

Im Kontext oberflächlicher Infektionen

Photodynamische Inaktivierung multiresistenter Bakterien

Lisa de Jonge, Franz Spannberger, Tim Maisch
Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Universitätsklinikum Regensburg

Zusammenfassung

Die antimikrobielle photodynamische Inaktivierung von Bakterien (PIB) wurde bereits vor über hundert Jahren entdeckt, geriet jedoch in Vergessenheit. Das zunehmende Vorkommen multiresistenter Bakterien macht die PIB wieder interessant: als mögliche Alternative zu Antibiotika bei der Behandlung lokalisierter Infektionen.

Schlüsselwörter: Photodynamik, methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), lokale Infektionen, Brandwunden

Abstract

The antimicrobial photodynamic inactivation of bacteria (PIB) was discovered more than a century ago. However, it fell into oblivion. With the increasing occurrence of multiresistant bacteria, PIB becomes interesting again as a possible alternative to antibiotics in the therapy of localised infections.

Keywords: photodynamics, MRSA, localized infections, burn wounds

Die antimikrobielle photodynamische Inaktivierung von Bakterien (PIB) wurde bereits vor über hundert Jahren entdeckt, als die Phototoxizität von Acridine Orange gegenüber Mikroorganismen nach Bestrahlung mit sichtbarem Licht untersucht wurde. Durch das „goldene Zeitalter“ der Antibiotika geriet die PIB jedoch in Vergessenheit und erlangte erst in den letzten Jahren wieder Interesse: als mögliche Alternative zur Therapie lokalisierter Infektionen.

In verschiedenen In-vivo-Tierstudien konnte gezeigt werden, dass die PIB das Überleben der Tiere bei lokalisierten Infektionen (Brandwunden, superinfizierte Wunden) verlängert. Zahlreiche klinische Studien über PIB bei Akne zeigten eine antimikrobielle Wirkung, wobei bisher unklar ist, welchen Ein-

fluss eine antimikrobielle PIB-Wirkung auf das therapeutische Gesamtergebnis besitzt. Dentale oberflächliche Infektionen sind für die PIB eine weitere Anwendungsmöglichkeit, die derzeit Gegenstand klinischer und experimenteller Studien ist. Im Fokus der Untersuchungen steht derzeit außerdem der Einsatz von PIB bei anderen dermatologischen Infektionen wie Leishmaniose und Pilzinfektionen.

Antibiotikaresistenzen: Alternativen erforderlich

In den letzten zehn Jahren gestaltete sich die Behandlung von Wundinfektionen der Haut und der Schleimhäute durch das vermehrte Auftreten multiresistenter Bakterien immer schwieriger. In Deutschland werden nach der europäischen EARSS-Studie zehn bis 25 Pro-

zent aller Infektionen mit *S. aureus* durch MRSA verursacht¹. Parallel dazu ist die Entwicklung von neuen Antibiotika rückläufig, wie eine Studie der ISDA (Infectious Diseases Society of America) zeigte².

Prinzip der photodynamischen Inaktivierung von Bakterien

Die antimikrobielle PIB basiert auf der Kombination von sichtbarem Licht mit einem lichtaktivierbaren Molekül, dem Photosensibilisator (Phenothiazine, Porphyrine, Phthalozyanine, Fullerene). Der Photosensibilisator absorbiert sichtbares Licht bestimmter Wellenlängen und wechselt dadurch in einen angeregten Zustand. Durch photochemische und photophysikalische Reaktionen werden unmittelbar während der Belichtung des Photosensibilisators reaktive Sauerstoffspezies (z. B. Singulett-Sauerstoff, Superoxidanionen, Hydroxylradikale) erzeugt, die eine oxidative Zerstörung der Mikroorganismen bewirken. Nach Ausschalten der Lichtzufuhr wird diese oxidative Wirkung unterbrochen, kann aber jederzeit wieder durch Licht aktiviert werden, sofern der Photosensibilisator intakt bleibt.

