

Photodynamic Therapy for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Using Various Photosensitizer

Pil Seung Kwon¹ and Yoon kyung Jo^{2,*†}

¹Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science College, Iksan, 570-750, Korea

²Department of Clinical Laboratory Science, Dongnam Health College, Suwon 440-714, Korea

The aim of this study was to evaluate the photodynamic effect of various photosensitizing agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA was exposed to light from a 632 nm diode laser (15 J/cm²) in the presence of various photosensitizer, such as photofrin, photogem, radachlorine and ALA. *In vivo* study was performed using ICR mice. Twenty eight mice had a standard wound (100 mm²) created on the dorsum, and MRSA was inoculated into the wound region. The four groups were classified as follows: (1) the untreated control group (bacteria alone), (2) the bacteria plus light group (15 J/cm²), (3) the bacteria plus photofrin group (kept in the dark), and (4) the photodynamic therapy (PDT) group (bacteria, photofrin, and light). After photofrin (dose 1 mg/kg) injection, the experimental group was irradiated with 632 nm diode laser (15 J/cm²) for 30 minutes after *In vitro* results of PDT showed the complete killing of MRSA at the photofrin, radachlorine, and photogem. However, ALA-PDT was ineffective on MRSA viability. *In vivo* results showed that photofrin has therapeutic effect on the wound infection. These results demonstrate that selective lethal photosensitization of MRSA can be achieved using photofrin, photogem and radachlorin. Thus, PDT can inactivate MRSA survival.

Key Words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Photodynamic therapy, Photosensitizer, Diode laser

서 론

우리나라 환자에서 분리되는 황색포도알균의 70% 정도가 메치실린 내성균이다 (Hong et al., 2004; Kim et al., 2004; Lee et al., 2005). 메치실린 내성 포도알균 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA)의 내성 기전은 세균이 선천적으로 염색체 내에 mec A 유전자를 획득하여 약제에 친화성이 적은 세포벽합성단백인 penicillin bindingprotein (PBP) 2a에 의하여 생긴다 (Chambers 1997; Georgopapadakou et al., 1999). mec A gene에 의해 생성된 PBP 2a는 모든 β -lactam 항생제와 친화도가 낮아 메치실린 내성 포도알균의 치료제로는 현재 vancomycin이 유일한 대안으로 되고 있으며 이로 인해 vancomycin 사용이 증가되었다. 1997년 일본에서 Vancomycin-intermediate

Staphylococcus aureus (VISA)가 보고되고 2002년 미국에서 Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA)가 보고된 이후로 현재까지 전 세계에서 7건의 VRSA와 39건의 VISA가 보고되었다 (Chang et al., 2003; Neugen et al., 2008). 국내의 경우 높은 메치실린 내성 포도알균 분리와 그에 따른 vancomycin 사용의 증가로 VISA와 VRSA가 출현할 가능성이 높다. 아직까지는 그 빈도는 극히 낮지만 장래에 사용이 증가됨에 따라 감염의 치료에 커다란 문제를 야기 시키게 될 것이다. 그래서 오늘날 항생제 내성문제에 자유로운 광역학 치료 (Photodynamic therapy, PDT)란 암치료방법을 이용하여 박테리아를 사멸시키는 연구가 활발히 진행되고 있다.

광역학 치료는 레이저 빛에 예민한 반응을 보이는 광감작제 (photosensitizer)를 종양에 투여하고, 광감작제가 활성화되는 특정 파장의 빛을 조사하여 광화학적, 광생물학적 기전에 의해 암조직을 특이적으로 손상시키는 암 치료방법이다 (Dougherty et al., 1997; Oleinick and Evans, 1998). 광역학 치료에 의한 세포내 작용 기전의 시작은 광물리현상으로 이해되고 있는데 바닥 상태의 광감작제를 특정 파장의 빛으로 활성화시켜 단일항 상태나 삼중

*접수일: 2009년 8월 13일 / 수정일: 2009년 8월 29일
채택일: 2009년 9월 7일

†교신저자: 조윤경, (우) 440-714 경기도 수원시 장안구 정자동 937, 동남보건대학 임상병리과
Tel: 010-6218-2467, Fax: 031-249-6410
e-mail: ykjo@dongnam.ac.kr

