UNIVERSITÄTS KLINIKUM Jena

Klinik für Hautkrankheiten

Erste Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirkung von Glaspartikeln im Kontext mit Wundheilungsprozessen

Dr. Cornelia Wiegand

Labor für In-vitro-Forschung und Routinediagnostik
Klinik für Hautkrankheite, Universitätsklinikum Jena

UNIVERSITÄTS KLINIKUM Jena

Klinik für Hautkrankheiten

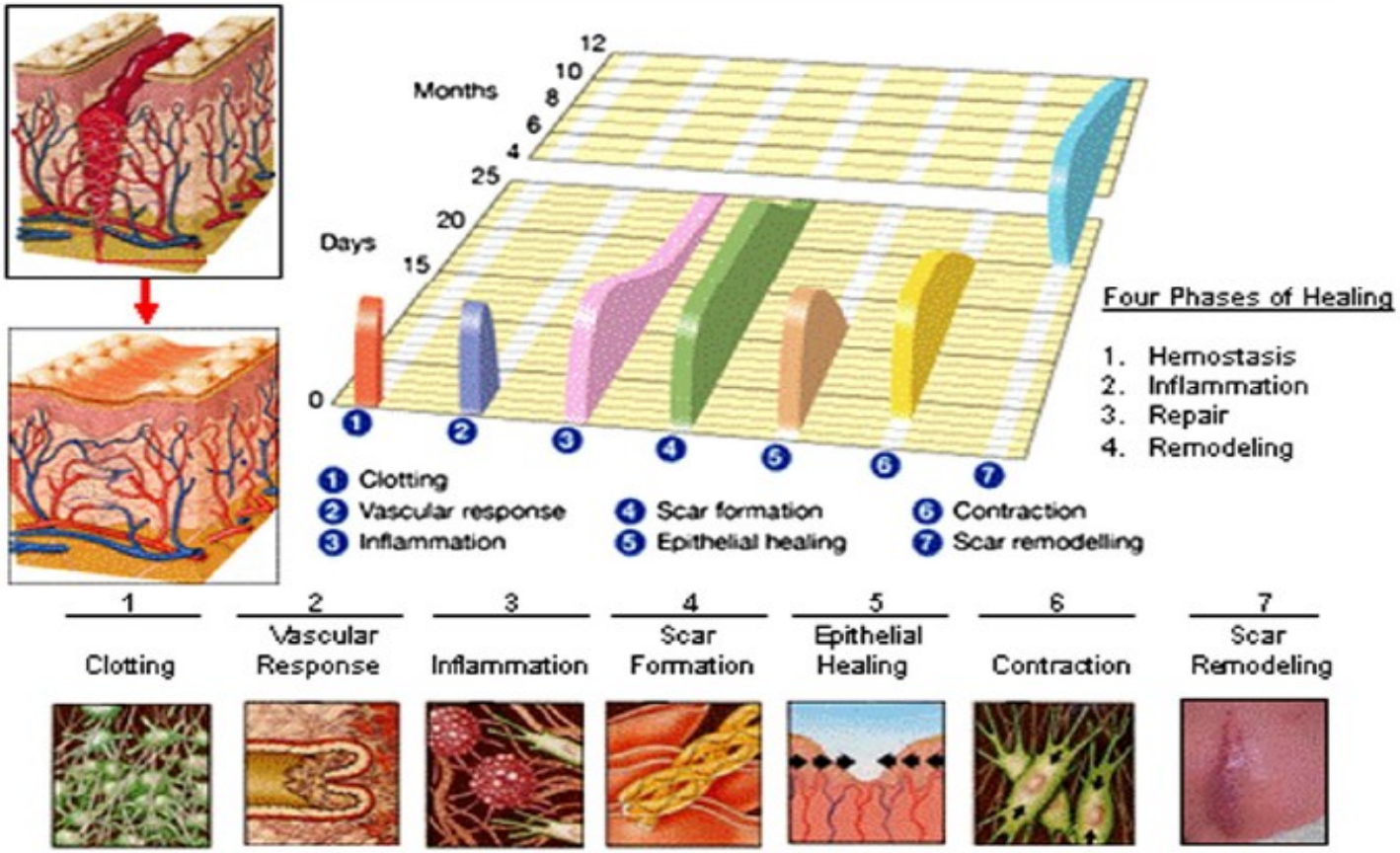
Kann man mit Glas Wunden heilen?

