

Aus der Klinik für Dermatologie und Allergologie

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Michael Hertl

des Fachbereichs Medizin
der Philipps-Universität Marburg

in Zusammenarbeit mit dem Fachbereich LSE der Technischen
Hochschule Mittelhessen

Titel der Dissertation:

**Konzeption und Entwicklung eines Screeningverfahrens
zur Identifizierung von für die Hautmikroflora
problematischen Hilfsstoffen in Kosmetika**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Bea Vanessa Müller aus Wetzlar
Marburg, 2022

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Philipps-Universität Marburg am: 24.11.2022

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. Denise Hilfiker-Kleiner
Referent: Prof. Dr. med. Wolfgang Pfützner
Referent: Prof. Dr. Frank Runkel
1. Korreferent: Prof. Dr. Holger Garn

Abstract

Deutsch:

Die menschliche Haut bietet uns einen effektiven Schutz gegen Umwelteinflüsse und Infektionen. Nicht nur die physiologische Barriere, sondern auch die mikrobielle Besiedelung ist entscheidend für diese Aufgabe. Durch eine angemessene Verwendung von kosmetischen und medizinischen Produkten können diese Funktionen unterstützt werden. Allerdings stehen nun einige der dort verwendeten Bestandteile unter dem Verdacht, eine Verschiebung des mikrobiellen Gleichgewichts zu bewirken und so die Entstehung oder den Fortbestand von Hautkrankheiten zu begünstigen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, ein Test- bzw. Screeningverfahren mit objektiv messbaren Parametern zu entwickeln, welches innerhalb weniger Tage zeigt, ob ein einzelner Stoff das Wachstum von Mikroorganismen positiv oder negativ beeinflusst und so das Gleichgewicht der Hautmikroflora verschiebt. Untersucht wurde der Einfluss auf *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa*, *Malassezia sympodialis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus gallinarum*, *Corynebacterium minutissimum*, *Streptococcus mitis* und *Propionibacterium acnes*.

Bei mehreren der getesteten Hilfsstoffe und Spezies konnte ein Einfluss auf das Wachstum der Mikroorganismen nachgewiesen werden, so dass eine Adaption bestehender Rezepturen und die Verwendung von unproblematischen Substanzen empfohlen werden kann.

English:

The human skin provides an effective protection against environmental influence and infections. Not only is the physiological barrier decisive for this task but also the microbial population. These features can be supported by an appropriate use of cosmetic and medical products. However, some of the used components are now assumed to be the cause of a shift in microbial balance, thus enabling the development or persistence of skin diseases.

The aim of this study is to develop a test or screening procedure with clinically measurable parameters. This procedure reveals within a few days if a single component affects the growth of microorganisms positive or negative way, thus shifting the microbial balance. The examined species are *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa*, *Malassezia sympodialis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus gallinarum*, *Corynebacterium minutissimum*, *Streptococcus mitis* and *Propionibacterium acnes*.

It has been proven that multiple of the examined excipients and species have an impact on the growth of the microorganisms. Therefore, an adaption of existing formulation and the usage of unproblematic substances can be recommended.

Inhalt

ABSTRACT	III
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	I
TABELLENVERZEICHNIS	III
FORMELVERZEICHNIS	VI
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	VII
1 EINLEITUNG	1
2 ZIELSETZUNG	3
3 GRUNDLAGEN	4
3.1 ANATOMIE DER HAUT	4
3.2 PHYSIOLOGISCHE HAUTFLORA	6
3.2.1 <i>Leitkeime</i>	10
3.3 DERMATOLOGISCHE KRANKHEITSBILDER	16
3.3.1 <i>Akne vulgaris</i>	16
3.3.2 <i>Periorale Dermatitis</i>	17
3.3.3 <i>Rosacea</i>	18
3.3.4 <i>Pityriasis versicolor</i>	19
3.3.5 <i>Atopische Dermatitis</i>	19
3.3.6 <i>Seborrhoische Dermatitis</i>	20
3.4 KOSMETISCHE HILFSSTOFFE	22
3.4.1 <i>Konservierungsstoffe</i>	23
3.4.2 <i>Emulgatoren</i>	24
3.4.3 <i>Konsistenzgeber</i>	24
3.4.5 <i>Sonstige Hilfsstoffe</i>	26
3.5 HPTLC IN DER ANALYTIK VON LIPIDEN	27
3.5.1 <i>Fettsäuren</i>	27
3.5.2 <i>HPTLC-Analyse</i>	29
4 MATERIAL & METHODEN	31
4.1 GERÄTE UND MATERIALIEN	31
4.1.1 <i>Geräte</i>	31
4.1.2 <i>Chemikalien</i>	32
4.1.3 <i>Teststoffe</i>	33
4.1.4 <i>Keimspezies</i>	36
4.2 METHODEN	37
4.2.1 <i>Kultivierung von Mikroorganismen auf Festmedien</i>	37
4.2.2 <i>Bestimmung des Zellwachstums</i>	42
4.2.3 <i>Durchführung der HPTLC-Analyse</i>	45
4.2.4 <i>Signifikanztest zur statistischen Überprüfung der Testsysteme</i>	47
5 ERGEBNISSE UND DISKUSSION	49
5.1 METHODENENTWICKLUNG	49
5.1.1 <i>Entwicklung einer Methode zur Keimzahlbestimmung</i>	49
5.1.2 <i>Entwicklung von geeigneten Medien</i>	51
5.1.3 <i>Erstellen empirisch ermittelter Kalibrierkurven</i>	64
5.1.4 <i>Etablierung der Testmethode zur Untersuchung der kosmetischen Hilfsstoffe</i>	69
5.1.5 <i>Statistische Überprüfung des entwickelten Testsystems</i>	78
5.2 ERGEBNISSE DER IN VITRO TESTS ZUM EINFLUSS KOSMETISCHER HILFSSTOFFE AUF DAS WACHSTUM VON MIKROORGANISMEN	79
5.2.1 <i>Ergebnisse der Wachstumsversuche der Bakterienstämme</i>	79
5.2.2 <i>Ergebnisse der Wachstumsversuche der Hefepilze</i>	151
5.2.3 <i>Ergebnisse der HPTLC-Analyse nach Inkubation mit Bakterien</i>	156
5.2.4 <i>Ergebnisse der HPTLC-Analysen nach Inkubation mit Hefepilzen</i>	167

6 DISKUSSION	173
7.1 ZUSAMMENFASSUNG	180
7.2 SUMMARY	182
8 LITERATURVERZEICHNIS	184
VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRER	191
DANKSAGUNG	192

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematischer Aufbau der menschlichen Haut.....	5
Abbildung 2: Lebensräume von Mikroorganismen	6
Abbildung 3: Zusammensetzung der Hautmikroflora verschiedener Körperregionen	8
Abbildung 4: Einfluss von inneren und äußeren Faktoren auf die Hautbarriere.....	9
Abbildung 5: Verteilung der Malassezia-Hefen.....	13
Abbildung 6: Lebensräume von Malassezia-Hefen.....	14
Abbildung 7: Lipidstoffwechsel der Malassezia-Hefen	15
Abbildung 8: Pathogenese der Akne vulgaris	17
Abbildung 9: Periorale Dermatitis.....	18
Abbildung 10: Rosacea.....	18
Abbildung 11: Pityriasis versicolor	19
Abbildung 12: Atopische Dermatitis.....	20
Abbildung 13: Seborrhoische Dermatitis.....	21
Abbildung 14: Aufbau eines Triglycerids.....	27
Abbildung 15: Aufbau der Caprinsäure	27
Abbildung 16: Aufbau der Ölsäure.....	28
Abbildung 17: Aufbau der Palmitinsäure.....	28
Abbildung 18: Densitogramm der Auftrennung von Farbstoffen	29
Abbildung 19: Systematik einer Verdünnungsreihe	43
Abbildung 20: Vergleich von nach Drigalski-Plattenausstrich ausgezählter Keimzahl mit über die Kalibrierkurve berechneter Keimzahl	49
Abbildung 21: Ergebnisse der OD-Messung von abgeschwemmten Keimsuspensionen verschiedener Agar-Zusammensetzungen.....	52
Abbildung 22: Vergleich von Keimzahl und OD bei Streptococcus mitis nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben	54
Abbildung 23: Vergleich von Keimzahl und OD bei Streptococcus mitis nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben	56
Abbildung 24: Vergleich von Keimzahl und OD bei Streptococcus mitis nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben	58
Abbildung 25: Vergleich von Keimzahl und OD bei Streptococcus mitis nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben	59
Abbildung 26: Vergleich von Keimzahl und OD bei Streptococcus mitis nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben	60
Abbildung 27: Wiederholung des Versuches mit Agar 92 und Hefe.....	60
Abbildung 28: Vergleich von Keimzahl und OD nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben.....	62
Abbildung 29: Kalibrierkurve von Staphylococcus epidermidis mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration	64
Abbildung 30: Kalibrierkurve von Staphylococcus gallinarum mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration	65
Abbildung 31: Kalibrierkurve von Corynebacterium minutissimum mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration	66
Abbildung 32: Kalibrierkurve von Streptococcus mitis mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration	66
Abbildung 33: Kalibrierkurve von Propionibacterium acnes mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration	67
Abbildung 34: Auswertung des Versuches mit Coryne. minutissimum und erhöhter Konzentration von Polyacrylsäure.....	96
Abbildung 35: Auswertung des Versuches mit Coyne. minutissimum und erhöhter Konzentration von Polyglyceryl.....	113

Abbildung 36: Auswertung des Versuches mit Staph. gallinarum und erhöhter Konzentration von PEG-350.....	122
Abbildung 37: Darstellung der entwickelten Formulierungen 6.1, 6.2 und 6.3	150
Abbildung 38: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Methyl glucose isostearate (Isolan IS) mit Coryne. minutissimum und Propioni. acnes.....	156
Abbildung 39: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Span 80 mit Coryne. minutissimum und Propioni. acnes	157
Abbildung 40: Auswertung nach Inkubation des Polymers Cetyl PEG (PPG-10/ Dimethicon/Abil EM 90) mit Coryne. minutissimum und Propioni. acnes.....	157
Abbildung 41: Auswertung nach Inkubation des natürlichen Emollientien Avocadoöl mit Coryne. minutissimum und Propioni. acnes	158
Abbildung 42: Auswertung nach Inkubation des natürlichen Emollientien Olivenöl mit Propioni. acnes.....	159
Abbildung 43: Auswertung nach Inkubation des natürlichen Emollientien Sesamöl mit Propioni. acnes.....	159
Abbildung 44: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit Staph. epidermidis und Staph. gallinarum	160
Abbildung 45: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit Coryne. minutissimum und Propioni. acnes ...	160
Abbildung 46: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Cetearyl isononanoate (Cetiol SN) mit Propioni. acnes	161
Abbildung 47: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Coco-caprylate/Cetiol LC) mit Propioni. acnes.....	162
Abbildung 48: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Kollicream DO) mit Propioni. acnes	162
Abbildung 49: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Ethyl linoleate mit Staph. epidermidis	163
Abbildung 50: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Ethyl linoleate mit Coryne. minutissimum und Propioni. acnes.....	163
Abbildung 51: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Ethyl oleate (Acros 98 %) mit Staph. epidermidis und Propioni. acnes.....	164
Abbildung 52: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Isopropyl palmitate mit Coryne. minutissimum.....	165
Abbildung 53: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit Coryne. minutissimum und Propioni. acnes.....	165
Abbildung 54: Auswertung nach Inkubation des Emollientien auf Kohlenwasserstoffbasis Dimethicon 100 (Silikonöl) mit Coryne. minutissimum und Propioni. acnes	166
Abbildung 55: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit Malassezia furfur und Malassezia globosa	167
Abbildung 56: Auswertung der Abbaukinetik nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit Malassezia furfur	168
Abbildung 57: Auswertung der Abbaukinetik nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit Malassezia globosa	169
Abbildung 58: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit Malassezia furfur und Malassezia globosa.....	169
Abbildung 59: Auswertung der Abbaukinetik nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit Malassezia furfur.....	170
Abbildung 60: Auswertung der Abbaukinetik nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit Malassezia globosa	171
Abbildung 61: Auswertung nach Inkubation der Fettsäure Ölsäure mit Malassezia furfur und Malassezia globosa.....	172

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: R _f -Werte verschiedener Lipidklassen	30
Tabelle 2: Verwendete Geräte und Materialien	31
Tabelle 3: Verwendete Chemikalien	32
Tabelle 4: Auflistung der getesteten Konservierungsmittel	33
Tabelle 5: Auflistung der getesteten Konsistenzgeber	33
Tabelle 6: Auflistung der getesteten Emulgatoren	34
Tabelle 7: Auflistung der getesteten Emollientien	35
Tabelle 8: Auflistung der getesteten Fettsäuren	36
Tabelle 9: Auflistung der getesteten Formulierungen	36
Tabelle 10: Verwendete Keimspezies	36
Tabelle 11: Kultivierungsbedingungen der Bakterien	38
Tabelle 12: Kultivierungsbedingungen der Hefepilze	38
Tabelle 13: Konzentrationen der Teststoffe für die Wachstumsversuche der Hefepilze	39
Tabelle 14: Zusammensetzung des CASO-Agars	40
Tabelle 15: Zusammensetzung des Columbia-Blutagars	40
Tabelle 16: Zusammensetzung des Mitis Salivarius Agars	41
Tabelle 17: Zusammensetzung des Propioni-Agars	41
Tabelle 18: Zusammensetzung des Dixon-Agars	41
Tabelle 19: Zusammensetzung des Selektivagars für pathogene Pilze	42
Tabelle 20: Zusammenfassung der wichtigsten Parameter für die HPTLC-Analyse	46
Tabelle 21: Zusammensetzung des CASO-Mangelagars	53
Tabelle 22: Zusammensetzung des Agars 92	55
Tabelle 23: Zusammensetzung des CASO-Bouillons	55
Tabelle 24: Zusammensetzung des selbst zusammengestellten Mitis-Mangelagars (MMA)	57
Tabelle 25: Zusammensetzung des Propioni-Mangelagars	63
Tabelle 26: Versuchsauswertung zur Zweiphasen-Extraktion	72
Tabelle 27: Versuchsauswertung zur Filtration	73
Tabelle 28: Auswertung des angepassten Filtrationsversuches	74
Tabelle 29: Abschwemmen mittels NaCl-Lösung	75
Tabelle 30: Auswertung verschiedener Emulgator-Kombinationen	76
Tabelle 31: Beispielhafte statistische Überprüfung des entwickelten Testsystems	78
Tabelle 32: Auswertung des Konservierungsmittels Butylenglykol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	81
Tabelle 33: Auswertung des Konservierungsmittels Caprylylglykol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	82
Tabelle 34: Auswertung des Konservierungsmittels Ethanol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	83
Tabelle 35: Auswertung des Konservierungsmittels Pentylenglykol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	84
Tabelle 36: Auswertung des Konservierungsmittels Propylenglykol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	85
Tabelle 37: Auswertung des natürlichen Wachses Bienenwachs (Cera alba) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	86
Tabelle 38: Auswertung des natürlichen Wachses Carnaubawachs mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	87
Tabelle 39: Auswertung des Fettalkohols Cetylstearylalkohol (Lanette O) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	87
Tabelle 40: Auswertung des synthetischen Esters Cetyl palmitate mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	88
Tabelle 41: Auswertung des Gelbildners Acrylamid (Sepineo P600) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	90

Tabelle 42: Auswertung des Gelbildners Carmellose-Natrium 7MF mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	91
Tabelle 43: Auswertung des Gelbildners Hydroxyethyl acrylate (Sepinov WEO) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	91
Tabelle 44: Auswertung des Gelbildners Hydroxyethyl cellulose (Cellosize PCG-10) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	92
Tabelle 45: Auswertung des Gelbildners Polyacrylsäure (Carbomer/Carbopol 980) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	92
Tabelle 46: Auswertung des Gelbildners Xanthan mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	93
Tabelle 47: Auswertung des natürlichen Emulgators Wollwachs mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	97
Tabelle 48: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Glyceryl oleate (Tegin OV) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	98
Tabelle 49: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Glyceryl stearate mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	99
Tabelle 50: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Methyl glucose isostearate (Isolan IS) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB.....	99
Tabelle 51: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters PEG-7 Glyceryl cocoate (Tegosoft GC) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB.....	100
Tabelle 52: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Polyglyceryl-3 caprate (Tegosoft PC 31) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	100
Tabelle 53: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Polyglyceryl-3 oleate (Isolan GO 33) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	101
Tabelle 54: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Span 80 mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	101
Tabelle 55: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Sucrose stearate (Surfhope 1803F) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	102
Tabelle 56: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Macrogol-40-Glycerylhydroxystearat (Cremophor RH 40) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	106
Tabelle 57: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters PEG-40 hydrogenated castor oil (Tagat CH 40) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB.....	107
Tabelle 58: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters PEG-40 stearate (Tego Acid S 40 P) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB.....	107
Tabelle 59: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	108
Tabelle 60: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Sucrose palmitate (Surfhope 1615) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB.....	108
Tabelle 61: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Tween 40 (Polysorbat 40) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	109
Tabelle 62: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Tween 80 (Polysorbat 80) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	109
Tabelle 63: Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Ceteth-25 (Cetareth-25) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	114
Tabelle 64: Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Laureth-20 mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	114
Tabelle 65: Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Oleth-20 (Chemonix OE-20) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	115
Tabelle 66: Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Steareth-20 (Lipocol S-20) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	115
Tabelle 67: Auswertung des Polymers Cetyl PEG (PPG-10/Dimethicon/Abil EM 90) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	118
Tabelle 68: Auswertung des Polymers Poloxamer 407 mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB	118

Tabelle 69: Auswertung des Lösungsvermittlers PEG-300 (Kolliphor P407) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB.....	120
Tabelle 70: Auswertung des Lösungsvermittlers PEG-350 (PEG-6) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB.....	120
Tabelle 71: Auswertung des Lösungsvermittlers PEG-550 (PEG-6 methyl ether) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB.....	121
Tabelle 72: Auswertung des natürlichen Emollients Avocadoöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	123
Tabelle 73: Auswertung des natürlichen Emollients Erdnussöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	124
Tabelle 74: Auswertung des natürlichen Emollients Jojobaöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	124
Tabelle 75: Auswertung des natürlichen Emollients Leinöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	125
Tabelle 76: Auswertung des natürlichen Emollients Mandelöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	125
Tabelle 77: Auswertung des natürlichen Emollients Nachtkerzenöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	126
Tabelle 78: Auswertung des natürlichen Emollients Olivenöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	126
Tabelle 79: Auswertung des natürlichen Emollients Rapsöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	127
Tabelle 80: Auswertung des natürlichen Emollients Rizinusöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	127
Tabelle 81: Auswertung des natürlichen Emollients Sesamöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	128
Tabelle 82: Auswertung des natürlichen Emollients Sojaöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	128
Tabelle 83: Auswertung des natürlichen Emollients Traubenkernöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	129
Tabelle 84: Auswertung des natürlichen Emollients Weizenkeimöl mit Vergleich der experimentellen KZB.....	129
Tabelle 85: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit Vergleich der experimentellen KZB.....	133
Tabelle 86: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Cetearyl isononanoate (Cetiol SN) mit Vergleich der experimentellen KZB.....	133
Tabelle 87: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Cococaprylate/Cetiol LC) mit Vergleich der experimentellen KZB.....	134
Tabelle 88: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Kollicream DO) mit Vergleich der experimentellen KZB.....	134
Tabelle 89: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Ethyl linoleate mit Vergleich der experimentellen KZB.....	135
Tabelle 90: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Ethyl oleate (Acros 98 %) mit Vergleich der experimentellen KZB.....	135
Tabelle 91: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Ethyl oleate (Crodamol EQ-LQ) mit Vergleich der experimentellen KZB.....	135
Tabelle 92: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Isopropyl myristate mit Vergleich der experimentellen KZB.....	136
Tabelle 93: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Isopropyl palmitate mit Vergleich der experimentellen KZB.....	136
Tabelle 94: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Octyldodecanol (Eutanol G) mit Vergleich der experimentellen KZB.....	137
Tabelle 95: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit Vergleich der experimentellen KZB.....	137
Tabelle 96: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Cyclopentasiloxan (Abil OSW5) mit Vergleich der experimentellen KZB.....	141

Tabelle 97: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Dimethicon (Abil 350) mit Vergleich der experimentellen KZB	142
Tabelle 98: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Dimethicon 100 (Silikonöl) mit Vergleich der experimentellen KZB	142
Tabelle 99: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Dimethicon 350 (Silikonöl) mit Vergleich der experimentellen KZB	143
Tabelle 100: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Paraffin (dickflüssig) mit Vergleich der experimentellen KZB	143
Tabelle 101: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Squalan (Sigma) mit Vergleich der experimentellen KZB	143
Tabelle 102: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Squalen 98 % (Alfa Aesar) mit Vergleich der experimentellen KZB	144
Tabelle 103: Auswertung der Fettsäure Caprinsäure mit Vergleich der experimentellen KZB	146
Tabelle 104: Auswertung der Fettsäure Ölsäure mit Vergleich der experimentellen KZB	146
Tabelle 105: Auswertung der Fettsäure Palmitinsäure mit Vergleich der experimentellen KZB	147
Tabelle 106: Auswertung der Formulierung 6.1 mit Vergleich der experimentellen KZB	148
Tabelle 107: Auswertung der Formulierung 6.2 mit Vergleich der experimentellen KZB	149
Tabelle 108: Auswertung der Formulierung 6.3 mit Vergleich der experimentellen KZB	149
Tabelle 109: Auswertung der Wachstumsversuche der Hefepilze	154
Tabelle 110: Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Wachstumsversuchen	176

Formelverzeichnis

(Formel 1: R_f -Wert).....	30
(Formel 2: Prüfgröße t).....	47
(Formel 3: Mittelwert).....	47
(Formel 4: Varianz).....	47
(Formel 5: Freiheitsgrad).....	48

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
ad.	aufgefüllt bis auf
Aqua dest.	destilliertes Wasser
Beurtlg.	Beurteilung
BTM	Biotrockenmasse
bzw.	beziehungsweise
Cor./Coryne.	Corynebacterium
ca.	circa
CASO	Casein-Soja-(Pepton)
CBA	Columbia Blood Agar
CBS	Centraalbureau voor Schimmelcultures
cm	Centimeter
Cm	<i>Corynebacterium minutissimum</i>
d	Tag
dest.	destilliert
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH Braunschweig
EBA	eigener Blut Agar
engl.	englisch
epi.	epidermidis
experim.	experimentelle
g	Gramm
galli.	gallinarum
h	Stunde
H ₀	Nullhypothese
H ₁	Alternativhypothese
HPTLC	Hochleistungsdünnschichtchromatographie
KBE	Koloniebildende Einheiten
kg	Kilogramm
Konz.	Konzentration
KZ	Keimzahl
KZB	Keimzahlbestimmung
l	Liter
lat.	Latein
m ²	Quadratmeter

M.	Malassezia
Mf	<i>Malassezia furfur</i>
Mg	<i>Malassezia globosa</i>
minut.	minutissimum
ml	Milliliter
mm	Millimeter
Ms	<i>Malassezia sympodialis</i>
MSA	Mitis-Salivarius-Agar
MW	Arithmetischer Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
n	Anzahl der Versuchsreihen
n.b.	nicht bezeichnet
nl	Nanoliter
nm	Nanometer
n.m.	nicht messbar
Nr.	Nummer
OD	optische Dichte
Pa	<i>Propionibacterium acnes</i>
Prop.	Propionibacterium
R ²	Bestimmtheitsmaß
Rf-Wert	Retentionsfaktor
rpm	Umdrehungen pro Minute
s.	siehe
SD	Standardabweichung
Se	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Sg	<i>Staphylococcus gallinarum</i>
Staph.	Staphylococcus
Strep.	Streptococcus
UV-Vis	Molekularspektroskopie, welche ultraviolette und sichtbares Licht nutzt
µl	Mikroliter
ü. N.	über Nacht
V	Volumen
vgl.	vergleiche
z. B.	zum Beispiel
ZK	Zählkammer

1 Einleitung

In der heutigen Gesellschaft hat ein hygienisches und kosmetisch gepflegtes Äußeres einen hohen Stellenwert; dies spiegelt sich nicht nur in Bestand und Entwicklung der Marktanteile an Kosmetik- und Körperpflege-Produkten wieder [1], sondern kann auch in den sozialen Medien beobachtet werden. Durch die Applikation von kosmetischen oder medizinischen Produkten soll die Haut dem bestehenden Idealbild angepasst und die natürliche Schutzfunktion der Haut unterstützt werden. Alle frei verkäuflichen Kosmetika und Pflegeprodukte unterliegen der EU-Kosmetikverordnung (EG Nr. 1223/2009) und müssen somit einen Nachweis bezüglich ihrer Unbedenklichkeit besitzen. Die Formulierungen werden zwar permanent hinsichtlich ihrer Wirkstoffe optimiert, es existiert jedoch kein allgemein anerkannter Test zur Beurteilung, ob die eingesetzten Hilfsstoffe der gewünschten Wirkung abträglich sind. Zunehmend werden Produkte mit den Zusätzen „verträglich für die Mikroflora“ oder Ähnlichem beworben [2]. Auch wenn diese Entwicklung prinzipiell zu begrüßen ist, fehlen einheitliche Kriterien zur Bewertung des Einflusses auf die Hautkeime.