항 상태로 되고 여기서 바닥 상태로 될 때 방출되는 에너지가 산소와 반응하여 활성산소 (O_2)를 생성시키거나 (Type II 반응) 감작제가 전자전달계에 관여하는 경우 자유라디칼이 형성되어 (Type I 반응) 세포파괴가 일어난다 (Foote, 1987; Tomio et al., 1980; Ochsner, 1997). 광역학 치료는 광감작제를 전신 혹은 국소적인 방법으로 주입하여 축적시킨 뒤 특정 파장의 광감작 광선을 조사하는 방식으로 원하는 표적을 선택적으로 파괴하여 신체의 손상을 최소화 하기 위한 치료법이다. 현재 광역학 치료는 암세포 치료 뿐만 아니라 항생제 내성균주 그리고 항암제와 병행치료연구에도 활발한 연구가 진행되고 있다 (Maisch, 2007). 현재 많이 사용되고 있는 광감작제는 Hematoporphyrin 유도체를 근간으로 하는 photofrin이 임상 허가가 나와 실제 적용되고 있다. 이러한 박테리아 광역학 치료는 체외적인 방법으로 시도를 시작하여 오늘날 까지 많은 연구들이 다양한 광감작제를 이용한 연구들이 이루어지고 있다 (Hamblin and Hasan, 2004). 그러나 국내에는 아직까지 박테리아의 광역학 치료가 시초단계이며, 많은 연구들이 이루어지지 않은 상태이다.

그래서 본 저자들은 병원감염균으로 널리 알려져 있고 분리율이 높은 메치실린 내성 포도알균을 다양한 광감작제를 이용하여 광역학적 살균효과를 얻기 위해 선택할 수 있는 광감작제를 알아보았고, 체내실험은 마우스를 통하여 메치실린 내성 포도알균에 감염된 상처의 치유효과를 정상 대조군과 비교분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 사용균주

VITEK II System의 GP card와 AST-572 card 이용하여 동정된 메치실린 내성 포도알균을 본 실험에 사용하였다. 균주를 혈액배양배지에 도말한 후 5% CO_2 배양기에서 24시간 동안 배양하여 생성된 집락 1개를 취하여 Mueller-Hinton broth (Difco, MI, USA) 2 mL에 현탁시킨 다음 1.5×10^8 CFU/mL가 되는 0.5 MacFarland 표준값을 VITEK사의 densicheck으로 측정 후 실험균주를 1.5×10^4 CFU/mL로 희석하여 사용하였다.

2. 광감작제 및 광원

본 연구에 사용된 광감작제 photogem (Lomonisov institute of Fine Chemical, Russia)는 DPBS (Hyclone, SH30264.01)에 10 mg/mL로 녹여 만든 뒤 0.2 μm filter로

여과하여 사용하였다. 5-aminolevulinic acid (ALA)와 photofrin (Axcan Pharma, Canada), Radachlorin (RADA-PHARMA Co, Ltd. Russia)도 photogem과 같은 방법으로 조제하여 사용하였고, 광원은 632 nm diode laser (BioLitec, Germany)를 사용하였다.

3. 광역학적 치료 후의 CFU (Colony Forming Units) 검사

광감작제인 ALA, photofrin, radachlorin, photogem의 농도를 멸균된 시험관을 사용하여 100, 50, 25, 12.5 $\mu g/mL$ 가 되도록 한 다음 다시 1.5×10^4 CFU/mL로 희석된 메치실린 내성 포도알균의 희석액과 1:10 희석하여 실험균의 최종 농도 10, 5, 2.5, 1.25 $\mu g/mL$ 가 되도록 한 후 5% CO_2 배양기에서 4시간 동안 두었다. 그 후 632 nm의 광원 출력장비 (BioLitec, Germany)를 사용하여 0.5 W로 30분 동안 레이저 빛을 조사하였다. 이때 사용된 최종 energy density는 15 J/cm^2 이며 레이저 조사가 끝난 후 혈액배양 배지에 각각 20 μl 씩 분주 후 스프레더를 이용하여 접종한 후 하루 동안 배양시킨 후 생성된 집락의 수를 관찰하였다.

