

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
der Medizinischen Fakultät der Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchung zur Verteilung von Bakterien in der menschlichen Haut

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité - Universitätsmedizin
Berlin

von

Dorte Marenbach

aus Rostock

Gutachter:

1. Prof. Dr. Dr.-Ing. J. Lademann
2. Prof. Dr. Chr. Lang
3. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Chr. C. Geilen

Datum der Promotion: 22.06.2007

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	7
Lebenslauf	8
Danksagung	10
Eidesstattliche Erklärung	11
1. Einleitung	12
1.1. Vorwort	12
1.2. Grundlagen	14
1.2.1. Die menschliche Haut	14
1.2.1.1. Aufbau und Funktion	14
1.2.1.2. Die Epidermis	16
1.2.1.3. Die Dermis	19
1.2.1.4. Die Tela subcutanea	20
1.2.2. Der Follikelapparat	21
1.2.2.1. Struktur des Haarfollikels	21
1.2.2.2. Haarwachstum	22
1.2.2.3. Haarwechsel	23
1.2.2.4. Haarmuskel	24
1.2.2.5. Morphologische Unterschiede der Haarfollikel	24
1.2.2.6. Haarfollikel - unterschiedliche Körperregionen im Vergleich	25
1.2.2.7. Das Phänomen der "offenen" und "geschlossenen" Follikel	25
1.2.2.8. Die Talgdrüsen	26
1.2.3. Mikroflora der menschlichen Haut	27
1.2.3.1. Bestandteile der Hautflora	27
1.2.3.2. Residente Hautflora	28
1.2.3.3. Lokalisation der Mikroflora der Haut	31
1.2.3.4. Mikroflora der Talgdrüsenvollfollikel	32
1.2.3.5. Transiente Hautflora	33
1.2.4. Keimgewinnung	33
1.3. Zielsetzung der Arbeit	35
2. Material und Methoden	37
2.1. Vorversuche	37
2.1.1. Hautparameter und deren Auswirkung auf das Wachstum der Bakterienkolonien	37
2.1.1.1. TEWL	38
2.1.1.2. pH-Wert	40
2.1.1.3. Sebumgehalt der Haut	42
2.1.1.4. Feuchtigkeit der Corneozyten	43

2.1.1.5. Bakterienwachstum in Abhängigkeit der ermittelten Hautparameter	44
2.1.2. Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Bakterienkolonien	45
2.1.3. Überprüfung einer möglichen desinfizierenden Wirkung des <i>tesa®</i> -Filmstreifens auf das Wachstum der Bakterien	46
2.1.4. Anwendung von Waschmittel auf der Haut und deren Einfluss auf das Wachstum der Bakterien.....	46
2.2. <i>tesa®</i>-Film-Abrissmethode	48
2.3. Anzucht der Bakterien	50
2.4. <i>tesa®</i>-Film-Abrissmethode in Kombination mit der Osmiumtetroxid-Färbung	52
2.5. Cyanacrylat zur Herstellung von Hautoberflächenbiopsien und zur Keimgewinnung	53
2.5.1. Anwendungsgebiete und Stoffeigenschaften von Cyanacrylat	53
2.5.2. Herstellung des Cyanacrylat-Abrisses.....	54
2.5.3. Bakterienanzucht unter Verwendung des Cyanacrylat-Abrisses.....	54
2.6. Ermittlung des Hornschichtprofils.....	54
2.7. Erstellen von Follikelkarten.....	56
2.7.1. Follikelkarte mittels der Osmiumtetroxid-Färbung.....	56
2.7.2. Follikelkarte mittels der Cyanacrylat-Abrisstechnik.....	57
2.8. Zählung und Charakterisierung der gewachsenen Bakterienkolonien	60
2.9. Anzucht follikotroper Bakterienkolonien zur Herstellung von Reinkulturen	60
2.10. Reinkultur und biochemische Differenzierung follikotroper Bakterienkolonien	62
2.10.1 Katalase-Test	62
2.10.2. Untersuchung auf Gramverhalten.....	62
2.10.3. Differenzierung mittels Methylenblau-Färbung.....	64
2.10.4. Identifizierung der Isolate.....	65
2.11. Voruntersuchungen zu Filmabrissen	65
2.11.1. Eignung des Filmabrisses für Osmiumtetroxidfärbung nach Übertragen der Bakterien auf Agarplatte.....	65
2.11.2. Eignung des Filmabrisses für UV/VIS-Spektroskopische Messung nach Übertragung der Bakterien auf Agarplatte	66
2.12. Studiendesign für bakterielle Untersuchungen	66
2.12.1. Vorstellung des Probandenkollektivs für die Hauptuntersuchung	66
2.12.2. Versuchsdurchführung	67
2.12.3. Protokolle	67