Die menschliche Haut ist mit einer Vielzahl von Mikroorganismen besiedelt; diese Flora aus Bakterien und Pilzen wird auch als Hautmikrobiom bezeichnet. Bis zu seiner Geburt ist der Mensch nahezu keimfrei, die spätere Hautflora entwickelt sich erst nach der Geburt durch Hautkontakt und Anflugkeime. Zwar ist das Mikrobiom über die gesamte Hautoberfläche verteilt, die Keimzahl und Spezies variiert aber je nach Region [3]. Die Symbiose unserer Haut mit den sie besiedelnden Keimen ist unerlässlich für ihre thermische, biologische und mechanische Schutzwirkung und nimmt somit großen Einfluss auf unseren Gesundheitszustand [4]. Wenn das biologische Gleichgewicht gestört ist, beispielweise durch eine selektive Hemmung oder Förderung des Wachstums einzelner Hautkeime, können virulente Keime aus der Umgebung ihre pathogene Wirkung entfalten. Eine solche Dysregulation ist für die Entstehung der verbreiteten Hauterkrankungen maßgeblich [5, 6] und auch fakultativ pathogene Keime des physiologischen Mikrobioms sind daran beteiligt.

Neben einer individuellen Disposition spielen weitere Kofaktoren eine Rolle bei Entstehung, Manifestation und Verlauf der Erkrankungen. Eine vermutete Schlüsselrolle kommt der Provokation durch äußerlich angewandte Kosmetika zu, doch die zugrunde liegenden Mechanismen sind noch nicht verstanden. Viele Hauterkrankungen, wie beispielsweise Akne vulgaris oder periorale Dermatitis, sind weit verbreitet, schwer therapierbar und durch Mikroorganismen verursacht [7, 8]. Durch die Verstoffwechslung von auf der Haut aufgetragenen Substanzen können entzündungsfördernde oder komedogene Spaltprodukte entstehen, welche die ursprünglichen Symptome verstärken und die Funktion der applizierten

Wirkstoffe herabsetzen oder aufheben. Topisch oder systemisch eingesetzte Antibiotika und Antimykotika bringen nur eine kurzfristige Senkung des Leidensdruckes. Resistenzbildung und eine Verschlimmerung durch den Griff zu Camouflage sind oft die Folge. Alternative Ansätze zur Vermeidung, Vorbeugung und positiver Beeinflussung des Verlaufes sowie Patienten- und Verbraucheraufklärung sind gefragt.

Bekannt ist, dass die meisten Erkrankungen am ehesten in talgdrüsenreichen Areale [7] auftreten. Eben dort leben die Malassezia-Hefen und ernähren sich mittels Fett spaltender Exoenzyme,[8, 9] von den Hautfetten. Ein Einfluss bestimmter Fette auf Malassezia ist bereits bekannt [10] und neben Wasser sind Fette und Öle Hauptbestandteile der gängigen Hautpflegeprodukte. Durch die Spaltung von Fettsäuremonoestern können hochgradig komedogene (porenverstopfende, pickelverursachende) [11] freie Fettsäuren wie Stearin- und Palmitinsäure entstehen, welche im Talgdrüsenfollikel ausfallen und Entzündungsreaktionen verursachen. Unbekannt ist allerdings das Ausmaß der Beteiligung der bakteriellen Mikroorganismen an den entsprechenden Stoffwechselfvorgängen.

2 Zielsetzung

Hintergrund der vorliegenden Arbeit ist ein Mangel an Informationen zu dem Einfluss von in Kosmetikprodukten verwendeten Hilfsstoffen auf weit verbreitete Krankheiten der Haut. Insbesondere fehlt ein Verzeichnis nachweislich unbedenklicher Stoffe bzw. ein Testverfahren zum Überprüfen bereits vorhandener Produkte.

Bei bestimmten Erkrankungen wie Akne, Rosacea, perioraler Dermatitis, Pityriasis versicolor oder dem atopischen bzw. seborrhoischen Ekzem sind neben der individuellen Disposition auch Kofaktoren wie psychische Belastungen oder der Zustand des Mikrobioms zu beachten. Die zur Überdeckung der Hautmale genutzten Kosmetika können durch ihre Inhaltsstoffe wiederum die unerwünschten Symptome verstärken.

Die FDA (Food and Drug Administration) publiziert regelmäßig Übersichten über die am häufigsten verwendeten und freiverkäuflichen Öle; dies war die Grundlage für eine erste Auswahl der zu testenden Substanzen. Bei der anschließenden Zusammenstellung der Substanzen wurde insbesondere die Verwendung in Kosmetika berücksichtigt und aus den drei Gruppen mit dem mengenmäßig größten Anteil 30 Öle/Emollientien, 15 Konsistenzgeber, 20 Emulgatoren und 5 Konservierungsmittel ausgewählt.

Von den wichtigsten Vertretern der Hautflora wurden diejenigen Vertreter aus Bakterien und Hefen ausgewählt, welche jeweils über 90 % des Hautmikrobioms ausmachen. Diese beinhalten auch fakultativ pathogene Keime von weit verbreiteten Hauterkrankungen, welche die entsprechenden Symptome manifestieren oder die Pathogenese negativ beeinflussen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, ein Test- bzw. Screeningverfahren mit objektiv messbaren Parametern zu entwickeln, etablieren und verifizieren. Dieses soll innerhalb weniger Tage zeigen, ob ein einzelner Stoff oder ein fertiges Präparat das Wachstum von Mikroorganismen positiv oder negativ beeinflusst und so das Gleichgewicht der Hautmikroflora verschiebt.

Konkret soll eine Testung von flüssigen, halbfesten und festen Bestandteilen in vitro und unter Laborbedingungen möglich sein. Der jeweilige Stoff wird mit den einzelnen Spezies inkubiert und die metabolische Aktivität anhand des Keimwachstums und entstehender Spaltprodukte ausgewertet. So können einzelne chemische Strukturen anhand objektiver Parameter und statistischer Signifikanz als spaltbar (und somit problematisch) oder inert (und somit unproblematisch) ausgewiesen werden. Abschließend erfolgt die Validierung des Testsystems mittels einer entwickelten Basisrezeptur, welche ausschließlich unbedenkliche Hilfsstoffe enthält.

Auf Basis dieser Arbeit kann eine Empfehlung an entsprechende Hersteller zur Adaption der Rezepturen durch den Austausch einzelner Stoffe erfolgen und eine Unbedenklichkeit für Endverbraucher ausgesprochen werden.

3 Grundlagen

3.1 Anatomie der Haut

Die Haut (lat. Cutis) bedeckt mit einer Gesamtfläche von bis zu 2 m² als größtes menschliches Organ die gesamte äußere Silhouette. Sie erfüllt neben der Abgrenzung zur Umwelt und dem rein mechanischen Schutz noch zahlreiche weitere lebenswichtige Funktionen. Ihre Regenerationsfähigkeit ist maßgeblich für die Widerstandsfähigkeit gegen UV-Strahlen oder chemische und andere toxische Substanzen. Durch Sonneneinstrahlung ist unsere Haut in der Lage, Vitamin D zu synthetisieren, über die Sekretion von Schweiß und den Grad der Durchblutung wird die Thermoregulation ermöglicht und als äußerste Barriere bietet sie Schutz vor Dehydrierung [7].

Nicht nur die mikrobielle Besiedelung beeinflusst unser Immunsystem, auch die in der Epidermis eingebetteten Langerhans-Zellen tragen über Phagozytose und die Präsentation von Antigenen zur Funktion unserer körpereigenen Abwehr bei. Durch den Anschluss an das Nervensystem bietet uns die Haut die Möglichkeit zur taktilen Wahrnehmung unserer Umgebung und psychosozialen Kommunikation. Der normalerweise saure pH-Wert zwischen 5,2 – 5,8 [12] hemmt das Wachstum von pathogenen Mikroorganismen und verhindert eine überschießende Vermehrung von symbiontischen Keimen [13]. Um diesen schützenden Säure-Lipid-Mantel aufrechtzuerhalten, werden über Schweiß und Talg auch Fett- und Aminosäuren sowie Milchsäure ausgeschieden [14, 15]. Diese regulieren ebenfalls die Aufschuppung der Haut und begünstigen die pH-abhängige Erzeugung intrazellulärer Lipide [14, 16].

Grob kann man die exogene menschliche Haut aufgrund ihres Aussehens in zwei Arten unterteilen. Die Felderhaut bedeckt mit ihrem rhombischen Aufbau, in welchem Haarfollikel und Schweißdrüsen eingebettet sind, einen Großteil der Körperoberfläche. An den Körperöffnungen geht sie in die Schleimhäute über. Im Gegensatz dazu hat die Leistenhaut einen parallel gefurchten Aufbau, ist haarlos und findet sich ausschließlich an Handflächen bzw. Fußsohlen [17].

In der folgenden Abbildung ist der schematische Aufbau der Haut dargestellt. Zu erkennen ist eine Dreischichtung mit jeweils charakteristischen Merkmalen.

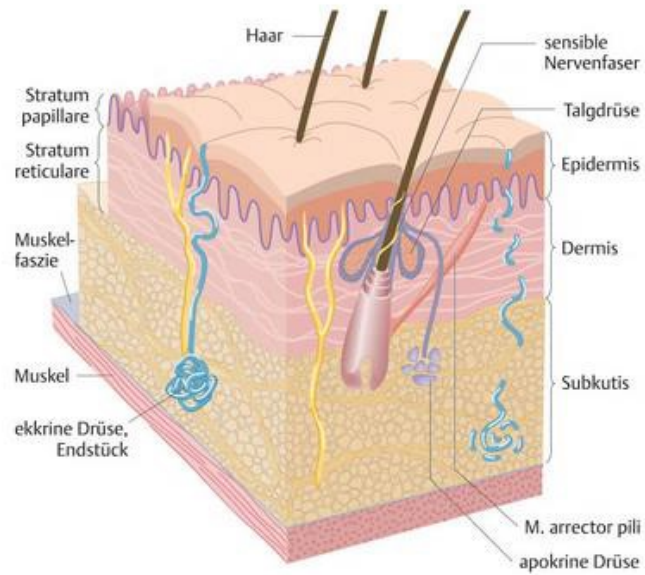


Abbildung 1: Schematischer Aufbau der menschlichen Haut [5]

Die Epidermis als äußerste Schicht ist durch ihre Basalmembran eng mit der Dermis verbunden und besteht aus verhornendem mehrschichtigem Plattenepithel. Im stratum basale werden die Keratinozyten gebildet und reifen im Verlauf ihres Weges durch die einzelnen Zellschichten zur Oberfläche hinweg in 3-4 Wochen heran. Nach stratum spinosum (Stachelzellschicht) und granulosum (Körnerschicht) folgt als äußerer Abschluss das stratum corneum. Die Keratinozyten sind hier ausgereift, sterben ab und verhornen zu einer festen Barriere. Diese Hornschicht variiert je nach Beanspruchung in ihrer Dicke, was insbesondere an Handflächen und Fußsohlen deutlich wird. So ist ein individuell angepasster Schutz vor mechanischer Einwirkung möglich.

Die Dermis oder Lederhaut ist durch ein Geflecht aus Fibroblasten sowohl reißfest als auch elastisch. Sie stabilisiert und ernährt die darüber liegende Epidermis und ist selbst noch einmal in zwei Schichten unterteilt. Oberflächlich liegt die Papillaris, welche über einen zapfenartigen Übergang mit der Dermis verzahnt ist. Die darunter liegende Retikularis beinhaltet Blutgefäße, Schweiß- und Talgdrüsen, sensomotorische Nervenfasern und die fest verankerten Haarwurzeln.

Als innerste Lage dient die Subcutis, auch Unterhaut genannt, mit ihrer Fettschicht dem Wärmeerhalt und wirkt als Energiespeicher. Sie definiert maßgeblich unsere äußere Silhouette und bettet die in die Dermis einsproßenden Strukturen ein [4].

3.2 Physiologische Hautflora

Für die auf der menschlichen Haut lebenden Mikroorganismen ist das Wort 'Flora' eigentlich der falsche Begriff; dieser stammt noch aus Zeiten, in welchen diese der Pflanzenwelt zugesprochen wurden. Obwohl die damalige Lehrmeinung mittlerweile überholt ist, hat sich der Begriff durchgesetzt und ist im allgemeinen Sprachgebrauch üblich. Auch die Schleimhäute in unserem Körperinneren sind mit Keimen besiedelt, deren Zusammensetzung unterscheidet sich allerdings von den hier Beschriebenen. Die folgende Abbildung zeigt die verschiedenen Lebensräume und deren Besiedelung auf.

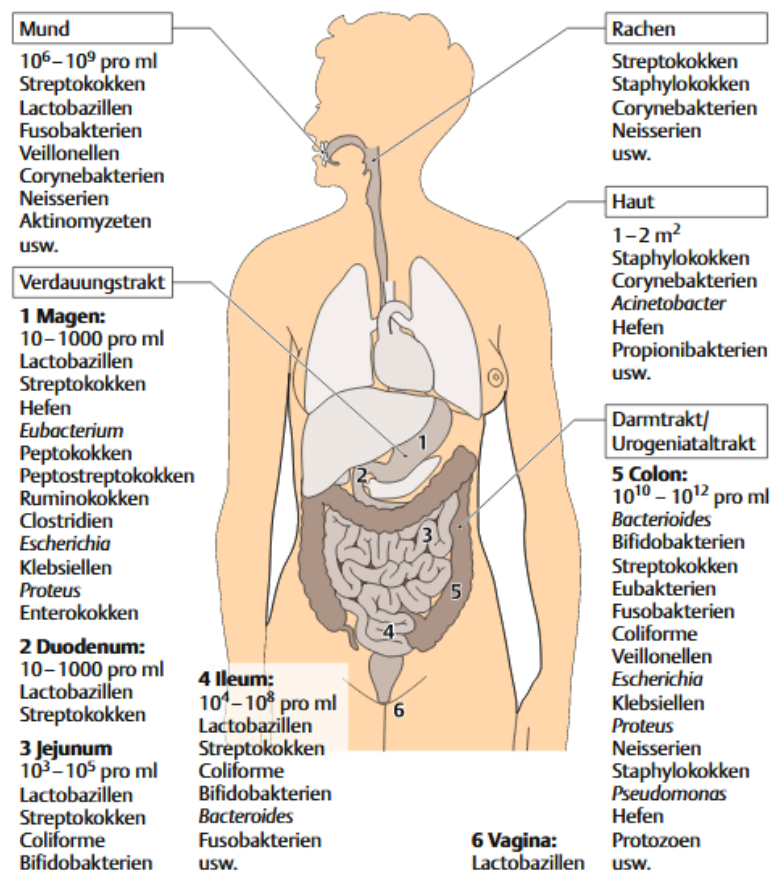


Abbildung 2: Lebensräume von Mikroorganismen [18]

Von ihrem Lebensraum in der epidermalen Hornschicht und den Ausführungsgängen der Schweiß- und Talgdrüsen bzw. Haarfollikel werden die Organismen durch die natürlichen Regenerationsprozesse an die Oberfläche befördert und vermehren sich dort weiter [6]. Die geschlossene Hautbarriere der Basalschicht sorgt dafür, dass die Keime der Hautflora in ihrem physiologischen Lebensraum bleiben und nicht ins Körperinnere verschleppt werden. Die normal kommensalen (also nicht pathogenen) Organismen würden hier eine pathogene Wirkung entfalten, was auch im Rahmen von Wundinfektionen regelmäßig beobachtet wird [6, 19]. Was ist also der Nutzen dieser für uns potenziell gefährlichen Besiedelung, wenn schon

eine kleine Verletzung der Barriere weitreichende Folgen haben kann? Die Bakterien und Hefepilze leben nicht nur als Kommensale, sondern erfüllen auch eine symbiontische Funktion. Durch ihr Vorhandensein werden potenziell wesentlich stärker pathogene Keime an der Besiedelung und dem Eindringen in unseren Körper gehindert. Die Zusammensetzung der Mikroflora ist nicht einheitlich und variiert im zeitlichen Verlauf stark.

Diese residente Flora, auch Standardflora genannt, besteht hauptsächlich aus Staphylokokken, Corynebakterien, Enterokokken, Streptokokken, Propionibakterien und Hefepilzen. Die Bakterien machen mit einer Dichte von 10^2 bis 10^4 pro cm^2 einen wesentlich größeren Anteil als die Pilze aus [20]. All diese Keime leben permanent und im symbiontischen Gleichgewicht auf unserer Haut, können bei einer geschädigten Haut aber dennoch Irritationen und Infektionen hervorrufen [21].

Zur transienten oder Anflugflora werden Mikroorganismen gezählt, welche durch direkten Kontakt oder Übertragung durch die Luft auf die menschliche Haut gelangen und dort für gewöhnlich nur kurz verweilen [22]. Wird ihnen durch eine geschädigte Hautmikroflora eine Vermehrung ermöglicht, können sie zu dermatologischen Krankheitsbildern führen [23].

Die temporär residente Flora enthält Spezies, welche sich unter bestimmten Bedingungen für längere Zeit auf der Haut ansiedeln können, ohne Symptome hervorzurufen. Diese fakultativ pathogenen Keime, wie beispielsweise *Staphylococcus aureus* oder bestimmte Streptokokkenarten sind normalerweise durch das Gleichgewicht der anderen Spezies apathogen. Bei einer herabgesetzten Barrierefunktion können sie allerdings als Auslöser von Hauterkrankungen fungieren [10].

Die genaue Zusammensetzung der Besiedelung ist unter anderem abhängig von Alter, Geschlecht, Hauttyp, Körperregion, Nutzung von Kosmetika, persönlicher Körperhygiene oder Temperatur und Luftfeuchtigkeit der Umgebung [18, 24]. Aber auch medizinische Faktoren wie Krebs, Diabetes, HIV, Alkoholabhängigkeit oder die eingenommene Medikation können eine Rolle spielen [19, 25, 26]. Nach der Geburt siedeln sich zunächst Staphylokokken aus dem Geburtskanal an, im Laufe des Kleinkindalters kommen vermehrt Mikrokokken, Streptokokken und Hefepilze hinzu [27, 28]. Durch die erhöhte Aktivität der Talgdrüsen und die sich entwickelnde Körperbehaarung finden zunehmend lipophile Coryne- und Propionibakterien einen attraktiven Lebensraum. Auch der Hormonhaushalt scheint einen Einfluss zu haben; Männer besitzen deutlich mehr Keime mit anderer Zusammensetzung der Spezies als Frauen, ein möglicher Grund hierfür ist der allgemein höhere pH-Wert weiblicher Haut [29]. Die Art und Besiedlungsdichte ist auch je nach Hautbeschaffenheit unterschiedlich, lipophile Keime wie Coryne- oder Propionibakterien finden sich vor allem auf talgreichen Partien wie Augenbrauen, Nasenflügeln, Brust- und Rückenbereich in hoher Anzahl. Die fakultativ-anaeroben Staphylokokken besiedeln hingegen bevorzugt feuchte und talgarme Regionen wie

Ellenbeugen, Kniekehlen, Gesäßfalte oder Fersen. Wie Abbildung 3 zu entnehmen ist, findet sich die größte Vielfalt der Bakterienspezies an den trockenen Arealen.