4. 메치실린 내성 포도알균에 감염된 마우스의 광역학 치료효과

Male (20~25 g), ICR 마우스 (n=28)를 4가지 그룹 (대조군, 레이저만 조사한 군, 고아감작제 투여군, 광역학 치료군)으로 나누어 한 그룹 당 7마리를 사용하였다. 케타민으로 마취시킨 후 등의 털을 깎고, 가로세로 12.5 \times 8 mm (100 mm^2) 크기로 수술용 가위를 이용하여 상처를 만들었다. 그 후 멸균된 면봉으로 배양된 메치실린 내성 포도알균균주 1 집락씩을 접종하였다. 감염시킨 마우스를 각각의 케이지에 넣고 24시간 사육시키고 photofrin을 1 mg/kg의 양을 정맥 내로 주입시킨 후 다시 8시간의 후 632 nm의 광원 출력장비 (BioLitec, Germany)를 사용하여 0.5 W로 30분 동안 레이저 상처부위에 빛을 조사하였다. 이때 사용된 최종 에너지 밀도는 15 J/cm^2 이며 빛을 조사한 그 다음날부터 상처부위의 크기를 vernier calipers로 가로 (A), 세로 (B)의 길이를 측정하고 상처의 부피 (mm^3) = (A \times B)로 계산하였다.

결 과

632 nm 다이오드 레이저를 이용하여 4가지의 광감작

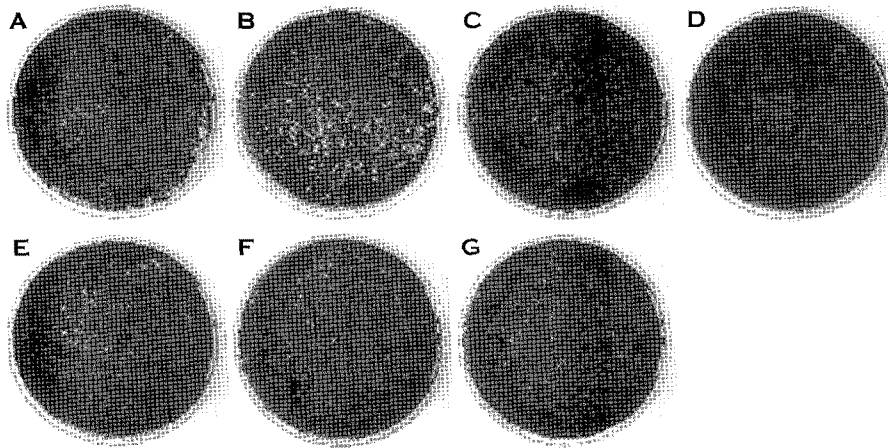


Fig. 1. MRSA viability on blood agar plate after PDT with various concentrations of ALA. **A:** No treatment, **B:** Laser only, **C:** ALA only, **D:** 10 µg ALA with irradiation 632 nm diode laser, **E:** 5 µg ALA with irradiation 632 nm diode laser, **F:** 2.5 µg ALA with irradiation 632 nm diode laser, **G:** 1.25 µg ALA with irradiation 632 nm diode laser

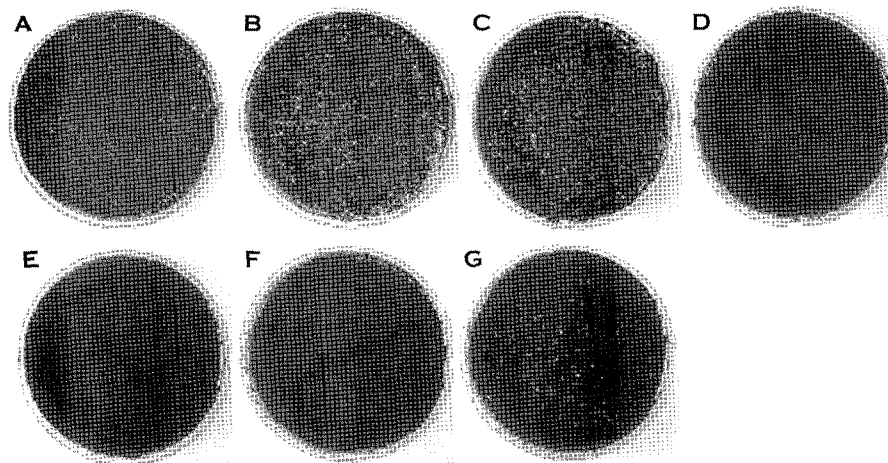


Fig. 2. MRSA viability on blood agar plate after PDT with various concentrations of photofrin. **A:** No treatment, **B:** Laser only, **C:** photofrin only, **D:** 10 µg photofrin with irradiation 632 nm diode laser, **E:** 5 µg photofrin with irradiation 632 nm diode laser, **F:** 2.5 µg photofrin with irradiation 632 nm diode laser, **G:** 1.25 µg photofrin with irradiation 632 nm diode laser