Dr. Cornelia Wiegand

Labor für In-vitro-Forschung und Routinediagnostik
Klinik für Hautkrankheite, Universitätsklinikum Jena

Die physiologische Wundheilung

akut/ heilend ← **die Wunde**



[Stojadinovic et al. 2008; Diegelmann & Evans 2004]

Das Problem

…die chronisch- stagnierende Wunde

- **Definition: der Heilungsprozess eines chronischen Defektes zeigt über einen Zeitraum von 8 Wochen keinen Fortschritt**
- **Entstehung: Störung des physiologischen Gleichgewichts von betroffenen Geweben (Haut) aufgrund gestörter Mikro- und Makro-Zirkulationen**

Ätiologie chronischer Wunden

- gestörter Zustrom: arteriell
- gestörter Abstrom: venös, lymphatisch
- Neuropathologische Ursachen
- Posttraumatische Ursachen (Verbrennungen)
- Immunologische Ursachen
- Malignome
- Infektionen / Parasitosen

[Körber et al. 2011; Sellmer 2012]

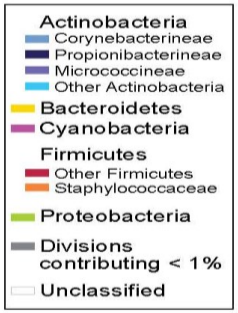
Fakten über chronische Wunden

- gefangen in der inflammatorischen Phase
- erhöhte Infiltration von Neutrophilen
- hohe Konzentrationen an inflammatorischen Zytokinen und freien Radikalen (ROS)
- EPA - elevated protease activity
- Wundflüssigkeit von chronischen Wunden blockiert *in vitro* die Proliferation von Zellen und die Angiogenese
- Wachstumsfaktoren werden zerstört
- Ischemie führt zu Gewebsnekrosen
- phänotypische Veränderungen der Zellen in der Wunde (z.B. reduzierte Fibroblastenproliferation)
- Kolonisation/Infektion mit Mikroorganismen und Biofilm-Bildung

Um die Wundheilung zu verbessern muss ein förderliches, physiologisches Milieu hergestellt werden.

[Stojadinovic et al. 2008; Diegelmann & Evans 2004; Nwomeh et al. 1998]

Das humane Mikrobiom



Bakterien gegen Wirtszellen = 3:1

Metagenom des Mikrobioms ist 100-mal größer als das humane Genom

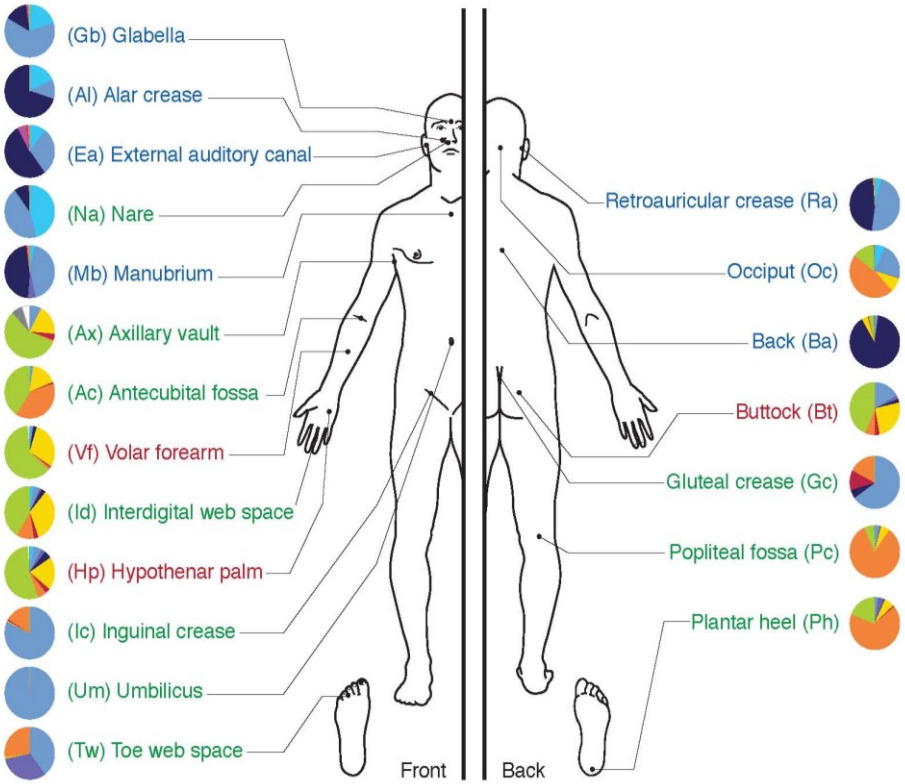


Table 1 Properties of the skin associated with defence against microbial infection

Property	Skin association
Moisture content	Generally low (however some areas of the body such as the arm pits contain areas high moisture levels)
pH	Overall Acidic (pH 5.5)
Squamous cell shedding	Continuous
Salt content	High
Antimicrobial Peptides	Cathelicidins β-defensins, Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI), Lactoferrin, Lysozyme, Dermcidin
Stratum corneum	Intact
Fatty acids and lipids	Present in high concentrations
Immunoglobulin	Present

[Percival et al. 2012]

Rolle von Mikroorganismen

- **Erreger nosokomialer Infektionen: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* und *Candida albicans***
- **Keimspektrum chronischer Wunden:**
  - **60-70% grampositive aerobe Erreger**
  - **20-30% gramnegative Stäbchen**
  - **5-10% Anaerobier**
- **Mischflora häufig (3-5 unterschiedliche Bakterienarten)**
- **Entwicklung von multiresistenten Keimen**
- **notwendig: vollständige Beseitigung klinisch relevanter Wundinfektionen**

Antibiotika oder antiseptische Behandlung?