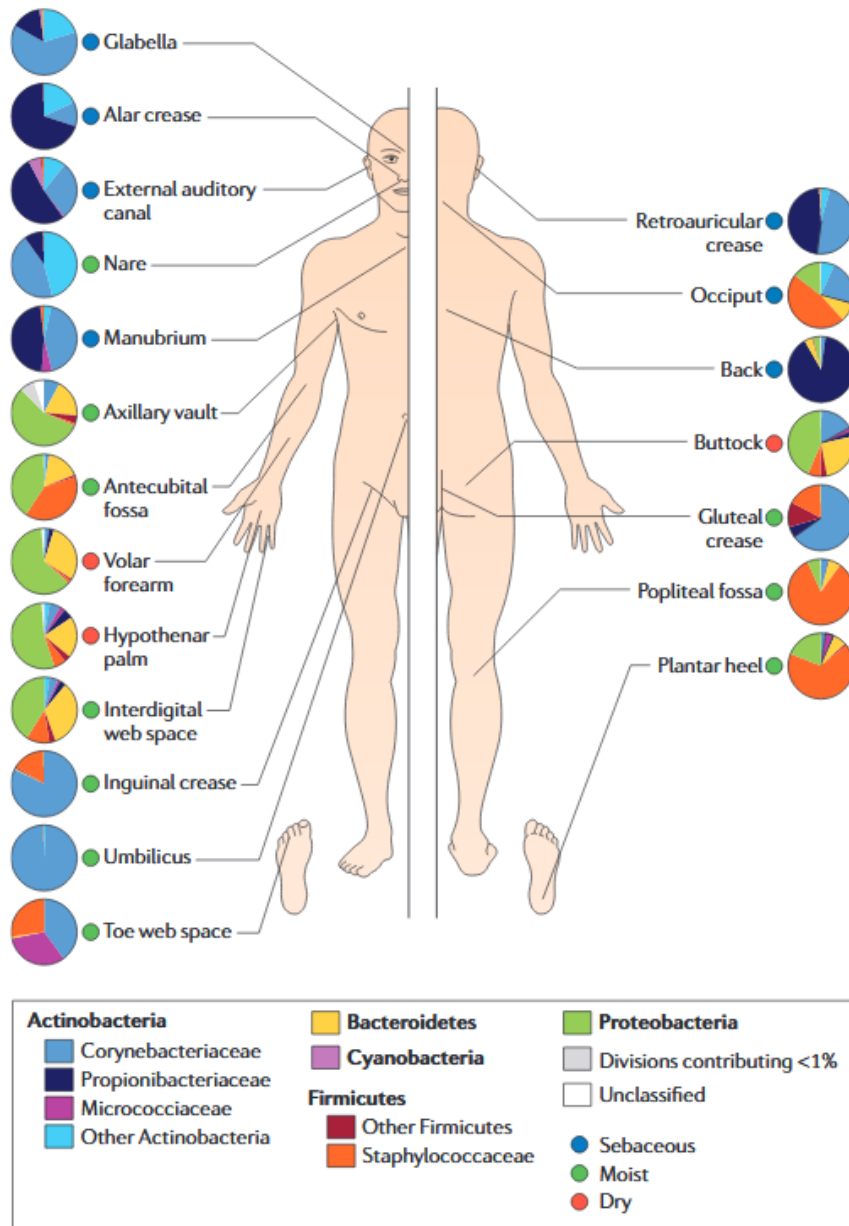


Abbildung 3: Zusammensetzung der Hautmikroflora verschiedener Körperregionen [30]

Durch angewandte Pflegeprodukte oder Verhaltensweisen können diese Lebensräume beeinflusst werden; häufiges Waschen trocknet die entsprechenden Hautflächen aus, bestimmte Kleidung oder Übergewicht erzeugt vermehrt Feuchtigkeit in Hautfalten und Cremes bzw. das Abdecken mit Folien erhöht die Feuchte. *Staphylococcus aureus* bevorzugt beispielsweise eher trockene Regionen [29] und Bereiche wie Hände oder Gesicht, welche vermehrt durch chemische Produkte beeinflusst werden. Diese sind besonders oft von Störungen betroffen [26].

Auch durch die Menge und Zusammensetzung der aufgenommenen Nahrung, die Dicke der Hornschicht und das vorhandene Nährstoffangebot wird Einfluss auf die Mikroflora genommen. Weiterhin ist der vorherrschende pH-Wert als wichtiger Faktor der Regulation zu nennen. Ein Großteil der Bakterien bevorzugt einen pH-Wert >5 , daher produzieren residente Keime wie *Corynebacterium minutissimum*, *Propionibacterium acnes* oder *Staphylococcus epidermidis* Esterasen und Lipasen, welche Triglyceride zu freien Fettsäuren spalten und so für eine Ansäuerung der Haut sorgen. Ein niedriger pH-Wert erschwert die Kolonisation von pathogenen Organismen [25, 26].

Durch die Lipasenaktivität einzelner Spezies wird indirekt auch die Anzahl an Keimen reguliert. Bei saurem pH-Wert sinkt die Aktivität der Lipasen, in alkalischem Milieu wird eine verstärkte Aktivität registriert – dies führt wiederum zu mehr Stoffwechselprodukten wie Milch- oder Fettsäuren und einem wieder sinkenden pH-Wert [29]. Stoffwechselbedingte Virulenzfaktoren wie Koagulasen, Lipasen und Zytotoxine spielen eine entscheidende Rolle bei der Disposition entzündlicher Hauterkrankungen und Infektionen [31], die genauen Regulationswege und deren Bedeutung sind allerdings noch immer nicht vollständig erforscht. Schon einmaliges Waschen alkalisiert die Haut und nimmt so einen nicht unerheblichen Einfluss auf die natürlichen Regulationswege, erst nach Stunden findet eine langsame Regeneration statt [29]. Auch bei Dermatitiden wie der atopische Dermatitis wird ein höherer pH-Wert als bei gesunder Haut registriert [32]. Abbildung 4 verdeutlicht den Zusammenhang dieser Aspekte nochmals.

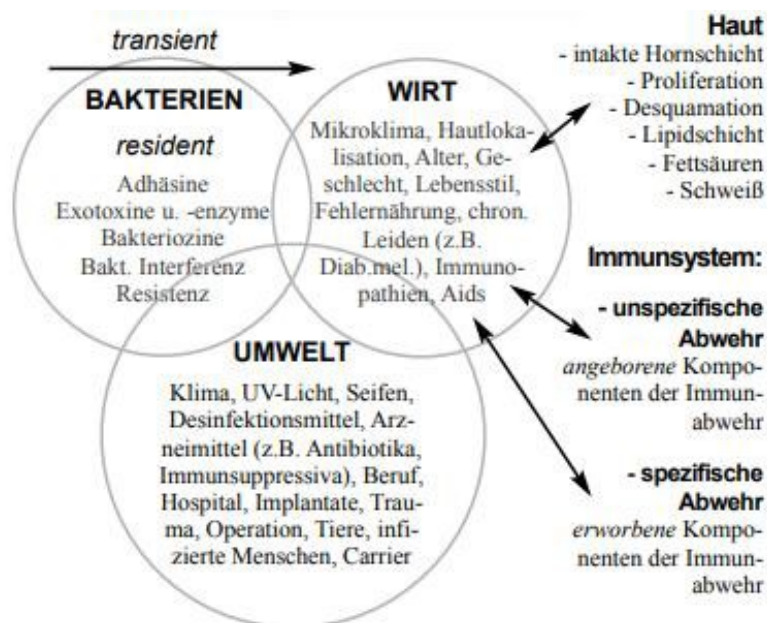


Abbildung 4: Einfluss von inneren und äußeren Faktoren auf die Hautbarriere [29]

3.2.1 Leitkeime

3.2.1.1 *Staphylococcus epidermidis*

Staphylokokken finden sich prinzipiell auf Haut, Schleimhäuten und den aeroben Teilen der Haardrüsenfollikel zahlreicher Säugetiere und sind als opportunistische, humanpathogene Keime weit verbreitet [33].

Staphylococcus epidermidis ist der häufigste Vertreter aus der Gattung der Staphylokokken auf dem menschlichen Epithel und den Schleimhäuten. Besonders zahlreich ist er auf Händen und Gesicht, sowie in Achseln und Nasenhöhlen nachweisbar [34, 35]. Als Koagulase-negativer Keim [36, 37], mit der Fähigkeit zur Ausbildung von Biofilmen [16], weist er eine hohe Widerstandskraft gegen äußere Einflüsse auf. Zahlreiche Zellmembrantransporter ermöglichen zudem ein Tolerieren hoher osmotischer Drücke [38]. Wechselnd als Kommensaler oder Symbiont bezeichnet, ernährt er sich von Rückständen auf der Hautoberfläche, ohne dabei dem Wirt zu schaden.

Es sind zahlreiche Exoenzyme verschiedener Staphylokokkenarten mit der Fähigkeit zum Hydrolysieren von Lipidemulsionen bekannt. Vermutet wird auch ein Zusammenhang des bakteriellen Fettstoffwechsels mit pathogenen Prozessen, die genauen Regulationswege sind allerdings weitestgehend unerforscht. Es wird ein Maximum der Synthese von Lipasen in der stationären Phase der Vermehrung vermutet [39].

Staphylococcus epidermidis besitzt die Fähigkeit zur Fermentierung von Glycerin und es wurde in der Folge die Bildung von Inhibitionszonen beobachtet [16]. Als fakultativ pathogener Keim gilt *Staphylococcus epidermidis* als häufiger Auslöser bei fremdkörperassoziierten Infektionen [40] und es werden Zusammenhänge bei der Entstehung von Rosacea vermutet [34].

3.2.1.2 *Staphylococcus gallinarum*

Für die Forschung wird *Staphylococcus gallinarum* hauptsächlich aus der Haut von Hühnern und anderem Geflügel isoliert, im menschlichen Körper kommt er meist im Speichel vor und siedelt sich auch vorübergehend auf der Hautoberfläche an. Als Koagulase-negatives Bakterium gilt er zwar als gering pathogen, wurde allerdings schon im Rahmen zahlreicher Erkrankungen gefunden. Beispiele dafür sind mit Fieber, Abdominalschmerzen und Übelkeit verbundene Krankheiten, sowie infizierte Augen und Wunden [41, 42].

Er produziert zudem das Antibiotikum Gallidermin, welches bakterizid gegen *Staphylococcus epidermidis* und *aureus* wirkt und gewinnt so einen Selektionsvorteil [43].

3.2.1.3 *Corynebacterium minutissimum*

Corynebacterium minutissimum ist ein grampositives pleomorphes Bakterium, was bedeutet, dass es in der Lage ist sein äußeres Erscheinungsbild an die Umgebungseinflüsse anzupassen. Durch die Anreicherung von Mykolsäure in der Zellwand wird eine erhöhte Resistenz gegen Lysozyme und Dehydrierung ermöglicht. Wirksame Möglichkeiten zur Abtötung von Corynebakterien sind Desinfektionsmittel oder Hitze, allerdings wurden auf zuvor durch bakteriotoxische Substanzen nahezu sterilisierten Hautflächen sehr starke Wachstumsraten beobachtet [44]. Corynebakterien produzieren weder Sporen noch Toxine und gelten daher als weitestgehend apathogen. Als aerober und fakultativ anaerober Kommensaler der menschlichen Körperoberfläche [29] ist *Corynebacterium minutissimum* als lipophiler Keime eine Ausnahme in den Reihen der für gewöhnlich aliphilen Corynebakterien. Hauptsächlich angesiedelt ist er in Bereichen mit einer erhöhten Talgproduktion wie dem Gesicht oder den Achselhöhlen und wird dort als hauptsächlicher Verursacher des menschlichen Schweißgeruches angesehen. Zudem siedelt er sich bevorzugt in Bereichen an, in welchen direkter Hautkontakt besteht, wie beispielsweise im Bereich von Hautfalten. Ein Zusammenhang mit verstärktem Wachstum dieses Keime und dem Vorhandensein von Fetten wurde bereits beschrieben [30].

Corynebakterien sind in der Lage Katalase, welche H_2O_2 zu H_2O und O_2 oxidiert, und Zytochrome zur Energiegewinnung zu nutzen. Zudem sind sie zum Abbau von Zuckern wie Saccharose, Fruktose, Maltose oder Glucose fähig und säuern mit den entstehenden Abbauprodukten die Hautoberfläche an [45].

Corynebakterien sind die Haupterreger des Erythrasmas, einer oberflächlichen Hautinfektion welche vorwiegend in Leiste und Achseln auftritt. Kofaktoren, die die Entstehung dieser Erkrankung begünstigen, sind Wärme und Feuchtigkeit, häufig ist sie mit anderen Erkrankungen wie Diabetes oder Adipositas assoziiert. Im Verlauf kommt es zum Anlösen des Keratins der oberen Hautschichten und dem Eindringen von Krankheitserregern in das Stratum corneum [29].

3.2.1.4 *Streptococcus mitis*

Streptococcus mitis ist ein kommensaler Keim aus dem menschlichen Mund- und Rachenraum, welcher sich auch gelegentlich auf der Hautoberfläche ansiedelt. Er wird daher zu den Oralstreptokokken gezählt und ist schon direkt nach der Geburt nachweisbar [13, 46, 47]. Er ist zur Bildung der Stärke und Glykogen spaltenden Amylase fähig und damit schon im Speichel an der Verdauung von Kohlenhydraten beteiligt [48].

Als prinzipiell apathogener Keim mit alpha-hämolytischer Aktivität, also der Fähigkeit der Reduktion von Hämoglobin zu Biliverdin, wurde er auch schon als beteiligter Keim im Rahmen

von septischen und endokarditischen Vorgängen identifiziert. Besonders bei immunsupprimierten Patienten wurde in den letzten Jahren eine Zunahme an assoziierten Erkrankungen beobachtet. Einige Stämme sind sogar zur Bildung von IgA1-Proteasen fähig, was ihnen zumindest eine teilweise Resistenz gegenüber Antikörpern ermöglicht [47].

3.2.1.5 *Propionibacterium acnes*

Das grampositive *Propionibacterium acnes* ist die dominante anaerobe Form auf der menschlichen Haut und stark lipophil. Ein Zusammenhang mit verstärktem Wachstum dieses Keime und dem Vorhandensein von Fetten wurde bereits beschrieben [30]. Es bevorzugt einen pH-Wert von 6-7 und eine Umgebungstemperatur von 30-37°C. Da seine Reproduktionsrate zudem sehr sensibel auf den Einfluss von Sauerstoff reagiert, ist es hauptsächlich in den anaeroben Talgdrüsen der Haut angesiedelt. In diesen adnexartigen Strukturen findet es optimale Umgebungsbedingungen und füllt diese Nische perfekt aus [49, 50].

Zur Energiegewinnung erfolgt die Umwandlung von Triglyceriden zu Diglyceriden und freien Fettsäuren, die daraus resultierende Ansäuerung des Milieus führt zu einem verringerten Wachstum der Populationen anderer Mikroorganismen [14, 51]. Im Zuge der Stoffwechselforgänge kommt es außerdem zu einer Umwandlung von Glycerin zu Pyruvat, dabei kommt es unter anderem zu einer Reduktion von Pyruvat zu Propionat, welches das Salz der Propionsäure ist. Dieses und andere Stoffwechselprodukte hemmen die Ansiedelung von Schimmelpilzen und anderen Mikroorganismen.

Durch diese symbiotische Lebensweise erfolgt nicht nur eine Kontrolle von Keimpopulationen, die produzierten Diglyceride fungieren auch als Emulgator von Schweiß und Talg [52, 53].

In Bezug auf pathologische Vorgänge ist bekannt, dass *Propionibacterium acnes* in der Lage ist neutrophile Granulozyten und T-Lymphozyten als Komponenten des Immunsystems zu aktivieren. Die durch Lipasen ermöglichte Spaltung von mittelkettigen Triglyceriden erzeugt freie Fettsäuren, welche als Entzündungsmediatoren die Entstehung von Akneläsionen fördern [54]. Zudem wird bei operativen Eingriffen nahe der Achselhöhle auf eine sehr sorgfältige Desinfektion geachtet, da postoperative Infektionen durch Propionibakterien zu den häufigen Komplikationen zählen.

Von Propionibakterien gebildete Biofilme spielen zudem bei der folliculären Hyperkeratose eine Rolle. Durch die entstehende Matrix aus Glykokalix-Polymeren kommt es zu einer Erhöhung der Corneozytenzahl im Talgdrüseninfundibulum, was die Verhornung der Haut beschleunigt. Auch die entzündungsfördernden Eigenschaften von Stoffwechselkomponenten wie Lipasen und Proteasen begünstigen das Fortschreiten dieser Krankheit [29].

3.2.1.6 *Malassezia*-Hefen

Malassezia-Hefen zählen zu den Sproß- und Hefepilzen, mit einer Größe zwischen 1,5-8 µm und der Fähigkeit zur Hyphenbildung [55]. Im Gegensatz zu anderen Hefen ist die äußere Zellhülle sehr dick, bestehend aus einer mehrschichtigen Wand und einer Plasmamembran mit einem sehr hohem Lipidanteil von bis zu 15 % [56]. Beide Faktoren bewirken eine hohe Resistenz gegen osmotische oder mechanische Umwelteinflüsse [57].

Je nach Ihrer Genetik, Morphologie und Physiologie unterscheidet man 14 *Malassezia*-Arten: *Malassezia globosa*, *M. furfur*, *M. obtusa*, *M. sympodialis*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. dermatis*, *M. japonica*, *M. nana*, *M. yamatoensis*, *M. equina*, *M. caprae*, *M. cuniculi* und *M. pachydermatis* [58]. Außer *M. pachydermatis* sind alle Arten von der Verstoffwechslung langer Fettsäureketten abhängig.

Ein Einfluss lipophiler Stoffe auf *Malassezia*-Hefen ist bereits belegt, die genauen Mechanismen sind allerdings noch nicht ausreichend erforscht. Ein hoher Anteil an Fetten in Kosmetika kann das Wachstum der Hefepilze beeinflussen [59]. Diese Dermatophyten sind an der Pathogenese einiger Hauterkrankungen beteiligt und ernähren sich von langkettigen Fettsäuren, was insbesondere an der Ansiedelung in talgreichen Regionen zu erkennen ist. Sie stellen mengenmäßig einen großen Anteil der residenten Hautflora und es wurde bereits nachgewiesen, dass das Vorhandensein von *Malassezia* direkt mit der produzierten Menge Sebum korreliert [60].



**Malassezia
spp.**

*Abbildung 5: Verteilung der Malassezia-Hefen
schwarz: Sehr hohe Dichte, schraffiert: Mittlere Dichte [21]*

Weitere Einflussfaktoren auf die Dichte der Besiedelung sind der allgemeine Feuchtigkeitsgehalt der Haut, Alter, Geschlecht, ethnische Gruppe oder geographischer Standort [61]. Babys und Kleinkinder weisen nur eine geringe Kolonisierung mit *Malassezia* auf, mit der vermehrten Talgproduktion der Haut in der Pubertät steigt auch die Dichte der Hefepilze und erreicht ihren Höhepunkt zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr [62]. Im höheren Alter sinkt der Feuchtigkeitsgehalt der Haut und die Keimzahl nimmt wieder ab [63]. Wie in

Abbildung 6 dargestellt ist, besiedeln die Keime vornehmlich die oberen Schichten des Stratum corneum und das Akroinfundibulum der Talgdrüsen [64]. Auf gesunder Haut sind die am häufigsten vorkommenden Arten *M. sympodialis*, *M. globosa* und *M. restricta* [65].

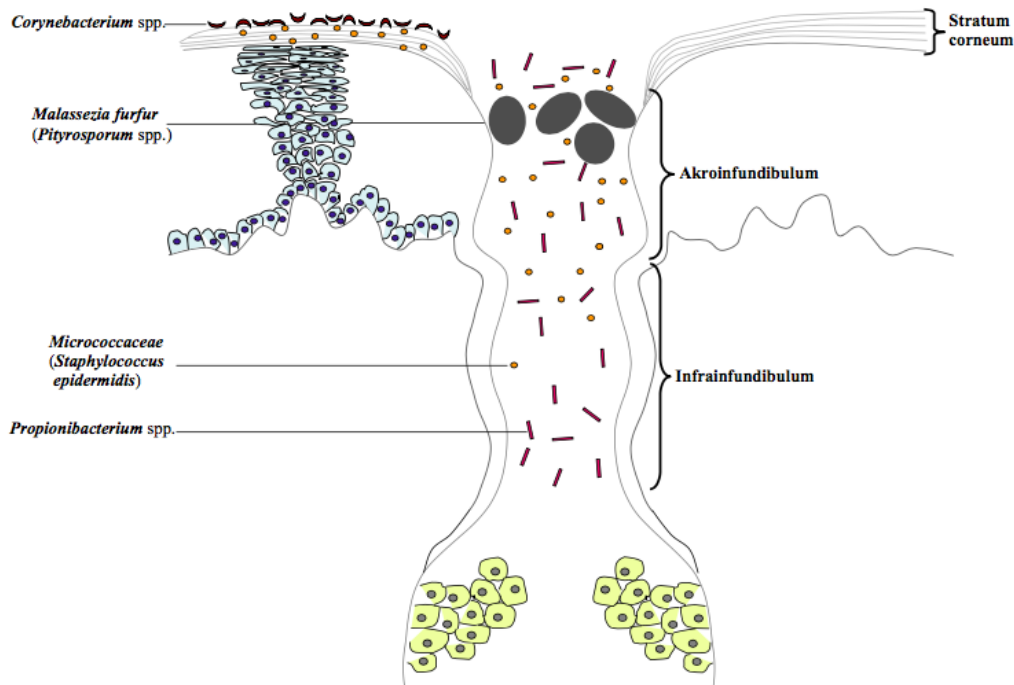


Abbildung 6: Lebensräume von *Malassezia*-Hefen [66]

Die Hefepilze sind in der Lage über 50 verschiedene Enzyme zu bilden, darunter 14 Lipasen. Allerdings fehlt den meisten von ihnen eine eigene Fettsäuresynthetase, was zur direkten Abhängigkeit von einer Lipidquelle führt [67]. Diese obligate Lipidabhängigkeit vereinfacht eine gezielte Anzüchtung und Untersuchung des Stoffwechsels [68]. *M. furfur* ist sogar in der Lage ausschließlich Lipide als Kohlen- und Aminostickstoffquelle zu nutzen und benötigt keine weiteren Stoffe zur Energiegewinnung und Vermehrung [69]. Das Fehlen der Fettsäuresynthetase wird durch die Lipaseaktivität kompensiert [70]. Die Enzyme werden extrazellulär ausgeschleust und an die Membran gebunden, damit sind die Hefepilze optimal an die Verstoffwechslung der freien Fettsäuren auf der menschlichen Haut vorbereitet [71]. Durch die Fähigkeit zur Bildung extrazellulärer Urease unterstützen *Malassezia*-Hefen die Ablösung der oberen Hautschichten und sind so direkt an selbstpflegenden Prozessen unserer Haut beteiligt [72].

Malassezia-Hefen sind als direkter Krankheitserreger oder Kofaktor an diversen Hauterkrankungen wie der Pityriasis versicolor, dem seborrhoischen Ekzem, der Head-Neck-Dermatitis, der *Malassezia*-Folikulitis oder Akne vulgaris beteiligt. Welche Rolle genau ihr Lipidstoffwechsel dabei spielt ist allerdings noch weitestgehend unerforscht.

