

# 1. Einleitung

## 1.1. Vorwort

Die Haut stellt das Grenzorgan des Organismus zur Umwelt dar. Sie schützt den Organismus vor Umwelteinflüssen und ermöglicht gleichzeitig einen Austausch verschiedener Substanzen. Durch ihre natürliche Besiedlung mit Mikroorganismen schafft sie einen effizienten Schutz vor dem Eindringen pathogener Keime. Diese als Kommensalen bezeichneten Mikroorganismen bilden die Normal- oder Standortflora.

Price (1938) [1] teilte die Mikroorganismen der Haut ursprünglich in 2 Gruppen ein, er unterschied zwischen einer residenten und einer transienten Flora. Neben diesen zwei genannten Gruppen ist noch eine weitere Bakteriengruppe von Bedeutung, diese wird als passager residente Flora bezeichnet.

Die residenten Organismen der gesunden Haut präsentieren sich auf der Hautoberfläche, innerhalb der Hornschicht, in den Gängen der Talgdrüsen und in den Haarfollikeln. [2]

Lovell (1945) [3] untersuchte histologische Hautschnitte. Er fand Bakterien zwischen den obersten Schichten der Hornschicht und in einigen Haarfollikeln mit ihren assoziierten Talgdrüsen. In Schweißdrüsen oder unter den lebenden Zellen der Epidermis waren keine Bakterien feststellbar. Montes und Wilborn (1970) [4] sowie Selwyn und Ellis (1972) [5] untersuchten licht- und elektronenmikroskopisch Hautschnitte und konnten auf diese Weise Bakterien in den Haarfollikeln feststellen.

Eine weitere Methode zur Untersuchung von Hautbakterien stellt das Abrissverfahren dar. Dabei wird die Hornschicht der Haut mit der vorhandenen Bakterienflora durch wiederholtes Aufbringen eines adhäsiven Films sukzessiv auf diesen übertragen. Dieser so genannte Filmabriss wird anschließend auf ein Nährmedium überführt, um die isolierten Hautbakterien anzuzüchten.

Bei früheren Untersuchungen von Mikroorganismen, die mittels der Abrissmethode von der Haut isoliert wurden, bot die Auswertung der Daten folgende Schlussfolgerungen: Viele der mit dem ersten oder zweiten Filmabriss gewonnenen Bakterienkulturen stammen wahrscheinlich nicht aus Haarfollikeln, sondern aus anderen Bereichen, während die meisten Bakterien, die mittels Abrissverfahren aus tieferen Schichten des Stratum corneum isoliert wurden, offensichtlich den Haarfollikeln entstammen. [4]

Brown et al. (1989) [6] untersuchten die Anatomie der Mikroflora der menschlichen Epidermis. Sie charakterisierten die zur residenten Bakterienflora gehörenden Koagulase-negativen Staphy-

lokokken an der Hautoberfläche und in der Hornschicht unterhalb der Oberfläche. Dabei wendeten sie die Abrissmethode an. Mit Entfernung der ersten 5 Zellschichten reduzierte sich die Anzahl der Bakterienkolonien um 80%. Die Anzahl der Kolonien blieb während der Entfernung von 20 weiteren Zellschichten konstant. Dies ließ darauf schließen, dass sich die Staphylokokken gleichmäßig in der Hornschicht verteilen. Nachdem ein bestimmtes Areal der Hornschicht mittels Ethanol oder Jodtinktur sterilisiert wurde, fand innerhalb von Stunden eine Wiederbesiedlung dieses Gebiets mit Koagulase-negativen Staphylokokken statt. Dieses Phänomen der Wiederbesiedlung lässt annehmen, dass es unterhalb der Oberfläche ein Reservoir für aerobe Bakterien gibt, aus dem die residente Bakterienflora aufrechterhalten wird. [7, 8]

Die Ergebnisse der Untersuchung von Brown et al. [6] deuten darauf hin, dass Koagulase-negative Staphylokokken der Hautoberfläche ihren Ursprung vielerorts haben, während die Koagulase-negativen Staphylokokken der Hornschicht die residente Mikroflora repräsentieren und sich aus einem tiefen Reservoir wieder auffüllen.

Dieses Reservoir könnte in der Dermis liegen, in Haarfollikeln oder den assoziierten Talgdrüsen. [6]

Mit der vorliegenden Arbeit soll eine Zugehörigkeit der Bakterien der Hautoberfläche und der Hornschicht zu den Haarfollikeln gefunden werden. Damit kann dann die Aussage getroffen werden, wie hoch der Anteil der Hautflora ist, die ihren Ursprung in den Follikeln hat.

Die Erkenntnisse über den eigentlichen Sitz der residenten Flora stellen die Voraussetzung dar, um effektivere Desinfektionsmaßnahmen oder antimikrobielle Formulierungen zu entwickeln, um z.B. bei chirurgischen Eingriffen mögliche Kontaminationen der inzidierten Haut mit Keimen der Standortflora zu verhindern.

Die Untersuchung der residenten Hautflora, die sich möglicherweise aus dem tief gelegenen Haarfollikel-Reservoir regeneriert, ist das Ziel der vorliegenden Arbeit.

## **1.2. Grundlagen**

### **1.2.1. Die menschliche Haut**

#### **1.2.1.1. Aufbau und Funktion**

Die Haut grenzt den Organismus gegen die Umwelt ab. Somit nimmt sie im weitesten Sinne Schutzaufgaben wahr. Mit einer Gesamtfläche von 1,6-2 m<sup>2</sup> [9] (beim Erwachsenen) stellt sie das größte menschliche Organ dar. Die Körperoberfläche ist dabei abhängig von der Körperlänge und vom Körpergewicht. Die Haut hat einen Anteil von etwa 16% am Körpergewicht [10] und wiegt 3,5-10 kg [11].

Physiologisch erfüllt die Haut vielfältige Aufgaben:

#### **1. Schutzfunktion**

Die Haut bietet dem Organismus vor allem mechanischen, chemischen und immunologischen Schutz. Sie dient der Abwehr vieler Mikroorganismen und schützt den Organismus vor UV-Strahlung. [10, 12]

#### **2. Temperaturregulierung**

Die Gefäße der Papillarschicht der Lederhaut tragen durch Erweiterung oder Verengung zur Regulierung der Körpertemperatur bei. Des Weiteren dient die Schweißdrüsensekretion der Wärmeregulation. Ferner wirken das Unterhautfettgewebe und das Haarkleid wärmeisolierend. [12]

#### **3. Wasserhaushalt**

Die Haut schützt einerseits den Körper vor Flüssigkeitsverlusten und gibt andererseits gezielt Wasser und Salze zur Regulierung des Wasser- und Elektrolythaushalts ab. [10]

#### **4. Sinnesfunktion**

Durch zahlreiche Hautsinnesorgane können thermische, mechanische Reize aber auch Schmerzreize wahrgenommen werden. [11]

#### **5. Kommunikationsorgan**

Bestimmte Hautäußerungen wie Erröten oder Erblassen sind Ausdruck vegetativer Efferenzen. Somit kann die Haut Signale des vegetativen Nervensystems mitteilen. [10]

Die folgende Abbildung 1.1 zeigt vereinfacht den Aufbau der menschlichen Haut.