제인 ALA을 처리하여 *in vitro* 상에서의 광역학 치료를 실시하였을 때 메치실린 내성 포도알균의 살균능을 확인한 결과는 10 µg/mL의 농도에서는 241개의 CFU가 나왔지만 5, 2.5, 1.25 µg/mL까지는 10⁴ 이상의 집락이 형성되어 효과가 좋지 않았다 (Fig. 1). Photofrin의 광역학 치료는 10, 5, 2.5 µg/mL의 농도에서는 100% 사멸을 보였고 1.25 µg/mL의 농도에서는 106개의 CFU가 형성되어 효과가 4가지의 광감작제 중 가장 좋은 것으로 나타났다 (Fig. 2). 대조군으로는 빛만 투여한 군과 광감작제만을 투여한 군과 아무것도 처리하지 않은 군 모두에서 무수히 많은 집락을 볼 수 있었다 (Fig. 2, Table 1). Radachlorine은 10, 5, 2.5 µg/mL의 농도까지 완전 사멸을 볼 수 있었고 1.25 µg/mL에서는 503개의 CFU가 관찰되었다 (Fig. 3). Photogem을 이용한 광역학 치료에서는 10, 5 µg/mL의 농도에서는 100% 살균능을 볼 수 있었으며, 2.5 µg/mL의 농도에서는 7개의 CFU가 관찰되었고 저농도인 1.25 µg/

Table 1. MRSA Viability after PDT

| Various photosensitizer | Concentration (µg/ml) | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------|-----|-----|------|-----|-----|------|
| | Control | L-O | P-O | 1.25 | 2.5 | 5.0 | 10.0 |
| ALA | § | § | § | § | § | § | 241 |
| Photofrin | § | § | § | 106 | 0 | 0 | 0 |
| Radachlorine | § | § | § | 503 | 0 | 0 | 0 |
| Photogem | § | § | § | ¥ | 7 | 0 | 0 |

L-O = Laser only; P-O = Photosensitizer only; § = Over 10⁴; ¥ = Over 10³

mL의 농도에서도 10³ 이상의 CFU를 나타내어서 비교적 저농도까지 광역학 치료가 효과적인 것을 볼 수 있었다 (Fig. 4). 이 결과로 4가지의 광감작제 중에서 photofrin이 가장 저농도에 까지 많은 살균능을 보여 가장 우수하였으며, radachlorine과 photogem이 그 다음으로 우수하였고 ALA는 고농도인 10 µg/mL에서도 241개의 집락이 관찰되어 메치실린 내성 포도알균에 대한 광역학 치료 시 4