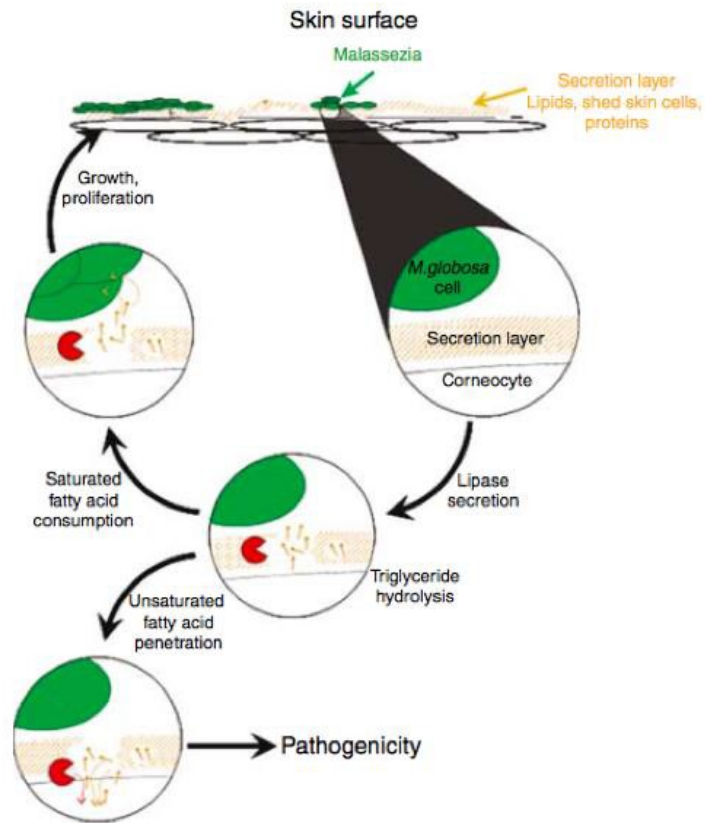


Abbildung 7: Lipidstoffwechsel der Malassezia-Hefen [73]

3.3 Dermatologische Krankheitsbilder

Aktuell bestehende Schönheitsideale suggerieren eine reine, ebenmäßige Haut als Vorbild. Insbesondere in der Pubertät liegen der Wunsch, diesem Ideal zu entsprechen und die durch die hormonelle Umstellung verursachte Wirklichkeit meist weit auseinander. Mit fortschreitendem Alter liegt der Fokus hingegen auf der Vermeidung von äußeren Zeichen des Alterns. Ein breites Spektrum an frei verkäuflichen Kosmetika und Pflegeprodukten mit verschiedensten Inhaltsstoffen bietet Hilfe für alle Altersstufen und Probleme. Oft fehlt jedoch ein Gefühl für die Verhältnismäßigkeit des Einsatzes; übermäßiger Gebrauch von Kosmetika in jungen Jahren sowie mangelndes Verständnis für die Zusammenhänge mit dermatologischen Krankheitsbildern können die Barrierefunktion der Haut beeinträchtigen, Poren verstopfen oder allergische Reaktionen auslösen. Auch die Hautmikroflora kann durch die Inhaltsstoffe von Kosmetika zusätzlich beeinträchtigt werden.

Im Folgenden sind jene Erkrankungen aufgelistet, bei welchen entweder Hilfsstoffe von Kosmetika und Pflegeprodukten oder die hauteigene Mikroflora maßgeblich an der Pathogenese beteiligt sind.

3.3.1 Akne vulgaris

Die Akne betrifft in mehr oder minder starker Form nahezu alle jungen Menschen während der Pubertät und wird maßgeblich durch die in diesem Zuge erfolgende hormonelle Umstellung verursacht. Eine Kombination aus verstärkter Talgproduktion und einer Verhornungsstörung des Ausganges der Talgdrüsenfollikel führt zunächst zur Ausbildung von Komedonen. Ein Pfropf aus Talg und verhornten Zellen verhindert dabei die reguläre Ausscheidung des weiterhin produzierten Talgs, über eine nachfolgende Entzündungsreaktion können Papeln, Pusteln und Knoten entstehen [74][7]. Der maßgebliche Anteil freier Fettsäuren auf der menschlichen Haut wird durch die hydrolytische Aktivität der *Malassezia*-Hefen gebildet. So entsteht das typische, leicht saure Hautmilieu. Auch in offenen, entzündeten Komedonen finden sich viele *Malassezia*-Sproßzellen [75]. Das am Akroinfundibulum bestehende Talgreservoir bietet den perfekten Nährboden für Keime und ermöglicht so eine starke Vermehrung, insbesondere für anaerobe Erreger wie *Propionibacterium acnes*. Beim Abbau des Talges durch Exoenzyme entstehen vermehrt freie Fettsäuren, das Milieu wird saurer und das Gleichgewicht der Hautmikroflora gestört. Dies verstärkt den komedogenen Prozess und kann eine Immunantwort provozieren. Dadurch entstehen eitrig gerötete Pusteln und Knötchen, ebenso wie die typischen „Mitesser“ mit verfärbtem Pfropf [74]. Eine bereits bestehende Entzündungsreaktion kann sich durch den Einfluss äußerer Faktoren, wie beispielsweise das Eröffnen der Komedome oder das Aufbringen von Cremes verstärken. Eine dauerhafte Verschlechterung des Hautbildes bis hin zur Narbenbildung kann die Folge sein.

Die sogenannten Kosmetikakne, oder Akne cosmetica, entspricht in ihrem äußeren Erscheinungsbild der Akne vulgaris und wird durch den Kontakt mit verschiedenen Inhaltsstoffen von Kosmetika ausgelöst. Das typische Erstsymptom sind dicht beieinanderliegende, geschlossene Komedome, welche sowohl als Reaktion auf natürliche als auch künstliche Stoffe entstehen können [76]. Beispiele hierfür sind Fettsäuren, Fettsäureester/-ether, Fettalkohole und diverse pflanzliche Öle. Ihr Einfluss variiert über den Gehalt im Präparat und die jeweiligen Abbauprodukte durch den mikrobiellen Stoffwechsel.

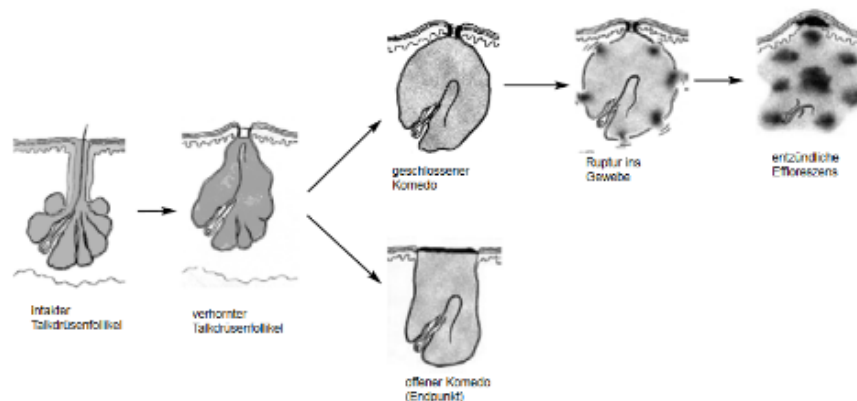


Abbildung 8: Pathogenese der Akne vulgaris [77]

3.3.2 Periorale Dermatitis

Die Periorale Dermatitis oder Mundrose tritt, wie der Name bereits vermuten lässt, im Gesicht um den Mund herum auf und verursacht typischerweise brennende, entzündliche Rötungen mit Juckreiz. Später bilden sich ca. 2 mm große Papeln mit Eiterbläschen aus. Die Ursache ist eine Intoleranzreaktion der Haut als Reaktion auf eine exzessive Nutzung von Kosmetika und Hautpflegeprodukten. Sie wird auch als „Stewardessen-Krankheit“ bezeichnet, da typischerweise Frauen im jungen bis mittleren Alter betroffen sind, dieser Berufsstand typischerweise bei recht trockenen Luftverhältnissen arbeitet und viele Kosmetika anwendet [78]. Durch die Überpflegung wird die natürliche Barrierefunktion geschädigt und der Säure-Lipid-Schutzmantel nicht ausreichend nachproduziert. Beispielsweise verursachen Feuchtigkeitscremes ein Aufquellen des Stratum corneum und führen so zu weiterem Wasserverlust [79]. Auch die mechanische Irritation während Peelings oder vorangegangene Lokalbehandlungen mit Glukokortikoiden sollen Kofaktoren sein. Die Betroffenen versuchen meist, die entstehenden Hautveränderungen zu überschminken oder besonders stark zu pflegen, was jedoch nur zu einer Verschlimmerung der Symptome führt. Die Therapie besteht

in einer strengen Abstinenz von Hautpflegeprodukten und Kosmetika bis zum vollständigen Abheilen der Effloreszenzen. Diese bis zu 8 Wochen andauernde Regenerationszeit ist psychisch oft eine große Belastung für die Betroffenen.



Abbildung 9: Periorale Dermatitis [78]

3.3.3 Rosacea

Rosacea wird manchmal fälschlicherweise als eine Unterart der Akne bezeichnet und befällt hauptsächlich hellhäutige Menschen. Es handelt sich um eine diffuse Hyperreaktivität der Blutgefäße im Gesicht, bei welcher sich insbesondere zentrofazial Teleangiektasen, Pusteln und Papeln ausbilden. Erstsymptome sind zu Beginn vorübergehende Erytheme an Hals, Gesicht und Brustausschnitt, welche später persistieren. Im Gegensatz zur Akne bilden sich allerdings keine Komedome aus [45]. Als prinzipiell chronische Erkrankung entwickeln sich die Symptome über mehrere Jahre mit phasenweise variierendem Auftreten. Häufig tritt eine Exazerbation durch den Einfluss von Koffein, Alkohol oder Sonnenlicht auf [80]. Komplikationen können die Ausbildung von Hyperplasien des Bindegewebes oder der Talgdrüsen sein. Ein Zusammenhang mit *Staphylococcus epidermidis* ist nachgewiesen, die genaue Rolle bleibt allerdings weiterhin unklar [81]. Therapieerfolge mit der lokalen Applikation von Antibiotika deuten auf die Beteiligung eines bakteriellen Erregers bei der Pathogenese hin.



Abbildung 10: Rosacea [82]

3.3.4 Pityriasis versicolor

Die Kleienpilzflechte ist eine oberflächliche Mykose, welche das Stratum corneum der menschlichen Haut befällt. Sie tritt typischerweise am oberen Torso, den Schultern und proximalen Armen auf und verursacht zunächst scharf begrenzte, gelblich-braune Stellen. Als verursachender Keim gilt *Malassezia furfur*, in den Läsionen finden sich aber auch vermehrt andere *Malassezia*-Stämme wie *M. globosa* und *M. sympodialis*. Die vermehrte Pigmentbildung wird vermutlich durch den Tryptophan-Stoffwechsel der Hefen verursacht, welcher zur Bildung von Indolverbindungen führt. Die *Malassezia*-Enzyme wandeln langkettige Fettsäuren in Azelainsäure um, diese inhibiert die Tyrosinase der Melanozyten. Diese Hemmung der Melanogenese führt zur Verdickung und Schuppung des Stratum corneum. Bei direkter Sonnenbestrahlung blockiert der Teppich aus *Malassezia*-Zellen die UV-Strahlen und verhindert eine Bräunung des entsprechenden Areals. So erscheinen die zunächst leicht bräunlichen Effloreszenzen nun aufgehellt und es entsteht ein marmoriertes Muster, welches auch als Landkartenphänomen bezeichnet wird. Diese fleckige Pigmentation gilt als Leitsymptom der Erkrankung [83].



Abbildung 11: Pityriasis versicolor [84]

3.3.5 Atopische Dermatitis

Die meist unter der Bezeichnung Neurodermitis bekannte atopische Dermatitis verursacht als chronisch entzündliche Dermatose schuppende und nässende Ekzeme mit starkem Juckreiz. Die genaue Pathogenese ist bisher ungeklärt, neben einer genetischen Disposition wird eine herabgesetzte natürliche Hautbarriere oder Autoimmunreaktion vermutet. Auch eine IgE-Sensibilisierung gegen *Malassezia*-Hefen wird diskutiert [85]. Läsionen in der Epithelschicht ermöglichen das Eindringen von Dermatophyten und eine Verschlechterung der Symptome, *M. furfur* wurde vermehrt in der Haut Betroffener nachgewiesen [86, 87]. Durch die

geschädigte Barrierefunktion besteht die Möglichkeit einer Superinfektion mit *Staphylococcus aureus*, eine Eradikation sorgt häufig für eine Besserung der Symptome.



Abbildung 12: Atopische Dermatitis [88]

3.3.6 Seborrhoische Dermatitis

Diese entzündliche Dermatose wird durch chronische oder in Schüben auftretende Ekzeme charakterisiert und tritt meist in talgdrüsenreichen Arealen, wie dem Oberkörper oder Gesicht auf. Charakteristisch ist die vermehrte Produktion von Sebum, sowie die Ausbildung von fettigen, weiß-gelben Hautschuppen. Diese Läsionen sind selten symptomatisch und meist ausschließlich kosmetisch störend, die weit verbreiteten Kopfschuppen zählen als milde Ausprägung oder Frühmanifestation der Erkrankung. Häufig wird eine begleitende Entzündungsreaktion mit Hautrötungen beobachtet. Vermutet wird eine Mitbeteiligung an der Pathogenese durch die Mycelienform vom *M. furfur*; die Dichte der Hefepopulationen korreliert mit der Schwere des Krankheitsbildes [89].

Ebenso besteht der Verdacht, dass der Verstoffwechslung von Ölsäure durch *M. globosa* eine Entscheidende Rolle zukommt [85]. Auf eine Beteiligung von Erregern der Hautmikroflora weist zudem die häufig erfolgreiche Therapie mit antimykotisch und antibakteriell wirksamen Shampoos hin. Durch die vermehrte Sebumproduktion finden *Malassezia*-Hefen ideale Bedingungen zum Verstoffwechseln der Fette vor. Daraus resultiert eine veränderte Zusammensetzung der Lipide der Hautoberfläche, bei Erkrankten herrscht ein hoher Anteil langkettiger freier Fettsäuren vor [85]. Dieser ist vermutlich in der Hydrolyse von Cholesterin und Triglyceriden am Infundibulum der Talgdrüsen durch die Dermatophyten begründet.

Kommt es aufgrund einer herabgesetzten Barrierefunktion zum Eindringen freier Fettsäuren in die obersten Hautschichten, können pathologische Veränderungen und Entzündungsreaktionen die Folge sein [90].



Abbildung 13: Seborrhoische Dermatitis [91]

3.4 Kosmetische Hilfsstoffe

Die Haut ist als größtes menschliches Organ an zahlreichen Aufnahme- und Ausscheidungsprozessen beteiligt und somit für eine Vielzahl an Stoffen prinzipiell permeabel. Diese Fähigkeit kann zwar zur Diagnostik und Therapie genutzt werden, birgt allerdings auch Gefahren. Der Kontakt mit irritierenden oder schädlichen Stoffen kann zur Aufnahme der Toxine in den Blutkreislauf, Schädigung der Barrierefunktion und somit erhöhter Infektanfälligkeit führen.

Kosmetika sind Formulierungen, welche zur Pflege, Reinigung, Schutz vor äußeren Einflüssen oder der Veränderung des äußeren Erscheinungsbildes verwendet werden. Sie dienen der Pflege und dem Erhalt eines gesunden Hautbildes, sollen einer Dehydration vorbeugen, Feuchtigkeit spenden, optisch glätten, Anzeichen von Hautalterung verbergen, Unregelmäßigkeiten ausgleichen oder Hilfe bei harmloseren Hauterkrankungen bieten [92]. Durch Umwelteinflüsse wie UV-Strahlung, Temperaturschwankungen oder chemische Stoffe findet eine permanente Strapazierung und Schädigung unserer Haut statt. Dies führt zum Entziehen oder der Zerstörung hauteigener Lipide und einem verändertem Flüssigkeitshaushalt. Eine ausgewogene, an individuelle Bedürfnisse angepasste Pflege kann durch zurückhaltende, angemessene Anwendung ein gesundes Erscheinungsbild fördern und Krankheiten vorbeugen [93]. In Kosmetika finden sich für gewöhnlich deutlich geringere Wirkstoffkonzentrationen als in der Dermatologie, meist reicht schon die wirkstofffreie Grundlage für einen sichtbar positiven Effekt aus [93].

In den regulatorischen Rahmbedingungen der europäischen Kosmetikverordnung sind über 1.000 verschiedene Hilfsstoffe und deren Konzentrationen aufgeführt, welche je nach Funktion und Eigenschaften unterteilt sind. Die Einstufung erfolgt in den Kategorien unbedenklich, eingeschränkt zugelassen und verboten [93][94]. Als Hilfsstoffe werden jene Bestandteile bezeichnet, welche zu Erhaltung und Optimierung der „antimikrobiellen, chemischen und galenischen Stabilität“ der Produkte beigefügt werden [93]. Zu den in den meisten Formulierungen verwendeten Hilfsstoffen zählen beispielsweise Konservierungsstoffe, Lösungsvermittler, Emulgatoren, Konsistenzgeber und Emollientien. Obwohl bis zur Zulassung jedes Stoffes eine große Zahl verschiedenster Tests und Kontrollen durchlaufen werden muss, kommt es immer wieder zu potenziell schädlichen Wechselwirkungen [31].

Je nach Anwendungsgebiet und gewünschter Konsistenz werden Cremes, Gele, Pasten, Lotionen, Lösungen, Lacke, Stifte, Pulver, Puder und Aerosole unterschieden [95]. Jede dieser Darreichungsformen stellt individuelle Ansprüche an die entsprechende Formulierung.

3.4.1 Konservierungsstoffe

Konservierungsstoffe dienen dem Schutz vor der Ansiedelung mikrobieller Lebewesen und der Verunreinigung durch Oxidation, wodurch die allgemeine Haltbarkeit bis zu einem definierten Datum gewährleistet werden soll. Konservierungsstoffe sind meist partiell wasserlöslich, gut penetrationsfähig und chemisch reaktionsfreudig [93, 96]. Um eine optimale Wirkung auf ein möglichst breites Keimspektrum zu erzielen, werden verschiedene Stoffe kombiniert. Meist entfalten sie ihre Wirkung durch eine Anheftung an die Zellwand der entsprechenden Mikroorganismen, wodurch transmembrane Transportwege blockiert und die Stoffwechselaktivität gehemmt wird [97]. Dies bewirkt je nach Konzentration einen mikrostatistischen bis mikrozyden Effekt. Im Zuge der Wandlung des ökologischen Bewusstseins der Bevölkerung, dem Anstieg von allergischen Prädispositionen und dem Trend zur Verwendung natürlicher Inhaltsstoffe, stehen synthetische Konservierungsstoffe zunehmend in der Kritik. Die alternativ verwendeten ätherischen Öle, Alkohol oder Glycerin sind aus ökonomischer Sicht meist nicht sinnvoll, da Produktion, Lagerung und Verarbeitung wesentlich teurer und aufwändiger sind. Zudem können natürliche Inhaltsstoffe ebenfalls irritierend oder allergen wirken [93]. Insbesondere Emulsionen aus wässriger Lösung mit sehr fein dispergierten Fetten sind stark gefährdet für Verkeimungen [96]. Auch das wiederholte Öffnen der Produkte sowie der Kontakt mit potenziell keimbelasteten Bereichen wie Mund oder Händen begünstigt das Einbringen von Keimen. Natürliche Öle und Fette bilden als Stoffgemische perfekten Nährboden für eine Vermehrung. Insbesondere bei Personen mit geschwächtem Immunsystem, wie Kindern oder vorerkrankten Menschen, kann es bei einem Keimbefall durch entstehende Spaltprodukte und Toxine zu schweren Infektionen kommen [93]. Die Verwendung von Konservierungsstoffen ist daher heutzutage nicht nur in der Kosmetik-, sondern auch in der Lebensmittelbranche allgemein üblich. Lipidhaltige Formulierungen mit vielen ungesättigten Bindungen in den Alkylkomponenten sind äußerst anfällig für die Oxidation durch Sauerstoff. Durch eine chemische Umwandlung der Inhaltsstoffe können gesundheitsgefährdende Spaltprodukte und freie Radikale entstehen. Um diesen Effekten vorzubeugen, werden anfällige Produkte heutzutage meist sauerstoffarm und in lichtundurchlässigen Behältnissen gelagert [93].

Konservierungsstoffe können bei sensitiven Hauttypen schon in geringen Konzentrationen zu Irritationen oder allergischen Reaktionen führen, in höheren Konzentrationen wirken die meisten Konservierungsstoffe sehr aggressiv [93].

3.4.2 Emulgatoren

Emulgatoren werden auch als Tenside oder Lösungsvermittler bezeichnet. Es handelt sich dabei um amphiphile Moleküle, was bedeutet, dass sie sowohl lipophile als auch hydrophile Komponenten beinhalten. Dies befähigt sie dazu, die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit oder die Grenzflächenspannung zweier Phasen so weit herabzusetzen, dass ein Kontakt der einzelnen Bestandteile bzw. Moleküle möglich wird. Dieser Vorgang wird auch als Solubilisierung bezeichnet. In einer idealen Formulierung werden die Bestandteile so fein vermengt, dass die Mischung stabil ist, die einzelnen Phasen sich also nicht mehr trennen [98, 99].

Je nach eingesetzter Formulierung und dem angedachten Verwendungszweck werden bis zu 25%ige Tensidkonzentrationen eingesetzt [100]. Tenside erhöhen die Löslichkeit hauptsächlich durch Micellenbildung. Dies trifft meist auf Reinigungsotionen zu, bei welchen durch eine waschaktive Wirkung überschüssiger Talg und Schmutzpartikel entfernt werden sollen. Da auch hauteigene Lipide ausgelöst werden, ist eine zusätzliche Pflege unerlässlich für solche Produkte.

In stabilen Emulsionen wie Cremes und Salben werden zwischen 5 % und 20 % Emulgatoren eingesetzt, sie dienen der Einarbeitung nicht wasserlöslicher Hilfs- und Wirkstoffe in die Formulierung [101]. Für das Erzeugen einer stabilen, homogenen Vermischung, sind diese Lösungsvermittler obligat [93].

Durch ihre Befähigung zum Herauslösen hauteigener Lipide findet eine nicht unerhebliche Beeinträchtigung des Säure-Lipid-Schutzmantels statt. Dies kann zu Hautbarrierestörungen, Rissen oder Irritationen führen und erleichtert das Eindringen von Schadstoffen und Krankheitserregern [98]. Bei einem herabgesetzten Feuchtigkeitsspeicher erhöht sich der transepidermale Wasserverlust, die ausgetrockneten Stellen röten sich, es kann zu Juckreiz und Ekzembildung kommen [102]. Zudem erhöhen Emulgatoren in geringem Maße die Penetrationsfähigkeit von Formulierungen, da sie in höheren Konzentrationen keratolytisch wirken können. Dies verstärkt die schädigende Wirkung möglicher vorhandener Toxine und Spaltprodukte [103].

3.4.3 Konsistenzgeber

Konsistenzgeber werden auch als Verdickungsmittel, Wachse oder Gelbildner bezeichnet und erhöhen die Viskosität eines Gemisches. Wasserlösliche Gelbildner wie Hydroxyethyl cellulose oder Acrylamid bilden gelartige Strukturen, welche je nach Konzentration wässrige Lösungen nur leicht andicken oder Emulsionen komplett verfestigen [95]. Durch lineare oder verzweigte Makromoleküle binden sie Wassermoleküle und erzeugen so eine zähe bis

cremige Konsistenz. Dieser Effekt erleichtert die Lagerung und das Auftragen der Produkte und wird insbesondere in Shampoos, Cremes und Salben gewünscht [30].

Wachse finden als lipophile Konsistenzgeber Verwendung in vielen Formulierungen. Wachse sind Ester aus einem langkettigen, einwertigen Alkohol und einer Fettsäure [93]. Durch ihre von Natur aus hohe Viskosität erhöhen sie die Stabilität des Produktes und sorgen für eine halb feste bis feste, eher fettige Haptik [104]. Je nach Produkt ist genau dieser Effekt gewünscht, insbesondere bei Pflegeprodukten für sehr trockene Haut oder bei extremer Kälte. Hier reicht je nach verwendetem Wachs bereits eine wirkstofffreie Zusammensetzung für einen sicht- und spürbaren Pflegeeffekt aus.