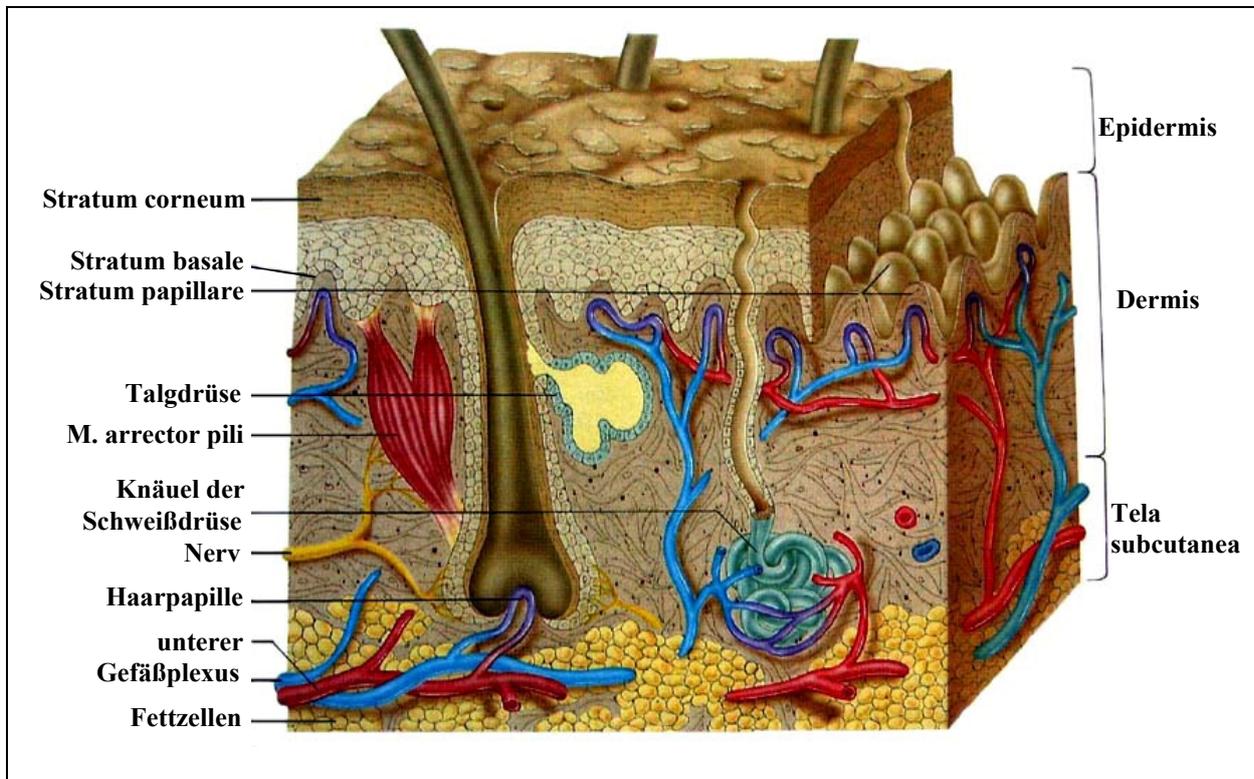


Abb. 1.1: Aufbau der menschlichen Haut [1]

Die Hautdecke setzt sich aus Haut (Dermis) und Unterhaut (Tela subcutanea) zusammen. Die Haut wird nochmals in Epidermis und Dermis unterteilt (vergleiche nachfolgendes Schema in Abbildung 1.2).

Integraler Bestandteil der Haut sind Hautanhangsgebilde: Hautdrüsen, Haare und Nägel.

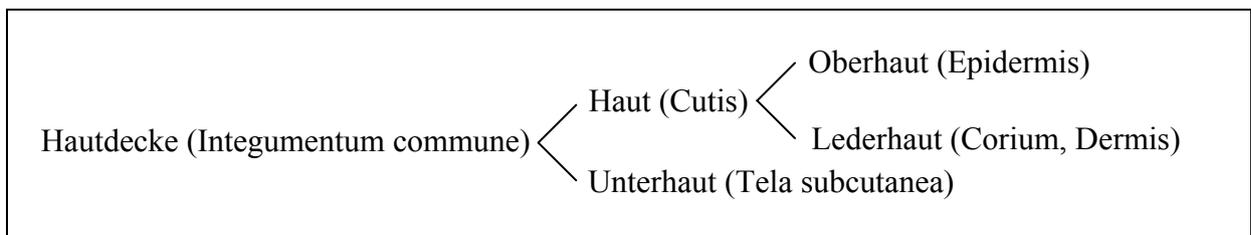


Abb.1.2: Zusammensetzung des Integumentum commune [2]

### 1.2.1.2. Die Epidermis (Oberhaut)

Die Oberhaut wird von einem mehrschichtigen verhornten Plattenepithel gebildet. Die verhorrenden Epithelzellen sind die Keratinozyten [10] in unterschiedlichen Differenzierungsgraden, sie machen etwa 90% der Epidermis aus. Neben den Keratinozyten enthält die Oberhaut Melanozyten, Langerhanszellen und Merkelzellen. Abhängig von Lokalisation, Alter und Geschlecht misst die Epidermis zwischen 0,03 und 0,3 mm.

Eine entscheidende Funktion der Epidermis, im Wesentlichen durch die Hornschicht realisiert [13, 14], stellt die Barrierefunktion dar. Sie schützt den Organismus vor Austrocknung, unterbindet weitgehend den Stoffaustausch zwischen Körper und Umwelt und bietet Schutz vor dem Eindringen körperfremder Substanzen und Mikroorganismen.

Die Oberhaut regeneriert sich ständig. An ihrer Oberfläche gehen stetig Hornzellen durch Abrieb verloren und werden aus der Tiefe der Oberhaut ersetzt. Daher kann die Epidermis grob in eine Keimschicht, verhornende Schicht (Differenzierungsschicht) und Hornschicht unterteilt werden.

Die vitalen Keratinozyten entstehen in den Basalzellen der Basalzellschicht, durchwandern die Epidermis und unterliegen dabei einem strengem Differenzierungsprozess. Ergebnis dieser Differenzierung sind tote Corneozyten. Mikroskopisch lassen sich von basal nach apikal fünf Schichten unterscheiden: Stratum basale, Stratum spinosum, Stratum granulosum, Stratum lucidum, Stratum corneum.

#### 1. Stratum basale (Basalschicht)

In der Basalzellschicht befinden sich einschichtige, hochprismatische Zellen mit großen Zellkernen. Sie liegen der Basalmembran an und sind mit ihr über Hemidesmosomen oder Zellausläufer verbunden. Die Basalmembran ist indes über Mikrofibrillen (Fibrillin) und Verankerungsfibrillen (Typ VII-Kollagen) mit der Dermis verbunden. Die Zellen des Stratum basale bilden untereinander Desmosomen aus, im Cytoplasma ist Prokeratin enthalten. [10]

Die Basalschicht stellt die Regenerationsschicht dar, hier läuft der Großteil der Mitosen ab. Eine mitotisch entstandene Tochterzelle wandert als Keratinozyt in etwa 30 Tagen an die Oberfläche, die andere Tochterzelle bleibt solange in Kontakt mit der Basalmembran, bis sie sich erneut teilt. [10]

#### 2. Stratum spinosum (Stachelzellschicht)

Diese Epidermisschicht erhielt ihren Namen aufgrund des stacheligen Aussehens der Zellen. Die Keratinozyten besitzen Zellausläufer, an deren Spitze sich stachelartige Zellbrücken befinden

(Desmosomen), über welche die Zellen miteinander in Verbindung stehen. Die Zellen des Stratum spinosum sind vergrößert, rund bis polygonal und flachen in höheren Schichten ab. Im Cytoplasma der Zellen werden Tonofibrillen gebildet, sie verlaufen innerhalb der Zellen zwischen den Desmosomen, erhöhen die Festigkeit und wirken speziellen Scherkräften entgegen.

### 3. Stratum granulosum (Körnerschicht)

In dieser Schicht werden die Zellen niedriger. Das Cytoplasma der Körnerzellen enthält basophile Keratohyalin granula. Diese Granula sind amorpher Vorläufer der Hornzellschicht. [10] Des Weiteren befinden sich intrazellulär Tonofibrillen und lamellierte membranumschlossene Granula. Diese Granula enthalten Acylceramide, Glucoceramide, Phospholipide, freie Fettsäuren und Cholesterin und sind reich an katabolischen Enzymen wie Sphingomyelinase und Phospholipase A<sub>2</sub>. [15] Die Körnerzellen geben den Inhalt der Lamellen granula in den Interzellularraum ab. Die ausgeschiedenen Substanzen steigen in das Stratum lucidum auf und bilden zusammen mit den Zellen der Hornschicht eine membranartige Barriere [10], die bei der Abdichtung parazellulärer Transportwege eine Rolle spielt [14].

### 4. Stratum lucidum (helle Schicht)

Diese Schicht kann durchgehend nur in einer sehr hohen Epidermis, an Handflächen und Fußsohlen, gesehen werden. Die Tonofilamente des Stratum lucidum sind vor allem parallel zur Hautoberfläche orientiert und in ein dickes interfilamentöses Material eingebettet. Das Stratum lucidum wird als helle Schicht bezeichnet, da die Zellen in dieser Schicht optisch dichter erscheinen.

### 5. Stratum corneum (Hornschicht)

Die Hornschicht stellt die äußere Schicht der Epidermis dar und fungiert hauptsächlich als Permeabilitätsbarriere.

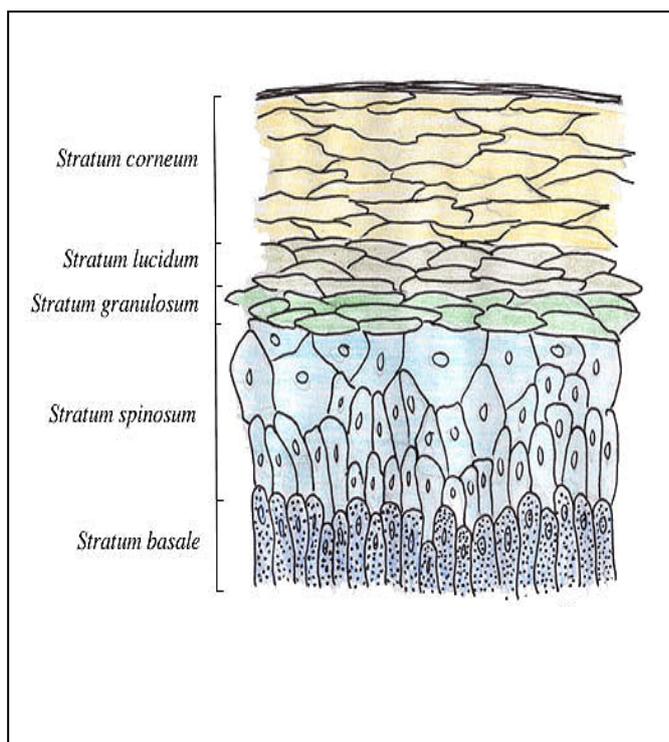
Sie besteht aus etwa 15-30 Zellschichten enddifferenzierter Keratinozyten (Corneozyten) und misst abhängig von der Hautregion 10-20 µm [15].

