

## 4. Diskussion

### 4.1. Vorversuche

#### 4.1.1. Hautparameter und deren Auswirkung auf das Wachstum der Bakterienkolonien

Die residente Flora der Haut bleibt relativ konstant, jedoch können die Menge der Organismen und der prozentuale Anteil einer Keimart an der Normalflora durch endogene Faktoren oder durch Umwelt- oder bakterielle Einflüsse verändert werden. [33] Bakterieller Antagonismus, Lipide der Haut und Trockenheit [92] beeinflussen das Gleichgewicht der Standortflora.

Sowohl ansteigende Temperatur als auch zunehmende Feuchtigkeit führen zur Zunahme der Organismen auf der Haut und zur Veränderung hinsichtlich ihres prozentualen Anteils. Artifiziiell auf die Haut aufgebrachte Organismen überleben auf feuchter Haut länger als auf trockener Haut. [93]

Der transepidermale Wasserverlust gibt Auskunft über den Wasserdampf, der über das Stratum corneum diffundiert. Das Stratum corneum gilt als epidermale Barriere und schützt den Körper vor übermäßigem Wasserverlust. [60, 94] Veränderungen des transepidermalen Wasserverlustes können Auskunft über die Effektivität der Barrierefunktion der Haut geben. [60]

Unter Berücksichtigung der Einflussparameter auf die Messung des transepidermalen Wasserverlustes und in Anlehnung an die in der Literatur beschriebenen Richtlinien [61] wurden optimale Messbedingungen für die Bestimmung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) geschaffen.

Wilhelm et al. (1991) [95] untersuchten den transepidermalen Wasserverlust bei jüngeren und älteren Menschen. Im Vergleich wurden bei der älteren Probandengruppe ( $70.5 \pm 13.8$  Jahre) [Mittelwert  $\pm$  SD] niedrigere TEWL-Werte erfasst als beim jüngeren Probandenkollektiv ( $26.7 \pm 2,8$  Jahre). Hinsichtlich des Geschlechts wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

Probanden, die an unserem Versuch zur Messung der physiologischen Hautparameter teilnahmen, befanden sich im Alter zwischen 25 und 30 Jahren.

Zwischen den Probanden zeigten sich bezüglich der TEWL-Werte relativ geringe Messwertunterschiede. Die Werte schwankten zwischen  $16,8$  und  $9,3$  g/hm<sup>2</sup>. Bei Proband 1 wurde der höchste TEWL-Wert mit  $16,8$  g/hm<sup>2</sup> erfasst (siehe Tabelle 3.1). Die von seinem Unterarmareal isolierten Bakterienkolonien unterschieden sich von denen der anderen Probanden in der Anzahl der Bakteriengruppen. Seine Kolonien wurden insgesamt sechs Bakteriengruppen zugeordnet, die Gesamtanzahl der Bakterienkolonien betrug 43. Proband 4 zeigte mit  $12,0$  g/hm<sup>2</sup> einen etwas niedrigeren TEWL-Wert, die Anzahl seiner Bakterienkolonien fiel mit 57 relativ hoch aus, die

Bakterienkolonien wurden insgesamt fünf Bakteriengruppen zugeordnet. Vom Unterarm des Probanden 2 konnten bei einem TEWL-Wert von  $11,3 \text{ g/hm}^2$  insgesamt 6 Bakterienkolonien isoliert werden. Diese Kolonien wurden einer Bakteriengruppe zugeordnet. Der niedrigste TEWL-Wert mit  $9,3 \text{ g/hm}^2$  wurde bei Proband 7 gemessen. Seine Bakterienkolonien ließen sich zwei Bakteriengruppen zuordnen, die Gesamtanzahl der Bakterienkolonien betrug 42. Hinsichtlich der gemessenen TEWL-Werte sind interindividuelle Schwankungen zu verzeichnen. Auch im Bakterienwachstum können interindividuelle Unterschiede aufgezeigt werden. Anhand der Ergebnisse lässt sich jedoch kein wechselseitiger Zusammenhang erkennen.

Yosipovitch et al. (1998) [96] führten Untersuchungen zu physiologischen Hautparametern durch. Sie fanden heraus, dass der transepidermale Wasserverlust einem circadianen Rhythmus unterliegt. In ihren Untersuchungen ergab der in den Abendstunden gemessene transepidermale Wasserverlust einen höheren Wert als am morgen. Sie schlussfolgerten daraus, dass die Haut am Abend und in der Nacht durchlässiger ist als am morgen.

Die TEWL-Untersuchungen fanden aufgrund des technischen Ablaufs gegen 11.00 Uhr statt. Dennoch wurden bei Proband 1 mit dem höchsten TEWL-Wert im Verhältnis zu den anderen Probanden nicht mehr Bakterienkolonien gezählt. Möglicherweise ist dieser Wert jedoch nicht ausreichend hoch genug, um Veränderungen bezüglich des Bakterienwachstums zu erfassen. Es ist anzunehmen, dass die gemessenen TEWL-Werte keinen Hinweis darauf geben, wie sich eine Veränderung des transepidermalen Wasserverlusts auf das Bakterienwachstum auswirkt.

Der Wassergehalt des Stratum corneum spielt eine wichtige Rolle hinsichtlich verschiedener Funktionen der Haut. So beeinflusst die Hornschichtfeuchtigkeit die Barrierefunktion der Haut, die Permeabilität und die Hautspannung. Der Wassergehalt wird durch endogene und exogene Faktoren im Gleichgewicht gehalten. Eine wesentliche Rolle spielen dabei der transepidermale Wasserverlust, die Schweißdrüsensekretion und die Wasserbindungskapazität der Hornschicht. Ferner nehmen die Temperatur, die Luftfeuchtigkeit und topisch applizierte Substanzen Einfluss auf das Gleichgewicht der Hornschichtfeuchtigkeit. [60] Der Feuchtigkeitsgehalt der Haut schwankt in Abhängigkeit der anatomischen Körperregion. [95] Die Achselhöhle, das Perineum, die Zehenzwischenräume gehören zu den meist bedeckten Körperregionen. In diesen Regionen kann eine erhöhte Temperatur und ein erhöhter Feuchtigkeitsgrad gemessen werden. Diese Bereiche sind mit allen Organismen verstärkt besiedelt, aber besonders mit gram-negativen Stäbchen oder koryneformen Organismen, da sie für ihr Überleben ein feuchtes Milieu benötigen. [33]

Die Messwerte des Feuchtigkeitsgehalts der Corneozyten zwischen den Probanden schwankten zwischen 67 und 110 Einheiten. Der Proband mit dem höchsten Feuchtigkeitsgehalt wies 37