Häufig verwendete Wachse sind Bienen-, Carnauba- und Wollwachs. Neben Wachsen existieren noch zahlreiche andere lipophile Konsistenzgeber wie beispielsweise Cetylalkohol, Hartfett oder Paraffin.

3.4.4 Emollientien

Emollientien bilden in festem oder flüssigem Aggregatzustand die lipophile Basis vieler Formulierungen. Zu ihnen zählen beispielsweise Paraffine, natürliche, halbsynthetische und synthetische Lipide, Wachse, Terpene, Sterole, Kohlenwasserstoffe, Fettalkohole und Silikone. Sie besitzen häufig pflegende und weichmachende Eigenschaften [93], wirken rückfettend, hautglättend und feuchtigkeitsbewahrend. Das Auftrage- und Einziehverhalten von Formulierungen wird durch Emollientien mit niedriger Viskosität positiv beeinflusst. Pflanzenöle, welche einen hohen Gehalt an mehrfach ungesättigten, langkettigen Fettsäuren besitzen, bestehen meist aus komplexen Stoffgemischen mit individuellen Eigenschaften [105]. Sie bestehen aus mit Glycerol veresterten Fettsäuren und unterscheiden sich vor allem in der Zusammensetzung und Konzentration der Fettsäuren. Ihr natürlicher Säuregehalt ermöglicht ein gutes Einfügen in die Hautstruktur, wodurch der transepidermale Wasserverlust reduziert wird. Häufig verwendete Öle sind Erdnussöl, Olivenöl, Sonnenblumenöl oder Rizinusöl. Häufig haben sie selbst schon pflegende Eigenschaften und wirken konsistenzsenkend. Natürliche Fette neigen allerdings dazu, unter dem Einfluss von Wärme, Sauerstoff und Licht übelriechende Spaltprodukte zu bilden, was die Lagerung erschwert [93, 98].

Mineralische Fette wie Paraffinöl sind relativ stabil gegenüber Sauerstoff, Wasser und mikrobiellem Abbau und dadurch wesentlich haltbarer. Zudem sind diese Ester aus langkettigen Fettalkoholen und Fettsäuren [98] einfach in der Herstellung und wesentlich preiswerter als natürliche Emollientien. Einziger Effekt ist die Hautglättung, sie erzielen keine Resorption oder Regeneration der Haut [106].

Die Gruppe der Silikone besteht aus synthetischen Polymeren, bei welchen Siliziumatome über Sauerstoffatome zu Molekülketten oder -netzen verknüpft sind. Sie bewirken eine gute Spreitfähigkeit und bilden häufig sogar einen geschlossenen Film, haben selbst allerdings keine Wirkung auf das Stoffgleichgewicht der Haut [106].

3.4.5 Sonstige Hilfsstoffe

Insbesondere in der dekorativen Kosmetik kommen zahlreiche Hilfsstoffe zum Einsatz, bei welchen eine Resorption von Seiten der Haut explizit nicht gewünscht ist. Hierzu zählen beispielsweise Pigmente sowie Duft- oder Farbstoffe, welche Geruch, Farbe und Textur der Haut beeinflussen sollen [95]. Auch diese Stoffe können zu unerwünschten Reaktionen, wie Hautirritationen oder Infektionen, führen. Insbesondere durch Kontaminationen oder aggressive Spaltprodukte kann es zu Hautschädigungen kommen. Daher ist eine umfangreiche Testung vor Freigabe sowie die Einhaltung von Lagerungsempfehlungen und Mindesthaltbarkeitsdatum essenziell.

3.5 HPTLC in der Analytik von Lipiden

3.5.1 Fettsäuren

Fettsäuren sind langkettige Kohlenwasserstoffe mit einer Carboxylgruppe und einer für gewöhnlich gerade Anzahl von C-Atomen. Eine gesättigte Fettsäure beinhaltet keine Doppelbindung in der Kohlenstoffkette, eine ein- bzw. mehrfach ungesättigte Fettsäure beinhaltet eine bzw. entsprechend mehrere Doppelbindungen. Triglyceride bestehen aus dem dreiwertigen Alkohol Glycerin und drei veresterten Fettsäuren. Ein Mono- bzw. Diglycerid besitzt entsprechend eine bzw. zwei veresterte Fettsäuren.

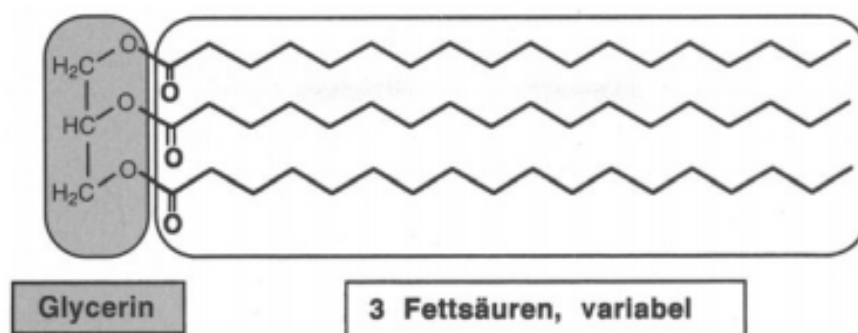


Abbildung 14: Aufbau eines Triglycerids [93]

Die Anzahl der C-Atome korreliert direkt mit der Viskosität der Fettsäuren; je länger die Kohlenwasserstoffkette ist und je weniger Doppelbindungen sie beinhaltet, desto höher ist der Schmelzpunkt. Je nach Kettenlänge spricht man von kurzkettigen (bis zu 7 C-Atome), mittelkettigen (bis zu 12 C-Atome) und langkettigen Fettsäuren. Die folgenden Fettsäuren wurden in den Versuchen verwendet, daher werden deren Aufbau und Eigenschaften genauer beschrieben:

Caprinsäure, auch Decansäure genannt, ist eine gesättigte Fettsäure und beinhaltet 10 C-Atome. Sie ist in ihrer reinen Form ein kristalliner Feststoff mit niedrigem Schmelzpunkt bei 31,6 °C und schwer wasserlöslich. Im menschlichen Körper ist sie Bestandteil des Schweißes [107, 108].

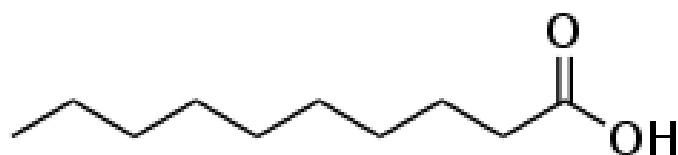


Abbildung 15: Aufbau der Caprinsäure [109]

Ölsäure ist eine einfach ungesättigte Fettsäure mit mittelständiger cis-Doppelbindung und beinhaltet 18 C-Atome. Sie ist in ihrer reinen Form eine klare, ölige Flüssigkeit mit braun-gelblicher Farbe und einem sehr niedrigen Schmelzpunkt bei 17 °C. Sie ist ein häufiger Bestandteil vieler natürlicher Fette wie Mandel- oder Olivenöl und wird oft als Hautpflegemittel eingesetzt, welches die Penetration lipophiler Stoffe fördert und hautglättend sowie feuchtigkeitsspendend wirkt. Im menschlichen Körper ist sie Bestandteil des Hauttalges [110].

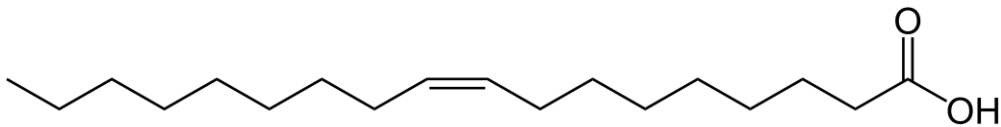


Abbildung 16: Aufbau der Ölsäure [111]

Palmitinsäure ist eine gesättigte Fettsäure und beinhaltet 16 C-Atome. Sie ist in ihrer reinen Form eine helle wachsartige Masse mit hohem Schmelzpunkt bei 62,9 °C. Sie ist Bestandteil vieler natürlicher Fette und Wachse und wird oft als Emulgator, Konsistenzgeber oder Seifengrundlage verwendet. Außerdem ist sie am Säureschutzmantel und der Barrierefunktion der Haut beteiligt [107, 108].

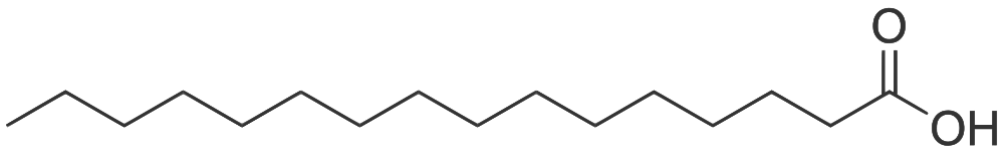


Abbildung 17: Aufbau der Palmitinsäure [112]

3.5.2 HPTLC-Analyse

Eine HPTLC ermöglicht die Qualitative und Quantitative Beurteilung von Lipidgemischen. Die Kombination aus Hochleistungsdünnschichtchromatographie und Densitometrie kommt in diesem Projekt bei der Analytik der getesteten Hilfsstoffe zum Einsatz.

Dieses chromatographische Verfahren ist eine Trennmethode, welche mittels einer stationären und einer mobilen Phase die verschiedenen Lipide voneinander trennt. Die stationäre Phase besteht aus einer mit Silicagel beschichteten Platte aus Aluminium oder Glas. Nach dem Auftragen des zu analysieren Gemisches und der Vergleichsstoffe fließt die mobile Phase durch die Stationäre und trennt die einzelnen Komponenten voneinander. Nachdem die mobile Phase von der Platte entfernt wurde, können die Einzelsubstanzen detektiert und deren Signalstärke in einem Densitogramm graphisch dargestellt werden.

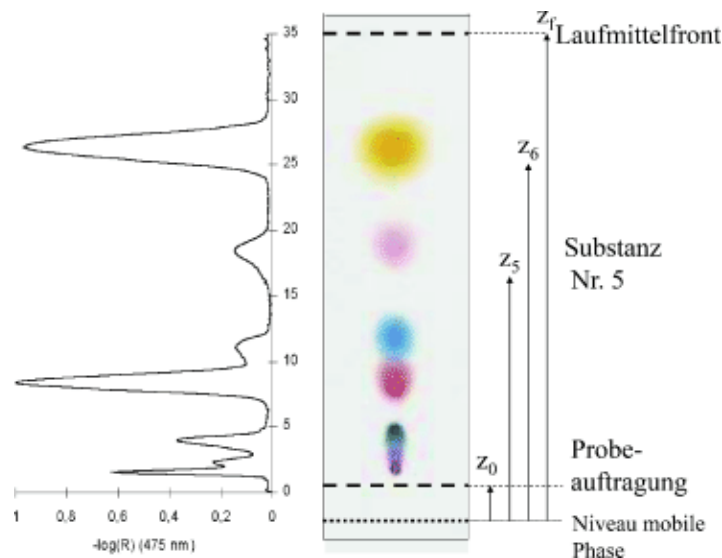


Abbildung 18: Densitogramm der Auftrennung von Farbstoffen [113]

In der Abbildung ist links die Signalstärke der Substanzen in Korrelation mit der Laufstrecke der Stoffe gezeigt. Die Peakhöhe korreliert dabei direkt mit der vorhandenen Stoffmenge. Die Auftrennung erfolgt durch die unterschiedliche Polarität der Substanzen und deren Molekülgröße. Beispielsweise ist Glycerin mit drei Hydroxylgruppen deutlich polarer als eine Fettsäure mit einer einzigen lange Kohlenwasserstoffkette. Je länger eine Kohlenwasserstoffkette ist, desto unpolarer verhält sie sich [114]. Polare Stoffe in der mobilen Phase gehen Wechselwirkungen mit der ebenfalls polaren stationären Phase ein, haben dadurch eine kürzere Laufstrecke und einen niedrigeren R_f -Wert als unpolare Substanzen [115].

Der Wert, welcher das Verhältnis von zurückgelegter zur gesamten Laufstrecke wiedergibt, wird R_f -Wert genannt [116].

$$R_f = \frac{z_s}{z_L}$$

(Formel 1: R_f-Wert)

z_s = Wanderstrecke der Substanz
 z_L = Wanderstrecke des Laufmittels, gemessen ab Probeauftrag

Die folgende Tabelle wurde nach Vorversuchen zur Auftrennung von Lipidgemischen von J. Lehnhardt und P. Mayser et. al. erstellt und ermöglicht die Zuordnung von verschiedenen Substanzklassen zu R_f-Werten [117, 118].

Substanzklasse	R_f-Wert
Monoglyceride	0,050
Diglyceride	0,065
Oleylalkohol	0,19
Freie Fettsäuren	0,19 - 0,30
Triglyceride	0,41
Fettsäureethylester	0,60

Tabelle 1: R_f-Werte verschiedener Lipidklassen

4 Material & Methoden

4.1 Geräte und Materialien

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Geräte und Materialien sind in Tabelle 1, die eingesetzten Chemikalien in Tabelle 2 aufgeführt. Tabelle 3 listet die in den Versuchen verwendeten Keimspezies auf, die zugehörigen Teststoffe sind in Tabelle 4 - 7 zu finden.

4.1.1 Geräte

Gerät/Software	Hersteller/Spezifikation
Anaerobe Kammern	n.b.
Analysenwaage	Mettler Toledo, XPE 206
Betriebssystem PC Win7	Microsoft
Brutschrank	Memmert, IF30
DC-Tauchgerät-fix II	Lothar Baron Laborgeräte
Doppeltrogkammer	Camag
Durchlichtmikroskop	DM 750 Leica
Heizplatte mit Magnetrührer	VWR, VMS-A S040
HPTLC Software: winCATS®	Camag, Version 1.4.4.6337
Kamera	MC170 HD Leica
Linomat 5	Camag
Shaker & Mixer	VWR international
Sterilwerkbank (MSW Airstream)	ESCO, AC2-4E8
Probendosierspritze	Hamilton Linomat Syringe
Tischzentrifuge	Hettich, Mikro 20 Eppendorf, 5424
TLC Scanner 3	Camag
UV-Spektralphotometer	VWR, UV-1600PC
Vortexe-Schüttler	VWR Analog Vortex Mixer
Waage	Kern & Sohn GmbH, PLS 1200-3A
Wasseraufbereitungsanlage	VWR, Puranity PU 15

Tabelle 2: Verwendete Geräte und Materialien

4.1.2 Chemikalien

Chemikalien	Charge/LOT-Nr.	Hersteller
Aceton	1.00014.2500	Merck
Agar-Agar	456251278	Roth
Ameisensäure	1.00264.0000	Merck
Brain Heart Infusion Broth	BCBV9464	Sigma Aldrich
Casein-Soja-Pepton-(CASO)-Agar	357261458	Roth
CASO-Bouillon	481178458	Roth
Chloramphenicol	SLBR8868V	Sigma Aldrich
Chloroform	1024451000	Merck
Cholesterol	14606	Fluka
Columbia Blood Agar	n.b.	n.b.
Cycloheximid	MKCC2330	Sigma Aldrich
Diethylether	59202	Roth
Ethanol (HPLC-grade)	153386F	VWR
Ethyldiglycol (Transcutol)	156412	Gattefossé
Glucose D(+)	304217298	Roth
Glycerol	16230802	Caesar & Loretz
Hefe-Extrakt	A0385557	Acros Organics
n-Hexan	4723.3	Roth
HPTLC-Glasplatten, Kieselgel 60 F ₂₅₄	1.05642.0001	Merck
Isopropanol (2-Propanol)	20880.320	VWR
Kaliumdihydrogenphosphat	n.b.	n.b.
Kaliumhydroxid	26670.294	VWR
Laktose Monohydrat	16231215	Caelo
Malzextrakt	VM804197732	Merck
Methanol (HPLC-grade)	20864.320	VWR
Mitis Salivarius Agar	BCBT7429	Sigma Aldrich
Natives Olivenöl	17361101	Caesar & Loretz
Natriumchlorid	106404	VWR
Ochsengalle	6067884	Becton Dickinson
PEG-Caprylic/Capric Glyceride (Labrasol)	166533	Gattefossé
Pepton aus Casein, pankreatisch verdaut	91079-10-2	Merck
Pepton aus Soja	297251438	Roth
Potassium Tellurite	7790-58-1	Sigma Aldrich
Primulin	MKBT2168V	Sigma Aldrich
Schafblut mit Heparin	27248	Acila
Silikonöl Typ 350 (Dimethicon 350)	17090204	Caesar & Loretz

Tabelle 3: Verwendete Chemikalien

4.1.3 Teststoffe

Im Folgenden sind alle getesteten Hilfsstoffe und Formulierungen mit den bei den Wachstumsversuchen der Bakterien verwendeten Konzentrationen aufgelistet. Zur besseren Übersicht wurden die Stoffe nach ihrem Einsatz und zusätzlich nach ihren chemischen Eigenschaften unterteilt. Die primär lipophilen Stoffe sind schwarz hinterlegt, die hydrophilen Stoffe wurden grau markiert. Die Verdünnung erfolgte bei den Bakterien meist mit Wasser, sollte ein anderes Lösungsmittel verwendet worden sein wird dies direkt unter der entsprechenden Tabelle erwähnt. Um die Verarbeitung zu vereinfachen, wurden bei den Stoffen mit einem + hinter der verwendeten Konzentration zusätzlich 5 % des Lösungsvermittlers Labrasol hinzugefügt. Die genaue Auflistung der als divers bezeichneten Konsistenzgeber erfolgt in dem Kapitel Ergebnisse.

INCI Bezeichnung/ Handelsname	Charge	Hersteller	Konz.
Butylenglykol	n.b.	n.b.	10 %
Caprylylglykol	n.b.	n.b.	5 %
Ethanol	64-17-5	Merck	20 %
Pentylenglykol	n.b.	n.b.	5 %
Propylenglykol	57-55-6	Merck	20 %

Tabelle 4: Auflistung der getesteten Konservierungsmittel

	INCI Bezeichnung/Handelsname	Charge	Hersteller	Konz.
Diverse	Bienenwachs/Cera alba	n.b.	Gustav Heess	2 % +
	Carnaubawachs	8015-86-9	Thermo Fischer	2 % +
	Cetylstearylalkohol/Lanette O	n.b.	Franken Chemie	2 % +
	Cetyl palmitate	11E12-NO3	Fagron	2 % +
Gelbildner	Acrylamid/Sepineo P600	79-06-1	Merck	2 %
	Carmellose-Natrium 7MF	n.b.	n.b.	2 %
	Hydroxyethyl acrylate/Sepinov WEO	818-61-1	Sigma Aldrich	2 %
	Hydroxyethyl cellulose/Cellosize PCG-10	9004-62-0	VWR	2 %
	Polyacrylsäure/Carbomer/Carbopol 980	9003-01-4	Acros Organics	2 %
	Xanthan	n.b.	n.b.	2 %

Tabelle 5: Auflistung der getesteten Konsistenzgeber

	INCI Bezeichnung/ Handelsname	Charge	Hersteller	Konz.
Natürliche	Wollwachs	n.b.	Deutsche Lanolin Gesellschaft	5 % +
	Glyceryl oleate/Tegin OV	n.b.	n.b.	5 % +
Synthetische Fettsäureester	Glyceryl stearate	n.b.	Franken Chemie	5 % +
	Methyl glucose isostearate/ Isolan IS	D716302348	Evonik Nutrition & Care	5 % +
	PEG-7 Glyceryl cocoate/ Tegosoft GC	E616220334	Evonik Nutrition & Care	5 % +
	Polyglyceryl-3 caprate/ Tegosoft PC 31	E616723617	Evonik Nutrition & Care	5 % +
	Polyglyceryl-3 oleate/Isolan GO 33	E615404275	Evonik Nutrition & Care	5 % +
	Span 80	n.b.	n.b.	5 % +
	Sucrose stearate/Surfhope 1803F	8310910A	Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation	5 % +
	Macrogol-40-Glycerolhydroxystearat/ Cremophor RH 40	n.b.	n.b.	5 %
	PEG-40 hydrogenated castor oil/ Tagat CH 40	n.b.	n.b.	5 %
	PEG-40 stearate/Tego Acid S 40 P	n.b.	n.b.	5 %
	Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate	n.b.	n.b.	5 %
	Sucrose palmitate/Surfhope 1615	n.b.	n.b.	5 %
	Tween 40/Polysorbat 40	9005-66-7	Merck	5 %
	Tween 80/Polysorbat 80	9005-65-6	Merck	5 %
	Synthetische Fettsäureether	Ceteth-25/Ceteareth-25	n.b.	n.b.
Laureth-20		n.b.	n.b.	5 %
Oleth-20/Chemonix OE-20		n.b.	n.b.	5 %
Steareth-20/Lipocol S-20		n.b.	n.b.	5 %
Polymere	Cetyl PEG/PPG-10/Dimethicon/ Abil EM 90	n.b.	Franken Chemie	5 % +
	Ploxamer 407	9003-11-6	Spectrum Chemical	5 %
Lösungsvermittler	PEG-300/Kolliphor P407	5322-68-3	Merck	5 %
	PEG-350/PEG-6	9004-74-4	Alfa Aesar	5 %
	PEG-550/PEG-6 methyl ether	9004-74-4	Alfa Aesar	5 %

Tabelle 6: Auflistung der getesteten Emulgatoren

	INCI Bezeichnung/Handelsname	Charge	Hersteller	Konz.
Natürliche Emollientien	Avocadoöl	16104703	Caesar & Loretz	100 %
	Erdnussöl	16249502	Caesar & Loretz	100 %
	Jojobaöl	16070601	Caesar & Loretz	100 %
	Leinöl	16321103	Caesar & Loretz	100 %
	Mandelöl	16327303	Caesar & Loretz	100 %
	Nachtkerzenöl	16281307	Caesar & Loretz	100 %
	Olivenöl	17038702	Caesar & Loretz	100 %
	Rapsöl	16185001	Caesar & Loretz	100 %
	Rizinusöl	16200007	Caesar & Loretz	100 %
	Sesamöl	16312501	Caesar & Loretz	100 %
	Sojaöl	16081309	Caesar & Loretz	100 %
	Traubenkernöl	16092409	Caesar & Loretz	100 %
	Weizenkeimöl	16137405	Caesar & Loretz	100 %
Synthetische Fettsäureester	Caprilic/Capric triglyceride/Miglyol 812	18118803	Caesar & Loretz	100 %
	Cetearyl isononanoate/Cetiol SN	n.b.	BTC Europe	100 %
	Decyl oleate/Coco-caprylate/Cetiol LC	CE91220012	Cognis	100 %
	Decyl oleate/Kollicream DO	13291602	Caesar & Loretz	100 %
	Ethyl linoleate	n.b.	n.b.	100 %
	Ethyl oleate/Acros 98 %	n.b.	Acros Organics	100 %
	Ethyl oleate/Crodomol EO-LQ	n.b.	n.b.	100 %
	Isopropyl myristate	15438215	Caesar & Loretz	100 %
	Isopropyl palmitate	n.b.	Hansen & Rosenthal	100 %
	Octyldodecanol/Eutanol G	n.b.	BTC Europe	100 %
Oleyl oleate	15321701	Caesar & Loretz	100 %	
Emollientien auf Kohlenwasserstoffbasis	Cyclopentasiloxan/Abil OSW5	n.b.	Franken Chemie	100 %
	Dimethicon/Abil 350	ES96502807	Evonik Nutrition & Care	100 %
	Dimethicon 100/Silikonöl	17004502	Caesar & Loretz	100 %
	Dimethicon 350/Silikonöl	17090204	Caesar & Loretz	100 %
	Paraffin (dickflüssig)	14357202	Caesar & Loretz	100 %
	Squalan (Sigma)	n.b.	Henry Lamotte Oil	100 %
	Squalen 98 % (Alfa Aesar)	111-02-4	Thermo Fischer	100 %

Tabelle 7: Auflistung der getesteten Emollientien

Bezeichnung	Charge	Hersteller	Konz.
Caprinsäure	S4154869620	Merck	2 %
Ölsäure	10155605	Caesar & Loretz	2 %
Palmitinsäure	111162095	Carl Roth	2 %

Tabelle 8: Auflistung der getesteten Fettsäuren

Die Fettsäuren wurden mit einer Konzentration von 2 % in dem in Vorversuchen als inert identifizierten Dimethicon 350 gelöst.

