 담은 후, 초음파 강도 1.0w/cm², 1.5w/cm², 2.0w/cm², 2.5w/cm², 3.0w/cm²에 5분 간격으로 0분, 5분, 10분, 15분, 20분씩 세균부유액에 초음파 강도 및 시간에 차이를 주어 노출시켰으며, 초음파에 노출되지 않고 실온 방치된 세균 부유액을 0분, 5분, 10분, 15분, 20분에 각각 대조군으로 사용하였다.

3. 측정 방법

이상의 각 대조군 및 실험군 세균 부유액은 10 μ l 세균

백금이를 사용하여, 각각의 균 부유액 10ml를 취하여 Muller-Hinton agar에 세균 집락수 계산을 위해 균질 접종을 하여 36°C 세균 배양 부란기(incubator)에 하룻밤 배양하여 육안적으로 확인되는 세균 집락수를 양적으로 확인하고 각 실험조건에 따른 세균수의 변화유무를 계산하였다.

4. 자료 분석

1MHz의 연속초음파의 강도와 시간에 따라 세균 성장의 차이를 알아 보기 위해 강도별, 시간별로 각각의 일원배치 분산분석을 하였고, 각각의 그룹내의 차이를 알아보기 위해 Scheffe 다중검정으로 사후 분석을 했다. 모든 통계 분석은 SPSS/PC+를 사용하였다.

통계학적 유의성을 검증하기 위한 유의 수준 = 0.05로 정하였다.

Ⅲ. 결 과

초음파가 세균 성장에 미치는 영향을 관찰하기 위해 1MHz의 연속 초음파로, 강도는 0.0w/cm², 1.0w/cm², 1.5w/cm², 2.0w/cm², 2.5w/cm², 3.0w/cm²로 5분간격으로 0.0분, 5.0분, 10.0분, 15.0분, 20.0분씩 세균의 부유액에 노출시킨 결과로 나타나는 세균 집락수를 양적으로 확인할 수 있었다.

단, 각각의 대조군과 실험군의 세균 수를 동일시 할 수 없어서 시간별, 강도별로 나타나는 세균 집락수를 평균으로 확인했다.

초음파 강도에 따른 세균 집락수의 변화는 0.0w/cm², 1.0w/cm², 1.5w/cm², 2.0w/cm², 2.5w/cm²군은 완만한 감소를 보이며, 3.0w/cm²군에서는 급격한 감소를 볼 수 있었다(Table 1).

그리고 시간에 따른 세균 집락수의 변화에서도 역시 5.0분, 10.0분, 15.0분 20.0분군은 모두 0.0분군보다 세균 집락수가 감소됨을 알 수 있었다.(Table 2).

1MHz 연속 초음파의 강도와 시간에 따른 각각의 세균 집락수를 일원배치분산분석한 결과 통계적으로 유의한 변화를 보였다(Table 3, 4).

포도상 구균의 초음파 강도에 따른 양적 변화를 Scheffe 다중검정으로 사후 분석한 결과 0.0w/cm²군과 3.0w/cm²군 그리고 1.0w/cm²군과 3.0w/cm²군사

이에서 유의한 감소를 나타냈으며(Table 5), 또한 시간에 따른 변화를 사후 분석한 결과 0.0분군과 20.0분군 사이에서 집락수 변화가 유의하게 나타났다(Table 6).

1MHz 연속 초음파의 강도와 시간에 따른 세균의 상호 작용을 분석한 결과 1MHz 초음파의 노출이 포도상 구균의 성장을 억제하는 효과를 보였으며 이것은 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

Table 1. The quantitative change according to intensity of 1MHz-CUS on S.aureus

UI (w/cm ²)	N	Mean±SD
0.0	5	1420.400± 97.1020
1.00	5	1354.800±216.3497
1.50	5	1085.400±437.1329
2.00	5	935.200±278.3936
2.50	5	965.00 ±437.1329
3.00	5	528 ±328.1897
Total	30	1045.133±417.7717