Im Stratum corneum verschmelzen die Hornzellen und die Hornsubstanzen (Keratin) zu fest gepackten keratinreichen, kernlosen Platten, die als Hornschuppen laufend abgeschilfert werden. Die Corneozyten sind in eine lipidreiche Matrix eingebettet. Diese Lipidschicht kann als Barriere gegen das Eindringen von wasserlöslichen Substanzen gewertet werden. [9, 13, 16, 17, 18] Die Oberfläche der Hornschicht ist vom Lipidmaterial der Talgdrüse filmartig bedeckt. Dieser Ober-

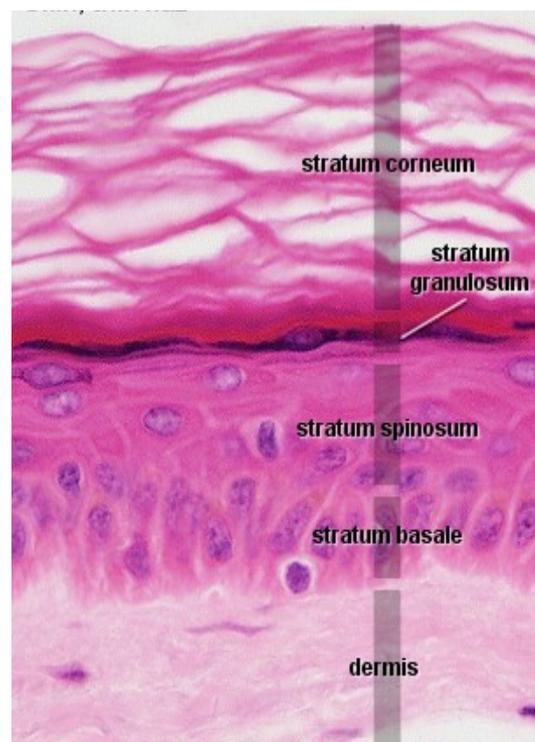
flächenfilm glättet die Hornschicht und erschwert ebenso wie die Matrix das Eindringen von wasserlöslichen Substanzen.

In den zellorganellosen Corneozyten befinden sich hauptsächlich Keratin und Lipide. Die dichte Packung der Zellbestandteile sorgt für Festigkeit. Der Corneozytenmembran fehlt die übliche Dreierschichtung. An ihre Innenseite legt sich eine verhornte Zellhülle an, die das Zellinnere zusätzlich umgibt. Diese Hülle wird als „cornified envelop“ bezeichnet und ist der chemisch widerstandsfähigste Teil der Hornzellen. Die Zusammensetzung der interzellulären Lipide, der Zustand der Corneozyten und nicht zuletzt der Hydratationszustand des Stratum corneum sind für die kutane Permeabilitätsbarriere verantwortlich. [13, 19]

Die nachfolgende Abbildung 1.3 (links) zeigt schematisch den Aufbau der Epidermis mit ihren einzelnen Schichten. In Abbildung 1.4 (rechts) sind die Schichten der Epidermis mikroskopisch dargestellt.



**Abb. 1.3:** Schematischer Aufbau der Epidermis [3]



**Abb. 1.4:** Histologisches Bild, Querschnitt durch die Haut [4]

Zudem bietet eine intakte Hornschicht auch Schutz vor Infektionen der Haut. Pathogene Keime können das Stratum corneum als mechanische Barriere nicht durchbrechen. Die Hautoberfläche

ist relativ trocken und bietet damit suboptimale Wachstumsbedingungen für ortsfremde Keime. Des Weiteren spielt der niedrige pH-Wert der Hautoberfläche (etwa 5,5) eine entscheidende Rolle für die Barrierefunktion des Stratum corneum. Eine Erhöhung des pH-Wertes beeinträchtigt den Zusammenhalt der Hornschicht, dies hat eine verminderte Barrierefunktion zur Folge und das Eindringen von Mikroorganismen wird erleichtert. [20, 21, 22]

Leyden et al. (1980) [23] wiesen nach, dass eine Unterbrechung der Hornschicht zu Infektionen mit Streptokokken führen kann.

Die **Melanozyten** sind neben den Merkel- und Langerhanszellen eine weitere Zellart neben den Keratinozyten in der Epidermis. Es handelt sich um große runde Zellen, die sich im Stratum basale befinden, ihre Ausläufer verzweigen sich in den Interzellularräumen des Stratum spinosum. Melanozyten produzieren die Pigmente der Haut- und Haarfarbe, die Eumelanine und die Phäomelanine. Diese werden in Form von Pigmentkörperchen, den Melanosomen, an benachbarte Epithelzellen und andere Epidermiszellen abgegeben. Das Pigment bietet den empfindlichen Mitosen im Stratum basale Schutz vor schädlicher UV-Strahlung. Die Melaninbildung kann durch verstärkte Bestrahlung provoziert werden.

Als weitere Zellart im Verband der Keratinozyten sind die **Langerhanszellen** zu nennen. Sie liegen ebenfalls im Stratum basale, ihre verzweigten Fortsätze reichen bis unter das Stratum corneum. Ihre Aufgabe liegt in der spezifischen Abwehr der Haut gegen eindringende Keime aufgrund ihrer Fähigkeit Antigene aufzunehmen, sie entwickeln spezifische IgG-Rezeptoren.

Als vierte Zellart sind die **Merkelzellen** (Merkelsche Tastscheiben) in der Epidermis vertreten. Diese befinden sich wie die Melanozyten und die Langerhanszellen im Stratum basale. Merkelzellen fungieren als Mechanorezeptoren bei der Übertragung von Berührungseizen.

### 1.2.1.3. Die Dermis (Lederhaut)

Die Lederhaut besteht aus dermalen Zellen, Bindegewebe und einer gelartigen Grundsubstanz. Das dermale Bindegewebe setzt sich aus Fasern vom Kollagentyp I und III, vom Retikulintyp und vom elastischen Typ zusammen. Es verleiht der Haut Reißfestigkeit und reversible Verformbarkeit.

Zu den dermalen Zellen gehören Fibroblasten, Histozyten, Mastzellen und wenige Melanozyten. Die Zellen und Fasern der Lederhaut sind in eine dermale Matrix eingebettet. Diese poröse Grundsubstanz weist mit ihrem hohen Gehalt an Glycosaminoglykanen eine wesentliche Was-

serbindungskapazität auf. In der Dermis liegen Blutgefäße, Lymphgefäße, Nerven aufzweigungen und Nervenendkörperchen. Die Wurzeln der Terminalhaare und Hautdrüsen reichen bis in die Dermis. Aufgrund der Faseranordnung gliedert sich die Lederhaut in zwei Schichten: in das Stratum papillare und das Stratum reticulare.

Unmittelbar an die Epidermis grenzt das **Stratum papillare**. In die Basalmembran der Oberhaut strahlen Kollagenfasern vom Typ III ein. Aus dem Fasergeflecht scheren zapfenförmige Kollagenfaserschleifen aus und ragen als Bindegewebspapillen in Vertiefungen der Epidermis (siehe Abbildung 1.1). [10] Neben den Kollagenfasern weist die Papillarschicht lockeres Bindegewebe auf. Dieses enthält Kapillarschlingen (oberer Gefäßplexus), Lymphkapillare, Nervenzweige, Meissnersche Tastkörperchen, Bindegewebszellen und Abwehrzellen wie Monozyten, Makrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen.

Das **Stratum reticulare** grenzt an die Tela subcutanea und besteht aus kräftigen Kollagenfaserbündeln vom Typ I und aus elastischen Fasern. Die kollagenen Fasern sind verantwortlich für die Reißfestigkeit der Haut. Die Winkelverstellungen der Faserbündel sorgen für die Dehnbarkeit der Haut. Die elastischen Fasern bewirken die Rückordnung des Fasergeflechts. [10] An der Grenze zur Tela subcutanea verlaufen kleine bis mittelgroße Arterien und Venen (unterer Gefäßplexus). Dieser Plexus gibt zur Oberfläche verlaufende Arteriolen ab. Diese ziehen zum subpapillär gelegenen oberen Plexus und versorgen ihn. [11] Im tiefen Stratum reticulare haben Haarfollikel und Schweißdrüsen ihren Ursprung.