Bezeichnung	Charge	Hersteller	Konz.
6.1	n.b.	Novigo	25 %
6.2	n.b.	Novigo	25 %
6.3	n.b.	RSC Pharma	25 %

Tabelle 9: Auflistung der getesteten Formulierungen

Die genaue Zusammensetzung der Formulierungen 6.1 – 6.3 unterliegt zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dem Betriebsgeheimnis.

4.1.4 Keimspezies

Spezies	Bezeichnung
Corynebacterium minutissimum	DSMZ-Nr.: 20651
Propionibacterium acnes	DSMZ-Nr.: 1897
Staphylococcus epidermidis	DSMZ-Nr.: 28765
Staphylococcus gallinarum	DSMZ-Nr.: 20610
Streptococcus mitis	DSMZ-Nr.: 12643
Malassezia furfur	CBS 7705
Malassezia globosa	CBS PM1
Malassezia sympodialis	CBS 7222

Tabelle 10: Verwendete Keimspezies

4.2 Methoden

4.2.1 Kultivierung von Mikroorganismen auf Festmedien

Zu Beginn einer jeden Forschung mit Bakterien oder Pilzen steht die Wahl der Kultivierungsart. Jeder Mikroorganismus benötigt andere Umgebungsbedingungen, um optimal wachsen zu können. Als Grundlage findet sich meist eine organische Verbindung für chemotrophe Organismen oder Kohlenstoffquelle für heterotrophe Organismen sowie Salze und ggf. Geliermittel. Die Wahl der Methode bedingt nicht nur die benötigten Materialien, sondern kann auch Einfluss auf die Ausgangsbedingungen von möglichen Tests nehmen. Agar-basierte Nährmedien bieten mit ihrer großen, ebenen Oberfläche sowie der einfachen und übersichtlichen Vermehrung, Vereinzelung, optischen Beurteilung und Unterscheidung der Keime ideale Bedingungen. Die Keime können mit einer Impföse auf dem Nährmedium ausgestrichen werden und bilden dort je nach Dichte der Zellen einzelne Kolonien oder komplette Keimrasen [119]. Nach einigen Vorversuchen (siehe Methodenentwicklung) erfolgte aufgrund der gut verwertbaren ersten Ergebnisse und der größeren Nähe des Modells zur menschlichen Haut die Festlegung auf Agar-basierte Nährmedien.

4.2.1.1 Anzucht und Kultivierung von Bakterien

Die Kultivierung von *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus gallinarum* und *Corynebacterium minutissimum* erfolgt auf CASO-Agar. *Propionibacterium acnes* wird auf Propioni-Agar kultiviert und *Streptococcus mitis* auf Columbia-Blutagar.

Eine zuvor selektierte Einzelkolonie des Bakteriums wird mit einer Impföse unter sterilen Bedingungen auf einer 7,5 cm messenden Agarplatte ausgestrichen und im Brutschrank bei 38 °C für 24 bzw. 48 Stunden inkubiert. Als obligat anerobes Keim wurde *P. acnes* stets unter anaeroben Bedingungen kultiviert.

Für die Versuchsansätze wird der entstandene Zellrasen mit 10 ml 0,9%iger NaCl-Lösung unter manuellem Ablösen mit einem Drigalskispatel von der Agarplatte entfernt und in ein Reagenzglas überführt. So kann eine festgelegte Zellzahl für die Versuche gewährleistet werden. Sollte eine hohe Zellzahl gewünscht sein kann anschließend durch Zentrifugation und erneute Suspension die Flüssigkeitsmenge reduziert werden.

Bakterienstamm	Anzuchtagar	Inkubationsdauer
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CASO-Agar	24 h
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	CASO-Agar	24 h
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	CASO-Agar	24 h
<i>Streptococcus mitis</i>	Columbia-Blutagar	48 h
<i>Propionibacterium acnes</i>	Propioni-Agar	48 h (anaerob)

Tabelle 11: Kultivierungsbedingungen der Bakterien

4.2.1.2 Anzucht und Kultivierung von Malassezia-Hefen

Für die Anzüchtung und den Testaufbau der Hefepilze wird das mit der Hautoberfläche vergleichbare in-vitro-Testsystem nach Mayser [63] in angepasster Form übernommen. Mittels einer Impföse erfolgt das Auftragen einer erbsengroßen Menge Biomasse auf eine mit Olivenöl beschichtete Petrischale mit Dixon-Agar. Diese wird anschließend luftdicht verklebt und für 7 Tage bei 32 °C inkubiert.

Hefestamm	Anzuchtagar	Mangelagar	Inkubationsdauer
<i>Malassezia furfur</i>	Dixon-Agar	Selektivagar	7 d
<i>Malassezia globosa</i>	Dixon-Agar	Selektivagar	7 d
<i>Malassezia sympodialis</i>	Dixon-Agar	Selektivagar	7 d

Tabelle 12: Kultivierungsbedingungen der Hefepilze

Für die Wachstumsversuche mit $n = 1$ werden zunächst 100 µl des Teststoffes auf eine Platte Selektivagar für pathogene Pilze pipettiert, anschließend mittels einer Impföse eine erbsengroße Menge Biomasse hinzugegeben und das Gemisch dort gleichmäßig verteilt. Diese wird anschließend luftdicht verklebt und für 7 Tage bei 32 °C inkubiert.

Für die Tests mit den Hefepilzen wurden bei nahezu allen Stoffklassen die gleichen Konzentrationen verwendet wie bei den Bakterien, die Lösung erfolgte allerdings meist in dem in Vorversuchen als inert identifizierten Dimethicon 350. Die folgende Tabelle fasst die verwendeten Gemische zusammen. Aufgrund der langen Inkubationszeit war keine vollständige Testung aller Inhaltsstoffe möglich, die Liste der getesteten Stoffe ist in Kapitel 6 (Zusammenfassung & Diskussion) zu finden.

Teststoff	Lösungsmittel	Konz. [%]
Konservierungsmittel	NaCl	
- Butylenglykol		10
- Caprylylglykol		1
- Ethanol		20
- Pentylenglykol		5
- Propylenglykol		20
Konsistenzgeber	Dimethicon 350	2
Emulgatoren	Dimethicon 350	5
Emollientien	-	100
Fettsäuren	Dimethicon 350	2
Formulierungen		
- 6.1	Dimethicon 350	25
- 6.2	Dimethicon 350	25
- 6.3	NaCl	25

Tabelle 13: Konzentrationen der Teststoffe für die Wachstumsversuche der Hefepilze

Die Auswertung der Plattenausstriche mit den Hefepilzen erfolgte rein optisch. Nach der 7-tägigen Inkubationszeit wurden die Platten in einer Box vor dunklem Hintergrund abfotografiert und der entstandene Zellrasen verglichen. Da die Hefepilze sehr charakteristische Populationen bilden ist dieses Verfahren hier im Gegensatz zu den Wachstumsversuchen der Bakterien möglich und zudem äußerst zeitsparend.

4.2.1.3 Herstellung von Nährmedien

Die Herstellung der Nähr- und Mangelmedien erfolgt größtenteils nach dem gleichen Schema, eine Abweichung ist zumeist die Zugabe von hitzeempfindlichen Stoffen nach dem Autoklavieren bei einer festgelegten Temperatur. Im Folgenden wird die Herstellung von CASO-Agar ausführlich beschrieben, für die weiteren Nährmedien werden lediglich Abweichungen ergänzt.

Zunächst werden 40 g des bereits in der korrekten Zusammensetzung gelieferten Pulvers abgewogen und in 100ml kaltem Aqua dest. gelöst. Nach Zugabe von 900 ml auf 100 °C erhitztem Aqua dest. wird der Agar unter ständigem Rühren mittels Rührfisch auf dem Magnetrührer kurz aufgekocht und anschließend bei 121 °C autoklaviert. Unter der Sterilbank erfolgt das Ausgießen in Petrischalen der entsprechenden Größe. Dabei ist Blasenbildung zu vermeiden. Nach dem Erstarren können die fertigen Platten bei 7 °C im Kühlschrank

eingelagert werden. Die nach dem Europäischen Arzneibuch standardisierte Zusammensetzung des CASO-Agars ist in der folgenden Tabelle aufgeführt [120].

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	15
Casein-Pepton	15
Soja-Pepton	5
Natriumchlorid	5
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 14: Zusammensetzung des CASO-Agars

Analog zu der Herstellung von CASO-Agar werden die Bestandteile des Columbia-Blutagars zunächst abgewogen und autoklaviert. Erst nach dem Autoklavieren und Abkühlen des Agars auf 50 °C werden 100 ml steriles Schafsblut hinzugegeben und sorgfältig untergemischt.

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	15
Brain-Heart Infusion	10
Natriumchlorid	5
Pepton aus Fleisch	10
Schafblut (nach Autoklav)	100
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 15: Zusammensetzung des Columbia-Blutagars

Analog zu der Herstellung von CASO-Agar werden die Bestandteile des Mitis-Salivarius-Agars zunächst abgewogen und autoklaviert. Erst nach dem Autoklavieren und Abkühlen des Agars auf 50 °C werden 1 g Potassium tellurite hinzugegeben und sorgfältig untergemischt.

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	15
Peptic digest of animal tissue	5
Casein enzymatic hydrolysate	15
Dextrose	1
Sucrose	50
Kaliumdihydrogenphosphat	4
Trypan blue	0,075
Crystal violet	0,0008
Potassium tellurite (nach Autoklav)	1
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 16: Zusammensetzung des Mitis Salivarius Agars

Analog zu der Herstellung von CASO-Agar werden die einzelnen Bestandteile des Propioni-Agars abgewogen, autoklaviert und ausgegossen.

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	20
Hefeextrakt	5
Casein-Pepton	10
DL-Natriumlactat 50%	15,7
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 17: Zusammensetzung des Propioni-Agars

Analog zu der Herstellung von CASO-Agar werden die einzelnen Bestandteile des Dixon-Agars abgewogen, autoklaviert und ausgegossen.

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	20
Malzextrakt-Bouillon	36
Casein-Pepton	10
Ochsengalle	20
Cycloheximid	0,5
Chloramphenicol	0,5
Tween 40	10
Olivenöl	2
Glycerol	2
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 18: Zusammensetzung des Dixon-Agars

Analog zu der Herstellung von CASO-Agar werden die einzelnen Bestandteile des Selektivagars für pathogene Pilze abgewogen, autoklaviert und ausgegossen.

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	12,5
Soja-Pepton	10
Glucose	10
Cycloheximid	0,4
Chloramphenicol	0,05
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 19: Zusammensetzung des Selektivagars für pathogene Pilze

4.2.2 Bestimmung des Zellwachstums

4.2.2.1 Trübungsmessung mittels Spektralphotometer

Für die photometrische Trübungsmessung, auch OD-Messung genannt, wird ein UV/VIS-Spektrometer benötigt. Bei dieser Methode erfolgt die Bestimmung der Keimzahl indirekt; sie wird häufig bei homogenen Suspensionen angewandt.

Von der zu testenden Flüssigkeit werden 800 µl in eine Einwegküvette überführt und diese in den Lichtstrahl des Photometers eingesetzt. Die gewählte Wellenlänge von 600 nm erzeugt am Lichtsensor eine definierte Spannung. Der abweichende Brechungsindex von Suspensionsmittel und gelösten Partikeln bzw. Zellen führt über eine Streuung des Lichtstrahls zu einer Intensitätsänderung des am Sensor auftreffenden Lichtes [121]. Dieser Wert wird von dem Gerät erfasst und als Zahl ausgegeben, welche mit dem Grad der Trübung korreliert. Mithilfe einer zuvor empirisch ermittelten Kalibrierkurve kann die Zahl der Bakterien in der getesteten Suspension über den korrelierenden mathematischen oder graphischen Weg aus der optischen Dichte ermittelt werden [119].

Diese Methode lässt sich einfach, schnell und unkompliziert durchführen. Der größte Nachteil ist die mangelnde Unterscheidung zwischen lebenden und toten Zellen oder Verunreinigungen. Daher wurde ein zusätzliches Verfahren zur definitiven Bestimmung der Lebendkeimzahl etabliert. Bei der Testung der lipophilen Hilfsstoffe musste aufgrund der stark abweichenden Werte durch Tröpfchenbildung auf eine alternative Methode zurückgegriffen werden.

4.2.2.2 Drigalski-Plattenausstrich-Verfahren

Das Drigalski-Plattenausstrich-Verfahren ermöglicht die Ermittlung der Lebendzellzahl. Zwar ist diese Methode sehr zeit- und materialaufwendig, ermöglicht aber auch äußerst genaue Ergebnisse. Zunächst wird unter sterilen Bedingungen eine Verdünnungsreihe wie in Abbildung 16 [122] beschrieben angelegt. Bei dieser werden 100 µl der Bakteriensuspension in ein Eppendorf Gefäß mit 900 µl 0,9%iger NaCl-Lösung pipettiert und sorgfältig vermischt. Wiederholt man diesen Schritt mehrfach, wird eine dekadische Verdünnung bis zu einer Stufe ermöglicht, auf der eine spätere Auszählung von Einzelkolonien durchgeführt werden kann. Aus diesem letzten Gefäß erfolgt die Entnahme von 100 µl der Suspension und das sorgfältige Verstreichen mittels Drigalski-Spatel auf dem entsprechenden Nährmedium [119]. Je nach Bakterium können die gewachsenen Kolonien nach der anschließenden Inkubation von 24 bis 48 Stunden bei 38 °C ausgezählt werden. Aus der Anzahl der KBE kann unter Berücksichtigung des aufgetragenen Volumens und des Verdünnungsfaktors die Lebendzellzahl pro ml in der Ausgangslösung berechnet werden.

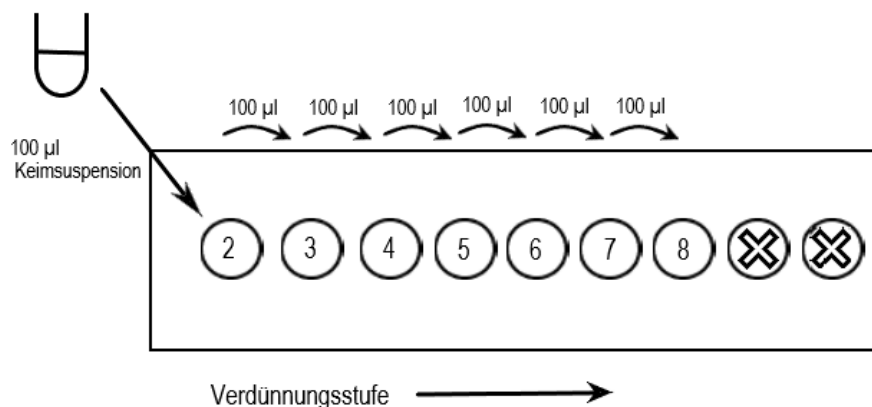


Abbildung 19: Systematik einer Verdünnungsreihe

Das Drigalski-Verfahren wird in diesem Projekt nicht nur zur Auswertung der Testergebnisse als Kontrolle für die erhobenen OD-Werte verwendet. Auch für den eigentlichen Versuchsaufbau eignet sich die Oberfläche des Agars gut, da Teststoff und Bakterien hier, ähnlich wie auf der Haut, zusammengeführt werden.

4.2.2.3 Zählkammer

Zur Ermittlung der Zellzahl über eine Zählkammer wird zunächst 1 ml der Keimsuspension homogen durchmischt und anschließend mit 10 µl Methylenblau angefärbt. Dies ermöglicht die Differenzierung lebender und toter Zellen, da sich nur die lebendigen Zellen anfärben. Bei ausreichender Größe der Zählkammer werden 10 µl der gefärbten Keimlösung in den Hohlraum zwischen dem Objektträger und Deckgläschen der Kammer eingebracht. Nun können die Zellen unter dem Lichtmikroskop ausgezählt werden. Für ein repräsentatives Ergebnis sollte die Ausgangslösung so weit verdünnt werden, dass in den Netzquadraten annähernd 100 Zellen befinden. Anschließend erfolgt aus der gewählten Verdünnungsstufe und der Größe der Zählkammer die Berechnung der Zellzahl pro Milliliter.

Diese Methode wurde zum einen aus labortechnischen Gründen nicht weiterverfolgt, da keine geeignete Zählkammer für Bakterien vorhanden war. Andererseits ist dieses Verfahren mit einem hohen Zeitaufwand verbunden und aufgrund der Tröpfchenbildung in Wasser-Öl-Emulsionen für die Auswertung der meisten Teststoffe ungeeignet.

4.2.3 Durchführung der HPTLC-Analyse

Zunächst wird die Primulin-Färbelösung vorbereitet, hierfür müssen 10 mg Primulin abgewogen und in 10 ml Methanol gelöst werden. Das anschließend in einen Erlenmeyerkolben überführte Gemisch wird für 5 Minuten bei Raumtemperatur in ein Ultraschallbad gestellt. Nach Ablauf der Zeit erfolgt das Auffüllen des Kobens mit 80 ml Aceton und die erneute Homogenisierung im Ultraschallbad.

Als stationäre Phase wird eine 10 x 20 cm messende fluoreszenzmarkierte Kieselgel-Platte (HPTLC Silicagel 60 F254) verwendet. Die Platte wird an der kurzen Seite mit einer Bleistiftmarkierung bei 9 cm an versehen und in den Linomat 5 eingespannt. Der Probenauftrag erfolgt mit einer Hamilton-Spritze, welche zuvor 3x mit 2-Propanol gespült wurde. Es werden 40 µl der Probe aufgezogen und die Spritze in die entsprechende Haltevorrichtung eingespannt. Die Proben und Standards werden durch den Linomat 5 als dünne Bande mit einer Breite von 0,5 cm und einem Abstand zum unteren Plattenrand von 2 cm aufgetragen. Bei maximal 16 Banden beträgt das Applikationsvolumen pro Bande 10 µl und die Sprühgeschwindigkeit 70 nl/s.

Zur Plattenentwicklung wird das Fließmittel aus n-Hexan, Diethylether und Ameisensäure im Verhältnis 80:20:2 bei Raumtemperatur in eine Doppeltröglkammer gegen und unter Zuhilfenahme von Fließpapier innerhalb von 15 Minuten eine Aufsättigung der Luft erreicht. Bei der Positionierung die Kieselgel-Platte in der Doppeltröglkammer ist darauf zu achten, dass das Niveau des Fließmittels unterhalb der aufgetragenen Proben bleibt. Sobald die Laufmittelfront an der Markierung bei 9 cm angelangt ist wird die Platte aus der Kammer entnommen und mit einem Fön getrocknet.

Anschließend erfolgt die Färbung der Platte. Sie wird für 3 Sekunden mit dem DC-Tauchgerät in die zuvor vorbereitete Primulin-Lösung eingetaucht und erneut mit einem Fön getrocknet.

Die fertige Platte kann nun in den Camag TLC Scanner eingespannt und die Emissionsmessung durch die Gerätesoftware gestartet werden. Es wird ein Absorptionsspektrum von 200 – 600 nm aufgenommen und die Banden bei 366 nm dargestellt. Die digitale Auswertung erfolgt über das winCATS-Programm.

Zu beachten ist, dass sich bei einem R_f von 0,00 meist Agarreste und Zelltrümmer ablagern, da die zur Vorbereitung der Proben verwendeten Stoffe stark antibakteriell wirken [123].

Die folgende Tabelle [124] fasst die wichtigsten Parameter der HPTLC-Analyse zusammen.

Stationäre Phase	Silica Gel 60 _F , 10 x 20 cm, Glas
Applikation	
Randabstand	2 cm
Seitlicher Abstand	1 cm
Maximale Anzahl Banden	16
Bandenbreite	0,5 cm
Applikationsvolumen	10 µl
Auftragungsgeschwindigkeit	70 nl/s
Abstand zwischen den Banden	0,5 cm
Mobile Phase	n-Hexan:Diethylether:Ameisenäure (80:20:2) Entwicklung mit Kammersättigung
Laufstrecke	9 cm
Derivatisierung	Primulin-Färbelösung (0,1 %) Eintauchen für 3 Sekunden
Detektion	Fluoreszenz bei 366 nm

Tabelle 20: Zusammenfassung der wichtigsten Parameter für die HPTLC-Analyse

4.2.3.1. HPTLC-Analyse der Bakterienstämme

Die Inkubation der Bakterienstämme erfolgt zunächst nach den oben beschriebenen Bedingungen mit 100 µl des Teststoffes auf dem zuvor festgelegten Mangelagar und für die dem Keim entsprechende Dauer. Nach der Inkubation werden die Petrischalen wie zuvor beschrieben mit 2 ml Isopropanol abgeschwemmt und in 2 ml fassende Eppendorf-Gefäße pipettiert, welche anschließend für 5 Minuten bei 14.500 rpm zentrifugiert werden. Der Überstand wird in ein frisches Eppendorf-Gefäß überführt und für die HPTLC-Analyse verwendet.

4.2.3.2. HPTLC-Analyse der Hefepilze

Die Inkubation der Hefepilze erfolgt zunächst mit $n = 3$ nach den oben beschriebenen Bedingungen mit 100 µl des Teststoffes auf Selektivagar für pathogene Pilze und ebenfalls für 7 Tage. Nach der Inkubation werden die Petrischalen wie zuvor beschrieben mit 2 ml Isopropanol abgeschwemmt und in 2 ml fassende Eppendorf-Gefäße pipettiert, welche anschließend für 5 Minuten bei 14.500 rpm zentrifugiert werden. Der Überstand wird in ein frisches Eppendorf-Gefäß überführt und für die HPTLC-Analyse verwendet.

Für die zusätzlichen Versuche zur Abbaukinetik wird analog vorgegangen, jedoch werden lediglich 50 µl Teststoff verwendet und die Analyse nach einer entsprechenden Inkubationsdauer von 24, 48, 72 oder 120 Stunden durchgeführt. Die Auswertung erfolgt hier anhand der Peakhöhen, wobei der Spitzenwert zum Zeitpunkt 0 h mit 100 % belegt wird. Nach der entsprechenden Inkubationszeit wird die prozentuale Abnahme des Spitzenwertes berechnet und diese graphisch aufgetragen.