Bakterienkolonien auf, verteilt auf 2 Bakteriengruppen. Bei dem Proband mit der niedrigsten Hornschichtfeuchtigkeit wurden 44 Bakterienkolonien gezählt, verteilt auf 6 Bakteriengruppen. Folglich geht aus den Ergebnissen dieser Versuchsreihe hervor, dass zunehmende Feuchtigkeit zu keiner Zunahme der Bakteriendichte führte. Hinzuzufügen ist, dass nicht nur allein ansteigende Feuchtigkeit eine Veränderung in der normalen Hautflora bewirkt, sondern dass hierfür auch ansteigende Temperatur erforderlich ist. [97]

Der pH-Wert der Hautoberfläche beträgt je nach Alter und Lokalisation etwa 5,5. Dieser Säuremantel schützt den Organismus vor dem Eindringen von Mikroorganismen [32, 60, 96] sowie toxischer Substanzen [60]. Die Faktoren, die den sauren pH-Wert der Hautoberfläche regulieren, sind noch unklar. [98] Bei Bestimmung des pH-Werts der Hautoberfläche wurden bei den Probanden Werte zwischen 5,1-5,4 gemessen. Untersuchungen zeigten, dass ein hoher pH-Wert häufig mit einem hohen TEWL-Wert einhergeht. [96] Die in dieser Arbeit durchgeführten Messungen konnten keinen Zusammenhang zwischen den ermittelten TEWL- und pH-Werten aufzeigen. In verschiedenen Untersuchungen, bei denen die Haut partiell mit Plastikfolie abgedeckt wurde, konnte gezeigt werden, dass die Zahl der Bakterienkolonien unter dem okklusiven Material anstieg und dass sich die Zusammensetzung der Hautflora änderte. [92, 99] Daneben wurden Veränderungen hinsichtlich der physiologischen Hautparameter festgehalten. Unter der Abdeckung stieg der pH-Wert der Hautoberfläche nach 3 Tagen von anfänglich 4,9 auf 7,2. [99] Des Weiteren nahm der transepidermale Wasserverlust zu [92, 99] und die Hautfeuchtigkeit stieg an [99].

Der höchste pH-Wert wurde mit 5,5 bei Proband 2 gemessen. Von seiner Haut konnten 6 Bakterienkolonien isoliert werden, die lediglich einer Bakteriengruppe zugeordnet wurden. Proband 2 wies einen pH-Wert von 5,1 auf. Die Anzahl seiner Bakterienkolonien fiel mit 5 Kolonien relativ gering aus. Im Gegensatz zu Proband 1 wurden seine Kolonien 5 Bakteriengruppen zugeordnet. Proband 4 mit einem pH-Wert der Hautoberfläche von 5,2 wies wiederum 57 Bakterienkolonien auf, die auf 5 Bakteriengruppen verteilt wurden.

Anhand dieser Ergebnisse kann nicht geschlussfolgert werden, dass die Zunahme des pH-Wertes der Hautoberfläche zu einer Änderung der Bakteriendichte führte. Dabei bleibt fraglich, ob eine pH-Verschiebung in einem Bereich von 5,1 auf 5,5 Veränderungen bezüglich des Bakterienwachstums auf der Haut hervorruft und ob diese potentielle Veränderung mit der in dieser Arbeit angewandten Methode erfasst werden kann.

Der Oberflächenfettfilm der Haut stellt eine ölige Mischung aus Lipiden, Keratin und Resten der Membranstrukturen der Talgdrüsen dar. [60] Der bei den Probanden gemessene Fettgehalt der Hautoberfläche schwankte zwischen 0 und 2. Der Oberflächenfettgehalt der Haut variiert in Ab-

hängigkeit von der anatomischen Körperregion. [100] Die Haut des ventralen Unterarms enthält im Gegensatz zur Kopfhaut wesentlich weniger Talgdrüsen. Die Haut ist hier relativ trocken und weist meist geringere Bakterienzahlen auf. [33] Kopf und oberer Rumpf weisen mehr Talgdrüsen auf und folglich auch mehr lipophile Organismen, Propionibakterien dominieren in diesen Hautarealen. [33]

Bei Proband 3 wurde ein Fettgehalt von  $0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  gemessen. Von seiner Haut wurden 4 Bakterienkolonien isoliert. Bei Proband 1 wurden 43 Bakterienkolonien isoliert, der gemessene Fettgehalt betrug ebenfalls  $0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Proband 7 wies 34 Bakterienkolonien auf bei einem Sebumgehalt von  $2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Laut der ermittelten Ergebnisse scheinen Fettgehaltsvarianzen in einem Bereich von 0 bis  $2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  keinen gravierenden Einfluss auf das Bakterienwachstum auf der Haut zu nehmen.

Zusammenfassend kann davon ausgegangen werden, dass die ermittelten Hautparameter in diesen Messbereichen keinen entscheidenden Einfluss auf das Bakterienwachstum nahmen. Das unterschiedliche Bakterienwachstum zwischen den Probanden beruhte wahrscheinlich nicht auf den physiologischen Hautparametern. Die einzelnen Messwerte unterschieden sich im Probandenvergleich nicht wesentlich voneinander. Die Tabelle 3.1 macht das unterschiedliche Bakterienwachstum deutlich. Die Bakterienkolonien der jeweiligen Probanden unterscheiden sich nicht nur in der Gesamtmenge, sondern auch in der Art und in der Anzahl der zu einer Art gehörenden Bakterienkolonien.

Für jeden Probanden besteht die residente Flora individuell aus bestimmten Subtypen. [32] So können bezüglich der Bakterienflora bedeutende Unterschiede zwischen verschiedenen Personen festgestellt werden. [101] Aber nicht nur interindividuelle sondern auch intraindividuelle Unterschiede bestehen. [40] So unterscheidet sich die Bakterienflora zwischen verschiedenen Hautarealen an nur einer Person. [101] Die genannten Unterschiede betreffen die verschiedenen Arten der auftretenden Bakterien und deren relative und absolute Häufigkeit. [40]

### **4.1.2. Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Bakterienkolonien**

Ansteigende Temperatur und erhöhter Feuchtigkeitsgehalt fördern das Bakterienwachstum auf der Haut. [97] Wenn es kälter wird, neigen Menschen dazu, sich wärmer anzuziehen. Dadurch wird das Hautmilieu warm und feucht gehalten und externe, inhibitorische Faktoren finden keinen Einfluss. [102]