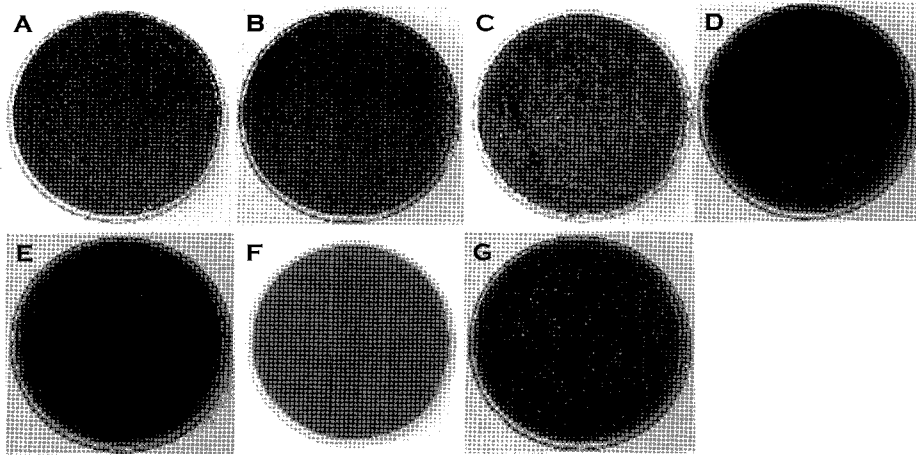


Fig. 3. MRSA viability on blood agar plate after PDT with various concentrations of radachlorin. **A:** No treatment, **B:** Laser only, **C:** radachlorin only, **D:** 10 µg radachlorin with irradiation 632 nm diode laser, **E:** 5 µg radachlorin with irradiation 632 nm diode laser, **F:** 2.5 µg radachlorin with irradiation 632 nm diode laser, **G:** 1.25 µg radachlorin with irradiation 632 nm diode laser

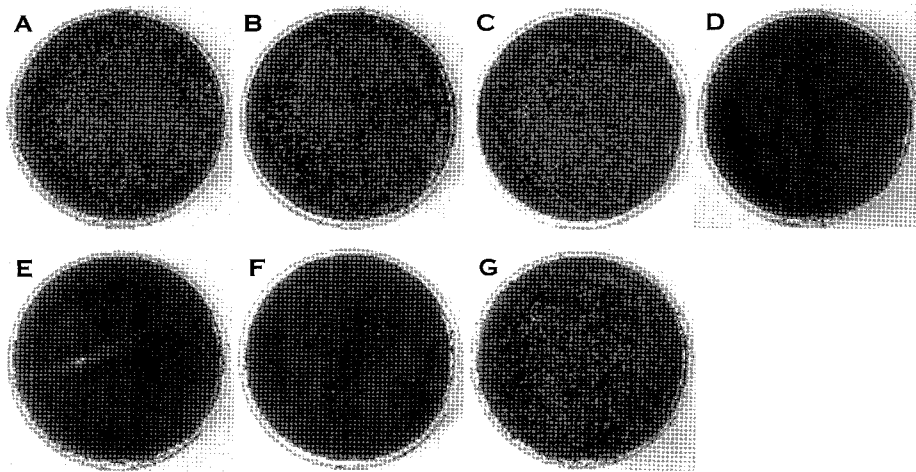


Fig. 4. MRSA viability on blood agar plate after PDT with various concentrations of photogem. **A:** No treatment MRSA, **B:** Laser only, **C:** photogem only, **D:** 10 µg photogem with irradiation 632 nm diode laser, **E:** 5 µg photogem with irradiation 632 nm diode laser, **F:** 2.5 µg photogem with irradiation 632 nm diode laser, **G:** 1.25 µg photogem with irradiation 632 nm diode laser

가지 중 가장 효율이 떨어지는 것을 볼 수 있었다.

체내실험으로 ICR 마우스의 등에 상처를 만들고 메치실린 내성 포도알균을 감염시킨 후 photofrin을 꼬리정맥을 이용하여 투여하고 흡수시간을 거친 후 빛을 조사하였다. 그 후 대조군들과 비교하여 상처부위의 크기를 관찰하였다. 광역학 치료 이후 2일째부터 5일째 까지 조금씩 상처 크기가 나기 시작하여 마지막 5일째의 비교값을 보면 대조군의 평균값이 72.3 mm²이었고, photogem만 투여한 군의 평균값 54.4 mm², 레이저만 투여한 군은 43.7 mm², 광역학 치료군은 32.8 mm²로 측정되었다. 마지막 5일째의 대조군과 광역학 치료군의 차이는 39.5 mm²이었다.

그 결과 광역학 치료군이 대조군과의 비교했을 때 상처의 부위가 빨리 치유되는 것으로 나타났으며 레이저 빛만을 조사한 군도 대조군보다 빨리 치유되는 것으로 나타났다. 상처치유의 순서는 광역학 치료군, 레이저조사