CUS : Continuous ultrasound

UI : Ultrasound intensity

Table 2. The quantitative change according to exposure time of 1MHz -CUS on S.aureus

Time(mine)	N	Mean±SD
0.0	6	1428.16±277.59
5.0	6	1214.33±290.20
10.0	6	1039.66±343.00
15.0	6	851.66±408.51
20.0	6	691.83±401.64
Total	30	1045.13±417.77

Table 3. The ANOVA table among the groups according to graded intensity

Source	DF	SS	MS	F	sig
Between Groups	5	2555439	511087.9	4.895	.003
Within Groups	24	2506024	104417.7		
Total	29	5061463			

Table 4. The ANOVA table among the groups according to sequence time

Source	DF	SS	MS	F	sig
Between Groups	4	2025740	506434.9	4.171	0.010
Within Groups	25	3035724	121428.9		
Total	29	5061463			

Table 5. Results of multiple comparison analysis for graded intensity

W/cm ²	sig					
	.00	1.00	1.50	2.00	2.50	3.00
.00		1.000	.787	.414	.487	.013*
1.00	1.000		.879	.533	.610	.022*
1.50	.787	.879		.989	.996	.231
2.00	.414	.533	.989		1.000	.565
2.50	.487	.610	.996	1.000		.488
3.00	.013*	0.22*	.231	.565	.488	

*p<0.05

Table 6. Results of multiple comparisons analysis for sequence time

Min	sig				
	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00
0.00		.887	.461	.117	.025*
5.00	.887		.942	.529	.185
10.00	.461	.942		.569	
15.00	.117	.529	.926		.958
20.00	.025*	.185	.569	.958	

*p<0.05

IV. 고찰

1952년에 미국 물리의학 협회에서 초음파를 공식 물리 치료요소로 채택한 후 초음파 치료는 임상에서 가장 많이 사용되는 심부투열의 하나이다. 치료실에서 주로 사용되는 주파수는 0.5에서 5MHz로 관절 구축(Robinson 과 Buono, 1995), 유착 반환 조직의 신장(Jonec, 1976), 통증 완화(Daon et al, 1999), 염증 수복 및 치유 촉진(Nussbaum, 1998 : Oison et al, 1978), 골절

치유(Hadjiargyou & Rubin, 1998)와 살균(이재형, 1995)등의 목적으로 시도 되어왔다.

Vollmer 등(1998)은 초음파의 효과를 관찰하기 위해서 미생물을 사용한 것은 특이한 것이 아니다라고 하였으며, Thacker(1973)는 효모를 이용해 초음파의 살균 효과를 연구하였다고 한다. 그리고 1MHz의 초음파의 짧은 펄스가 대장균의 스트레스 반응을 유도하고, 일정한 조건에서는 박테리아의 소멸을 유도함을 보여주었다.

따라서 본 연구는 일반 물리치료실에서 가장 많이 사용 되어지는 1MHz의 연속 초음파가 포도상 구균의 성장에

미치는 영향에 대해서 실험하였다.

초음파가 세균 성장에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 미흡하다고 지적한 바가 있으며, Singer 등 (1999)은 개방성 상처나 욕창에서 분리한 표피포도구균을 배양해서 정상 식염수로 세균 부유액을 만들어 이에 대한 실험을 하였는데, 그들은 다양한 강도와 시간으로 초음파를 적용했으며 초음파를 노출시킨 세균 부유액의 온도도 함께 측정하였다. 그 결과 세균의 의미있는 양적 감소를 보였으며, 이러한 감소는 초음파의 강도와 부유액의 온도에 의한 것이라고 하였다.

Singer 등 (1999)의 실험과 본 연구의 결과는 유사하나, 본 연구에서는 세균 부유액의 온도를 측정하지 않았다. 그래서 본 연구자는 세균의 성장 억제에 미치는 요인으로 초음파의 강도와 노출 시간만을 고려하였으며, 부유액의 온도는 제외시켰다.