Anwendungsbeispiele für die PIB Dekolonisierung von MRSA

Erste Studien am Ex-vivo-Schweinehautmodell haben gezeigt, dass eine Dekolonisierung von MRSA möglich ist. Maisch et al. untersuchten die Penetration in Bakterien und die antibakterielle photodynamische Wirksamkeit von XF73, einem zweifach positiv geladenen Porphyrin³. Die Inkubation von mit MRSA kolonisierten Ex-vivo-Hautarealen mit einer 10 µM XF73-Wasser-Ethanol (9:1)-Formulierung für eine Stunde mit anschließender Bestrahlung (Lem: 380–480 nm; 27,4 J/cm²) bewirkte eine Reduktion der

Abb. 1: Bakterien. Zunehmende Resistenz gegen Antibiotika erfordert die Suche nach antimikrobiellen Alternativen.

Foto: © fotoliaender – Fotolia



koloniebildenden Einheiten um 99,9 Prozent (antibakterieller Effekt). Die Penetration von XF73 war auf das Stratum corneum beschränkt. Eine photodynamische Schädigung der Epidermis oder Dermis fand nicht statt (therapeutische Fenster möglich).

Oberflächliche Infektionen der Haut

Chirurgische Wundinfektionen sind für 25 Prozent der nosokomialen Infektionen verantwortlich. Die aus den Wunden isolierten Bakterien werden häufig als multiresistent charakterisiert.

Hamblin et al. behandelten an einem Mausmodell erfolgreich Wundinfektionen durch *Pseudomonas aeruginosa* mit PIB⁴: Am Rücken von Mäusen wurden einzelne Wunden mit einer Größe von 100 mm² gesetzt und mit biolumineszierenden Bakterien infiziert, sodass die Infektion in Echtzeit mit einer empfindlichen CCD-Kamera beobachtet werden konnte. Als Photosensibilisator wurde ein polykationisches poly-L-Lysine-Chlorin c₆₆ topisch appliziert und mit einer 665-nm-rot-emittierenden Lampe bestrahlt (applizierte Dosis max. 240 J/cm²). Innerhalb des Beobachtungszeitraums konnten Hamblin et al. eine Reduktion der bakteriellen Biolumineszenz von mehr als 98 Prozent detektieren. In den mit *P. aeruginosa* infizierten Kontrollgruppen ohne Behandlung starben alle Mäuse innerhalb von fünf Tagen. Im Gegensatz dazu überlebten 90 Prozent der mit PIB behandelten Mäuse.

Die bakterielle Beladung bei durch MRSA verursachten Wundinfektionen konnte mit PIB (rotes Licht, 670 nm; 360 J/cm²) im Mausmodell um den Faktor 25 reduziert werden, wie Zolfaghari et al. unter Verwendung von Methylenblau zeigten⁵.

Auch bei Verbrennungen der Haut werden die betroffenen Areale häufig infiziert. Daher ist die Mortalitätsrate bei großflächigen Verbrennungen ein ernstzunehmendes Problem. Topische antimikrobielle Therapieformen, die Exzision superinfizierter Hautareale und auch Hauttransplantationen haben die Sterblichkeitsrate deutlich reduziert. Mithilfe eines BALB-c-Mausmodells konnten Lambrechts et al. und Dai et al. zeigen, dass PIB das Überleben der Tiere mit infizierten Brandwunden am Rücken verbessert^{6,7}: Zehn Minuten nach Erzeugen der Brandwunden wurde die betroffenen Hautareale mit *S. aureus* bzw. *Acinetobacter baumannii* infiziert. Mittels einer PIB 30 Minuten nach der Infizierung konnte ein Reduktion um mehr als 3 log₁₀, also mehr als 99,9 Prozent Inaktivierung, erzielt werden.