In den Versuchen betrug die Hauttemperatur durchschnittlich 29,6°C. Nach 30-minütiger äußerer Wärmeeinwirkung wurde an der Oberfläche der Haut eine Temperatur von 31,8°C gemessen. Folglich stieg die Hauttemperatur um 2,2°C an. Fraglich bleibt, ob dieser Temperaturanstieg Veränderungen im Bakterienwachstum bewirkte und ob diese möglichen Veränderungen mit der *tesa*®-Film-Abrissmethode erfasst werden konnten. Die meisten medizinisch relevanten Bakterien haben eine Reduplikationszeit von ca. 20 Minuten, sie wachsen innerhalb von 24 h zu Milliarden von Einzelzellen. Solche Zellansammlungen zeigen sich auf festem Nährboden als eine Kolonie. [76] Folglich hatten die der Wärme ausgesetzten Bakterien die Möglichkeit, sich in der Zeit der Wärmeeinwirkung zu reduplizieren. Zu erwähnen ist, dass die Zeit zwischen dem Abbruch der Infrarotbestrahlung und der Anwendung der Abrissmethode drei Minuten betrug. Es ist deshalb anzunehmen, dass während dieser Zeit die Hauttemperatur wieder absank und die Untersuchung des Bakterienwachstums mittels der Abrissmethode nicht unter der durch Wärme erzielten Höchsttemperatur durchgeführt wurde. Anzumerken ist auch, dass der Großteil der Mikroflora der Haut in den Haarfollikeln liegt. [3, 4, 5, 32, 38] So muss in Betracht gezogen werden, dass die Wärmeeinwirkung von außen nicht bis in die Tiefe der Haarfollikel vordringen konnte, um einen Effekt auf das Bakterienwachstum zu erzielen. Des Weiteren muss nochmals angemerkt werden, dass ansteigende Temperatur alleine nicht zu einer Veränderung der normalen Flora führt, sondern dass dafür auch zunehmende Feuchtigkeit notwendig ist. [97]

Die graphische Darstellung in Abbildung 3.3 macht deutlich, dass die Zahl der Bakterienkolonien einer Gruppe ohne Infrarotbestrahlung und im Vergleich dazu nach der Bestrahlung variiert. Bei einigen Bakteriengruppen ist nach der Wärmeeinwirkung ein Zuwachs an Bakterienkolonien zu verzeichnen. Bei anderen Bakteriengruppen hingegen sinkt die Zahl der Kolonien einer Gruppe. Ungeklärt bleibt, ob diese Ergebnisse als deutlicher Effekt der Infrarotbestrahlung gewertet werden können. Das hieße dann, dass nur bestimmte Bakteriengruppen die Tendenz zeigen, unter Wärmeeinwirkung verstärkt zu wachsen. Andererseits kann vermutet werden, dass die Ergebnisse des Bakterienwachstums durch die natürliche Varianz der Bakterien auf der Haut, auch bezüglich ihres prozentualen Anteils und in Abhängigkeit von verschiedenen Körperarealen zustande kommen.

#### 4.1.3. Überprüfung einer möglichen desinfizierenden Wirkung des *tesa*®-Filmstreifens auf das Wachstum der Bakterienkolonien

Die *tesa*®-Film-Abrissmethode stellt ein Verfahren dar, mit dem Bakterien von der Haut auf einen *tesa*®-Filmstreifen übertragen werden. Dieser Filmabriss wird anschließend zur Anzucht der Bakterien auf ein Kulturmedium überführt.

Bei Durchführung des Abrissverfahrens wurde die Frage aufgeworfen, ob der verwendete *tesa*®-Film beim Haften auf der Haut selber einen wachstumshemmenden Einfluss auf die Bakterienflora ausübt. Bei Auswertung der Ergebnisse zeigte sich, dass bei einigen Probanden die Zahl der Bakterienkolonien nach 20-minütiger Verweilzeit des *tesa*®-Filmstreifens auf der Haut zunahm, bei anderen Probanden hingegen fiel die Zahl der Bakterienkolonien. Bei Betrachtung der Ergebnisse nach Aufspaltung der Bakterienkolonien in Gruppen stieg die Gesamtanzahl der Bakterienkolonien nach 20-minütiger Verweilzeit um 13 Bakterienkolonien an. Bei einigen Bakteriengruppen war ein Zuwachs an Bakterienkolonien zu verzeichnen, bei anderen Gruppen hingegen sank die Zahl der Bakterienkolonien. Es bleibt fraglich, ob die unterschiedlichen Ergebnisse des Bakterienwachstums durch die unterschiedlich gewählten Haftungszeiten des Filmstreifens auf der Haut zustande kommen oder ob sie durch die natürliche Varianz der Bakterien auf der Haut bedingt sind.

Grundsätzlich muss aber in Erwägung gezogen werden, dass die *tesa*®-Film-Abrissmethode in Hinblick auf die Quantität der erfassten Bakterien eine limitierte Methode darstellt. Beetz (1972) [103] untersuchte unter Anwendung der Abrissmethode die qualitative und quantitative Verteilung der Hautkeime in Relation zur Schichttiefe des Stratum corneum. Zur Modifizierung seiner Versuchstechnik erhielt er Hautkeime in einer Suspension aus Hornschuppen, die er durch Abschaben gewann. Die Auswertung ergab, dass im Vergleich zwischen der durch die Abrissmethode gewonnenen Keimmenge und der durch die Zylinder-Schabemethode erhaltenen Keimmenge mit letzt genannter Methode die doppelte Keimausbeute erzielt wurde. [103]

Die am häufigsten angewandte Methode zur Gewinnung von Hautkeimen stellt die Detergens-Schabe-Waschmethode nach Williamson and Kligman (1965) [47] dar. Mit dieser werden hohe Keimzahlen erzielt. [104] Anaerobe Propionibakterien können von der Hautoberfläche mit der Detergens-Methode in großer Zahl gewonnen werden. [43] Daneben können mit Hilfe von 1M CaCl<sub>2</sub> aus Hautexzidaten einzelne Follikel isoliert werden, aus denen dann quantitative Daten zur Besiedlung mit anaeroben Propionibakterien erhoben werden können. [43]

Die Abrissmethode stellt neben anderen Verfahren im Allgemeinen eine weniger effektive Methode zur Keimgewinnung dar [104].

Möglicherweise können mit dem Abrissverfahren nicht alle Bakterienarten von der Haut auf den Filmstreifen übertragen werden. Vermutlich entziehen sich obligat anaerobe Bakterienarten der Erfassung.