### 1.2.1.4. Die Tela subcutanea (Subcutis)

Die Unterhaut besteht hauptsächlich aus gefäßreichem, lockerem Bindegewebe, welches viele Fettzellen enthält. Sie verbindet Haut mit oberflächlicher Körperfaszie und gewährleistet die Verschieblichkeit der Haut. [10] Die Subcutis enthält Vater-Pacinische Lamellenkörperchen, sie gelten als Druck- und Vibrationsrezeptoren. Mit ihrem hohen Gehalt an Fettzellen stellt die Unterhaut einen wesentlichen Fettspeicher dar, sie dient der Wärmeisolierung und als Polster zum Schutz vor mechanischer Einwirkung.

## **1.2.2. Der Follikelapparat**

### **1.2.2.1. Struktur des Haarfollikels**

Als Haarfollikel wird das Haar selbst bezeichnet zusammen mit seiner Wurzel, der Talgdrüse und dem Musculus arrector pili (vgl. Abb. 1.1). [11]

Haare gehören zu den Anhangsgebilden der Haut. Sie sind Bildungen der Epidermis, an denen sich auch das Bindegewebe beteiligt. [10]

Sie dienen dem Wärmeschutz und der Tastempfindung. Am Anfang werden die äußerst feinen Lanugo- (feine Woll-) haare gebildet. Diese werden perinatal durch etwas kräftigere pigmentarme, marklose Vellus- (Schafwoll-) haare ersetzt. Erst nach der Pubertät treten unter hormonellem Einfluss Terminalhaare auf. Diese sind am Kopf, in der Achsel- und Schamgegend, an den Brauen und Wimpern und weniger dicht am Stamm und an den Extremitäten zu finden. Sie sind markhaltig und wesentlich dicker.

Am Haar unterscheidet man den Haarschaft, der als Hornfaden aus der Hautoberfläche herausragt, die Haarwurzel, welche als Teil des Haares schräg in der Haut steckt, die Wurzelscheiden, die die Wurzel umschließen und das Haarbalg, welches die äußerste bindegewebige Hülle des Follikels darstellt. Die Haarwurzel endet mit einer Anschwellung, der Haarzwiebel (Bulbus pili). Die Haarwurzel sitzt mit der epithelialen Haarzwiebel auf der bindegewebigen Haarpapille. Bulbus, Papille und das umgebende Bindegewebe stellen zusammen den Haarfollikel dar.

### **Haarwurzel**

Die Haarpapille enthält eine Blutkapillare, die der Ernährung des Haares dient. An der Grenze zum Bulbus befinden sich Melanozyten, die Melanin in basale Epithelzellen abgeben. [10] Die Farbe des Haares wird durch den Melaningehalt hervorgerufen. [10] Aus basalen Mitosen der epithelialen Zellen des Bulbus geht das Haar hervor. Die Zellen nehmen Melanin auf, werden in Richtung Hautoberfläche abgeschoben und verhornen dabei. Zuerst entsteht eine Hornspitze, später ein Hornstäbchen, welches von dachziegelartig angeordneten verhornten Zellen, der Haarkutikula, überzogen ist. [10]

Das Haar ist eine Bildung der Epidermis, sie ist um die Haarwurzel röhrenförmig bis zur Haarzwiebel eingestülpt. Daher findet man um die Wurzel herum eine Schichtenfolge von Zellen, die in etwa den Schichten der Haut entspricht. Somit entsteht das Haar aus einer abgewandelten zentralen, punktuell gesteigerten Hornbildung eines Epidermiszapfens, der sich zuvor in das Bindegewebe eingesenkt hat. [10] Das Haar ist demzufolge der Hornschicht der übrigen Epider-

mis vergleichbar. Der Unterschied besteht darin, dass die Hornschicht des Haares aus festem Keratin besteht und die Hornschicht der Epidermis in Schuppen abgestoßen wird. [10]

### **Haarschaft** (Scapus pili)

Der aus der Hautoberfläche herausragende Hornfaden stellt den Haarschaft dar. In besonders dicken Haaren kann zentral ein Zapfen von noch nicht vollständig verhornten Zellen weit ins Haar hineinreichen, man spricht vom Mark des Haares (Medulla pili) [10], welches aus avitalen, großen, polygonalen Zellen besteht [11]. Die vollständig verhornte Rinde schließt sich peripher an das Mark an. Bedeckt wird die Rinde (Cortex pili) vom Oberhäutchen, der Haarkutikula.

### **Wurzelscheide** (Vagina radicularis)

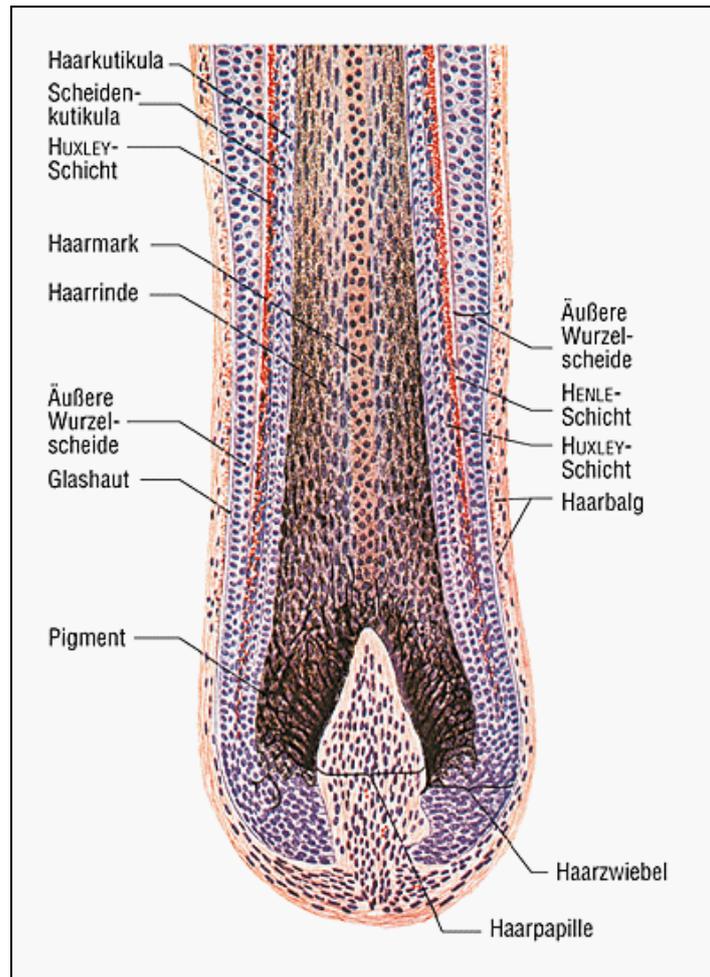
Die Wurzelscheide kann mit einem Hohlzylinder verglichen werden. Sie umschließt die Haarwurzel. Es wird die innere epitheliale Wurzelscheide von der äußeren bindegewebige Wurzelscheide unterschieden. Die epitheliale Wurzelscheide kann als röhrenförmige Einstülpung der Epidermis aufgefasst werden. Oberhalb der Talgdrüsenmündung bildet sie den Haartrichter. [10]

Die innere epitheliale Wurzelscheide kann in einen inneren und äußeren Anteil gegliedert werden. Der innere vielschichtige Anteil trägt zuinnerst die Scheidenkutikula, die sich aus dachziegelartig angeordneten verhornten Epithelzellen zusammensetzt. [10] An die Scheidenkutikula schließt sich die Huxleysche Schicht, gefolgt von der Henleschen Schicht.

Die Scheidenkutikula ist mit der Haarkutikula zahnartig verbunden, das Haar ist in der epithelialen Wurzelscheide verankert. Der Haarbalg wird von der bindegewebigen Wurzelscheide gebildet. Die Haarwurzel mit ihren Schichten ist in Abbildung 1.5 dargestellt.

#### **1.2.2.2. Haarwachstum**

Während des Haarwachstums gleiten die Haarkutikula und die Scheidenkutikula gemeinsam mit dem inneren Anteil der epithelialen Wurzelscheide an deren äußeren Anteil entlang bis zum Haartrichter. Scheidenkutikula und epitheliale Wurzelscheide gehen an dieser Stelle zugrunde. Aus der Tiefe der epithelialen Wurzelscheide erfolgt ständig ihre Erneuerung. Die Wachstumsbewegung hat die Schichtenbildung der epithelialen Wurzelscheide zur Folge. [10]



**Abb. 1.5:** Schichten des Haares (und seiner Wurzelscheiden) [5]

### 1.2.2.3. Haarwechsel

Das Haarwachstum kann in drei Phasen gegliedert werden:

1. Wachstumsphase (anagene Phase)
2. Involutionsphase (katagene Phase)
3. Ruhephase (telogene Phase)

Im Anschluss an die drei Phasen fällt das Haar aus. Ca. 80% der Terminalhaare befinden sich in der Wachstumsphase, täglich kann ein Verlust von 50 Haaren verzeichnet werden. Dabei hebt sich die Haarzwiebel von der bindegewebigen Papille ab und wird nach außen geschoben. An der Oberfläche der Papille kann aus Epithelresten ein neues Haar wachsen. Die Terminalhaare wachsen etwa einen Zentimeter pro Monat und bleiben Monate bis Jahre erhalten. [10]

### 1.2.2.4. Haarmuskel (Musculus arrector pili)

Der Haarmuskel besteht aus Bündeln von Myoepithelzellen, die zu den glatten Muskelfasern gerechnet werden. Sie bewirken die Aufrichtung des Haares und setzen auf der Seite der Haarneigung an der bindegewebigen Wurzelscheide an, ziehen schräg aufwärts und inserieren am Stratum papillare des Corium. Zwischen den Muskeln und der Wurzelscheide befinden sich die Talgdrüsen, diese werden bei Kontraktion der Muskeln komprimiert. An der Stelle der Muskelinsertion wird bei Kontraktion des Muskels die Epidermis grubchenförmig eingezogen (Gänsehaut).