Antibiotika	*Antiseptika*
▪ spezifische Zielstruktur	▪ breites antimikrobielles Spektrum
▪ in geringen Mengen aktiv	▪ schnelle und unspezifische Wirkung (im Vergleich zu Antibiotika)
▪ ungenügende Akkumulation der aktiven Substanz im Bereich der Wunde	▪ 100 bis 1000fach höhere Konzentrationen im Vergleich zu Antibiotika notwendig
▪ Entwicklung von Resistenzen	▪ nur geringe Gefahr für eine Resistenzentwicklung
▪ potentielle systemische Nebenwirkungen	

Entwicklung von Resistenzen gegen Antibiotika

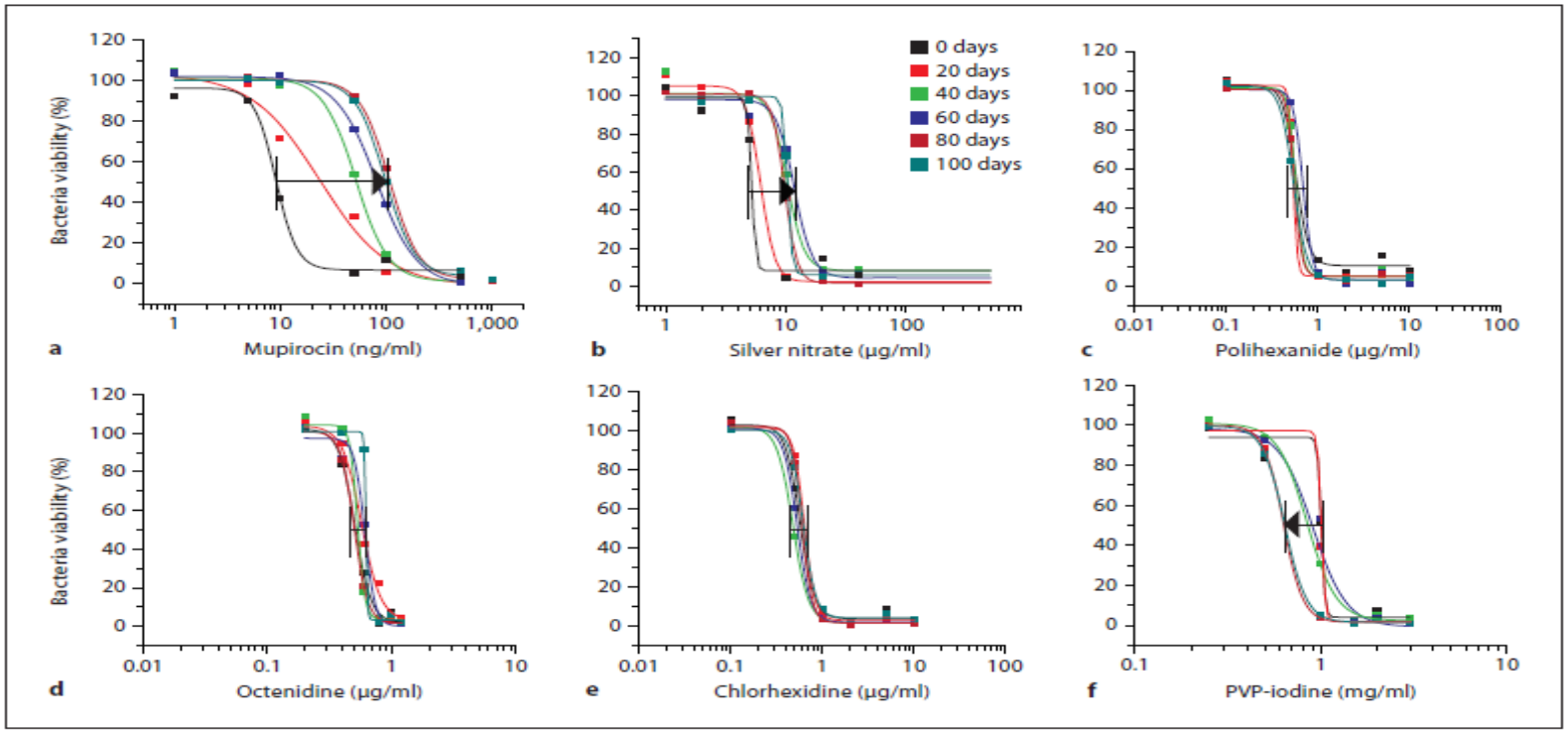
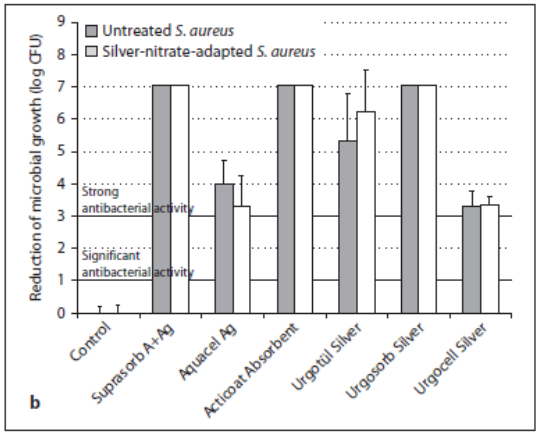