#### **4.1.4. Anwendung von Waschmittel auf der Haut und deren Einfluss auf das Wachstum der Bakterien**

Menschen, die sich häufiger waschen als andere, tragen nicht zwangsläufig weniger Bakterien auf der Haut. Wasser und auch Seifen dringen kaum in die besonders keimreichen Haarfollikel ein. [32] Die Tiefe des Haarfollikels scheint demnach einen Schutz gegen Einflüsse der äußeren Umwelt zu bieten. [40, 38] Waschen mit warmem Wasser und Seife hat nur einen Verdünnungseffekt auf die transiente Flora, die residente Flora wird durch diese Maßnahme kaum beeinflusst. [76] Dabei ist zu erwähnen, dass die Art der Seife eine wesentliche Rolle spielt. Ein medizinisches Seifenpräparat ist von einer herkömmlichen Seife zu unterscheiden. Die präoperative Desinfektion unter Anwendung einer medizinischen, chlorhexidinhaltigen Seife beim Waschvorgang führte zur Verminderung der Inzidenz postoperativer Infektionen, verursacht durch *Staphylococcus aureus*. [105] Quantitative Untersuchungen zeigten eine signifikante Reduktion aerober Bakterien, während bei der Kontrollgruppe unter Verwendung einer nichtmedizinischen Seife ein Anstieg der erfassten Organismen verzeichnet wurde. [33]

In den Versuchen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Zahl der erfassten Bakterienkolonien nach dem Waschen mit einer herkömmlichen Seifenlösung anstieg. Anzunehmen ist, dass mit dem Waschvorgang die Keime der transienten Flora reduziert werden und dass nach dem Waschen die Zahl der Bakterien der residenten Flora ansteigt. Beim Waschvorgang werden Hautbruchstücke wie Hornschuppen gewegewaschen, möglicherweise auch bakterizide Fettsäuren des Oberflächenfilms weggespült. Die Folge des Waschens wäre, dass einige Bakterienarten in ihrem Wachstum nicht beeinflusst würden, des Weiteren könnten durch die Reduktion der transienten Flora wieder neue Plätze auf der Hautoberfläche frei werden. Gerade Bakterien aus tieferen Hautschichten erreichen durch Abrieb im Rahmen der natürlichen Regeneration der Epidermis die Oberfläche [38] und finden dort vermutlich Platz sich auszubreiten.

## 4.2. Verlauf der Extinktionswerte während der Entfernung des Stratum corneum

Beim Abrissprozess werden die Corneozyten auf den *tesa*®-Film übertragen. Die Größe der Extinktionswerte drückt die unterschiedliche Belegungsdichte auf den einzelnen *tesa*®-Filmabrissen aus. Auf den Abrissen befinden sich zunächst viele Corneozyten, mit Fortschreiten der Abtragung der Hornschicht werden immer weniger Corneozyten entfernt. Die Extinktionswerte werden kleiner, bis schließlich kaum noch Stratum corneum auf den Abrissen vorhanden ist.

Anhand der Extinktionswerte lassen sich die einzelnen Filmabrisse und damit auch die dazugehörigen Bakterien zur Tiefe innerhalb der Hornschicht zuordnen. Jacobi et al. (2005) [88] zeigten, dass die Anzahl der Hornschicht-Zelllagen mit der Pseudo-Absorption der Corneozyten korreliert. Somit ist es möglich, die mittels der Abrissmethode gefundenen Bakterienkolonien den entsprechenden Schichten des Stratum corneum zuzuordnen.

## 4.3. Markierung der Follikelposition

### 4.3.1. Follikelkarte mittels Osmiumtetroxid

Für die Beurteilung des Bakterienwachstums in Abhängigkeit der Haarfollikel ist es erforderlich, die Follikelposition im zu untersuchenden Hautareal eindeutig zu bestimmen. Dazu wurden zwei unabhängige Methoden eingesetzt, die *tesa*®-Film-Abrissmethode kombiniert mit der Osmiumtetroxid-Färbung und das Cyanacrylat-Abrissverfahren.

An einem 1,5 x 1,5 cm<sup>2</sup> großen Hautareal wurden Follikel sichtbar gemacht. Das erfolgte durch das Färben des Klebestreifens mittels OsO<sub>4</sub>, nachdem der Streifen zuvor auf das Hautareal aufgebracht und wieder entfernt worden war. Diese Färbemethode ermöglicht, dass die Öffnungen der Follikel sichtbar werden (vgl. Abb. 3.10). Somit können die gewachsenen Bakterienkolonien der Follikelposition zugeordnet werden.

Lademann et al. (1999) [27] nutzten die Osmiumtetroxid-Färbung als erstes in Kombination mit der *tesa*®-Film-Abrissmethode und entdeckten die Anfärbbarkeit der Follikelöffnungen. OsO<sub>4</sub> färbt und fixiert Fette durch Vernetzung ungesättigter Fettsäuren. [79]

Abbildung 3.10 zeigt, dass sich die Follikelöffnungen auf dem *tesa*®-Filmstreifen in unterschiedlicher Form darstellen. Eine starke Sebumproduktion führt zu einer homogenen Schwarzfärbung der Follikelöffnung, eine schwache Sebumproduktion hingegen führt zu einer Schwarz-

färbung im Randbereich der Follikelöffnung. Trotz dieser unterschiedlichen Färbung lassen sich die Follikelpositionen gut bestimmen. Es kann davon ausgegangen werden, dass Osmiumtetroxid befähigt ist, Sebumlipide zu fixieren und eine Schwärzung hervorzurufen.

### **4.3.2. Follikelkarte mittels der Cyanacrylat-Abrisstechnik**

Die Cyanacrylat-Abrissmethode bietet die Möglichkeit, Haarfollikel zu untersuchen. Mit dem Cyanacrylat-Abriss wird ein Abguss der Hautoberfläche gewonnen. Dabei werden nicht nur die obersten Schichten des Stratum corneum entfernt, sondern auch die Haare, so dass sich ein Abguss der Follikelinfundibula ergibt.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Cyanacrylat-Abriss genutzt, um Follikelpositionen im zu untersuchenden Hautareal eindeutig zu bestimmen.