In einigen Körperregionen sind die Mm. arrectores pilorum kaum entwickelt, dazu zählen z.B. die Axilla, das Gesicht, insbesondere die Augenbrauen und Wimpern.

### 1.2.2.5. Morphologische Unterschiede der Haarfollikel

Die morphologische Struktur des Haarfollikels ist abhängig von der Körperregion. Grundsätzlich können drei morphologisch unterschiedliche Haarfollikel-Typen unterschieden werden:

- Terminalhaarfollikel
- Vellushaarfollikel
- Talgdrüsenfollikel

Terminalhaarfollikel finden sich hauptsächlich am Kapillitium, in der Axilla und im Genitalbereich, bei Männern auch im Bereich des Bartes, am Thorax, im Hypogastrium und an den Ober- und Unterschenkeln. Sie entwickeln ein kräftiges, markhaltiges Haar. Zu den androgensensiblen Körperregionen gehören der Schultergürtel, der untere Rücken, die Außenseite der Ober- und Unterarme sowie die Lumbosakral- und Glutealregion. Unter Androgeneinfluss können sich die in diesen Regionen befindlichen Vellushaare zu Terminalhaaren umwandeln. [24] Terminalhaarfollikel stecken vertikal und leicht geneigt in der Haut. Ihr Durchmesser beträgt etwa 50-100 µm. [25]

Vellushaarfollikel liegen ebenfalls vertikal und leicht geneigt in der Haut. Sie entwickeln ein feines, farbloses Haar, welches keine Markanteile enthält. Ihr Durchmesser beträgt 30 µm. [25]

Talgdrüsenfollikel finden sich hauptsächlich im Gesicht und im V-förmigen Brust- und Rücken-ausschnitt. [9] Im Gesicht liegen sie schräg in der Haut, am Rücken vertikal. Sie produzieren

kurze, feine Vellushaare und sind durch einen weiten Follikelkanal und große multilobuläre Talgdrüsen gekennzeichnet.

### **1.2.2.6. Haarfollikel - unterschiedliche Körperregionen im Vergleich**

Otberg (2003) [26] untersuchte die follikuläre Penetration topisch applizierter Substanzen. Die Arbeit beschäftigte sich mit der Dichtebestimmung und der Vermessung der Haarfollikel in verschiedenen Regionen des Körpers. Es wurden die Haardurchmesser und der Anteil der Follikelöffnungen an der Hautoberfläche sowie das Volumen und die Oberfläche der Follikelinfundibula gemessen und berechnet.

Der Anteil der Follikelöffnung/cm<sup>2</sup> Haut war an der Stirn, entsprechend einer hohen Follikeldichte von 292 Follikeln pro cm<sup>2</sup> mit 1,28% am höchsten, gefolgt von der Wade, die trotz einer geringen Follikeldichte von 14 Follikeln pro cm<sup>2</sup> einen Anteil der Follikelöffnungen/cm<sup>2</sup> von 0,35% aufwies. Den geringsten Anteil zeigte die Innenseite des Unterarms mit 0,09% bei einer Follikeldichte von 17 Follikeln/cm<sup>2</sup>. Die aus dieser Studie hervorgehenden Ergebnisse machten deutlich, dass die Haarfollikel am Körper unterschiedlich verteilt sind, dabei war eine Abnahme der Follikeldichte von proximal nach distal zu verzeichnen. Zusätzlich konnten starke Schwankungen in der Follikelgröße beobachtet werden.

### **1.2.2.7. Das Phänomen der „offenen“ und „geschlossenen“ Follikel**

Lademann et al. (1999) [27] konnten in früheren Untersuchungen zur Follikelpenetration zeigen, dass Titandioxidmikropartikel mit einem Durchmesser von 200 nm, wie sie in Sonnenschutzmitteln eingesetzt werden, in die Haarfollikel eindringen, ohne jedoch in den Bereich der lebenden Zellen zu gelangen. Festgestellt wurde, dass nicht in allen Haarfollikeln die Mikropartikel nachweisbar waren, so dass zwischen „offenen“ und „geschlossenen“ Follikeln unterschieden werden muss. [27] Andere Untersuchungen zeigten, dass die Penetration von Substanzen in den Haarfollikel abhängig von dessen Aktivität ist. [28] Telogene Haarfollikel, welche kein Sebum produzierten, waren für die follikuläre Penetration geschlossen. [28]

Mit den Ergebnissen der Untersuchung zur follikulären Penetration von Otberg (2003) [26] stellte sich heraus, dass eine klare Korrelation zwischen dem Eindringen von topisch applizierten Substanzen in die entsprechenden Haarfollikel auf der einen Seite, der Sebumproduktion und dem Haarwachstum auf der anderen Seite existiert. Die Aktivität bzw. Passivität der Haarfollikel

im Untersuchungsareal bezüglich der Penetration wurde geprüft, indem ein fluoreszierender Farbstoff auf das zu untersuchende Hautareal aufgetragen wurde. Der Farbstoff war in all den Follikelöffnungen nachweisbar, wo auch eine Sebumproduktion bzw. ein Haarwachstum beobachtet wurde. [26]

### **1.2.2.8. Die Talgdrüsen (Glandulae sebaceae)**

Talgdrüsen sind holokrine, mehrlappige, etwa 1 mm große alveoläre (säckchenförmige) Einzeldrüsen in der Cutis. [10] Sie sind an den Haarfollikel gekoppelt und bilden sich als laterale Auswüchse der äußeren epithelialen Wurzelscheide. Ihr Ausführungsgang mündet unterhalb des Infundibulums, gewöhnlich in 2/3-3/4 der Länge des Haarfollikels oberhalb des Bulbus pili, in die Isthmusregion ein. Die Drüsenzellen setzen das von ihnen synthetisierte Sebum (Talg) frei, während sie selber bei der Sekretion zugrunde gehen (holokrine Sekretion).

Sebum ist bei Körpertemperatur dünnflüssig und von heller Farbe. Es besteht aus einem Gemisch aus Triglyzeriden und freien Fettsäuren, Squalen, Wachs- und Sterolestern und freien Sterolen. Die vorhandenen freien Fettsäuren entstehen durch die Spaltung von Di- und Triglyceriden durch bakterielle Lipasen der Propionibakterien. Die Zusammensetzung des Sebums ist im Wesentlichen in allen Hautregionen und unabhängig von der Rasse gleich. Es sind nur quantitative Unterschiede zu verzeichnen. [29, 30]

Talg gelangt über das Follikelostium an die Hautoberfläche, vermischt sich mit den interzellulären Lipiden und überzieht die gesamte Epidermis mit einem dünnen Film. [31] So wird die Haut geschmeidig gehalten und gegen Wasser widerstandsfähig gemacht. Zudem trägt Sebum zum Glanz der Haare bei. Talgdrüsen unterliegen einer hormonellen Steuerung, ihr Wachstum wird durch Androgene stimuliert und durch Östrogene gehemmt. [10]

In einigen Körperregionen kommen freie Talgdrüsen vor, die in keiner Beziehung zu Haaren stehen, so z.B. am Lippenrot, in der Wangenschleimhaut, an der Brustwarze und an den Augenlidern. In Abhängigkeit von der Körperregion schwankt die Anzahl, Größe und Aktivität der Talgdrüsen. Vor allem im Gesicht, in der Kopfhaut, in der Analregion und an der Vulva befinden sich besonders viele Talgdrüsen, dagegen fehlen sie in der Leistenhaut.