Table 1. IC_{50} values of the antiseptics compared to mupirocin before and after treatment of *S. aureus*

Substance	Concentration range	Initial IC_{50}	IC_{50} after 100 days	Slope
Mupirocin, ng/ml	1–500	12.5	103.6***	1.1***
Silver nitrate, µg/ml	1–40	5.3	10.8***	0.06***
Polihexanide, µg/ml	0.1–10	0.53	0.48 NS	<0.001
Chlorhexidine, µg/ml	0.1–10	0.56	0.63 NS	<0.001
Octenidine, µg/ml	0.2–1.2	0.51	0.63*	<0.001
PVP-iodine, mg/ml	0.25–3	0.93	0.62*	–0.003**



[Wiegand et al. 2012]

Antiseptika in Wundverbänden

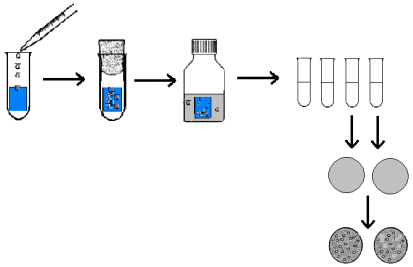
- **Wundverbände haben eine wichtige Rolle im modernen Wundmanagement**
- **Fortschritt in den letzten 40 Jahre von der Einführung passiver Wundauflagen zu den aktiven Wundverbänden mit zusätzlichen Funktionen**
- **besonders antimikrobiellen Wundverbänden kommt eine besondere Bedeutung zu**

Bestimmung der antimikrobiellen Aktivität

Agardiffusionstest (DIN 58940-3)

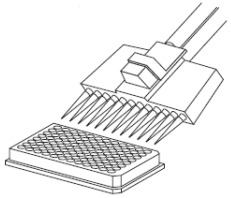
- Bildung eines Hemmhofes
- qualitative Aussage zur antimikrobiellen Aktivität

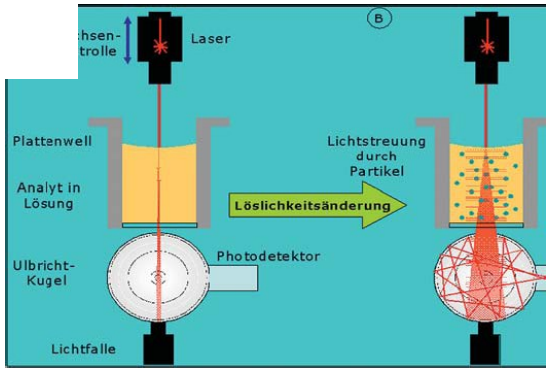
Suspensionstests (JIS L 1902:2002, AATCC 100)



- direkter Kontakt mit dem Material
- quantatives Ergebnis zur antimikrobiellen Wirkung

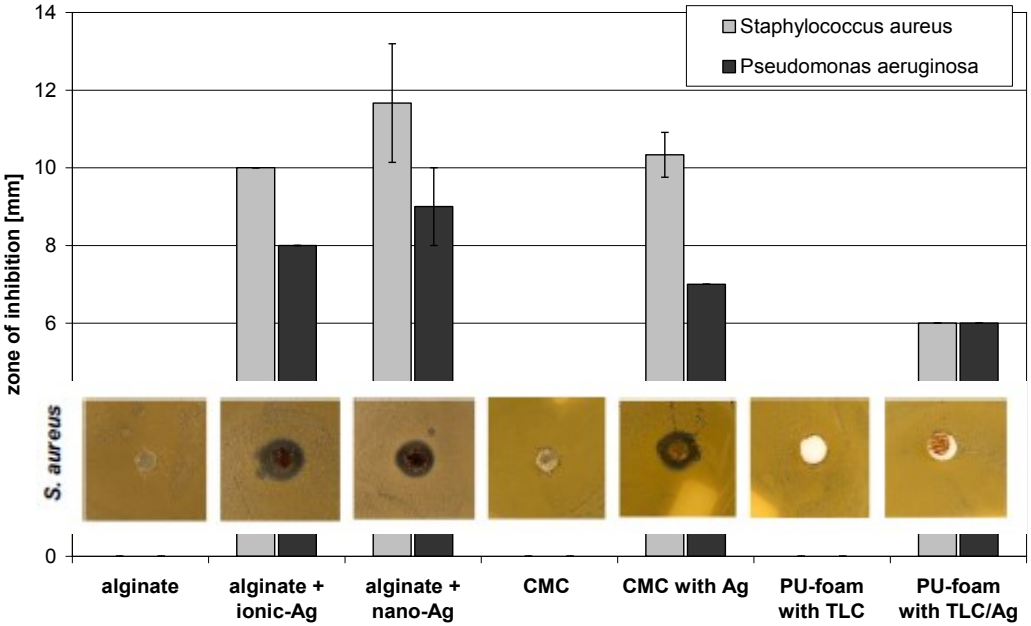
Mikrotiterplattenlasernephelometrie (NCCLS M27-A2, DIN EN 27027)