### **4.3.3. Follikelkarten im Vergleich**

Der Vergleich der beiden Methoden zur Markierung der Follikelposition zeigt, wie aus der Abbildung 3.14 ersichtlich, dass mit dem Cyanacrylat-Abriss mehr Follikel erfasst werden können als mit der Osmiumtetroxid-Färbung, obwohl der Großteil der Follikel, erkennbar gemacht durch die Cyanacrylat-Abrisstechnik, auch mit der Osmiumtetroxid-Färbung erfasst werden konnte. Eine Erklärung für diese Tatsache bietet die von Otberg et al. (2003) durchgeführte Untersuchung zur Charakterisierung von offenen und geschlossenen Follikeln [28]. Mittels Optischer Kohärenztomographie konnte gezeigt werden, dass die Öffnungen der inaktiven Follikel durch eine Ansammlung von verklebten Corneozyten verschlossen sind. Mit Hilfe der Applikation von Cyanacrylat war es möglich, den „Corneozyten-Deckel“ von den Follikelöffnungen zu entfernen und die geschlossenen Follikel zu öffnen. Somit konnte gezeigt werden, dass die Vorbehandlung der Follikel mit Cyanacrylat zu einem signifikanten Anstieg der Anzahl der offenen Haarfollikel führte. [28]

Mit diesen Ergebnissen wird eindeutig, dass zur Erfassung aller Follikel die Cyanacrylat-Abrissmethode notwendig war, um ihre Position zu sichern. Folglich stellt der Cyanacrylat-Abriss die Voraussetzung zur Erstellung von Follikelkarten dar, um die Bakterienkolonien den Follikeln zuzuordnen.

Aus der Abbildung 3.14 geht außerdem hervor, dass die Follikelpositionen beim Übereinanderlegen der unterschiedlich erstellten Follikelkarten nicht deckungsgleich vorliegen, aber die Positionen sich annähernd gleichen. Dies kann mit der Dehnungsfähigkeit der Haut erklärt werden.

#### **4.4. Vorversuche zu Filmabrissen**

##### **4.4.1. Eignung des Filmabrisses für die Osmiumtetroxid-Färbung nach Übertragung der Bakterien auf die Agarplatte**

Nachdem die Hautbakterien vom 1. Filmabriss auf das Kulturmedium übertragen worden sind, ist dieser Filmstreifen mit Osmiumtetroxid gefärbt worden, um die Follikelöffnungen auf dem Streifen sichtbar zu machen. In einem Vorversuch zu Filmabrissen wurde geklärt, ob der *tesa*®-Filmstreifen nach Kontakt mit dem Nährmedium noch für die Osmiumtetroxid-Färbung verwendet werden kann. Die Versuchsergebnisse zeigten, dass der Filmstreifen nach Haftung auf dem Nähragar für die Osmiumtetroxid-Färbung verwendet werden konnte. Die Follikelöffnungen waren deutlich als schwarze Punkte auf den Filmstreifen zu erkennen. Jedoch ist zu erwähnen, dass die Follikelöffnungen auf den Filmabrissen deutlicher darstellbar sind, wenn die *tesa*®-Filmstreifen zuvor nicht mit dem Kulturmedium in Kontakt waren. Auf den Abbildungen 3.17 und 3.18 ist der mit Osmiumtetroxid behandelte *tesa*®-Filmstreifen nach Kontakt mit dem Nährmedium dargestellt. In dem Bereich, wo der Filmstreifen mit  $\text{OsO}_4$  in Berührung kam, ist eine leichte, flächige, braun-schwarze Färbung des Streifens zu erkennen. Für dieses Färberegebnis bieten die Inhaltsstoffe des Kulturmediums eine mögliche Erklärung. Der Filmstreifen verweilt auf dem Kulturmedium. Nach Entfernung vom Medium wird er mit  $\text{OsO}_4$  gefärbt. Das Nährmedium kann lipidähnliche Strukturen aufweisen. Diese haften am Streifen, sodass eine Anfärbung dieser Substanzen nicht ausgeschlossen werden kann. Trotz dieser flächigen Verfärbung heben sich die Follikelöffnungen davon ab und lassen sich auf den Filmstreifen erkennen. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Lipidkonzentration an der Stelle der Follikelposition am höchsten ist.

##### **4.4.2. Eignung des Filmabrisses für die UV/VIS-Spektroskopische Messung nach Übertragung der Bakterien auf den Nähragar**

Die Auswertung der Extinktionsergebnisse zeigte, dass die Werte der Extinktion vor dem Auftragen der *tesa*®-Filmabrisse auf das Nährmedium höher ausfielen als nach Kontakt mit dem

festem Nährboden. Eine mögliche Erklärung für diese unterschiedlichen Messwerte könnte das Verhalten der Corneozyten in der Zeit des Aufliegens auf der Agarplatte bieten. Aufgrund der Feuchtigkeit des Nährmediums wäre anzunehmen, dass die Corneozyten eine Art Quellung vollzogen haben, so dass das Licht an der Oberfläche dieser Zellen weniger gebrochen werden konnte. Die Ergebnisse machen deutlich, dass die *tesa*®-Filmabrisse nach Auflage auf dem Nähragar nicht mehr für die spektroskopischen Messung herangezogen werden können. Diese Erkenntnis nahm Einfluss auf die Festlegung der Versuchsdurchführung (Protokoll 1). Statt der Verwendung eines 4 cm langen *tesa*®-Filmstreifens kam ein 8 cm langer Filmstreifen zum Einsatz. Die eine Hälfte des Filmstreifens diente der Übertragung der Bakterien auf das Kulturmedium. Der andere Abschnitt des Streifens wurde für die UV/VIS-Spektroskopie verwendet.

#### **4.5. Erfassung follikotroper Bakterienkolonien zur Herstellung von Reinkulturen**

Nach Fertigstellung der Follikelkarten wurden die auf der Nähragaroberfläche gewachsenen Bakterienkolonien den Follikelpositionen zugeordnet. Dieses Vorgehen soll follikotrope Bakterienkolonien erfassen. War jedoch eine Korrelation zwischen den gewonnenen Bakterienkolonien und der Haarfollikelposition nicht gegeben, fiel die Auswertung schwer. Für das Erhalten von follikotropen Reinkulturen wurden Bakterienkolonien ausgewählt, bei denen die Follikel in ihrem Mittelpunkt lokalisiert oder maximal 1,5 mm vom Mittelpunkt entfernt waren. Grundsätzlich kann von einem konzentrischen Wachstum der Bakterien ausgegangen werden, sodass Bakterienkolonien, die im Bereich ihres Mittelpunktes einen Follikel aufweisen, als follikotrop definiert wurden.

