

# Antibiotikafreies Therapiekonzept bei mikrobieller Keratitis

## Entwicklung einer neuartigen Methode mittels Plasma-aktivierten Kontaktlinsen

Die Behandlung akuter mikrobieller Keratitis, einschließlich Akanthamöben, stellt aufgrund der Variabilität ihres klinischen Erscheinungsbilds, des teilweise fehlenden Ansprechens auf gegenwärtig verfügbare Medikamente und des klinischen Verlaufs eine Herausforderung für den Augenarzt dar. Dr. Joachim Storsberg<sup>1,2</sup>, Stefanie Klöpzig<sup>1</sup>, Dr. Christian Schmidt<sup>1</sup>, Christopher Plog<sup>1,2</sup>, Sophia Rehfeldt<sup>1</sup>, Patrick Höfer<sup>1,2</sup> und Prof. Saadettin Sel<sup>3</sup> erläutern einen neuartigen Ansatz, der wegweisend für die Entwicklung einer therapeutischen Option zur Behandlung von mikrobiellen Keratitiden mittels Plasma-aktivierten Kontaktlinsen sein könnte.

<sup>1</sup> Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung (IAP), Abteilung Biomaterialien und Healthcare, Potsdam

<sup>2</sup> Beuth-Hochschule für Technik Berlin, Fachbereich 2, Studiengang Chemie- und Pharmatechnik

<sup>3</sup> Universitäts-Augenklinik Heidelberg

**W**eltweit sind Infektionen der Hornhaut eine wesentliche Ursache schwerwiegender Visusminderung: Die WHO geht davon aus, dass jede vierte Erblindung auf eine Hornhauttrübung zurückgeführt werden kann, bei deren Ursache eine bakterielle Keratitis im Vordergrund steht (Pleyer und Behrens-Baumann 2007). Durch Akanthamöben hervorgerufene Keratitis stellt aufgrund der Variabilität ihres klinischen Erscheinungsbilds, des teilweise fehlenden Ansprechens auf gegenwärtig verfügbarer Medikamente und des klinischen Verlaufs eine Herausforderung für den Augenarzt dar (Meltendorf und Duncker 2011). Die Untersuchungen unserer interdisziplinären Arbeitsgruppe zielen auf die Entwicklung eines neuen antibiotikafreien Therapiekonzeptes in der Augenheilkunde zur Behandlung von mikrobiellen Keratitiden, insbesondere auch Infektionen mit Akanthamöben (*Acanthamoeba castellanii*, *A. castellanii*). Dieses neue Therapiekonzept basiert auf der Anwendung von physikalischem kaltem Plasma in der Medizin. Es wird zur Zeit schon in der Klinik unter anderem in der Dermatologie zur Wundbehandlung und zur Therapie anderer infektiöser Hauterkrankungen mit Erfolg eingesetzt (Metelmann et al. 2016; Tiede et al. 2014; von Woedtke und Weltmann 2014). Wir haben dieses Konzept auf mögliche Anwendung in der Augenheilkunde untersucht und dazu erste orientierende Versuche vorgenommen.

### Methodik

Zu orientierenden Voruntersuchungen wurden Reinkulturen von humanpathogenen Erregern - *Staphylococcus aureus*, MRSA,