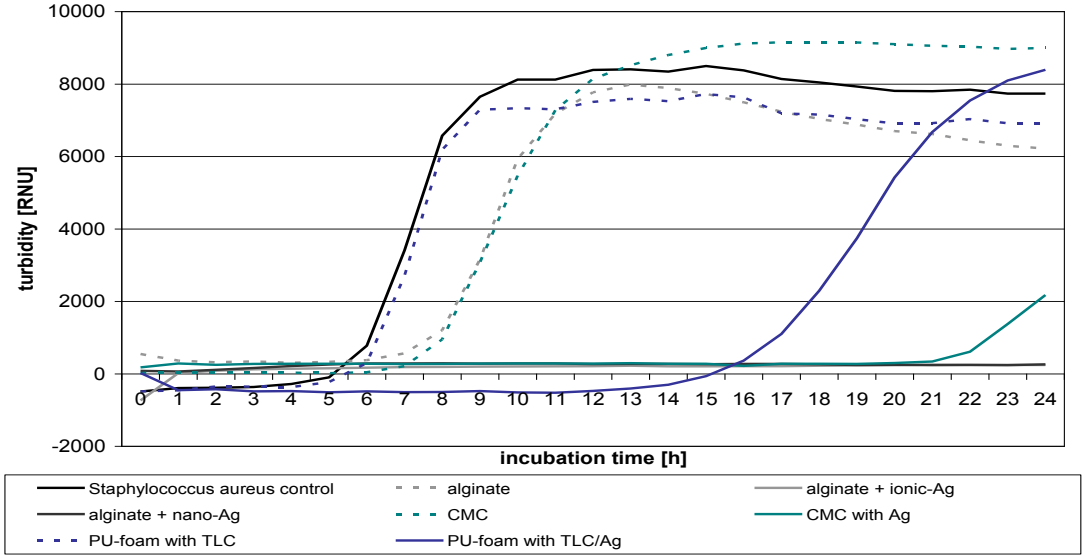


- Bestimmung der Trübung der Lösung
- hoher Durchsatz
- quantatives Ergebnis zur antimikrobiellen Wirkung

Antimikrobielle Aktivität von Silberwundverbänden



	JIS L 1902	
	microbial growth reduction [log cfu]	
	S. aureus	*P.aeruginosa*
control	0 ± 0.2	0 ± 0.2
alginate	7.0 ± 0	7.0 ± 0
alginate + ionic-Ag	7.0 ± 0	7.0 ± 0
alginate + nano-Ag	7.0 ± 0	7.0 ± 0
CMC	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.2
CMC with Ag^+	4.0 ± 0.7	4.0 ± 0.7
PU-foam with TLC	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2
PU-foam with TLC/Ag^+	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.5



[Wiegand et al. 2015]