### 1.2.3. Mikroflora der menschlichen Haut

#### 1.2.3.1. Bestandteile der Hautflora

Der Mensch beherbergt in seiner so genannten natürlichen Flora eine Vielzahl von Keimen. Einige dieser Organismen sind potentiell pathogen, die überwiegende Mehrzahl hingegen apathogen. Die regelmäßig auf der Haut vorkommenden Keime bilden die physiologische Flora, die auch Normalflora genannt wird. Diese als Kommensalen auf der Haut lebenden Organismen stellen als symbiontische Keimflora einen wichtigen Faktor dar, die Hautoberfläche vor dem Eindringen großer Mengen an pathogenen Keimen unempfindlich zu machen. [32]

Die Mikroflora der Haut setzt sich aus einer residenten, transienten und zeitweilig residenten Flora zusammen. [1, 2, 33] Zur residenten Flora werden Organismen gezählt, die kontinuierlich auf der Haut vorhanden sind und deren Anzahl und Zusammensetzung weitgehend stabil bleibt. [33] Die residente Flora umfasst die große Masse der Hautkeime. Sie schließt nur wenige pathogene bzw. fakultativ pathogene Bakterien ein. Die Keime der residenten Flora nehmen auf der Haut bestimmte Stammpplätze ein [32], dienen als Platzhalter und bieten somit Schutz vor pathogenen oder ortsfremden Keimen. Um diese Abwehrfunktion aufrecht zu erhalten, wird die Standortflora sowohl qualitativ als auch quantitativ konstant gehalten. Interaktionen zwischen Keimen der residenten Flora, z.B. gegenseitig günstige Wachstumsbeeinflussung oder Wachstumshemmung durch Sekretion von antimikrobiell wirksamen Bakteriocinen [34] tragen zum Gleichgewicht der Standortflora bei.

Die transiente Hautflora stellt die Summe der Keime dar, die von außen auf die Haut getragen werden. Diese so genannten Anflugkeime [32] befinden sich aufgrund des Vorhandenseins der residenten Flora nur kurze Zeit auf der Hautoberfläche. Die Gruppe der transienten Flora umfasst eine Vielfalt an Keimspezies und variiert stark in ihrer Keimzahl. Ihr gehören sowohl apathogene als auch pathogene Keime an. Sie wird vor allem an unbedeckter Haut gefunden. [33]

Keime der passager residenten Flora besiedeln nur flüchtig die Haut ohne Infektionen zu verursachen. [2] Ihr Gedeihen auf der Haut ist häufig von den Aktivitäten der residenten Flora abhängig und wird auch durch Umwelteinflüsse bestimmt. [33]

Die Grenze zwischen der residenten und der transienten Flora kann nicht in jedem Fall eindeutig gezogen werden, so können z.B. bestimmte residente Keime (z.B. *Staphylococcus epidermidis* oder *Korynebacterium jeikeium*) bei entsprechender Abwehrlage des Körpers zu Infektionen der Haut führen. [32] Andererseits müssen Bakterien der transienten Flora nicht zwangsläufig Infektionen hervorrufen. *Staphylococcus aureus* zählt primär zur transienten Keimflora. Er ist einer der häufigsten bakteriellen Erreger von Infektionen. Dieser Keim kolonisiert bei 20-50% der

gesunden Normalbevölkerung längere Zeit die Haut, vor allem im Bereich des vorderen Nasenvorhofs und des Perineums [35], ohne dabei eine Infektion auszulösen. In diesem Zusammenhang wird dieser Keim zur zeitweilig residenten Flora gezählt.

### 1.2.3.2. Residente Hautflora

Die Organismen der residenten Flora der normalen Haut setzen sich aus Einzelkolonien [32, 36] zusammen und leben auf der Oberfläche und zwischen den Schichten des Stratum corneum [4, 37]. Der Großteil der Keime ist in Haarfollikeln und in den Gängen der Talgdrüsen lokalisiert. [3, 4, 5, 32, 38]

Die Verteilung der residenten Bakterien auf der Hautoberfläche und zwischen den Hornzellschichten resultiert vermutlich aus dem natürlichen Regenerationsprozess der Epidermis. Im Rahmen des Differenzierungsprozesses wandern die Zellen der Oberhaut an die Hautoberfläche und werden dort abgeschilfert. Die zwischen den Zellschichten befindlichen Mikroorganismen bewegen sich ebenfalls mit den Zellen an die Hautoberfläche. [38]

In Abhängigkeit der Körperregion, des Alters und in Abhängigkeit des Geschlechts des Individuums variiert die Anzahl und Art der Mikroorganismen der Haut. [38]

Große Unterschiede in Dichte und Zusammensetzung der residenten Keime sind hinsichtlich der Hautregion zu verzeichnen. [33, 39, 40] So weisen die relativ feuchte Achselhöhle und die Leistenengegend die höchste Anzahl und Artenvielfalt von Mikroorganismen auf. Im Gegensatz dazu ist die Haut der Extremitäten relativ trocken, sie beherbergt die geringste Anzahl an Mikroorganismen und weist nur eine geringe Artenvielfalt auf. [33, 38]

Die Besiedlung der Haut mit Mikroorganismen wird ermöglicht, indem die Bakterien am Oberflächenepithel anhaften. Die Haftung erfolgt durch eine spezifische molekulare Struktur der Bakterienzellwand. Diese als Adhäsine bezeichnete Struktur tritt in Wechselwirkung mit einem spezifischen Rezeptor an der Oberfläche der Wirtszelle.

Die epithelialen Zellen weisen in verschiedenen Körperregionen unterschiedliche Rezeptoren auf, das könnte die Unterschiede in der residenten Bakterienflora in unterschiedlichen Körperarealen erklären. [33]

Die residente Standortflora besteht aus drei großen Keimgruppen: Staphylokokken, koryneforme Organismen und der Sprosspilz *Malassezia furfur*. Ferner schließen sich zwei weitere, kleinere Gruppen an: Mikrokokken und gram-negative Keime. [32]

Staphylokokken und Mikrokokken werden zur Familie der *Micrococcaceae* zusammengefasst. Dieser Gruppe gehören Gram-positive, Katalase-positive Staphylokokken und Mikrokokken an. Staphylokokken werden in das Koagulase-positive Bakterium *Staphylococcus aureus* und in Koagulase-negative Spezies eingeteilt. Die meisten Hautareale sind normalerweise nicht mit *Staphylococcus aureus* besiedelt (vgl. 1.2.3.1.). [32]

Koagulase-negative Staphylokokken sind die am häufigsten auf der Haut zu findenden Organismen der Normalflora. Zu den häufigsten Vertretern der Koagulase-negativen Staphylokokken gehören *Staphylococcus epidermidis* und *Staphylococcus hominis*. *Peptococcus saccharolyticus* ist ein anaerober Staphylokokkenvertreter und gehört bei 20% der Menschen zur Normalflora. Neben den Staphylokokken ist die Haut mit verschiedenen *Mikrokokken*-Spezies besiedelt.

Des Weiteren gehören koryneforme Organismen (Korynebakterien) zur residenten Flora. Diese wurden ursprünglich den gram-positiven, unbeweglichen, nichtsporenbildenden Stäbchen der Gattung *Corynebacterium* zugeordnet. Die frühere Bezeichnung dieser Keime als „*Diphtheroide*“ rührt daher, dass die Organismen Ähnlichkeit mit dem pathogenen *Corynebacterium diphtheriae* aufweisen. Einige Zeit später erfolgte die Klassifikation der Korynebakterien auf der Basis von Zellwandanalysen. Diese Untersuchungen ergaben, dass von den koryneformen Organismen nur 60% der Gruppe der klassischen *Corynebacterium*-Gattung angehören, 20% der Korynebakterien werden der Gruppe der *Brevibacterium*-Spezies zugeteilt. Die restlichen 20% teilen sich auf verschiedene andere Gruppen auf, sie werden der transienten Flora zugerechnet. [33]

Als anaerober Vertreter der Standortflora ist das *Propionibacterium acnes* zu nennen. Es macht den überwiegenden Teil der Hautflora aus und gehört der Gruppe der nichtsporenbildenden, obligat anaeroben, gram-positiven Stäbchen an.

Ebenfalls zur residenten Hautflora gehören *Acinetobacter*-Spezies. Diese gehören zur Gruppe der unbeweglichen, gram-negativen nichtfermentierenden Stäbchen und werden bei bis zu 25% der Menschen als Normalflora gefunden. [33, 38]

Neben den genannten Bakterienarten gehören auch Pilze der residenten Flora an. Der lipophile, dimorphe Sprosspilz *Malassezia furfur* ist vor allem in talgdrüsenhaltigen Hautarealen zu finden. Seine Präsenz steht in direkter Beziehung zur produzierten Sebummenge. [38]

Die Tabelle 1.1. fasst die Keime der residenten Flora der Haut zusammen.