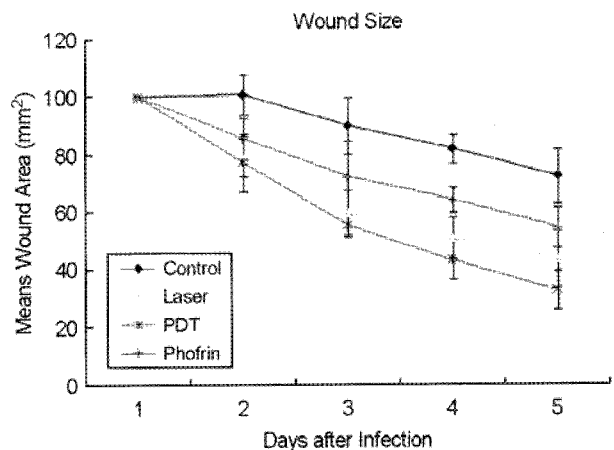


Fig. 5. Mean areas of wound of mice (n=7/group) after PDT (photofrin dose 1 mg/kg were injected intra vein 0.1 ml per mice, after 1 day, by 15 J/cm² red light). Control group: bacteria alone, Photofrin group: bacteria + photofrin(dose 1 mg/kg) kept in the dark, Laser group: bacteria + light, PDT group: bacteria, photofrin and light, Bars: SD.

균, photofrin 투여균, 대조균 순으로 나타났다 (Fig. 5).

고 찰

Hematoorphyrin 계열인 photofrin, photogem과 같은 지질친화성 감작제 (lipophilic sensitizer)나 5-ALA-induced protoporphyrin IX은 암세포 실험 시 주로 미토콘드리아, 소포체, 세포막, 핵막, 그리고 핵 주변에 축적되고 리소좀과 세포핵 내에는 훨씬 적은 양이 분포한다. 광감작제의 약물동력학 연구에 따르면 소수성 광감작제는 지질 단백질과 결합하며 친수성 광감작제는 알부민과 결합하기 쉬워 축적되는 위치나 광역학 치료효과가 서로 다를 수 있다. 그 밖에 광감작제의 분자량, 전하의 크기도 세포내 분포에 영향을 준다. 세포의 광역학적 치료 기전은 광감작제가 축적된 위치에 특정의 빛을 조사함으로써 산소가 활성화 되어 세포를 괴사시키는 것으로 알고 있다. 그러나 박테리아의 사멸 기전은 DNA 손상과 세포막 손상으로 알려져 있다. 이 실험의 결과로 미루어 볼 때 같은 조건의 메치실린 내성 포도알균에 대한 광역학 치료 시 photofrin, photogem과 radachlorine은 박테리아의 세포벽을 쉽게 통과하여 흡착이 잘 일어났고 ALA는 박테리아의 세포벽에 침투성이 좋지 않은 것으로 여겨진다.

Radachlorine은 체내의 대사가 빠르고 빛에 노출이 되지 않은 상태에서는 독성이 없고 종양부위에 선택적으로 축적이 되며 광역학적 효율성이 높은 것으로 보고되어진 제2세대 광감작제이다 (Kessel et al., 1987; Jori, 1996). 이것은 세포 치료 시 세포내 골지체에 특이적으로 많이 흡수되나 미토콘드리아와 리보솜에서도 발견되는 것으로 알려져 있다 (Kwak et al., 2005). 그러나 메치실린 내성 포도알균 광역학 치료에서는 radachlorine, photofrin, photogem 모두가 비슷한 광역학 효과를 나타내어 박테리아 광역학 치료에선 3가지 모두 효과가 좋았다.

ALA는 Heme의 생합성 과정의 자연 전구물질로서 내인성 광과민제인 Protoporphyrin IX의 형성을 유도하게 된다 (Rimington, 1996). 이 Protoporphyrin IX은 강력한 광감작제로 활성화 되었을 때 형광을 내고 세포독성을 나타내므로 ALA는 주로 암의 광역학적 진단과 치료에 사용되어 왔다 (Kennedy, 1992). ALA의 장점은 광과민성이 1일에서 2일로 짧은 것이다. 다른 photofrin이나 photogem 등의 hematoporphyrin 계열의 광감작제는 7주 이상 지속되는 것이 단점이다. 그러나 본 실험결과에서는 photogem이나 photofrin이 메치실린 내성 포도알균의 광역학 치료

시에 더욱 효과적인 것으로 나타났고 ALA는 효과가 없는 것으로 관찰되었다. 그래서 hematoporphyrin 계열의 광감작제는 광과민성이 길다는 단점을 지니고 있지만 메치실린 내성 포도알균의 치료 시엔 유용할 것으로 기대된다. 박테리아는 완전 살균이 이루어 지지 않으면 임상적으로 신체의 각 부위에서 재 증식이 일어나고 다시 병변이 재발하기 쉬운 점이 있기 때문에 본 연구에서는 완전 사멸을 목적으로 하였다.