3. Ergebnisse	71
3.1. Vorversuche.....	71
3.1.1. Hautparameter und deren Auswirkung auf das Wachstum der Bakterienkolonien.....	71
3.1.2. Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Bakterienkolonien	73
3.1.3. Überprüfung einer möglichen desinfizierenden Wirkung des <i>tesa®</i> -Filmstreifens auf das Wachstum der Bakterienkolonien.....	76
3.1.4. Anwendung von Waschmittel auf der Haut und deren Einfluss auf das Wachstum der Bakterien	79
3.2. Bakterienanzucht	80
3.2.1.Makroskopische Charakterisierung der Bakterienkolonien	80
3.3. Ermittlung des Hornschichtprofils.....	81
3.4. Follikelkarten	82
3.4.1. Follikelkarte mittels Osmiumtetroxid-Färbung	82
3.4.2. Follikelkarte mittels der Cyanacrylat-Abrisstechnik.....	84
3.4.3. Follikelkarten im Vergleich.....	85
3.5. Vorversuche zu Filmabrissen.....	86
3.5.1. Eignung des Filmabrisses für die Osmiumtetroxid-Färbung nach Übertragung der Bakterien auf die Agarplatte.....	86
3.5.2. Eignung des Filmabrisses für die UV/VIS-Spektroskopische Messung nach Übertragung der Bakterien auf den Nähragar	88
3.6. Reinkultur – biochemische Differenzierung, Identifizierung	88
3.6.1. Reinkultur	89
3.6.2. Differenzierung mittels Methylenblau-Färbung.....	89
3.6.3. Charakterisierung und Identifizierung ausgewählter Isolate	90
3.7. Keime des Stratum corneum.....	92
3.7.1. Verteilung der gewonnenen Bakterienkolonien im Stratum corneum	92
3.7.2. Follikotrope Bakterienkolonien.....	95
3.7.2.1. Quantität	95
3.7.2.2. Charakterisierung	98
3.8. Bakterienanzucht unter Verwendung des Cyanacrylat-Abrisses	99
– qualitative Differenzierung der gewonnenen Bakterienkolonien	
4. Diskussion.....	105
4.1. Vorversuche.....	105
4.1.1. Hautparameter und deren Auswirkung auf das Wachstum der Bakterienkolonien.....	105