Die Kulanz von 1,5 mm Entfernung vom Mittelpunkt rechtfertigt sich zum einen in der Tatsache, dass das Haar nie senkrecht zur Oberfläche steht, es steckt schräg in der Haut. Die erfassten Follikelpositionen stellen die Follikelöffnungen dar. Bakterien, die aus dem Haarfollikel kommen, werden kaum exakt auf dem Punkt der Follikelposition als Bakterienkolonie erscheinen. Sie können sich am Haar befinden und somit in gewisser Entfernung von der Follikelposition als Kolonie in Erscheinung treten. Des Weiteren muss auch hier auf die Dehnungsfähigkeit der Haut hingewiesen werden.

Die Kriterien, nach denen die follikelbezogenen Bakterienkolonien ausgewählt wurden, können nicht garantieren, dass die mit der Methode erfassten Bakterienkolonien tatsächlich den Haarfollikeln entstammen. Es ist jedoch anzunehmen, dass die aus den Hornzellschichten gewonnenen

Bakterienkolonien, die ihren Ursprung in tieferen Hautschichten haben, namentlich in den Haarfollikel, mit der natürlichen Regeneration der Epidermis in Richtung Oberfläche wandern und sich an dem Ort der Lokalisation eines Haarfollikels präsentieren.

## 4.6. Keime des Stratum corneum

### 4.6.1. Verteilung der gewonnenen Bakterienkolonien im Stratum corneum

In den Untersuchungen über die Verteilung der Hautbakterien im Stratum corneum des Unterarms konnte mittels der Abrissmethode gezeigt werden, dass die Anzahl der Hautbakterien mit zunehmender Tiefe des Stratum corneum deutlich abnimmt (vgl. Abb. 3.22). Der Großteil der Keime, durchschnittlich 85%, konnte aus den oberen Hornzellschichten (Schichten 2-6) isoliert werden. In den tieferen Schichten waren nur noch wenige Bakterien nachweisbar. Ähnliche Ergebnisse erzielten Röckl und Müller (1959) [37], die das Stratum corneum mittels der Abrissmethode vollständig entfernten. In ihren Untersuchungen konnten in den tieferen Schichten nur noch wenige Bakterien nachgewiesen werden.

Die Arbeit schloss 15 aufeinander folgende *tesa*®-Filmabriss ein, damit konnte eine Tiefe von 14 Hornzellschichten erfasst werden.

Mit jedem weiteren *tesa*®-Filmabriss jenseits des 15. Abrisses konnten in Vorversuchen kaum mehr Bakterien isoliert werden. Obwohl in früheren Untersuchungen zur Lokalisation der Mikroflora der Haut auch bei kompletter Entfernung der Hornschicht vielfach keine vollständige Keimfreiheit erzielt werden konnte. [37]

In der Untersuchung zur Anatomie der Mikroflora der menschlichen Epidermis von Brown et al. (1989) [6] konnte unter Anwendung der Abrissmethode mit den ersten 5 entfernten Zellsagen die Anzahl der aeroben Bakterienkolonien um 80% reduziert werden. Die anschließende Entfernung von 20 weiteren Zellsagen führte nicht durchweg zur zusätzlichen Verringerung der Bakterienkolonien. Die Untersuchung dieser Arbeit schloss im Rahmen der Abrissmethode 15 aufeinander folgende Filmabriss ein. Somit kann keine Aussage darüber getroffen werden, wie sich die Dichte der Bakterienkolonien in tieferen Hornschichten, jenseits der 14 Zellsagen verhält. Somit ist es mit diesen Versuchen auch nicht möglich zu beurteilen, ob die Anzahl der Kolonien während der Entfernung weiteren Zellsagen konstant bleibt. Mit den Ergebnissen kann gezeigt werden, dass die Anzahl der Bakterienkolonien innerhalb von 14 Hornzellschichten von der Oberfläche zur Tiefe stetig abnimmt.

## **4.6.2. Follikotrope Bakterienkolonien**

### **4.6.2.1. Prozentualer Anteil der follikotropen Bakterienkolonien an der Bakterienflora**

Die Bakterien der residenten Bakterienflora der normalen Haut leben als Mikrokolonien [32, 36] auf der Hautoberfläche und zwischen den Zellschichten des Stratum corneum [4, 37], in den Haarfollikeln und in den Gängen der Talgdrüsen [4, 38, 43]. In vielen Untersuchungen wird deutlich, dass sich der Hauptteil der Hautbakterien in den Haarfollikeln und in den Gängen der Talgdrüsen befindet. [3, 4, 5, 32, 38] Jedoch wurde bisher keine Aussage darüber getroffen, wie hoch der Anteil der Hautbakterien ist, die aus den Haarfollikeln stammen.

Mit der *tesa*®-Film-Abrissmethode in Kombination mit der entsprechenden Follikelkarte können follikotrope Bakterienkolonien erfasst werden (vgl. 4.5). Diese neu entwickelte Methode zur Untersuchung follikotroper Hautbakterien ermöglicht es, den prozentualen Anteil der aus den Haarfollikeln stammenden Hautbakterien zu ermitteln. Die graphische Darstellung in Abbildung 3.21 zeigt, dass etwa 25% der Bakterienkolonien follikelbezogen sind. Wird berücksichtigt, dass der Anteil der Follikelöffnungen/cm<sup>2</sup> an der Hautoberfläche der Innenseite des Unterarms durchschnittlich 0,09% beträgt [26], so kann ein Bakterienanteil von 25% als verhältnismäßig hoch gewertet werden. Es ist anzunehmen, dass diese follikotropen Bakterien das Reservoir bilden, aus dem sich die Bakterienflora nach einer Desinfektion erneut entwickelt.

In Auswertungen von bakteriellen Studien, in denen das Abrissverfahren zur Untersuchung von Mikroorganismen Einsatz fand, wurde angenommen, dass die meisten Bakterien, die durch mehrfach aufeinander folgende Abrisse gewonnen wurden, offensichtlich aus den Haarfollikelöffnungen stammen. [4] In den Versuchen dieser Arbeit konnten nur einige der auf der Nähragaroberfläche sichtbaren Bakterienkolonien den Follikelpositionen zugeordnet werden. Denkbar wäre, dass die Bakterien, bei denen keine Follikelzuordnung möglich war, ihren Ursprung andernorts haben und nicht in den Haarfollikeln.

### **4.6.2.2. Untersuchung follikotroper Bakterienkolonien – 2 Methoden im Vergleich**

Für die Untersuchung follikotroper Hautbakterien wurden zwei Methoden angewandt. Die erste Methode stellte das *tesa*®-Film-Abrissverfahren dar. Parallel zur Abrissmethode wurden Follikelkarten erstellt, um die mit der Abrissmethode erfassten Bakterienkolonien den Follikelpositionen zuordnen zu können. Mit der Kombination aus beidem konnte gezeigt werden, dass etwa 25% der Bakterienkolonien follikelbezogen sind.