지금까지 이루어진 메치실린 내성 포도알균에 대한 시도되었던 성체 외 광역학 치료를 보면 1998년 Wainwright 등에 의해 메틸렌블루를 이용한 연구가 있었으며 (Wainwright et al., 1998) 메치실린에 내성이 없는 포도알균에 대해서는 1998년 Golding 등은 malachite green isothiocyanate를 이용하였고 (Golding et al., 1998), 1999년 Kubin 등은 photofrin과 m-THPC, hypericin을 이용하였다 (Kubin et al., 1999) 2001년 Tolstyh 등은 photosens라는 물질을 이용하였다 (Tolstyh et al., 2001). 이와 같은 연구들은 광감작제의 주입량과 사용균주의 농도, 광역학 치료 조건들이 각기 다르며 치료 후의 감소효과를 나타내었지만 완전 살균효과를 볼 수 없었다. 그러나 본 연구에서는 완전한 살균효과를 입증하였다. 현재 박테리아의 감염은 주로 항생제치료를 통하여 이루어지고 있고 효과 또한 우수하다. 그러나 항생제 오남용으로 인한 내성균과 독성의 부작용을 보완하기 위한 많은 대체방법들이 시도되고 있다 (Gorbach, 1990). 이런 항생제 내성균에 대한 대안이 시급한 실정에서 광역학 치료법이 하나의 대안으로 떠오르고 있다. 광역학 치료는 암치료에 많이 이용되고 있으며, 박테리아를 사멸시키는 데도 이용되고 있다고 보고되었다 (Barr et al., 1987; Bedwell et al., 1990). 본 연구에서는 Hematoporphyrin 계열을 포함한 chlorin 계열의 감작제의 미량만으로도 메치실린 내성 포도알균의 완전한 살균 효과를 나타내어서 앞으로 메치실린 내성 포도알균의 치료방향에 많은 도움이 될 것으로 기대된다.

체내실험에서는 마우스의 상처에 메치실린 내성 포도알균을 감염시키고 난 후 하루 동안 관찰 후 정맥을 통해 Photofrin을 주입 후 흡수시간을 6시간 준 후 다이오드 레이저로 상처부위에 빛을 조사하였다. 이 결과 4일 후 광역학 치료군이 다른 대조군이 비교했을 때보다 빠른 치유를 볼 수 있었다. 최근 Parjam 등의 체내실험에서는 메틸렌블루를 이용하여 살균효과를 실험하였다. 이 실험은 상처에 감염된 메치실린 내성 포도알균의 수를 측정하여 살균효과를 입증하였다. 그러나 본 실험에서는 상