Die residente Mikroflora der gesunden Haut schafft ein ökologisches System zum Schutz der Haut vor pathogenen Mikroorganismen. Sie spielt eine wesentliche Rolle bei der Kolonisationsresistenz, da sie eine Besiedlung mit anderen, potentiell pathogenen Keimen verhindert. Einige Keime der Standortflora, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, Korynebakterien und *Malassezia furfur* sind in der Lage Lipase und Esterase zu produzieren. [2]

Diese Enzyme bewirken die Abspaltung freier Fettsäuren von Sebum-Triglyzeriden, was die Absenkung des pH-Wert der Hautoberfläche zur Folge hat. Somit schafft die Haut mit ihrer eigenen Mikroflora eher ungünstige Wachstumsbedingungen für pathogene Organismen wie z.B. für *Staphylococcus aureus* und *Streptokokken*-Spezies. [33] Andererseits wirkt das saure Milieu der Haut stimulierend auf andere Mikroorganismen, so z.B. auf die *Propionibacterium*-Spezies. Neben diesem sauren Schutzmechanismus sind *Staphylococcus epidermidis* und *Propionibacterium acnes* befähigt, antibiotische Substanzen zu produzieren, welche pathogene Keime in ihrem Wachstum behindern können. [2] Diese Substanzen werden als Bakteriocine bezeichnet. Wenn Haut beginnt zu erkranken, dann steigt die Zahl der Bakteriocine produzierenden Organismen und sie dominieren die Hautflora. [33]

Sowohl endogene als auch exogene Faktoren beeinflussen die Hautflora und können somit die Entstehung von Hautinfektionen erleichtern. Zu diesen Faktoren gehört die zelluläre- und humorale Immunität (Diabetes mellitus), Medikation (Antibiotikabehandlung [41, 42]), Umweltfaktoren (Feuchtigkeit, Temperatur) und kosmetische Produkte und Hygiene. [2]

**Tabelle 1.1.:** Residente Hautflora

- 
- *Micrococcaceae*
    - Koagulase-negative Staphylokokken
    - *Mikrokokken*-Spezies
    - *Peptococcus*
  - Koryneforme Organismen
    - klassische *Corynebacterium*-Gattung
    - *Brevibacterium*-Spezies
  - *Propionibacterium*-Spezies
  - *Acinetobacter*-Spezies
  - *Malassezia furfur*
-

### 1.2.3.3. Lokalisation der Mikroflora der Haut

#### *Malassezia furfur*

Hefepilze der Gattung *Malassezia furfur* sind in hoher Zahl in den seborrhoischen Hautarealen zu finden. [32] Sie siedeln sich in den oberen Anteilen des Talgdrüsenfollikels, im Akroinfundibulum an. [43, 44]

#### *Micrococcaceae*

Staphylokokken (*S. epidermidis*), die zur Familie der *Micrococcaceae* zählen, befinden sich im gesamten Stratum corneum [44], des Weiteren werden sie im Bereich des Akroinfundibulum gefunden [43] und reichen bis zum oberen Anteil des Infrainfundibulum [44].

Koagulase-negative Staphylokokken besiedeln in großer Zahl vor allem die feuchten und talgar-men Körperregionen wie intertriginöse Hautbereiche sowie Hände und Füße. Mikrokokken sind überall auf der Haut zu finden, ihr Verhalten ist denen der Koagulase-negativen Staphylokokken ähnlich. [32]

*Peptococcus saccharolyticus* gehört zur Gruppe der anaeroben Staphylokokken und ist in großer Zahl im Bereich der Stirnhaut zu finden. [33]

#### **Koryneforme Organismen**

Korynebakterien finden sich in großer Zahl im Bereich der obersten Zelllage des Stratum corneum. [44] Die klassische *Corynebacterium*-Gattung besiedelt weite Teile der Haut. *Brevibacterium*-Spezies sind auch an nicht-seborrhoischen Hautbereichen zu finden (intertriginöse Areale, Füße) und verursachen durch Zersetzung von Steroiden und Proteinen unangenehmen Körpergeruch [32, 40].

#### ***Propionibacterium*-Spezies**

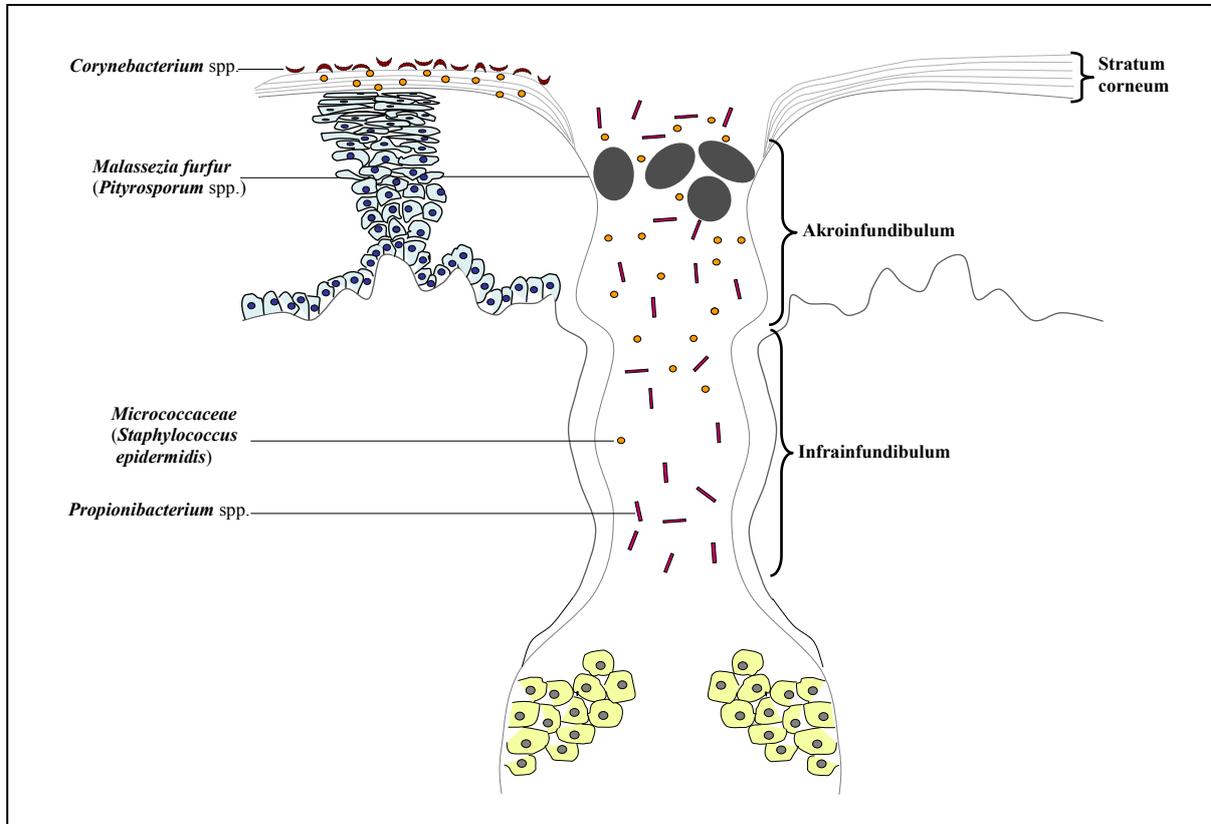
Propionibakterien liegen im Infundibulum und reichen bis zum tiefsten Areal des Infrainfundibulum der Talgdrüsen. [43, 44]

Sie besiedeln die seborrhoischen Areale der Haut.

#### ***Acinetobacter*-Spezies**

Die Familie der *Acinetobacter* sind die Hauptvertreter der Gram-negativen Keime und besiedeln die intriginösen Hautareale und Zehenzwischenräume. [32]

Zusammenfassend zeigt die Darstellung in Abbildung 1.5 schematisch die Lokalisation der residenten Hautflora in talgdrüsenhaltigen Arealen.



**Abb. 1.5:** Schematische Darstellung der Lokalisation der Genera der residenten Hautflora des Menschen in talgdrüsenhaltigen Hautarealen [vgl. 44]

#### 1.2.3.4. Mikroflora der Talgdrüsenfollikel

Talgdrüsenfollikel beherbergen eine Mikroflora (vgl. Abb. 1.5). [43] Zur Standortflora der Haarfollikel zählen der Pilz *Malassezia furfur*, *Propionibacterium*-Spezies und die Bakterien der Familie der *Micrococcaceae*. [43, 45] Die einzelnen Mikroorganismen nehmen darin typische topographische Lokalisationen ein. Nahe der Follikelmündung, an der Oberfläche liegt der Hefepilz *Malassezia furfur*. In der Mitte des Akroinfundibulums befinden sich die aeroben Mikrokokken und in der Tiefe des Infrainfundibulums die anaeroben *Propionibacterium*-Spezies. [43] Puhvel et al. (1975) [46] fanden bei der quantitativen Untersuchung von Bakterien in den Haarfollikeln mit ihren assoziierten Talgdrüsen eine Korrelation zwischen dem Gewicht der Talgdrüsen und der Dichte der anaeroben Mikroorganismen innerhalb der Follikel und der dazugehörigen Talgdrüsen.

### 1.2.3.5. Transiente Hautflora

Die transiente Flora der Haut ist bezüglich ihrer Artenvielfalt viel heterogener als die residente Flora. Vertreter dieser Gruppe sind z.B. Streptokokken, *Staphylococcus aureus*, Neisserien und einige gram-negative Keime (z.B. *Enterobacteriaceae*). Sie gelten als Fremdkörper im Gefüge der residenten Flora und sind nur temporär auf der Haut vorhanden.