*Pseudomonas aeruginosa* sowie *Acanthamoeba castellanii* - im Labor mittels Dielektische-Bariere-Entladung (DBE), mit Plasma (Atmosphärendruck)-aktiviertem Wasser (PAW) sowie mit PAW behandelten Hydrogelen inkubiert (= indirekte Plasma-Methode). Bei der indirekten Methode findet die Plasmaerzeugung durch DBE über einem flüssigen Medium (Shen et al. 2016), in der Regel isotonische Kochsalzlösung oder auch Reinstwasser, statt (Abb. 1). Dabei lösen sich, umgangssprachlich ausgedrückt, die dabei entstehenden reaktiven Verbindungen im Medium. In diesem Medium werden dann die Hydrogele eingelegt. Anschließend werden diese so behandelten Kontaktlinsen auf die inokulierten Medien aufgebracht. Ebenso erfolgten Untersuchungen mittels eines Atmosphärendruck-Plasmajets. Beim Plasmajet wird das innerhalb im Gerät erzeugte Plasma mittels Gasstrom (verschiedene Gase, beispielsweise Stickstoff, Argon oder auch Luft) durch eine Düse ausgetrieben (Abb. 2). Dieser Gasstrom enthält die reaktiven Spezies. Mit dieser Methode lässt sich auch PAW erzeugen (Abb. 3); jedoch eignet sich der Plasmajet besser für die direkte Behandlung wie in Abbildung 2 dargestellt. Es wurde die Hemmung auf das Wachstum verschiedener pathogener Erreger auf Kulturmedien untersucht. In weiteren Experimenten wurden verworfene humane Spenderhornhäute mit *A. castellanii* inokuliert, inkubiert und anschließend mit PAW-behandelten Hydrogel-Kontaktlinsen (PAW-Hydrogele) abgedeckt. Die Hornhäute wurden danach auf die Effektivität der Behandlung mikroskopisch als auch durch Rekultivierung untersucht.

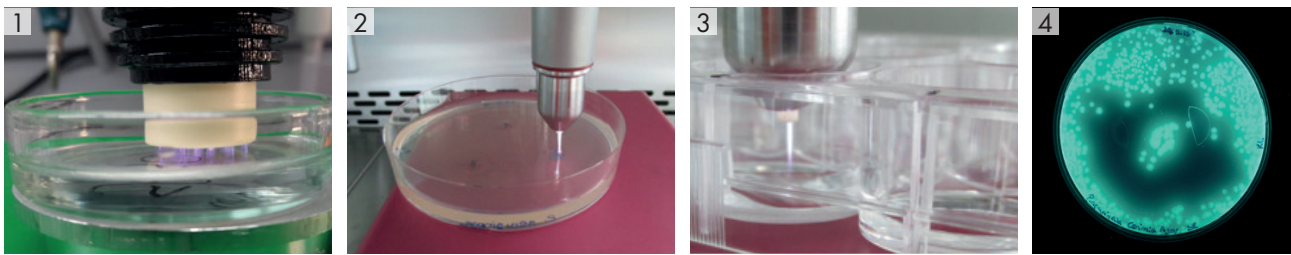


Abb. 1: Prinzip der Herstellung von Plasma-aktiviertem Wasser (PAW) mittels Dielektrischer-Barriere-Entladung (DBE). Dabei findet die Entladung zwischen der Elektrode und dem Medium statt. Die dabei entstehenden reaktiven Spezies diffundieren in das Medium (Wasser). Abb. 2: Anwendung eines Atmosphärendruck-Plasmajets (auch „kaltes“ Plasma genannt). In der gezeigten Aufnahme wird ein beimpftes Nährmedium mit dem Plasmajet behandelt, um die Hemmung auf das Wachstum des entsprechenden Erregers zu untersuchen. Abb. 3: Mit dem Plasmajet lassen sich auch Flüssigkeiten aktivieren. Abb. 4: Zwei PAW-aktivierte Kontaktlinsenhälften in einer *Pseudomonas-aeruginosa*-Kultur. Es ist eine signifikante Hemmung des Bakterienwachstums im Bereich der aufgelegten Kontaktlinse zu erkennen.