4.1.2. Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Bakterienkolonien	108
4.1.3. Überprüfung einer möglichen desinfizierenden Wirkung des <i>tesa®</i> -Filmstreifens auf das Wachstum der Bakterienkolonien.....	110
4.1.4. Anwendung von Waschmittel auf der Haut und deren Einfluss auf das Wachstum der Bakterien	111
4.2. Verlauf der Extinktionswerte während der Entfernung des Stratum corneum.....	112
4.3. Markierung der Follikelposition	112
4.3.1. Follikelkarte mittels Osmiumtetroxid.....	112
4.3.2. Follikelkarte mittels der Cyanacrylat-Abrisstechnik.....	113
4.3.3. Follikelkarten im Vergleich.....	113
4.4. Vorversuche zu Filmabrissen.....	114
4.4.1. Eignung des Filmabrisses für die Osmiumtetroxid-Färbung nach Übertragung der Bakterien auf die Agarplatte.....	114
4.4.2. Eignung des Filmabrisses für die UV/VIS-Spektroskopische Messung nach Übertragung der Bakterien auf den Nähragar	114
4.5. Erfassung follikotroper Bakterienkolonien zur Herstellung von Reinkulturen	115
4.6. Keime des Stratum corneum.....	116
4.6.1. Verteilung der gewonnenen Bakterienkolonien im Stratum corneum	116
4.6.2. Follikotrope Bakterienkolonien.....	117
4.6.2.1. Prozentualer Anteil der follikotropen Bakterienkolonien an der Bakterienflora...	117
4.6.2.2. Untersuchung follikotroper Bakterienkolonien – 2 Methoden im Vergleich	117
4.7. Charakterisierung follikotroper Bakterienkolonien	118
4.7.1. Interindividuelle Unterschiede bezüglich der follikotropen Bakterienflora.....	118
4.7.2. Differenzierung der follikotropen Bakterienkolonien	119
4.8. Keimgewinnung unter Verwendung des Cyanacrylat-Abrisses – qualitative Differenzierung der isolierten Bakterienkolonien	120
5. Zusammenfassung	123
6. Literaturverzeichnis	127
7. Bildverzeichnis	138

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

BMI	=	Body Mass Index
CCP	=	Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology
TEWL	=	transepidermaler Wasserverlust
UV	=	Ultraviolett (Wellenlängenbereich)
VIS	=	visible; Licht mit Wellenlängen im sichtbaren Bereich
Abb.	=	Abbildung

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. W. Sterry für die Möglichkeit danken, an der dermatologischen Klinik der Charité - Universitätsmedizin Berlin zu promovieren.

Mein besonderer Dank gilt vor allem Herrn Prof. Dr. Dr.-Ing. J. Lademann, der mir das interessante Dissertationsthema überließ. Er betreute meine Arbeit äußerst engagiert und war jederzeit bereit, mir bei Problemen jeglicher Art zur Seite zu stehen. Seine Anregungen und Hinweise sowie so manches aufmunternde Wort waren mir immer sehr wertvoll.

Mein herzlicher Dank gilt auch Frau Prof. Dr. C. Lang, die diese Arbeit in ihrer Arbeitsgruppe ermöglichte, sie mit großem Interesse verfolgte und ihre Entwicklung mit Rat und hilfreichen Vorschlägen begleitete.

Ganz besonders möchte ich mich bei Frau B. Baumann bedanken, die mich tatkräftig bei der Durchführung der Experimente unterstützte – nicht zuletzt durch nützliche Anregungen und Ratschläge.

Mein herzlicher Dank gilt auch Frau Dr. U. Jacobi für ihre Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Experimente sowie für ihre Geduld, Anmerkungen und Hinweise bei der Lösung theoretischer und praktischer Probleme.

Ein besonderer Dank geht an Frau Sabine Schanzer und Frau Heike Richter für die hervorragenden technischen und praktischen Hilfestellungen.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des CCPs – namentlich Frau B. Werner – für die Zusammenarbeit und für die hilfsbereite, freundliche Betreuung bedanken.

Meiner Familie und meinem Mann Jan Marenbach, ganz besonders aber meinen Eltern möchte ich an dieser Stelle noch einmal herzlich für die großzügige Unterstützung danken. Sie haben mir mein Medizinstudium und damit auch die vorliegende Dissertation ermöglicht.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Dorte Marenbach, dass die vorliegende Dissertationsschrift mit dem Thema: „Untersuchung zur Verteilung von Bakterien in der menschlichen Haut“ von mir selbst ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst wurde und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt. Die benutzten Hilfsmittel sowie die Literaturquellen sind von mir vollständig angegeben.

Berlin, den 29.07.2006

Dorte Marenbach