Alternative – bioaktives Glas

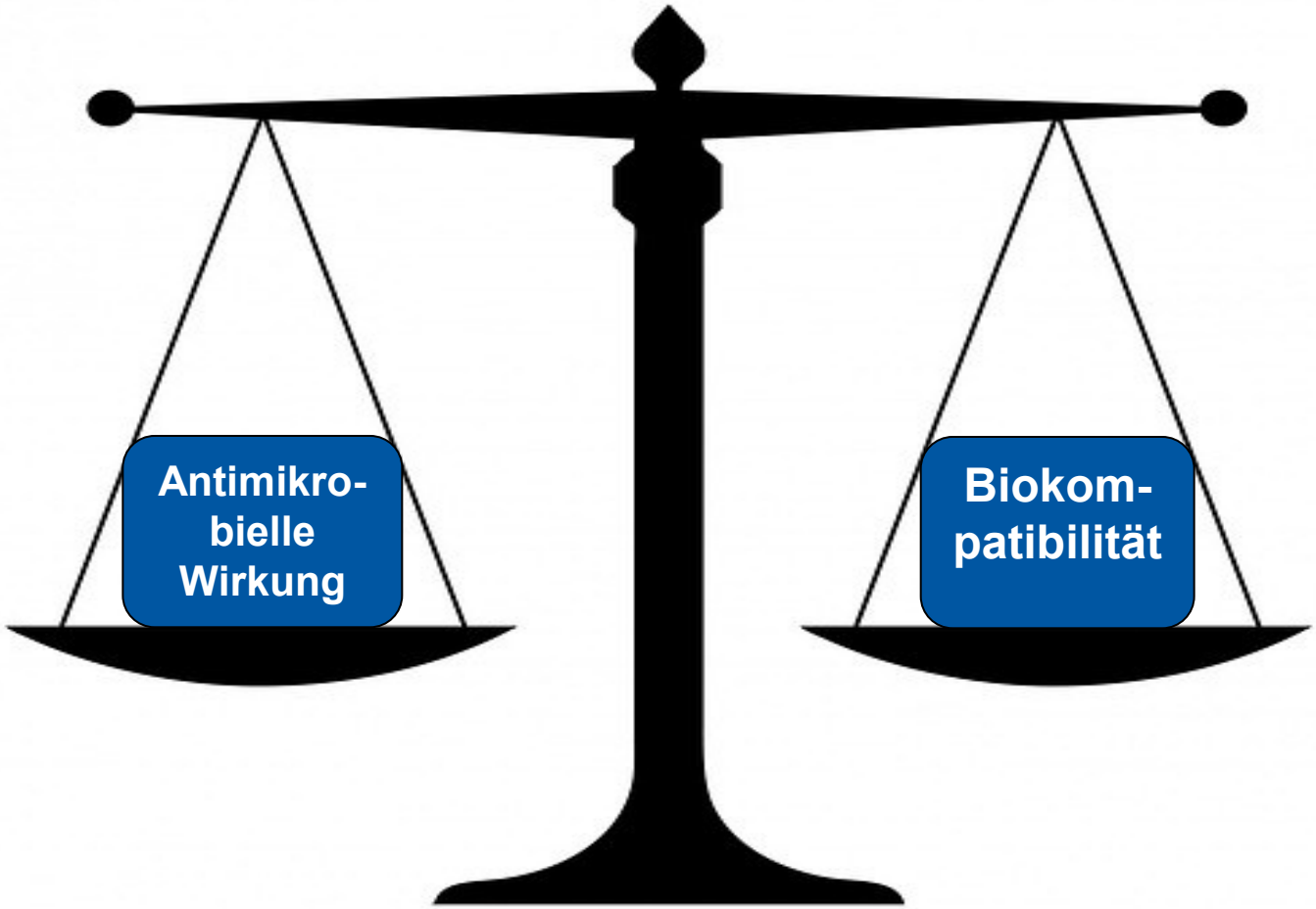
First Author	Ref.	Year	Composite		Percentage		Setup	Methods/Endpoints	Biological Outcome
			1st Phase	2nd Phase	1st Phase	2nd Phase			
Barbieri	[43]	2017	HA/β-TCP 4/96	AOC	51.7	48.3	in-vivo	Histomorphometry	Compared to CaP/AOC rarely any formation of new bone on CaP/BG composite.
			β-TCP	45S5 (45 wt% SiO_2, 24.5 wt% CaO, 24.5 wt% Na_2O, 6 wt% P_2O_5)-Collagen mix	61.8	38.2			
Bellucci	[18]	2017	HA	BG_Ca/Mix (47.3% SiO_2, 45.6% CaO, 2.3% K_2O, 2.3% Na_2O, 2.6% P_2O_5)	70/20/0	30/80/100	in-vivo	X-Ray, histomorphometry	Increased osteoconductivity of pure BG scaffolds compared to composites, with best results for BG_Ca/Mix. Improved osteoconductivity of CaP/BG composites with increasing BG content.
			45S5	/	100	0			
Chen	[44]	2017	Si-Sr-Zn-Mg-codoped CaP	45S5	100/6.7/0	0/93.3/100	in-vitro	Cell proliferation, osteogenic differentiation, protein expression	Improved proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells in composite materials.
Lopes	[45]	2016	β-TCP	45S5	100/95/92.5	0/5/7.5	in-vitro	Cell viability, SEM	Increased cell viability and advanced attachment in 7.5%-composites.
Bellucci	[19]	2015	HA	BG_Ca/Mix	20/70	80/30	in-vitro	Cell viability, cell proliferation, cytotoxicity	Cell viability in composites equivalent to 45S5-BG.
			45S5	/	100	0			
Lu	[46]	2015	HA/β-TCP (40/60)	58S (60% SiO_2, 36% CaO, 4% P_2O_5)	n/s	n/s	in-vitro	Cell viability, osteogenic differentiation	Synergistic effect of BG and CaP on osteogenic differentiation, further enhanced by BMP-2.
			HA/β-TCP (40/60)	/	100	0			
Bernhardt	[47]	2013	β-TCP	Na-Mg-Si-BG system	96	4	in-vitro	Cell adhesion, osteogenic differentiation, cell viability	Cell viability and number increased or equal for pure β-TCP vs. β-TCP/BG composites. No differences in osteogenic performance (ALP activity) for pure β-TCP vs. β-TCP/BG after 28 days of incubation. Unless pre-incubated, HA/β-TCP/BG composites and HA/BG composites did reduce cell number compared to pure β-TCP.
			HA/β-TCP (60/40)	SiO_2 matrix	n/s	n/s			
			HA	SiO_2 matrix	76	24			
			β-TCP	/	100	0			
Bellucci	[48]	2013	HA	BG_Ca (47.3% SiO_2, 45.6% CaO, 4.6% Na_2O, 2.6% P_2O_5)	80/60	20/40	in-vitro	Cell adhesion, cell proliferation, cell viability, osteogenic differentiation	Increased osteogenic differentiation for BG_Ca composites (ALP activity) vs. 45S5-BG composites. Increased osteogenic differentiation with increasing BG content in both composites. No major differences in cell proliferation between the different composites.
				45S5					