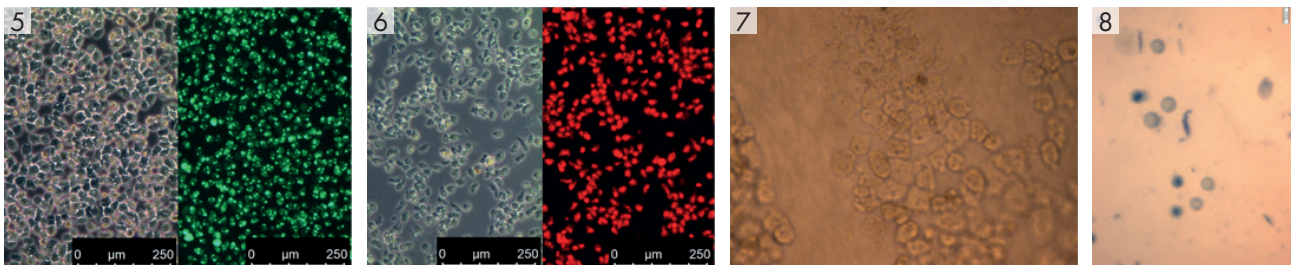


Abb. 5: *Acanthamoeba castellanii* im In-vitro-Experiment vor Behandlung mit PAW. Vitalfärbung erfolgte mit Fluoreszein-Diacetat (FDA). Abb. 6: *Acanthamoeba castellanii* im In-vitro-Experiment nach Behandlung mit PAW. Tot-Färbung erfolgte mit Propidiumjodid. Abb. 7: Spenderhornhaut im In-vitro-Experiment nach Beimpfen mit *Acanthamoeba castellanii* nach 120 Stunden bei 25 Grad Celsius. Abb. 8: In-vitro-Experiment: Spenderhornhaut nach Behandlung mit PAW-Kontaktlinse. Färbung erfolgte mit Trypanblau. Die Akanthamoeben sind deaktiviert.

## Ergebnis

Die PAW-Hydrogele zeigten starke antimikrobielle Effekte. Abbildung 4 zeigt *Pseudomonas aeruginosa* in Kultur, anschließend wurden in die Kultur mit Plasmawasser behandelte Kontaktlinsenhälften aufgelegt. Diese hemmten in signifikanter Weise das Bakterienwachstum. Ebenso konnten Akanthamoeben innerhalb kurzer Zeit inaktiviert werden. Zur orientierenden Voruntersuchung wurden Akanthamoeben in Reinkultur behandelt (Abb. 5 und 6). Zur weiteren Untersuchung wurde humane Spenderhornhaut mit *A. castellanii* infiziert und drei Tage inkubiert (Abb. 7). Anschließend wurde dies mit einer PAW-Kontaktlinse abgedeckt. Die Akanthamoeben in der Spenderkornea wurden innerhalb kurzer Zeit irreversibel deaktiviert (Abb. 8).

## Schlussfolgerung

Die vorliegenden Ergebnisse zeigten eine signifikante Inaktivierung von *A. castellanii* auf Spenderhornhäuten nach Behandlung

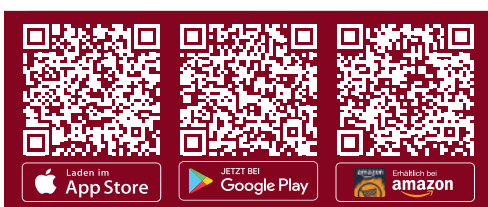
mit PAW-behandelten Hydrogelen. Dieser Ansatz bietet eine wegweisende Möglichkeit zur Entwicklung einer neuartigen Therapie mikrobieller Keratitiden, einschließlich von Akanthamoeben, die gegenwärtig eine große klinische Herausforderung darstellen. Es ist weiterhin ein intensiver Forschungsbedarf zur weiteren Entwicklung und Etablierung dieser Methode notwendig. Dabei ist dieses Konzept nicht nur auf Bakterien und Protozoen limitiert, sondern kann auch zur Therapie bei Mykosen des Auges erweitert werden.

Alle Autoren erklären keinen Interessenkonflikt.

Literatur auf Anfrage in der Redaktion und per AUGENSPIEGEL-App direkt abrufbar.

Dr. Joachim Storsberg

Abteilungsleiter Biomaterialien und Healthcare  
Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung (IAP), Potsdam  
E-Mail: joachim.storsberg@iap.fraunhofer.de



AUGENSPIEGEL  
Zeitschrift für Klinik und Praxis

DER DIGITALE AUGENSPIEGEL – die neue App!  
Jetzt in allen einschlägigen App Stores vertreten.

WWW.AUGENSPIEGEL.COM