초음파가 세균의 유의한 양적 변화를 보여주는 시점에서 사람에게 적용시, 화상을 일으킬 수 있는 가능성을 가지고 있다고 지적하였다.

현대의학에서 흔히 이용되는 인공보철 이식시 이식 물질의 바이오 필름 감염을 해결할 수 있는 보다 효과적인 방법이 요구되는 과정에서 저 빈도의 초음파 사용이 바이오 필름에 대한 항생제의 살균 활동을 상당히 강화시키며(Pitt 등, 1999), 67㎍ 초음파 적용이 바이오 필름 내의 그람 음성균(Gram-negative bacteria) 생존력의 감소를 가져왔다고 보고하였다(Qian 등, 1997).

Allisan 등(1996)은 20㎍의 연속 초음파로 E. coli의 생존 능력을 실험하였는데, 세균이 초음파의 강도와 시간에 따라서 감소하고, 세균 수의 감소는 일차적으로 유리기(free radical)손상이라기보다는 초음파의 기계적 효과에서 일어난다고 하였다.

본 연구에서는 1㎍의 연속 초음파로 0W/cm², 1W/cm² 및 1.5W/cm²의 강도로 0분, 10분, 15분 및 20분씩 노출시킨 후 나타나는 세균 집락수는 유의한 변화가 없었고(Fig1~9), 2.0W/cm²와 2.5W/cm²의 강도로 20분씩 적용시킨 실험군에서는 육안적으로 세균의 양적 변화를 확인할 수 있는 감소를 보였으나(Fig10~15), 통계적으로는 3.0W/cm²의 강도로 20분에만 유의한 세균 감소를 보였다(Fig16~18).

또한 만성적 정맥 궤양을 가진 환자를 대상으로 한 임상 연구는 3㎍ 초음파를 1W/cm²의 강도로 한 주에 3번씩 10분동안 치료한 결과, 궤양 치유율이 증가했으며 이렇게 조직 재생을 향상시키는 기전은 온열 효과가 아니라

기계적 효과라고 제시했다(Dyson 등, 1978).

초음파의 기계적 효과는 공동 형성과 음파 흐름이며(Ahmad 등, 1999), 먼저 공동형성(cavitation formation)은 초음파 에너지가 조직에 전달되면 적은 기포가 국소 압력에 의해서 소기에 팽창되고 밀기에 압축되어 세포 활성의 변화로 일어나며(이재형, 1995), 기포가 약간의 압축과 확장을 하는 치료적 의미의 안전 공동과 격렬한 진동에 의한 기포로 조직 손상이 일어나는 불안전 공동이 있다. 또한 음향 흐름(acoustic streaming)은 세포막 투과성의 변화를 줌으로써 치유 과정에서 중요한 역할을 하는 칼슘 이온과 나트륨에 영향을 주어 조직 재형성을 증진시킨다고 한다(Prentice, 1994)

본 연구에서 초음파의 노출 시간과 강도를 증가함에 따라 세균의 양적 감소를 관찰할 수 있었는데, 초음파의 비온열 효과인 기계적 효과에 의한 현상이라고 보아진다.

Ukhov 등(1990)은 감염된 상처를 지닌 30마리의 실험용 돼지와 63명의 환자를 관찰하였는데, 저 주파수의 초음파 적용이 세균에 감염된 정도를 줄이고, 혈액안으로 세균성 항원의 침투와 T-림프세포와 IgG와 IgM의 수준을 감소시키는 원인이 되었다고 보고 하였다.

앞으로 본연구를 토대로 초음파의 다양한 주파수와 맥동을 등의 특성에 따른 세균 성장 억제 효과의 차이가 더 연구되어야 하며, 이를 토대로 직접적으로 욕창 및 창상 환자의 상처 치유 적용시 그 유의성이 확인되어야 할 것이다.