[Karadjian et al. 2019]

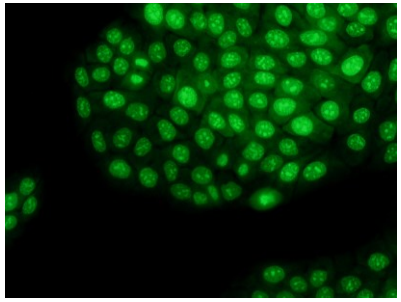
BonAlive® putty

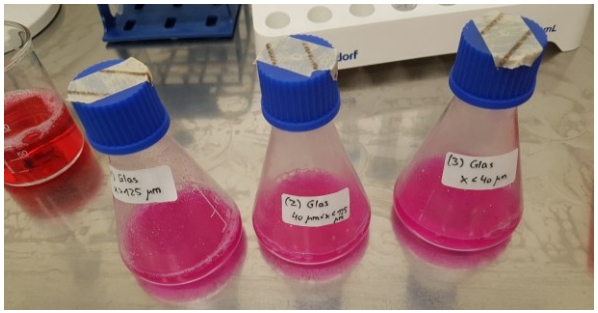
New SCHOTT® Dental Glass Resist

Balance zwischen Effekt und Verträglichkeit

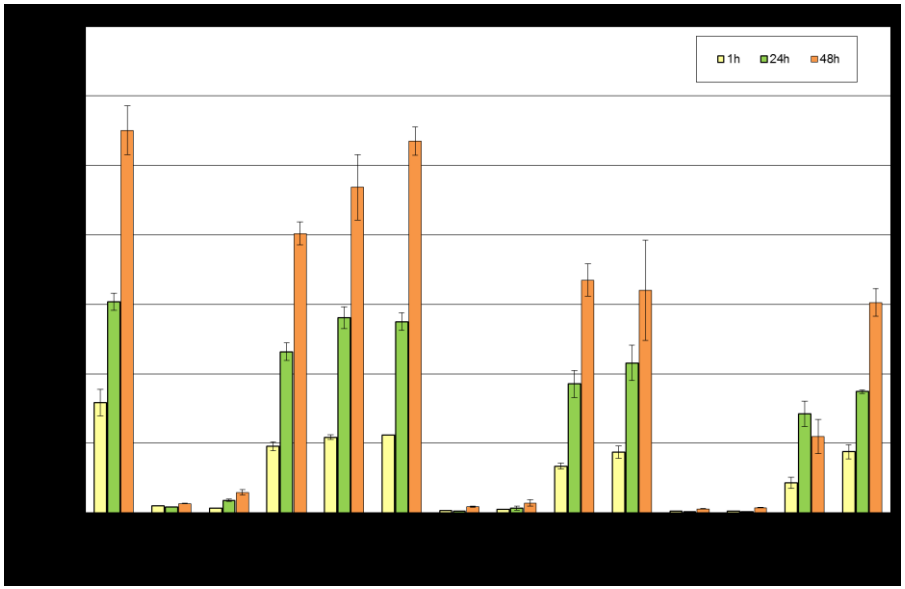


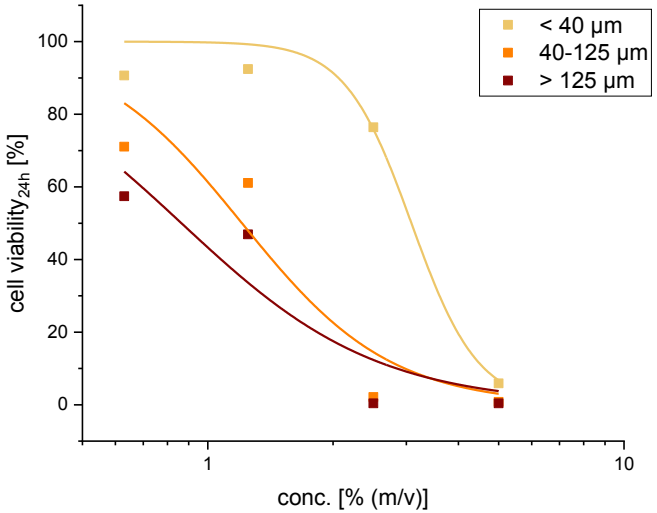
Bestimmung der Zellverträglichkeit





Luise Böhme
Dipl.-Ing. Klaus Richter
ITP GmbH - Gesellschaft für Intelligente Textile Produkte