Im Nasenraum können Bakterien der Gattung *Staphylococcus aureus* für einen längeren Zeitraum persistieren ohne Infektionen auszulösen. In diesem Fall kann *Staphylococcus aureus* der passager residenten Hautflora zugerechnet werden. [32, 33]

### 1.2.4. Keimgewinnung

Die Kenntnis über die Mikroflora der menschlichen Haut beruht vor allem auf kulturelle Verfahren. Es existieren eine Reihe verschiedener Methoden zur Untersuchung der Keimflora. Diese bergen die zu untersuchenden Organismen aus unterschiedlichen Hauttiefen und liefern demzufolge unterschiedliche quantitative Ergebnisse. [33] Trotz dieser Unterschiede bezüglich der Quantität konnten in vielen Untersuchungen ähnliche Resultate in qualitativer Hinsicht erzielt werden. [33] Neben der Art der Keimgewinnung ist auch der Hautbereich, der nach seinem Keimgehalt getestet wird ausschlaggebend für das Testresultat. Die Keimgewinnung von nur einem Hautareal kann nicht als repräsentativ für das gesamte Keimspektrum der Haut gelten. [33] Daneben spielt die Art des Kulturmediums eine Rolle, die Kulturbedingungen und die Inkubationskonditionen. [34]

Die festgelegten Untersuchungsbedingungen bestimmen somit weitgehend die Art und Zahl der zu untersuchenden Mikroben.

Bis heute besteht kein standardisiertes Verfahren, welches den Anforderungen nach vollständiger Gewinnung der Bakterienflora gerecht wird. [40]

Grundsätzlich lassen sich zur Keimgewinnung 4 verschiedene Verfahren unterscheiden.

1. Röckl und Müller (1959) [37] untersuchten vor allem die quantitative Verteilung und Tiefenreichweite der Hautkeime im Stratum corneum. Dazu trugen sie die Hornschicht mittels eines adhäsiven Streifens sukzessiv ab und kombinierten diese Arbeitsweise mit der kulturellen Bestimmung des Keimgehalts der einzelnen Schichten. Der mit Hornzellen belegte *tesa*®-Filmstreifen wurde direkt auf Blutagarplatten aufgebracht. Dieser verblieb 18 h bei 32°C unter aeroben Bedingungen auf dem Nährboden. Anschließend

erfolgte die Entfernung des Filmstreifens und die Agarplatten wurden für 24 h bei 37°C und für weitere 24 h bei Zimmertemperatur bebrütet. Nachfolgend wurden die auf den Platten gewachsenen Kolonien ausgezählt.

2. Die Detergens-Schabe-Waschmethode nach Williamson und Kligman (1965) [47] ist die am häufigsten angewandte Methode zur Keimgewinnung. Mit ihr sind Keimzahlbestimmungen an der Hautoberfläche möglich. Ein beidseitig offener Glaszylinder wird auf die zu untersuchende Haut gedrückt. In diesen Zylinder wird 1 ml einer gepufferten Waschlösung (anionisches Detergens – Triton-X 100) pipettiert. Die nun mit der Flüssigkeit benetzte Haut wird mittels eines Teflonspatels eine Minute lang leicht geschabt. Anschließend wird die so erhaltene Waschlösung abpipettiert und der Schabevorgang mittels 1 ml Waschlösung wiederholt. Im Anschluss werden die beiden Waschlösungen vermengt und von den jeweiligen Aliquots Verdünnungsreihen angesetzt. Die geeigneten Verdünnungen werden auf Agarplatten ausplattiert. Nach 48 h aerober Bebrütung bei 37°C kann nun die Zahl der gewachsenen Kolonien ermittelt werden.
  
3. Die Methoden der Keimgewinnung von Staal und Noordzij (1978) [48] sowie von Thran (1979) [49] sind weniger häufig eingesetzte Verfahren. Dabei werden Flüssigkeiten auf die Hautoberfläche gesprüht und nach einer bestimmten Zeit mittels eines speziellen Geräts wiedergewonnen. Im Anschluss wird die erhaltene Flüssigkeit hinsichtlich ihres Bakteriengehaltes untersucht. [40] Im Vergleich können mit diesen beiden Methoden statistisch signifikant weniger Keimzahlen nachgewiesen werden als mit der Methode von Williamson und Kligman. [50] Hinzuzufügen ist, dass die Methode von Staal und Noordzij für die Keimgewinnung von behaarten Hautbereichen entwickelt wurde. Auch das von Thran entwickelte Verfahren bietet sich für die Keimgewinnung von behaarten Hautarealen an. [50]
  
4. Holland et al. (1974) [51] entwickelten eine Methode zur Isolierung von Mikroorganismen aus tieferen Hautschichten. Die mit dieser Technik nachweisbare Keimzahl fällt jedoch noch geringer aus als bei den zuvor genannten Methoden, wobei zu erwähnen ist, dass die Technik nach Holland speziell zur Gewinnung der Keime aus Talgdrüsenengängen und Follikeln entwickelt wurde. Somit können die mit diesem Verfahren ermittelten Daten nicht direkt mit denen der anderen Methoden verglichen werden.

Ein Tropfen Cyanacrylat-Klebstoff wird mittels eines Glasstempels auf die zu untersuchende Hautoberfläche gedrückt und nach 20 Sekunden ruckartig entfernt. Das dabei aus den Follikeln herausgelöste Keratin mit der residenten Flora haftet nun an dem Stempel. In einem speziellen Apparat werden die Mikroorganismen vom Stempel gelöst und verteilen sich in einem bestimmten Medium. Spezieller Nähragar wird mit dem Medium, welches die Keime beinhaltet, beimpft und unter aeroben und anaeroben Bedingungen inkubiert. Anschließend wird die Anzahl der Keime ermittelt. Oberflächliche Keime können mit diesem Verfahren nur eingeschränkt untersucht werden, da sie aufgrund der bakteriziden Wirkung des Cyanacrylats teilweise zugrunde gehen. [40]

Hartmann et al. (1986) [44] untersuchten die antibakterielle Wirksamkeit von Fabry-Spiritus auf die residente Flora der Stirnhaut im Stratum corneum und Infundibulum der Talgdrüsen. Zu diesem Zweck kombinierten sie zwei Methoden zur Keimgewinnung. Im Stratum corneum-Akroinfundibulum-Bereich gewannen sie Bakterien der residenten Flora mittels der Detergens-Schabe-Waschmethode. Im Infrainfundibulum-Bereich nutzten sie zur Keimisolierung die Cyanacrylat-Abrissmethode. In jedem Impfareal wurde zuerst die Detergens-Schabe-Waschmethode angewandt und im Anschluss daran die Cyanacrylat-Abrisstechnik.

### **1.3. Zielsetzung der Arbeit**

Mit der vorliegenden Arbeit sollen humane Bakterien der Oberfläche und der Hornschicht der menschlichen Haut untersucht werden. Die Arbeit widmet sich vor allem dem Ursprung der von der Haut gewonnenen Bakterienkolonien in der Cutis. Die zentrale Aufgabe der Arbeit stellt die Untersuchung follikotroper Bakterien dar und die Erfassung ihres prozentualen Anteils an der Menge aller gefundenen Hautkeime.

Für die Untersuchung des Stellenwertes von Haarfollikeln bezüglich der Lokalisation der residenten Flora ist es von wesentlicher Bedeutung, den Anteil der Bakterienflora zu ermitteln, der aus den Haarfollikeln stammt.

Es soll eine Methode entwickelt werden, die es ermöglicht, die Zugehörigkeit der von der Haut gewonnenen Bakterienkolonien zu den Haarfollikeln am Menschen *in vivo* zu erfassen.

Ohne die Entnahme von Hautbiopsien soll die Menge der aus den Haarfollikeln stammenden Bakterien ermittelt und analysiert werden. Ausgehend davon, dass der Anteil der Follikelöffnun-

gen an der Hautinnenseite des Unterarms durchschnittlich 0,09% beträgt [26], soll der Anteil der Bakterienflora, der den Haarfollikeln entstammt, bestimmt werden.

Daraus ergibt sich als Aufgabenstellung die Entwicklung einer Methodenkombination zur Untersuchung der aus den Haarfollikeln stammenden Bakterienkolonien.

Dies schließt ein die

- Gewinnung der Hautbakterien von der Hautoberfläche und aus der Hornschicht mittels der *tesa*®-Film-Abrissmethode
- Gewinnung der Bakterien aus den Haarfollikeln mittels der Cyanacrylat-Abrisstechnik
- Bestimmung der Follikelposition der einzelnen Haarfollikel innerhalb eines Hautareals mittels einer speziellen Färbetechnik (Osmiumtetroxid-Färbung)
- Bestimmung der Follikelpositionen mittels der Cyanacrylat-Abrisstechnik
- Erfassung follikelbezogener Bakterienkolonien mit Hilfe von Follikelkarten
- Bestimmung des prozentualen Anteils der follikotropen Bakterienkolonien
- Analyse der follikotropen Bakterienkolonien