V. 결 론

본 연구는 상처 치유 기전 중 세균 성장 억제에 대한 초음파의 효과를 비교한 것으로 1㎍ 연속 초음파의 0w/cm², 1.0 w/cm², 1.5w/cm², 2.0w/cm², 2.5w/cm² 및 3.0w/cm²의 강도로 0.0분, 10분, 15분 및 20분씩 포도상 구균에 가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, 1㎍의 연속 초음파는 세균 성장 억제에 효과가 있었다.

둘째, 1㎍의 연속 초음파의 강도와 시간에 따른 세균 성장에 변화가 있었다.

셋째, 1㎍의 연속 초음파의 3.0w/cm² 강도로 20분간 노출시킨 포도상 구균에서 집락수가 유의하게 감소하였다.

〈 참고 문헌 〉

- 이재형. (1995). 전기 치료학. 대학서림.
- 신희석, 한태균. (1990). 초음파 치료의 온열 효과에 실험적 연구. 대한 재활의학회지. 제14권, 제1호, 145-151.
- Allison DG, Eginton P, & Williams AR. (1996). The effect of ultrasound on *Escherichia coli* viability. *J basic microbiol*, 36, 3-11.
- Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum LA & Wilson RF. (1999). Effectiveness of ultrasonic files in the disruption of root canal bacteria. *Oral surg oral med pathol*, 70(3), 328-32.
- Callam MJ, Harper DR, Dale JJ, Rucklet CV, & Prescott RJ. (1987). A controlled trial of weekly ultrasound therapy in chronic leg ulceration. *Lancet*, 25, 204-6.
- Chang zern Hong, MD, Harrison H, Liu, Jen Yu, MD, & PhD. (1988).
Ultrasound Thermotherapy Effect on the Recovery of Nerve Conduction in Experimental Compression Neuropathy. *Arch phys med rehabil*, 69.
- Davis SC, & Ovington LG. (1993). Electrical stimulation and ultrasound in wound healing. *Dermatol clin*, 11, 775-81.
- Doan N, Reher P, Meghji S & Harris M. (1999). In vitro effects of therapeutic ultrasound on cell proliferation, protein synthesis, and cytokine production by human fibroblasts, osteoblasts, and monocytes. *J oral maxillofac Surg*, 4, 409-19.
- Durovi A & Durvi M. (1997). Physical in the rehabilitation of patient with aerobic infection of the extremities. *Vojnosanit preg*, 6, 541-8.
- Dyson M, Franks C & Suckling J. (1976). Stimulation of healing of varicose ulcers by ultrasound. *Ultrasonics*, 14(5), 232-6.
- Dyson M & Suckling J. (1978). Stimulation of tissue repair by ultrasound: survey of mechanisms involved. *physiotherapy*, 64, 15-1080
- Dyson M, Pond JB, Joseph J & Warwick R. (1968). Stimulation of tissue regeneration by means of ultrasound. *Clin sci*, 35, 273-285
- Eriksson SV, Lundeberg T & Maim M. (1991). A placebo controlled trial of ultrasound therapy in chronic leg ulceration. *Scand j rehabil med*, 23(4), 11-3.
- Gogia PP. (1996). Physical therapy modalities for wound management. *Ostomy wound manage*, 42, 46-8.
- Gerben ter Riet, Alphons GH kessels, & Paul knipschild. (1996). A Randomized Clinical Trial of Ultrasound in the Treatment of Pressure Ulcers. *physical therapy*, 12, 1301-1312.
- Gostishcev VK, Khokhlov AM, Baichorov EKh, Khanin AG, & Berchenko GN. (1984). Low-frequency ultrasound in the treatment of trophic ulcers. *Vestn khir*, 3, 92-5.
- Hadjarou M, Mcl eod K, Ryaby JP & Rubin C. (1998). Enhancement of fracture healing by low intensity ultrasound. *Clin orthop*, 216-29.
- Houghton PE, & Campbell KE. Choosing an adjunctive therapy for treatment of chronic wound. *Ostomy Wound Manage*, 45(8), 43-52. 1999
- Mculloch JM. (1998). The role of physiotherapy in managing patients with wound. *J. Wound care*, 5, 241-4.
- Nussbaum E. (1998). The influence of ultrasound on healing tissues. *J hand ther*, 11, 140-7
- Mcdiarmid T, Burns PN, Lewith GT & Machin D. (1985).
Ultrasound and the treatment of pressure sores. *Physiotherapy*, 71, 66-70.
- Nussbaum EL, Biemann I & Mustard B. (1994). Comparison of ultrasound/ultraviolet-C and laser for treatment of pressure ulcers in patients with spinal cord injury. *Phys ther*, 74, 812-23.
- Lundeberg T, Nordstrom F, Brodda-Jansen G, Eriksson SV, Kjartansson J, & Samuelson