처부위의 크기만을 측정하였다. 앞으로의 체내실험에서도 흡수시간과 다양한 광감작제를 이용하여 다양한 동물실험이 이루어져야 될 것이고 상처치유에 대한 광역학적 치료 기전에 대한 더 많은 연구가 이루어져야 될 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Barr H, Tralau CJ, Macrobert AJ, Krasner N, Boulos PB, Clark CG, Bown SG. Photodynamic therapy in the normal rat colon with phthalocyanine sensitisation. *Br J Cancer* 1987. 56: 111-118.
- Bedwell J, Holton J, Varia D, Macrobert AJ, Bown SG. *In vitro* killing of helicobacter pylori with photodynamic therapy. *Lancet* 1990. 335: 1287.
- Chambers HF. Methicillin resistance in *Staphylococci*: Molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 1997. 10: 781-791.
- Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP, Shah S, Rudrik JT, Pupp GR, Brown WJ, Cardo D, Fridkin SK. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N Engl J Med*. 2003. 348: 1342-1347.
- Dougherty T, Kaufman J, Goldfarb A, Weishaupt K, Boyle D. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res*. 1978. 38: 143-151.
- Foote CS. Type I and Type II mechanism of photodynamic action, in heitz JR and Dow-num KR (eds), *Light-activates Pesticides*. American Chemical Society, Washinton DC. 2. 1987. 2-38.
- Georgopadakou NH, Smith SA, Bonner DP. Penicillin binding proteins in a *Staphylococcus aureus* strains resistant to specific beta-lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999. 43: 15-22.
- Golding PS, King TA, Maddocks L, Drucker DB, Blinkhorn AS. Photosensitization of *Staphylococcus aureus* with malachite green isothiocyanate: inactivation efficiency and spectroscopic analysis. *J Photochem Photobiol B*. 1998. 47: 202-210.
- Gorbach SL. Bismuth therapy in gastrointestinal disease. *Gastroenterology* 1990. 99: 863-875.
- Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease?. *J Photochem Photobiol B*. 2004. 3: 436-450.
- Hong SG, Lee JW, Yong DE, Kim EC, Jeong SH, Park YJ, Kim MN, Au Y, Shin JH, Lee JU, Ahn JY, Lee SH, Kim JS, Shin HB. Antimicrobial resistance of clinically important bacteria isolated from 12 hospitals in Korea. *Korean J Clin Microbiol*. 2004. 7: 171-177.
- Jori G. Tumour photosensitizer: approaches to enhance the selectivity and efficiency of photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B*. 1996. 36: 87-93.
- Kennedy JC, Pottier RH. Endogenous protoporphyrin X, a clinical usefull photosensitizer for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B*. 1992. 14: 275-292.
- Kessel D, Thompson P, Saaito K, Namturri KD. Tumof localization and photosensitization by sulfonated dervatives of tetraphenylporphine. *Photochem Photobiol*. 1987. 45: 787-790.
- Kim JS, Kim HS, Song WK, Cho HC, Lee KM, Kim EC. Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated in 13 Korean hospitals. *Korean J Lab Med*. 2004. 24: 223-229.
- Kubin A, Wierrani F, Jindra RH, Loew HG, Grünberger W, Ebermann R, Alth G. Antagonistic effects of combination photosensitization by hypericin, meso-tetrahydroxyphenylchlorin (mTHPC) and photofrin II on *Staphylococcus aureus*. *Drugs Exp Clin Res*. 1999. 25: 13-21.
- Kwak SY, Bae SM, Lee AJ, Kim JK, Park CH, Han SJ. Uptake and photodynamic therapy effects of radachlorin *in vitro* and *in vivo*. *J Kor Photodynamic Association*. 2005. 2: 123-130.
- Lee HM, Yong DE, Lee KW, Hong SG, Kim EC, Jeong SH, Park YJ, Choi TY, Au Y, Shin JH, Lee YG, Lee JU, Ahn JY, Lee SH, U GJ. Antimicrobial resistance of clinically important bacteria isolated from 12 hospitals in Korea in 2004. *Korean J Clin Microbiol*. 2005. 8: 66-73.
- Maisch T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future. *Laser Med Sci*. 2007. 22: 83-91.
- Neugen M, Pettyjohn R, Sahm DF. Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA). <http://www.narsa.net/> (Updated on Jul 2008).
- Ochsner M. New trends in photo biology of photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumors. *Photochem Photobiol*. 1997. 39: 1-18.
- Oleinick NL, Evans HH. The photo biology of photodynamic therapy: cellular targets and mechanism. *Rad Res*. 1998. 150: 146-156.
- Rimington C. Photophyrin and haem biosynthesis and its control. *Acta Med Scand*. 1996. 445 (suppl): 11s-24s.
- Tolstykh PI, Stranadko EF, Koraboev UM, Urinov AIa, Tolstykh MP, Terekhova RP, Volkova NN, Duvanskii VA. Experimental

- study of photodynamic effect on bacterial wound microflora. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 2001. 2: 85-87.
- Tomio L, Redi G, Joli PL, Zorat GB. Hematoporphyrin as a sensitizer in tumor photo therapy: effect of medium polarity on the photo sensitizing efficiency and role of the administration pathway on the distribution in normal and tumor bearing rats, in R. Pratesi and CA sacchi (eds), Lasers in photoedicine and photobiology, pringer-Verlag, Berlin. 1980. 76-82.
- Wainwright M, Phoenix DA, Laycock SL, Wareing DR, Wright PA. Photobactericidal activity of phenothiazinium dyes against methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol Lett. 1998. 15: 177-181.
-