Die Anzucht des Cyanacrylat-Abrisses stellte die zweite Methode dar (vgl. 4.8).

Die Ergebnisse beider Untersuchungen machten deutlich, dass sich das Cyanacrylat-Abrissverfahren nur unzureichend für die Untersuchung follikotroper Hautbakterien eignet. Einerseits wird ermöglicht, dass der Inhalt des Infundibulums des Haarfollikels direkt herausgelöst wird und somit Bakterien aus dem Haarfollikel isoliert und mittels der Übertragung des Cyanacrylat-Abrisses auf ein geeignetes Nährmedium angezüchtet werden können. Andererseits enthält der Sekundenkleber Lösungsmittel, die bakterizide Eigenschaften aufweisen. Die Ergebnisse der Keimgewinnung zeigten, dass follikotrope Bakterienkolonien mittels der Cyanacrylat-Abrissmethode nur begrenzt untersucht werden konnten. Es muss davon ausgegangen werden, dass die im Haarfollikel vorhandenen Bakterien durch den Sekundenkleber zum Teil zugrunde gegangen sind. Dieses Ergebnis macht deutlich, dass zur Untersuchung follikelbezogener Bakterienkolonien die *tesa*®-Film-Abrissmethode in Kombination mit der entsprechenden Follikelkarte effektiver ist.

### **4.7. Charakterisierung follikotroper Bakterienkolonien**

#### **4.7.1. Interindividuelle Unterschiede bezüglich der follikotropen Bakterienflora**

Die residente Flora besteht für jede Person individuell aus bestimmten Subtypen. Diese Subtypen sind langfristig fixiert. [32] So konnten in nahezu allen Untersuchungen zur Bakterienflora ausgeprägte interindividuelle Unterschiede bezüglich der auftretenden Spezies sowie deren Menge aufgezeigt werden. [40] Die graphische Darstellung in Abbildung 3.22 und vor allem in Abbildung 3.23 machen dies deutlich. Die pro Proband erfassten follikotropen Bakterienkolonien variieren in ihrer Zusammensetzung erheblich, auch im prozentualen Anteil sind große Unterschiede zu verzeichnen. Für dieses Phänomen wurden bisher keine Ursachen gefunden. [40]

Nicht nur interindividuell sondern auch intraindividuell können Unterschiede erfasst werden. [101] Hierbei spielt die Körperregion eine wesentliche Rolle, dies wird mit unterschiedlicher Feuchtigkeit und Temperatur in Verbindung gebracht. [40]

Des Weiteren könnten die in verschiedenen Körperregionen unterschiedlichen Rezeptoren der epithelialen Zellen, die für die Haftung der Bakterien an den Zellen verantwortlich sind, eine Erklärung für die Unterschiede in der residenten Bakterienflora in unterschiedlichen Körperarealen bieten. [33]

#### 4.7.2. Differenzierung der follikotropen Bakterienkolonien

Die mittels der *tesa*®-Film-Abbrismethode zusammen mit der jeweiligen Follikelkarte erfassten follikelbezogenen Bakterienkolonien wurden mit qualitativen Differenzierungsmethoden näher untersucht. Die Untersuchungsergebnisse zeigten, dass der Hauptteil der follikotropen Bakterienkolonien von Gram-positiven, Katalase-positiven Bakterien bestimmt wird (vgl. Abb. 3.24). Mit dieser Merkmalsausprägung gehören die Bakterienkolonien der Familie der *Micrococcaceae* an und lassen sich somit den Keimen der residenten Hautflora zuordnen. Mikrokokken sind zudem typischer Bestandteil der Mikroflora des Talgdrüsenfollikels. Dies bedeutet, dass nicht nur die örtliche Beziehung der Bakterienkolonien zu den Haarfollikeln nahe legt, dass es sich um follikotrope Bakterienkolonien handelt. Auch die Zugehörigkeit zur Familie der *Micrococcaceae*, die eindeutig zum Bestandteil der Mikroflora der Haarfollikel gerechnet wird, bestätigt diese Annahme. Die weiteren Ergebnisse der qualitativen Differenzierung ergaben, dass ein geringer Anteil der follikotropen Bakterienkolonien der Gruppe der Gram-negativen, Katalase-positiven Bakterienkolonien angehört. Aufgrund ihrer Gattungsmerkmale können sie der Familie der *Neisseriaceae* an. *Neisseriaceae* gehören nicht der residenten Standortflora an. Die gefundenen Bakterienkolonien wurden mittels des ersten *tesa*®-Filmabrisses von der Haut isoliert. Folglich kann davon ausgegangen werden, dass diese Bakterienkolonien der transienten Flora angehören, sie befanden sich als so genannte Anflugkeime auf der Haut, bevor sie mit dem Filmabriss von der Hautoberfläche entfernt wurden. Aufgrund der Annahme, dass es sich um transiente Keime handelt, müssen diese Bakterienkolonien aus der Gruppe der follikotropen Bakterienkolonien ausscheiden. Trotz der wahrscheinlichen Zugehörigkeit zur transienten Flora hatten die Kolonien örtlich Bezug zum Haarfollikel. Demzufolge wurden sie vor der Differenzierung der Gruppe der follikotropen Bakterien zugerechnet. Dies bestätigt auch die Annahme in dem von Montes und Wilborn (1970) [4] veröffentlichten Kommentar aus ihrem Artikel zur anatomischen Lokalisation der normalen Hautflora, dass viele der mit dem ersten oder zweiten Filmabriss gewonnenen Bakterien vielerorts ihren Ursprung haben und nicht in den Haarfollikeln.

Die restlichen follikotropen Bakterienkolonien gehören mit dem geringsten prozentualen Anteil zu den Gram-negativen, Katalase-positiven Stäbchen. Möglicherweise handelt es sich bei diesen Bakterien um *Acinetobacter*-Spezies. Diese stellen die Hauptvertreter der Gram-negativen Keime der residenten Hautflora dar. Wolff und Plewig (1976) [43] untersuchten die Standortflora des Talgdrüsenfollikels. Aus ihren Untersuchungen geht nicht hervor, dass *Acinetobacter*-Spezies Bestandteil des Talgdrüsenfollikels sind. So ist nicht belegt, dass diese Bakterienkolonien aus den Haarfollikeln stammen. Ein örtlicher Bezug zum Haarfollikel wurde hingegen er-

fasst. Unter der Annahme, dass sich die residente Bakterienflora aus dem tief gelegenen Haarfollikel-Reservoir generiert, können die *Acinetobacter*-Spezies als follikotrop gelten.