Akne

Akne ist eine multifaktoriell bedingte Erkrankung der Talgdrüsenfollikel, zu der die vermehrte Proliferation von Propionibakterien-Spezies beiträgt. Da Propionibakterien per se vermehrt endogene Photosensibilisatoren erzeugen, können sie auch durch Licht allein photodynamisch inaktiviert werden. Allerdings bewirkte eine PIB mit topischer Applikation von 5-Aminolävulin säure eine verringerte Entwicklung neuer Akne-Läsionen⁸. Neuere Studien unter Verwendung von 0,006 Prozent ICG (Indocyaningrün) als exogen appliziertem Photosensibilisator und 805 nm Bestrahlung (gepulster Laser, 12 J/cm²) zeigten ebenfalls positive Resultate ohne signifikante Nebeneffekte⁹.

Oberflächliche dentale Infektionen

Gegenwärtig wird diskutiert, ob PIB zur Desinfektion von Wurzelkanälen bei Patienten mit rezidivierenden endodontischen Infekti-

onen eingesetzt werden könnte. An extrahierten Zähnen konnte erstmals gezeigt werden, dass die PIB als mögliche zusätzliche Behandlungsoption das Risiko einer Wurzelkanal-Reinfektion vermindern kann¹⁰. Als Photosensibilisator wurde ein Konjugat aus Polyethylenimin und Chlorin e6 eingesetzt und als Lichtquelle ein 660-nm-Diodenlaser, gekoppelt an einen 200-µm-Lichtleiter. Die endodontische Therapie allein reduzierte die Keimlast um etwa 1 log₁₀-Stufe, während die Kombinationstherapie mit PIB die Keimlast um 1,8 log₁₀ reduzierte. Eine zweite nachfolgende Kombinationstherapie reduzierte die Keimbelastung um 3 log₁₀-Stufen.

Diskussion und Ausblick

Die hier vorgestellten Beispiele einer erfolgreichen PIB – als Einzeltherapie oder in Kombination mit etablierten Standardverfahren – zeigen das Potenzial des photodynamischen Prinzips, multiresistente pathogene Keime zu inaktivieren. Dennoch ist bei vielen Infektionskrankheiten weiterhin eine systemische Antibiotikatherapie unerlässlich.

Die zunehmende Widerstandsfähigkeit von in Biofilmen lebenden Bakterien gegen antiseptische Substanzen und die weltweite Resistenzsituation vor allem der so genannten „ESKAPE“-Bakterien (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Enterobacter species*) sind wesentliche Probleme bei der erfolgreichen Behandlung lokalisierter Infektionen.

Vorteile der PIB

- Effektive Inaktivierung von Bakterien, unabhängig vom jeweiligen Antibiotika-Resistenzprofil,

Photosensibilisator	Indikation	Land	Firma/Hersteller
Phenothiazin-Derivat	MRSA, nasale Dekolonisierung	Kanada	Ondine Biomedical
Methylenblue	Parodontitis, Periimplantitis, Endodontitis	Brasilien	Aptivalux
Phenothiazin-Derivat	Parodontitis, Periimplantitis, Endodontitis	Europa Deutschland	Helbo
Phenothiazin-Derivat	Parodontitis, Periimplantitis, Endodontitis, Gingivitis	Kanada	Periowave
Phenothiazin-Derivat	Parodontitis, Periimplantitis, Endodontitis, Karies profunda	Deutschland	PACT cumdente
Indocyaningrün	Parodontitis	Deutschland	Periogreen
Phenothiazin-Derivat	chronische Wunden	England	Photopharmica*

* Klinische Phase-IIa-Studie, veröffentlicht in Br J Dermatol. 2013 Mar;168(3):617-24.