4.2.4 Signifikanztest zur statistischen Überprüfung der Testsysteme

Um zu ermitteln ob signifikante Unterschiede zwischen den Datensätzen der bei der OD-Messung und der Keimzahlbestimmung erfassten Werte bestehen, müssen diese einen Signifikanztest durchlaufen. Der Student'sche t-Test überprüft, ob die Schwankungen zwischen statistischen Mittelwerten zweier Proben, beispielsweise von Kontroll- und Versuchsgruppe, signifikant sind oder nicht. Also ob die beobachteten Unterschiede in den Messwerten durch zufällige Schwankungen entstanden sind oder eine reproduzierbare Abweichung besteht. Dazu wurden zwei Hypothesen aufgestellt; die Nullhypothese H_0 besagt, dass die errechneten Mittelwerte der Stichproben sich nicht relevant unterscheiden. Falls die Nullhypothese abgelehnt wird, trifft die Alternativhypothese H_1 zu. Diese besagt, dass sich die Mittelwerte sehr wohl signifikant unterscheiden. Die Prüfgröße t sagt aus welche der Hypothesen zutrifft und wird über Formel 2 berechnet [125].

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (\text{Formel 2: Prüfgröße } t)$$

Dabei sind \bar{x}_1 und \bar{x}_2 die Mittelwerte und s_1 und s_2 die Varianzen der zwei Stichproben. n_1 und n_2 geben die Anzahl der betrachteten Messwerte jeder Stichprobe an. Die Mittelwerte \bar{x}_1 und \bar{x}_2 werden mit Formel 3 berechnet.

$$\bar{x} = \frac{1}{n} * \sum_{i=1}^n x_i \quad (\text{Formel 3: Mittelwert})$$

Die Varianzen s_1 und s_2 werden mit Formel 4 berechnet.

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (\text{Formel 4: Varianz})$$

Der ermittelte t-Wert wird anschließend mit den in der Literatur hinterlegten kritischen t-Werten t_{krit} aus der t-Tabelle für zweiseitige Signifikanztests [125] verglichen. Dieser legt einen Ablehnungsbereich der Nullhypothese fest, welcher sich aus den Freiheitsgraden und dem festgelegten Signifikanzniveau zusammensetzt. Das Signifikanzniveau α gibt die Irrtumswahrscheinlichkeit vor. Meist beträgt es 5 %, also gilt $\alpha = 0,05$ [126]. Die Freiheitsgrade df (engl.: degrees of freedom) ergeben sich aus der Anzahl der frei wählbaren Messwerte und werden mit Formel 5 berechnet. n_1 und n_2 geben auch hier wieder die Anzahl der betrachteten Messwerte jeder Stichprobe an.

$$df = n_1 + n_2 - 2 \quad (\text{Formel 5: Freiheitsgrad})$$

Sofern $t < t_{krit}$ gilt die Nullhypothese H_0 als angenommen. Dies würde bedeuten, dass zwischen den Mittelwerten der Stichproben kein signifikanter Unterschied vorliegt. Sofern $t > t_{krit}$ ist der t-Wert im Ablehnungsbereich der Nullhypothese, dann gilt die Alternativhypothese H_1 als angenommen und beide Mittelwerte unterscheiden sich signifikant. Falls ein negativer t-Wert ermittelt wird, liegt der kritische t-Wert ebenfalls im negativen Bereich. Dann gilt für die Nullhypothese $-t > -t_{krit}$ und für die Alternativhypothese $-t < -t_{krit}$. Die Alternativhypothese trifft dann zu, wenn der errechnete t-Wert weiter im negativen Bereich liegt als der kritische t-Wert. Voraussetzung für die Anwendung dieses Signifikanztests ist eine Dreifachbestimmung ($n = 3$) der Versuchsreihen und die Normalverteilung der jeweiligen Stichproben [125].

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Methodenentwicklung

5.1.1 Entwicklung einer Methode zur Keimzahlbestimmung

Zu Beginn der Methodenentwicklung erfolgte der Vergleich verschiedener Methoden zur Bestimmung der Lebendzellzahl während der Versuche. Wie bereits in einem vorangegangenen Kapitel erwähnt, wurde die Bestimmung mittels Zählkammer schon nach wenigen Versuchen verworfen, da keine geeignete Zählkammer für Bakterien vorhanden war, die Methode recht zeitaufwändig ist und durch Tröpfchenbildung bei lipophilen Stoffen ohnehin nur von eingeschränktem Nutzen war.

Da für die Testung der Hilfsstoffe bei $n = 3$ sehr viele Proben anfallen, muss die gewählte Methode nicht nur stabile Ergebnisse liefern, sondern auch schnell und unkompliziert durchführbar sein.

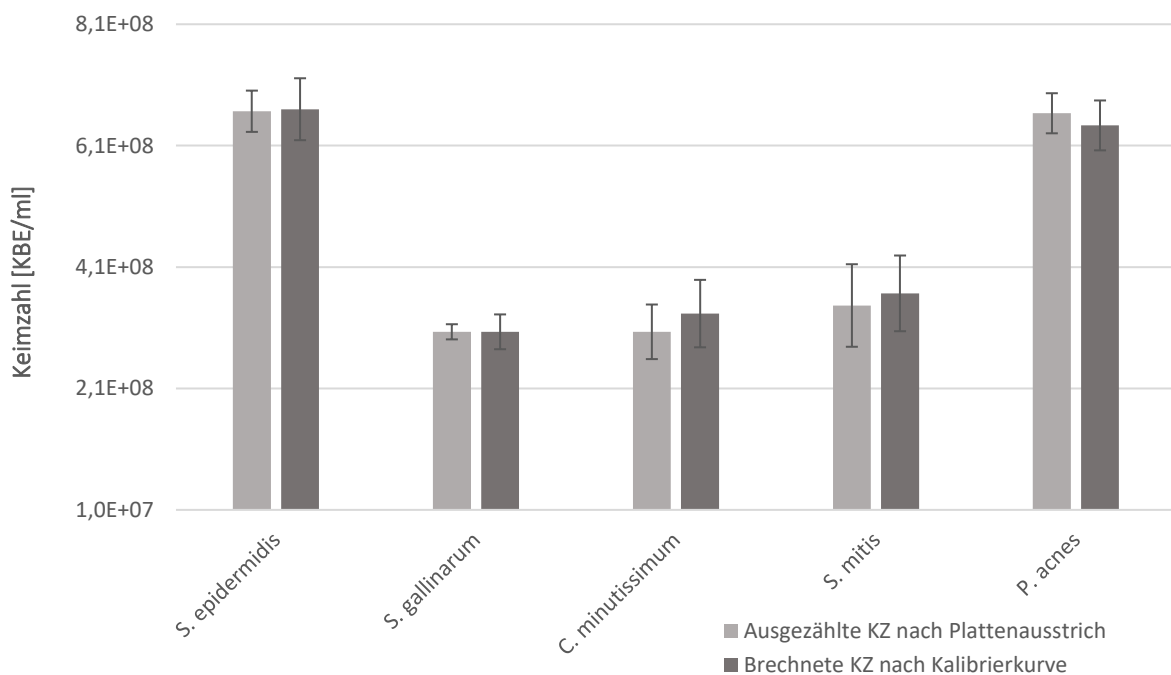


Abbildung 20: Vergleich von nach Drigalski-Plattenausstrich ausgezählter Keimzahl mit über die Kalibrierkurve berechneter Keimzahl

Es ist deutlich zu erkennen, dass mit beiden Bestimmungsmethoden annähernd äquivalente Werte ermittelt wurden. Die über die Kalibrierkurve bestimmten Keimzahlen liegen etwas höher als die Experimentellen. Die Wahrscheinlichste Ursache ist, dass bei der OD-Messung sowohl lebende als auch tote Zellen erfasst werden. Beim Ausstrichverfahren werden hingegen nur die lebenden Zellen ausgezählt.

Diese Methoden sind nur bei Teststoffen mit homogener Suspension möglich und kommen daher bei der Testung der hydrophilen Substanzen zum Einsatz. Bei lipophilen Stoffen erfolgte das Abschwemmen mit NaCl vom Medium schwer und meist unvollständig. Zudem wurden die Trübungsmessungen durch Öltropfen verfälscht, welche ebenfalls erfasst wurden und falsch hohe Werte generierten. Daher wurde der Fokus in den Folgeversuchen zunächst auf die hydrophilen Stoffe gelegt und die gewählte Methode für die Testung der lipophilen Stoffe adaptiert.

5.1.2 Entwicklung von geeigneten Medien

Bevor mit der Etablierung des eigentlichen Testverfahrens begonnen werden konnte, mussten zunächst geeignete Medien zur reproduzierbaren Vervielfältigung, Durchführung und Auswertung der Versuche gefunden werden. Zum Erreichen der Projektziele ist der Vergleich des Wachstums von Mikroorganismen unter Idealbedingungen und bei stark reduziertem Nährstoffangebot nötig. So kann untersucht werden, ob die Keime in der Lage sind die applizierten Teststoffe zu verstoffwechseln. In einigen Vorversuchen wurde die Verwendung von Bouillon zur Anzucht der Keime getestet. Hier zeigte sich, dass die erzielten Zellzahlen sehr starken Schwankungen unterlagen. Zudem sinken die Zellen im Laufe der Inkubationszeit von 24 bis 48 h auf den Boden ab, wohingegen sich die lipophilen Teststoffe an der Oberfläche abscheiden. So ist schon wenige Minuten nach dem Durchmischen kein Kontakt mehr zwischen Zellen und Teststoff gegeben. Ebenso bietet sich die Ähnlichkeit von Festmedium und Hautoberfläche zur Applikation von Substanzen an.

- Ein zur Anzuchtung und Vervielfältigung geeignetes Medium sollte stabil eine hohe Anzahl von Keimen für die eigentlichen Versuche liefern.
- Für die Keimzahlbestimmung wurde ein Agar gesucht, auf welchem sich deutlich abgrenzbare Einzelkolonien ausbilden, die eigentliche Auszählung wird durch ein transparentes Medium wesentlich vereinfacht. Dazu sollte die Herstellung aufgrund der Menge der benötigten Platten möglichst einfach und kostengünstig sein.
- Das für die Stofftests benötigte Minimalmedium sollte für die Testung aller Stoffe geeignet sein, sowie schnell und kostengünstig in großer Menge produziert werden können. Das durch ein gezielt reduziertes Nährstoffangebot verminderte Keimwachstum sollte durch die Applikation von Stoffen auf die Oberfläche des Agars deutlich gesteigert werden können.
- Als Ziel für das zu entwickelnde Minimalmedium mit stark reduziertem Nährstoffangebot sollte durch Addition von Stoffen auf die Oberfläche die Steigerung des Wachstums [Keimzahl/ml] um mindestens eine Zehnerpotenz erzielt werden.

Für jeden der Keime müssen die individuellen Bedürfnisse identifiziert und erfüllt werden. Zudem muss untersucht werden, ob der jeweilige Mikroorganismus in der Lage ist die auf die Agaroberfläche applizierten Chemikalien zu verstoffwechseln. Zur Vervielfältigung und Auszählung mittels Drigalski-Plattenausstrichverfahren nach Anfertigen einer Verdünnungsreihe wurden Petrischalen mit 7,5 cm Durchmesser verwendet. Für die Versuchsansätze mit Minimalagar und die Testung der Hilfsstoffe wurden 5 cm durchmessende Petrischalen verwendet.

5.1.2.1 *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus gallinarum* & *Corynebacterium minutissimum*

Wie bereits in Vorversuchen gezeigt, ist CASO-Agar bei den drei genannten Keimen zur Vervielfältigung geeignet. Nach 24 h Inkubation bei 38 °C zeigte sich deutlicher Bewuchs, anschließend wurde die Platten mit 10 ml 0,9%iger NaCl-Lösung abgeschwemmt. Der Vereinzelungsausstrich auf CASO-Agar zeigte klar abgrenzbare Kolonien auf transparentem Agar, welche sich gut auszählen ließen. Daher wurde der in der Literatur empfohlene CASO-Agar [127] sowohl zur Vervielfältigung als auch zur Keimzahlbestimmung (KZB) für die weiteren Versuche verwendet.

Um einen geeigneten Minimalagar zu finden, wurde auf Basis der Zusammensetzung von CASO-Agar mit der Herstellung von drei Agarplatten mit variierendem Substratangebot begonnen.

Anhand der möglichen Nährstoffquellen wurden folgende Ansätze vorbereitet:

1. CASO-Agar nach Originalrezeptur (Ag +P -L)
2. CASO-Agar ohne eingearbeitetes Pepton, aber mit Laktose (Ag -P +L)
 - 2.1 CASO-Agar ohne Pepton mit 600 µl 10%iger Pepton-Lösung auf der Oberfläche (Ag -P /+P)
3. CASO-Agar ohne eingearbeitetes Pepton und ohne Laktose (Ag -P -L)

Die Agarplatten wurden mit 100 µl der abgeschwemmten Keimsuspension beimpft und die Platten für 24 h bei 38 °C im Brutschrank inkubiert. Anschließend erfolgte das Abschwemmen mit 5 ml 0,9%iger NaCl-Lösung unter vorsichtiger Manipulation mit dem Drigalski-Spatel und das Überführen der Suspension in ein verschließbares Reagenzglas. Die Ergebnisse der Messung der Optischen Dichte (OD) im UV/VIS-Spektrometer bei 600 nm sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst:

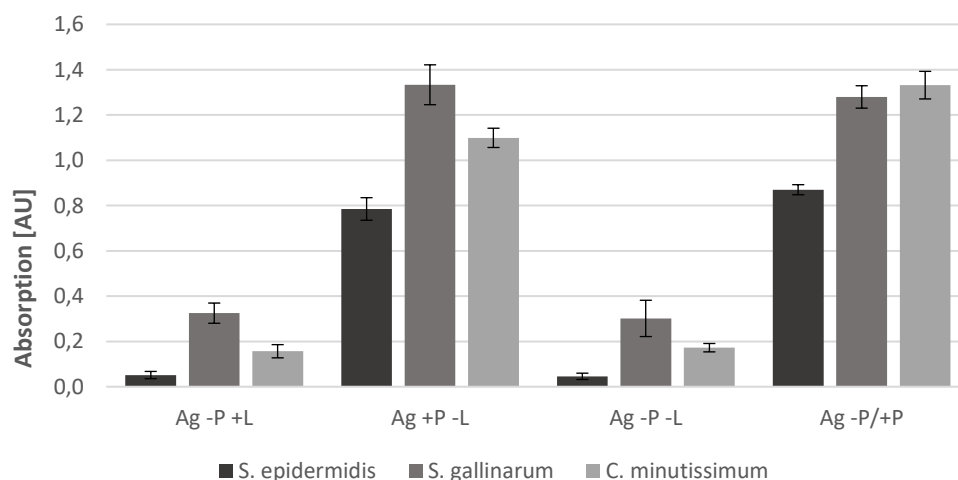


Abbildung 21: Ergebnisse der OD-Messung von abgeschwemmten Keimsuspensionen verschiedener Agar-Zusammensetzungen

Die Grafik zeigt deutlich, dass bei allen drei Keimen die Zugabe von Pepton zum Agar oder auf die Oberfläche eine deutliche Erhöhung der optischen Dichte zur Folge hat. Die detektierten Abweichungen in den Werten der drei Keime zueinander sind auf unterschiedliche Zellkonzentrationen in den Ausgangssuspensionen zurückzuführen. So lag die OD von *Staph. epidermidis* bei 1,85 AU, die von *Staph. gallinarum* bei 2,46 AU und die von *Coryne. Minutissimum* bei 2,23 AU. In der Literatur fand sich auch die Bestätigung, dass das Eiweißsubstrat Pepton als grundlegende Nährstoffquelle bei der Kultivierung der meisten Bakterien eingesetzt wird [128]. Die Zugabe bzw. der Mangel von Laktose hatte keinen signifikanten Effekt. Daher ist die erhöhte OD vermutlich als direkte Folge eines erhöhten Keimwachstum zu betrachten. In einem weiteren Versuch wurde neben der Messung der OD noch eine zusätzliche KZB durchgeführt. Diese bestätigte die vermutete Korrelation.

Hier zeigte sich zunächst in mehreren Wiederholungen wenig bis kein Wachstum bei *Corynebacterium minutissimum*. Als mögliche Ursache wurde der Umstand erwägt, dass für die Zugabe auf den Minimalagar lediglich Pepton aus Casein gewählt wurde, im CASO-Agar allerdings auch Pepton aus Soja enthalten ist. Sobald die zugegebene Lösung $\frac{1}{4}$ Pepton aus Soja enthielt, wurde stabil eine zufriedenstellende Wachstumssteigerung erzielt, welche sich durchgehend im Bereich der in Abbildung 21 dargestellten Werte bewegte. Bei *Staph. epidermidis* und *Staph. gallinarum* wurde kein Pepton aus Soja verwendet, da schon bei Pepton aus Casein eine ausreichende Wachstumssteigerung erzielt werden konnte.

In weiteren Versuchen wurde mit verschiedenen Peptonkonzentrationen bis 60 % gearbeitet und jeweils eine deutliche Wachstumssteigerung beobachtet. Allerdings zeigten sich bei einer Messung der osmotischen Drücke sehr hohe Werte bei den höheren Konzentrationen, so dass Schäden an den Zellen zu erwarten gewesen wären. Bei einer Konzentration von 10 % Pepton wurden hingegen keine Zellschäden erwartet. Da zudem bei dieser Konzentration bereits eine zufriedenstellende Wachstumssteigerung zu verzeichnen war, wurde diese Peptonkonzentration für die weiteren Versuche gewählt.

Es erfolgte die Festlegung auf ein Minimalmedium -P +L, so dass lediglich Laktose als Kohlenstoffquelle den minimalsten Nährstoffbedarf abdeckt [129].

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	20
Natriumchlorid	5
Laktose	10
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 21: Zusammensetzung des CASO-Mangelagars

5.1.2.2 *Streptococcus mitis*

Erste Tests für einen Nähragar zur Vervielfältigung erfolgten mit dem bereits zuvor entwickelten Mangelagar, CASO-Agar, Columbia-Blutagar (CBA) und CASO-Agar mit 200 µl Schafblut auf der Oberfläche. Analog zum Vorgehen bei den vorherigen Keimen wurde eine selektierte Einzelkolonie mit einer Impföse auf den Agaplaten ausgestrichen. Nach 24 h Inkubation bei 38 °C zeigte sich noch kein deutlicher Bewuchs, nach 48 h wurde der entstandene Keimrasen als ausreichend beurteilt. Die Platten wurden mit 10 ml 0,9%iger NaCl-Lösung abgeschwemmt und die OD gemessen. Parallel dazu erfolgte die Keimzahlbestimmung über eine Verdünnungsreihe. Aufgrund der Menge an möglichen Kombinationen erfolgte zunächst lediglich eine Einfachbestimmung jeder Versuchsreihe ($n = 1$). Als sich hier stark schwankende Ergebnisse zeigten, wurde bei den späteren Versuchen auf die sonst übliche Dreifachbestimmung ($n = 3$) umgeschwenkt.

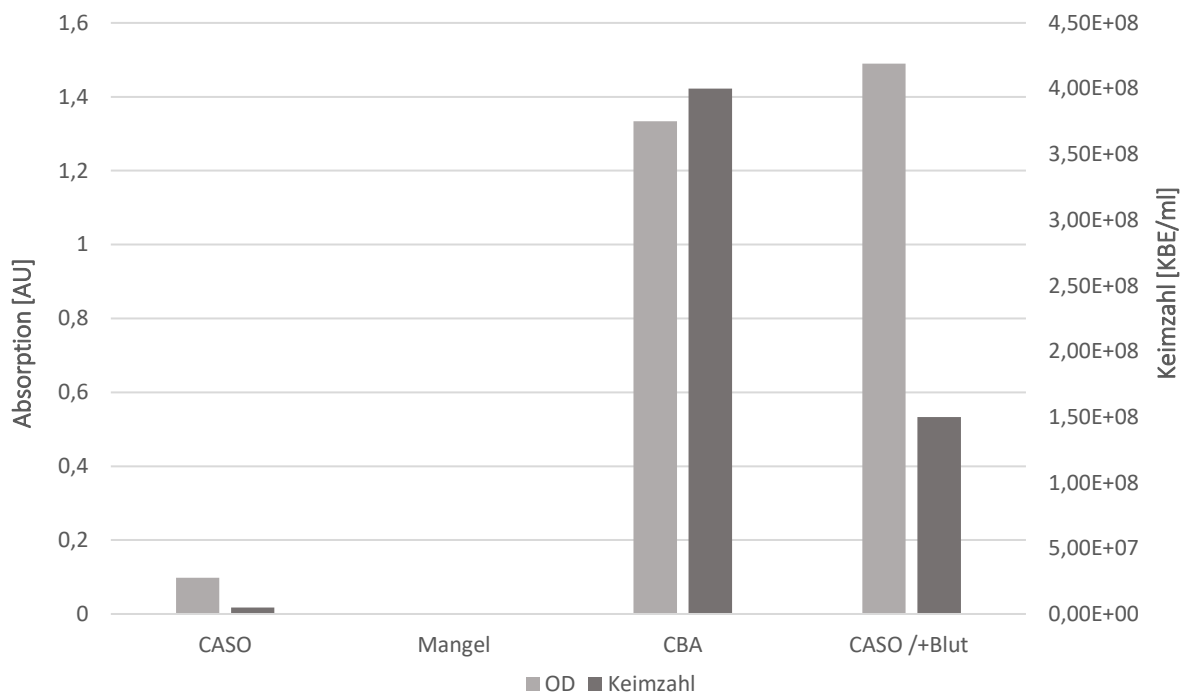


Abbildung 22: Vergleich von Keimzahl und OD nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben

In der oben gezeigten Grafik ist deutlich zu erkennen, dass die Keimzahl des CBA und des CASO-Agars mit appliziertem Blut bei beiden Messmethoden bei zufrieden stellenden 10^8 KBE/ml liegt. Allerdings ist der OD-Wert des Keim-Blut-Gemisches sehr unzuverlässig, da die Blutbestandteile das Ergebnis verfälschen können. Auf dem zuvor verwendeten Mangelagar zeigte sich kein messbares Wachstum. Nicht zu erklären sind die abweichenden Werte von OD und KZB.

Aufgrund der hohen erreichten Keimzahl, der leichten Herstellung und des sauberen Abschwemmens wurde für die Vervielfältigung auf den ebenfalls in der Literatur empfohlenen Blutagar zurückgegriffen [130].

Allerdings eignet sich der CBA nur bedingt zur Auszählung der KBE, da die Kolonien auf dem nahezu blickdichten Medium nur schwer zu erkennen sind. Daher erfolgte mittels einer sterilen Impföse ein Vereinzelausstrich auf CASO- und Mitis Salivarius Agar (MSA). Der MSA ist ein speziell auf Streptokokken und Enterokokken ausgelegter Selektivagar [130]. Nach 48 h Inkubation hatten sich auf dem CBA gut abgrenzbare Einzelkolonien gebildet, auf dem CASO-Agar waren keine Kolonien erkennbar.