Neben den erfassten Mikrokokken, die zu den typischen Vertretern der Mikroflora des Talgdrüsenfollikels gehören (vgl. 1.2.3.4.), konnten keine weiteren Mikroorganismen der Standortflora der Haarfollikel angezüchtet werden. Eine Erklärungsmöglichkeit hierfür bietet möglicherweise das gewählte Nährmedium. Die Zusammensetzung eines Kulturmediums bestimmt weitgehend, welche Bakterienarten angezüchtet werden können. Für die Isolation verschiedener Bakteriengruppen und Hefen spielen daher die Zusammensetzung des Agarmediums und die Bebrütungsbedingungen eine wesentliche Rolle. So gibt es eine Reihe verschiedener Nährböden für die Kultivierung ausgewählter Bakterienarten.

Die für diese Arbeit verwendete Standard X Agarplatte stellt vermutlich ein limitiertes Nährmedium dar, so dass aufgrund des begrenzten Stoffangebotes nicht alle Vertreter der residenten Bakterienflora bzw. der Standortflora des Talgdrüsenfollikels isoliert werden konnten.

Zusammenfassend geht aus der Differenzierung der follikelbezogenen Bakterienkolonien hervor, dass ca. 3% der erfassten Bakterienkolonien der transienten Bakterienflora angehört. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass diese Bakterien nicht den Haarfollikeln entstammen. Zum anderen bleibt ungeklärt, ob der geringe Anteil der Gram-negativen, Katalase-positiven Stäbchen als Bestandteil der residenten Flora aus den Haarfollikeln hervorgeht. Somit reduziert sich der Anteil der aus den Haarfollikeln stammenden Bakterienkolonien von 25% um lediglich einen Prozent. Auch mit dieser Schlussfolgerung ist der Anteil der erfassten Bakterienkolonien in Bezug auf einen durchschnittlich 0,09%igen Anteil der Follikelöffnungen/cm<sup>2</sup> an der Hautoberfläche der Innenseite des Unterarms als relativ hoch zu werten.

#### **4.8. Keimgewinnung unter Verwendung des Cyanacrylat-Abrisses**

##### **– qualitative Differenzierung der isolierten Bakterienkolonien**

Der Cyanacrylat-Abriss kann neben der Bestimmung der Follikelpositionen zur Isolierung der Bakterien aus den Haarfollikeln genutzt werden.

Die Cyanacrylat-Technik nach Holland (1974) [51] wurde speziell zur Gewinnung der Keime aus Talgdrüsenengängen und Follikeln entwickelt.

Hartmann et al. (1986) [44] untersuchten die antibakterielle Wirksamkeit von Fabry-Spiritus gegen die residente Bakterienflora in unterschiedlichen Hauttiefen. Dazu wurde die residente

Flora nach Genera getrennt untersucht, um so über die Tiefenwirksamkeit von Fabry-Spiritus eine Aussage treffen zu können. Die Hautbakterien im Stratum corneum-Akroinfundibulum-Bereich wurden mittels der Detergens-Schabe-Waschmethode gewonnen, die Hautflora im Infrainfundibulum-Bereich wurde mittels der Cyanacrylat-Abrissmethode erhalten.

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Isolierung der Bakterien aus dem Stratum corneum die *tesa*®-Film-Abrissmethode angewandt. Nach dem 15. Filmabriss wurde der Cyanacrylat-Abriss durchgeführt. Dies bot zusätzlich die Garantie, dass Mikroorganismen aus tieferen Hautabschnitten isoliert wurden.

Der Sekundenkleber läuft in das Infundibulum, härtet darin aus und der Inhalt des Follikels wird mit dem Cyanacrylat-Abriss herausgelöst. So können Bakterien, die sich im Infundibulum des Haarfollikels befinden, isoliert und auf Agarplatten angezüchtet werden. Oberflächliche Keime können mit dem Cyanacrylat-Abrissverfahren ungenügend untersucht werden, da sie aufgrund der bakteriziden Wirkung des Sekundenklebers teilweise zugrunde gehen. [40]

Die Ergebnisse unserer Keimgewinnung mittels der Cyanacrylat-Abrissmethode steht in Übereinstimmung mit der Aussage von Korting et al. (1988) [40]. Sie gaben an, dass mit der Cyanacrylat-Methode nach Holland et al. (1974) [51] nur geringe Keimzahlen gefunden werden können. Auch mit der in dieser Arbeit angewandten Cyanacrylat-Abrissmethode konnten bei nur drei Probanden Bakterienkolonien auf dem Nähragar angezüchtet werden.

Einige der aus den tieferen Hautabschnitten isolierten Bakterienkolonien konnten beim Vergleich mit der entsprechenden Follikelkarte den Follikelpositionen nicht zugeordnet werden. Dieses Ergebnis kann damit erklärt werden, dass mit dem Cyanacrylat-Abrissverfahren nicht nur Follikelinhaltsstoffe entfernt sondern auch Hornschichtlamellen abgerissen werden. Zwischen diesen können sich selbstverständlich Hautbakterien befinden, eine vollständige Keimfreiheit konnte in unabhängigen Untersuchungen auch in großer Hornschichttiefe nicht festgestellt werden. [37] Des Weiteren ist anzumerken, dass die mit den follikotropen Mikroorganismen beimpften Agarplatten unter aeroben Bedingungen inkubiert wurden. Einige Keime der physiologischen Hautflora sind obligat anaerob. Deshalb ist anzunehmen, dass diese mit der angewandten Methode nicht erfasst werden konnten.

Die mit der Cyanacrylat-Abrisstechnik gewonnenen Bakterienkolonien, die zudem auch örtlich Bezug zum Haarfollikel zeigten, wurden mittels qualitativer Verfahren genauer untersucht. Die Differenzierungsvorgänge erbrachten in allen drei Fällen die Zugehörigkeit zur Gram-positiven, Katalase-positiven Kokkengruppe. Es kann geschlussfolgert werden, dass diese follikotropen Bakterienkolonien der Familie der *Micrococcaceae* angehören. Diese Bakterienfamilie ist Bestandteil der Flora des Talgdrüsenfollikels und reicht innerhalb des Follikels bis zum Infrainfun-

dibulum. Dies bestätigt die Aussage von Hartmann et al. (1986) [44], wonach die Cyanacrylat-Abrissmethode zur Gewinnung der Hautflora im Infrainfundibulum-Bereich der talgdrüsenhaltigen Hautbereiche geeignet ist.