- UE. (1990). Pulsed ultrasound dose not improve healing of venous ulcers. *Scand j rehabil.* (22), 195-7.
- Oison LE, Marshall J, Rice NS, & Andrews R. (1978). Effects of ultrasound on the corneal endothelium: The endothelial repair process. *Br j ophthalmol.* 62, 145-54.
- Paul BJ, Lafratta CW & Dawson AR (1960). Use of ultrasound in the treatment of pressure sores in patients with spinal cord injury. *Arch phys med rehabil.* 41, 438-440.
- Rediske AM, Rapoport N, & Pitt WG. Reducing bacterial resistance to antibiotics with ultrasound. *Lett Appl Microbiol.* 28(1), 81-84, 1999
- Peschen M, Weichenthal M, & Schopf E. Low-frequency ultrasound treatment of chronic venous leg ulcers in an outpatient therapy. *Acta Derm Venereol.* 77(4), 311-4, 1997
- Pitt WG, Rapoport N, Lunceford JK, Roper RJ & Sagers RD. (1997). Ultrasonic enhancement of antibiotic action on gram-negative bacteria. *Antimicrob agents chemother.* 38, 2577-82.
- Qian Z, Sagers RD & Pitt WG. (1997). The effect of ultrasonic frequency upon enhanced killing of *P. aeruginosa* biofilms. *Ann biomed eng.* 25, 69-76.
- Sedov VM, Gordeev NA, Krivtsova GB, & Samsonov SB. (1998). Management of infected wounds and trophic ulcers by low frequency ultrasound. 4, 39-41.
- Singer AJ, Coby CT, Singer AH, Thode HC, & Tortora GT. The effect of low-frequency ultrasound on staphylococcus epidermidis. *Curr Microbiol.* 38(3), 194-196, 1999.
- Steven E Robinson & Michael J Buone. (1995). Effect of continuous wave ultrasound flow in skeletal muscle. *Phyther.* 75, 70-75.
- Haar G. (1999). Therapeutic ultrasound. *Eur j ultrasound.* 9, 3-9.
- Thacker, J. (1973). An approach to the mechanism of killing of cells in suspension by ultrasound. *Biochim biophys acta.* 304, 240-248.
- Ukhov Ala, Fedechko IM, & Narepekha OM. (1990). Indicator of immunity during treatment of infected wound by low-frequency ultrasounds. *Klin khir.* 1, 10-2.
- Weller K. (1991). In search of efficacy and efficiency. An alternative to conventional wound cleaning modalities. *Ostomy wound manage.* 37, 23-8.
- William E & Mosby. (1994). Therapeutic modalities in sports medicine. Third edition.
- Worthington AE, Thompson J & Rauth AM (1997). Mechanism of ultrasound enhanced porphyrin cytotoxicity : A search for free radical effect. 23, 1095-105.
- Vollmer AC, Kwaky S, Halpern M & Everbach EC. (1998). Bacterial stress responses to 1-megahertz pulsed ultrasound in the presence of microbubbles. *Appl environ microbiol.* 64(10), 3927-3931.