Tabelle 1: Übersicht der auf dem Markt erhältlichen PIB-Produkte (nach Internetrecherche und Herstellerangaben, ohne Gewähr, ohne Anspruch auf Vollständigkeit). Sie werden vorwiegend in der Zahnheilkunde verwendet, wobei die ergänzende Behandlung bei Parodontitis im Vordergrund steht. Auch ein erstes Produkt zur nasalen Dekolonisierung von MRSA ist erhältlich, allerdings fehlen für die Zulassung als Arzneimittel bisher die klinischen Studien.

- keine Resistenzinduktion gegenüber dem PIB-Wirkmechanismus (da dieser nicht, wie die Wirkung eines Antibiotikums, nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip funktioniert). Auch wiederholte Behandlungen von Bakterien mit einer subletalen PIB-Dosis zeigten keine Beeinträchtigungen der antimikrobiellen Effizienz der PIB.
- Möglicherweise kann der photodynamische Prozess auch von Mikroorganismen sezernierte Virulenzfaktoren inaktivieren. Eine erfolgreiche Inaktivierung konnte bereits für Virulenzfaktoren von *S. aureus* und *P. aeruginosa* gezeigt werden. Dies könnte auch der Grund dafür sein, warum bei mit *P. aeruginosa* infizierten Wunden nach PIB eine bessere Wundheilung beobachtet worden ist als nach einer Silbersulfadiazin-Behandlung – durch die Zerstö-

• rung der sezernierten Virulenzfaktoren in der Wunde⁴.

Kriterien für eine erfolgreiche PIB

- Parallele Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Mikroorganismen,
- geringe Wirkkonzentrationen und Lichtdosen,
- Bestrahlung mit sichtbarem Licht im Wellenlängenbereich von 400 bis 600 nm,
- keine Dunkeltoxizität,
- therapeutisches Fenster,
- positive Ladungen und hydrophile Eigenschaften, um eine Anlagerung der Photosensibilisatoren an Bakterien zu ermöglichen,
- hohe Triplett- und Singulett-Quantenausbeute zur ausreichenden Erzeugung von reaktiven Sauerstoffspezies,
- kurze Retentionszeiten des Photosensibilisators.

Literatur

1. EARSS, Management Team. European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Annual Report.
2. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2009;48(1):1-12.
3. Maisch T, Bosl C, Szeimies RM et al. Determination of the antibacterial efficacy of a new porphyrin-based photosensitizer against MRSA ex vivo. Photochem Photobiol Sci 2007;6(5):545-541.
4. Hamblin MR, Zahra T, Contag CH et al. Optical monitoring and treatment of potentially lethal wound infections in vivo. J Infect Dis 2003;187:1717-1725.
5. Zolfaghari PS, Packer S, Singer M et al. In vivo killing of *Staphylococcus aureus* using a light-activated antimicrobial agent. BMC Microbiology 2009;9(27):1-8.
6. Lambrechts SA, Demidova TN, Aalders MC et al. Photodynamic therapy for *Staphylococcus aureus* infected burn wounds in mice. Photochem Photobiol Sci 2005;4:503-509.
7. Dai T, Tegos GP, Lu Z et al. Photodynamic therapy for *Acinetobacter baumannii* burn infections in mice. Antimicrob Agents Chemother 2009;53(9):3929-3934.
8. Itoh Y, Ninomiya Y, Tajima S et al. Photodynamic therapy of *acne vulgaris* with topical delta-aminolaevulinic acid and incoherent light in Japanese patients. Br J Dermatol 2001;144:575-579.
9. Kim BJ, Lee HG, Woo SM et al. Pilot study on photodynamic therapy for acne using indocyanine green and diode laser. J Dermatol 2009; 36(1):17-21.
10. Garcez AS, Nunez SC, Hamblin MR et al. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. J Endod 2008; 34(2):138-142.

Korrespondenzadresse

PD Dr. rer. nat. Tim Maisch
Antimicrobial PDT and
Cold Plasma Research Unit
Klinik und Poliklinik für Dermatologie,
Universitätsklinikum Regensburg
93053 Regensburg
E-Mail:
tim.maisch@klinik.uni-regensburg.de