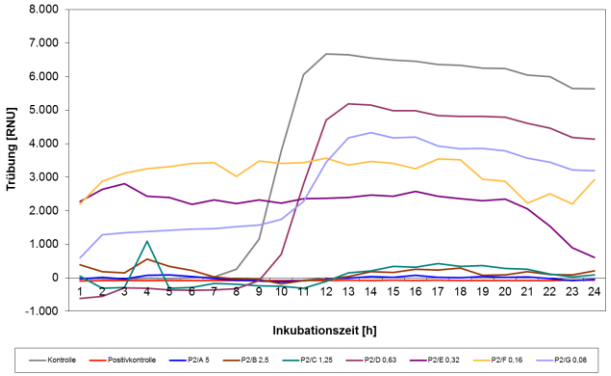




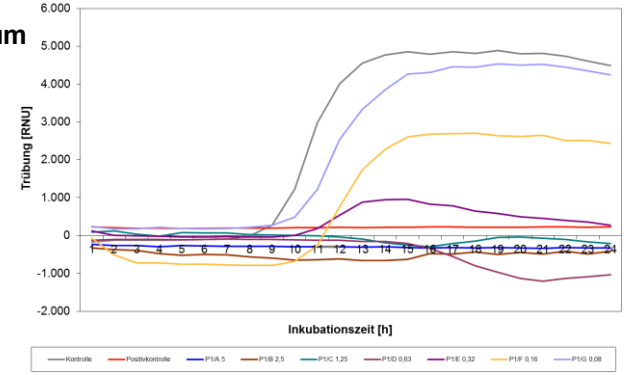
	< 40 µm	40 – 125 µm	> 125 µm
LC_{50} [%(m/v)]	0,86 ± 0,20	1,21 ± 0,24	3,09 ± 0,29

Untersuchung der antimikrobiellen Wirkung

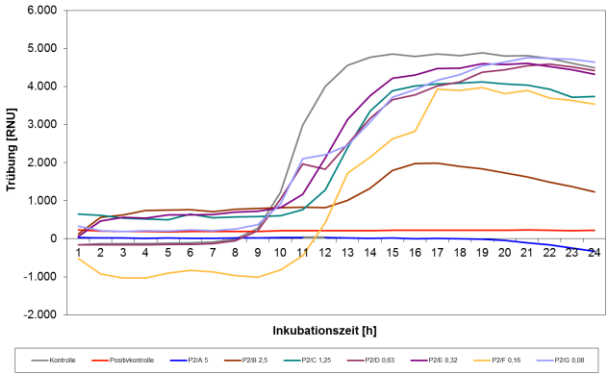
< 40 µm

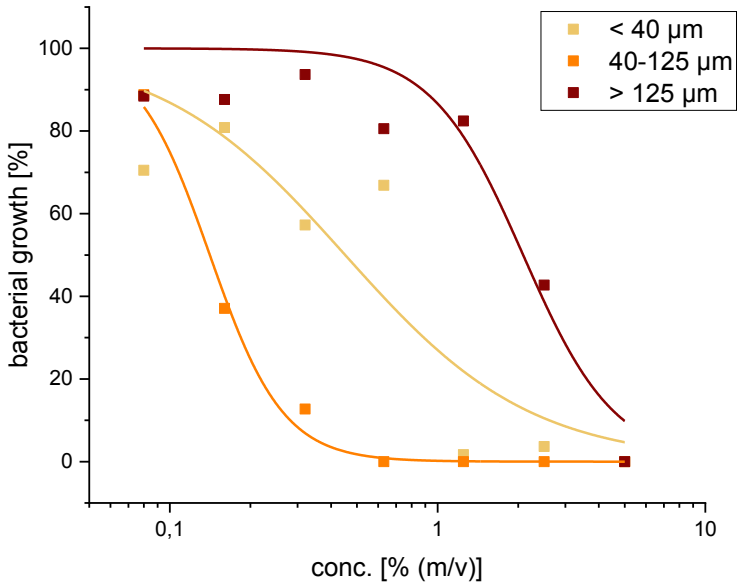


40 – 125 µm



> 125 µm





	< 40 µm	40 – 125 µm	> 125 µm
IC_{50} [%(m/v)]	0,45 ± 0,15	0,14 ± 0,01	2,09 ± 0,31

Zusammenfassung

- **Bioaktives Glas mit einer Partikelgröße > 125 µm wies die höchste Zellverträglichkeit auf**
- **eine Partikelgröße von 40 – 125 µm erzielte die größte antibakterielle Wirkung**
- **Berechnung des BCI (Biokompatibilitätsindex: BCI = LC_{50}/IC_{50}) zur Bewertung der Zellverträglichkeit und antibakteriellen Wirkung**

	< 40 µm	40 – 125 µm	> 125 µm
LC_{50} [%(m/v)]	0,86 ± 0,20	1,21 ± 0,24	3,09 ± 0,29
IC_{50} [%(m/v)]	0,45 ± 0,15	0,14 ± 0,01	2,09 ± 0,31
BCI	**1,9**	**8,6**	**1,5**