Der Vereinzelausstrich auf MSA zeigte klar abgrenzbare Kolonien auf transparentem Agar, welche sich gut auszählen ließen. Aufgrund der hohen Kosten der Bestandteile wurde nach weiteren Alternativen gesucht. Zunächst erfolgt die Zugabe von Trypan-Blau und Crystal-Violett zu CASO-Agar. Bei diesem Versuch zeigten sich aber auch nach 48 h Inkubation keine Einzelkolonien. Daher wurde die Verwendung von CASO-Agar bei *Streptococcus mitis* verworfen. Eine weitere Alternative ist Agar 92, welcher ebenfalls von der DSMZ [127] empfohlen wird. Er ist einfacher und kostengünstiger herstellbar als MSA.

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	20
CASO-Bouillon (siehe Tabelle 15)	30
Hefeextrakt	15
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 22: Zusammensetzung des Agars 92

Bestandteile	Menge [g]
Pepton aus Casein	17
Pepton aus Sojamehl	3
D(+)-Glucose	2,5
NaCl	5
K ₂ HPO ₄	2,5
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 23: Zusammensetzung des CASO-Bouillons

Ein Vereinzelausstrich mittels Impföse zeigte nach 48 h Inkubation kleine Kolonien, welche auf dem transparenten Agar gut auszählbar waren. Daher wurde Agar 92 für die weiteren Versuche zur KZB verwendet.

Um einen geeigneten Minimalagar zu finden, wurde auf Basis von etablierten Rezepturen (CASO, CBA, MSA) mit der Herstellung von Agarplatten mit variierendem Substratangebot begonnen.

In der Literatur wird Potassium tellurite als Selektionsfaktor für Streptokokken erwähnt [131], allerdings durch eine Inhibition des Wachstum anderer Keime. Die Möglichkeit einer wachstumsfördernden Wirkung wurde in einem weiteren Versuch überprüft.

1. CASO-Agar
 - 1.1 CASO- Agar nach Originalrezeptur
 - 1.2 CASO-Agar mit Potassium tellurite im Agar (CASO +Pot)
2. Eigener Blutagar (EBA) nach selbst zusammengestellter Rezeptur (1 l CASO + 50 ml Blut, welches nach dem Autoklavieren hinzugefügt wurde)
3. Mitis Salivarius Agar (MSA)
 - 3.1 MSA nach Originalrezeptur
 - 3.2 MSA ohne Potassium tellurite im Agar (MSA -Pot)
 - 3.3 MSA -Pot mit nachträglich auf die Oberfläche zugefügtem Potassium tellurite (MSA -Pot /+Pot)

Die verschiedenen Ansätze wurden in den entsprechenden Petrischalen vorbereitet und die Agarplatten mit 100 µl der abgeschwemmten Keimsuspension beimpft. Nach Inkubation für 48 h bei 38 °C im Brutschrank erfolgte das Abschwemmen mit 5 ml 0,9%iger NaCl-Lösung unter vorsichtiger Manipulation mit dem Drigalski-Spatel und das Überführen der Suspension in ein verschließbares Reagenzglas. Die Ergebnisse der Messung der Optischen Dichte (OD) im UV/VIS-Spektrometer bei 600 nm und der Keimzahlbestimmung sind in Abbildung 23 zusammengefasst:

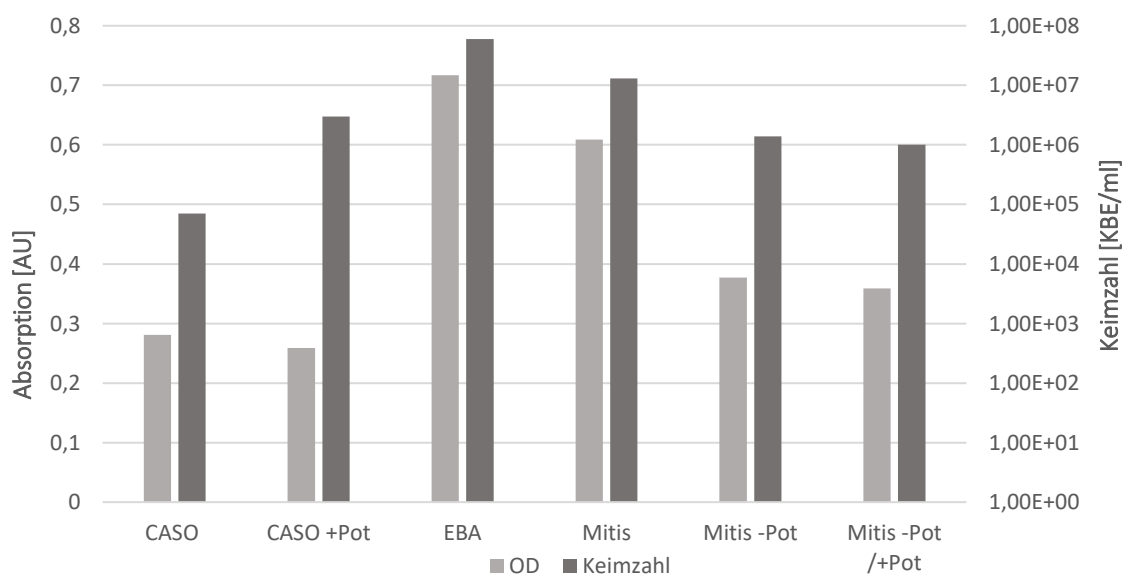


Abbildung 23: Vergleich von Keimzahl und OD nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben

Die Säulendiagramme zeigen, dass sowohl beim CASO-Agar als auch beim MSA eine deutliche Wachstumssteigerung um mehr als eine Zehnerpotenz sichtbar wird, wenn Potassium tellurite im Agar enthalten ist. Diese Differenz spiegelt sich beim CASO-Agar allerdings nicht bei Messung der OD wider. Die Zugabe von Potassium tellurite auf den Agar zeigte keinen Effekt. Dies lässt den Rückschluss zu, dass Potassium tellurite nur dann einen wachstumssteigernden Effekt hat, wenn es im Agar verarbeitet wird. Daher wurden keine weiteren Versuche mit der Zugabe von Potassium tellurite auf die Agaroberfläche durchgeführt.

Ausgehend von den guten Wachstumsergebnissen bei CASO, EBA und MSA wurden diese Rezepturen als Vorbild für die nächsten Versuchsreihen verwendet und ein selbst zusammengestellter Mitis Mangelagar (MMA) entwickelt.

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	20
Sucrose	50
Dextrose	1
Kaliumdihydrogenphosphat	4
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 24: Zusammensetzung des selbst zusammengestellten Mitis-Mangelagars (MMA)

1. MSA
2. EBA
3. CASO-Agar
 - 3.1 CASO- Agar nach Originalrezeptur
 - 3.2 CASO- Agar mit 50 g/l Sucrose im Agar (CASO +Suc)
 - 3.3 CASO-Agar mit 200 µl 6%iger Sucrose-Lösung auf der Oberfläche (CASO /+Suc)
4. MMA
 - 4.1 MMA nach Originalrezeptur
 - 4.2 MMA mit 200 µl 5%igem Rinderserum auf der Oberfläche (MMA /+Rind)
 - 4.3 MMA mit 100 µl 10%iger Potassium tellurite-Lösung auf der Oberfläche (MMA /+Pot)
 - 4.4 MMA mit 200µl 10%iger Pepton-Lösung aus Casein auf der Oberfläche (MMA /+P)
 - 4.5 MMA mit 100 µl Schafsblut und 200 µl 10%iger Casein Pepton-Lösung auf der Oberfläche (MMA /+Blut +P)

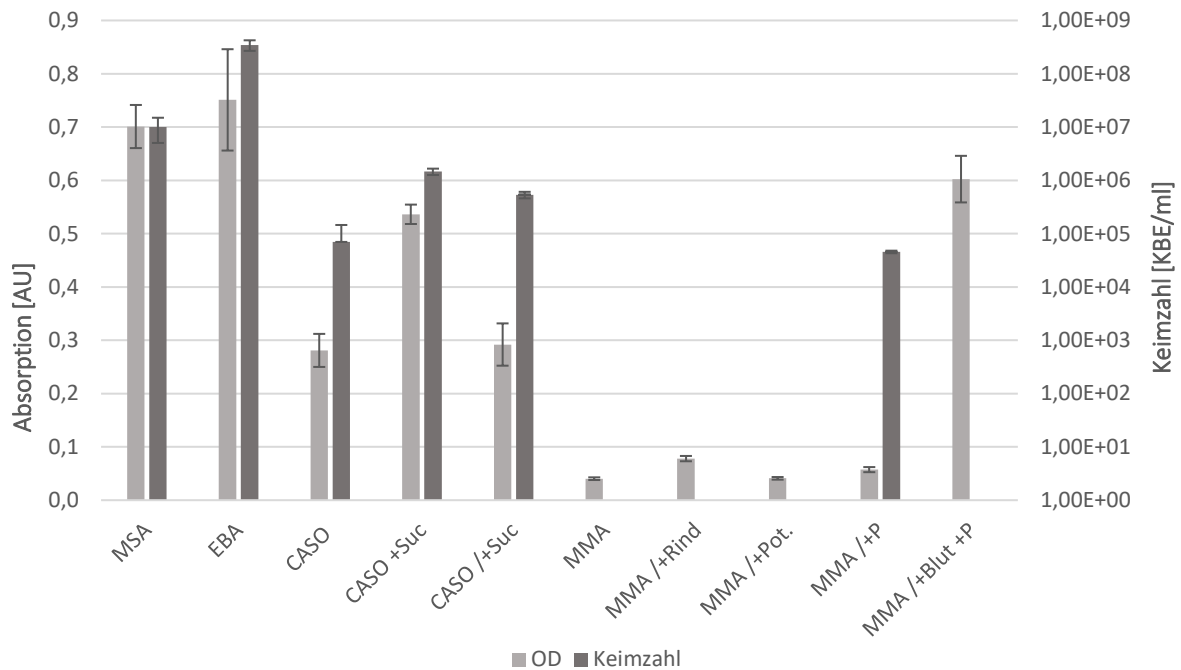


Abbildung 24: Vergleich von Keimzahl und OD nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben

Es ist deutlich zu sehen, dass die OD-Werte bei im CASO-Agar verarbeiteter Sucrose deutlich höher sind, als wenn diese fehlt bzw. auf die Oberfläche zugegeben wurde. Dieses Ergebnis spiegelte sich in der Keimzahlbestimmung allerdings nur in geringem Ausmaß wider. Der selbst zusammengestellte MMA zeigte durchweg geringe OD-Werte und eine kaum bestimmbare KZ. Der auffallend hohe Ausschlag bei auf die Oberfläche zugegebenem Blut ist durch eine verfälschte Messung erklärbar, da das Blut die Keimsuspension zusätzlich trübt. Die hohe Keimzahl bei MMA /+P konnte in weiteren Versuchen nicht reproduziert werden.

Aufgrund der einfachen und günstigen Herstellung erfolgte die nächste Versuchsreihe mit CASO-Agar und Sucrose sowie Potassium tellurite.

1. CASO-Agar

1.1 CASO- Agar nach Originalrezeptur

1.2 CASO- Agar mit 5%iger Sucrose-Lösung im Agar (CASO +Suc)

1.3 CASO- Agar mit 5%iger Sucrose-Lösung und 0,1 % Potassium tellurite im Agar (CASO +Suc +Pot)

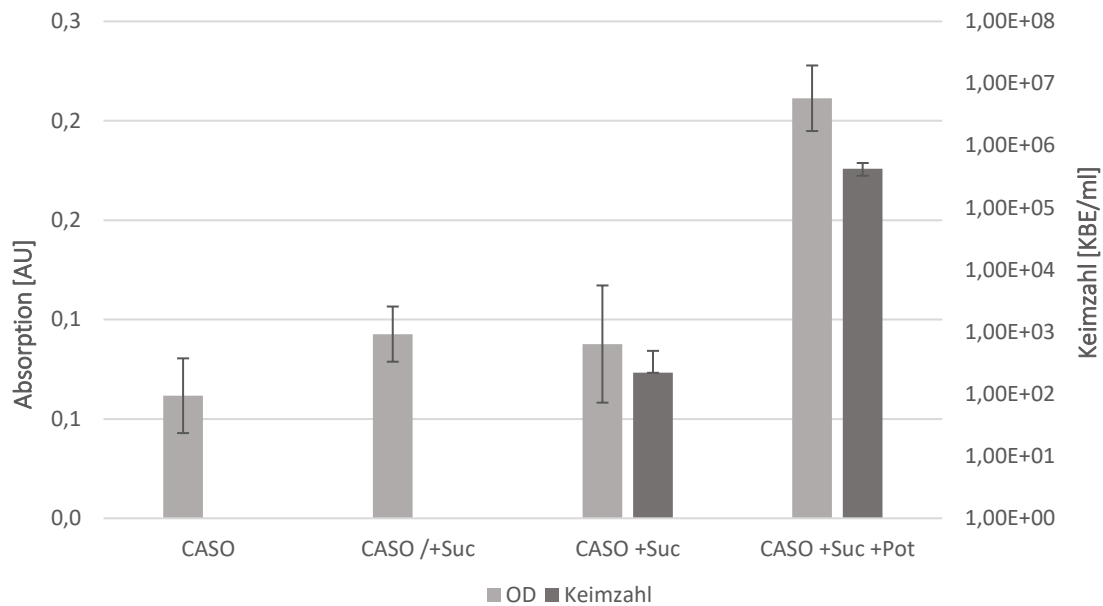


Abbildung 25: Vergleich von Keimzahl und OD nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben

Obwohl in den Vorversuchen auf CASO-Agar Zellkonzentrationen zwischen 10^4 und 10^6 KBE/ml nachgewiesen wurden, ist im oben gezeigten Diagramm kein Wachstum erkennbar. Nicht erklärbar ist, woher die gemessenen OD-Werte kommen; möglich wären tote Zellen oder Verunreinigungen durch abgelösten Agar. Eine deutliche Steigerung ist hingegen bei im CASO-Agar eingearbeiteter Sucrose bzw. Sucrose und Potassium tellurite erkennbar. Allerdings ist die gemessene Keimzahl von 10^2 sehr niedrig, wodurch bereits geringe Schwankungen deutliche Fehler hervorrufen können.

Ein weiterer möglicher Ansatz ist Agar 92, welcher bereits bei der Auszählung der KZ verwendet wurde und von der DSMZZ des Leibniz Institutes empfohlen wird [127]. Die Zusammensetzung ist in Tabelle 15 aufgelistet, ein Bestandteil ist CASO-Bouillon.

1. Agar 92 nach Originalrezeptur
2. Agar 92 ohne eingearbeitetes Hefeextrakt (Ag92 -H)
 - 2.1 Mit 200 μ l 5%igem Hefeextrakt auf der Oberfläche (Ag92 -H /+H)
3. Agar 92 ohne eingearbeitetes Hefeextrakt und Pepton (Ag92 -H -P)
 - 3.1 Mit 200 μ l 5%igem Hefeextrakt auf der Oberfläche (Ag92 -H -P /+H)
 - 3.2 Mit 200 μ l 10%igem Pepton aus Casein auf der Oberfläche (Ag92 -H -P /+P)
 - 3.3 Mit 200 μ l 5%igem Hefeextrakt und 200 μ l 10%iger Pepton-Lösung aus Casein auf der Oberfläche (Ag92 -H -P /+H +P)

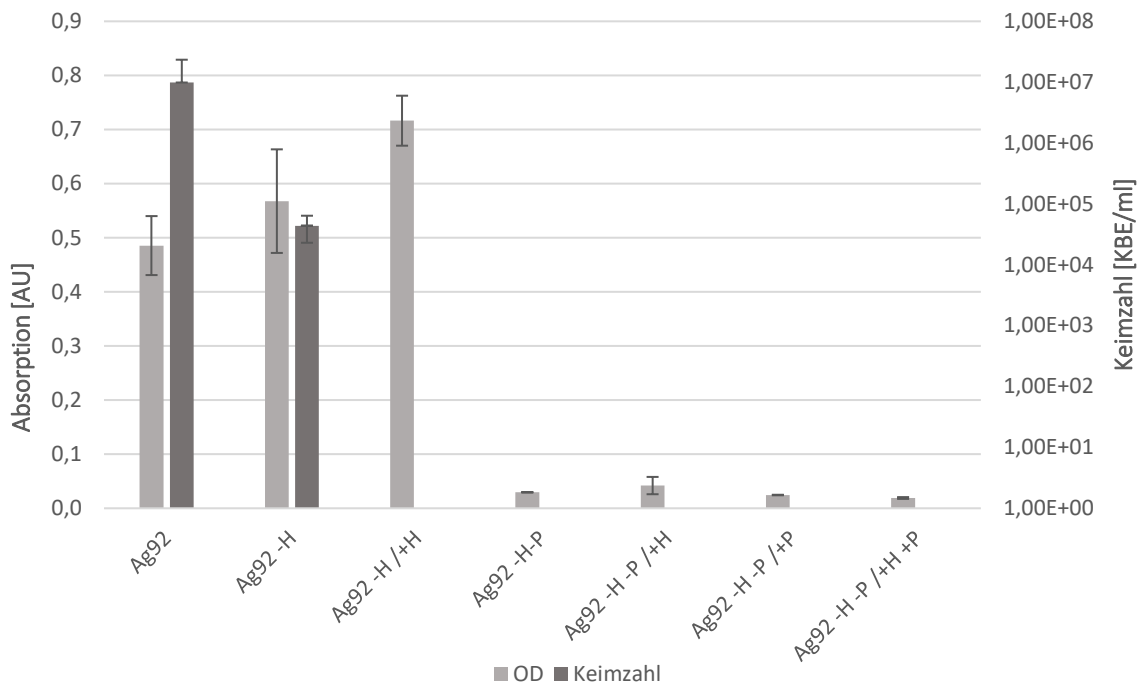


Abbildung 26: Vergleich von Keimzahl und OD nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben

Die höchste Keimzahl findet sich auf Agar 92 nach Originalrezeptur. Bei Agar ohne Hefeextrakt ist eine deutlich verringerte Keimzahl erkennbar, allerdings liegt die OD nahezu beim gleichen Wert. Bei nachträglich auf der Oberfläche zugegebenem Hefeextrakt zeigte die OD eine deutliche Steigerung, allerdings war keine KZB möglich, da die Platte eingetrocknet war. Dieser Versuch wurde anschließend wiederholt. Bei den anderen Ansätzen zeigte sich kein Wachstum und nur eine sehr geringe OD, daher wurden diese nicht weiterverfolgt.

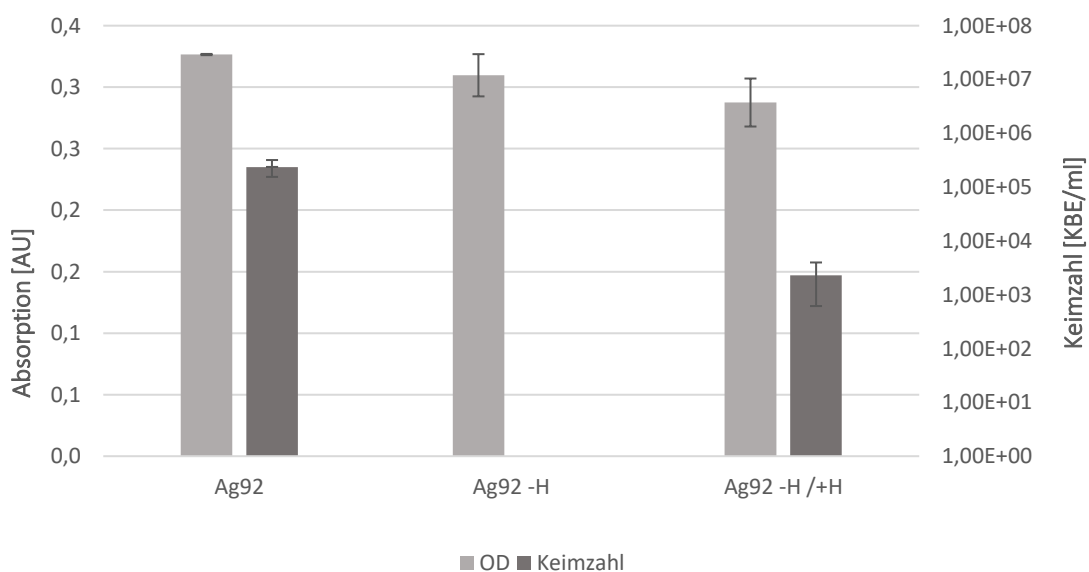


Abbildung 27: Wiederholung des Versuches mit Agar 92 und Hefe

Auch hier sind wieder deutlich abweichende Ergebnisse im Vergleich zu den Voruntersuchungen aufgetreten. Trotz nahezu identischer OD-Werte sind die Keimzahlen erneut stark schwankend und wesentlich niedriger als im Vorversuch.

An dieser Stelle wurden die Versuche mit *Streptococcus mitis* abgebrochen. Es konnten keine stabil reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden. Der Bakterienstamm wurde für die Versuche eigens bestellt und kann daher auch nicht zu alt gewesen sein. Da der Keim hauptsächlich im Mund- und Rachenraum vorkommt und nicht an der Pathogenese der oben aufgeführten Hauterkrankungen beteiligt ist, ist seine Bedeutung nicht allzu hoch einzustufen. Aufgrund der Kosten und des Zeitaufwandes, die für weitere Versuche nötig wären, wurde die Testung der Hilfsstoffe ohne *Streptococcus mitis* durchgeführt.

Sollten weitere Versuche angestrebt werden, so ist die sinnvollste Herangehensweise sicherlich die Variation von CASO-Agar mit Sucrose, Potassium tellurite oder Hefeextrakt, sowie erneute Versuche mit Agar 92.

5.1.2.3 *Propionibacterium acnes*

Der Empfehlung des Leibniz Institutes [127] folgend wird für *Propionibacterium acnes* zunächst der Propioni-Agar getestet. Analog zum Vorgehen bei den vorherigen Keimen wurde eine selektierte Einzelkolonie mit einer Impföse auf den Agaplaten ausgestrichen. Nach 24 h Inkubation bei 38 °C unter anaeroben Bedingungen zeigte sich deutlicher Bewuchs, anschließend wurde die Platten mit 10 ml 0,9%iger NaCl-Lösung abgeschwemmt. Der Vereinzelausstrich auf Propioni-Agar zeigte klar abgrenzbare Kolonien auf transparentem Agar, welche sich gut auszählen ließen. Daher wurde der in der Literatur empfohlene Propioni-Agar sowohl zur Vervielfältigung als auch zur KZB für die weiteren Versuche verwendet.

Um einen geeigneten Minimalagar zu finden, wurde auf Basis der Zusammensetzung von Propioni-Agars (PA) mit der Herstellung von Agarplatten mit variierendem Substratangebot begonnen.

Anhand der möglichen Nährstoffquellen wurden folgende Ansätze vorbereitet:

1. Propioni-Agar nach Originalrezeptur (PA)
2. Propioni-Agar ohne eingearbeitetes Hefeextrakt (PA -H)
 - 2.1 Mit 300 µl 5%igem Hefeextrakt auf der Oberfläche (PA -H /+H)
3. Propioni-Agar ohne eingearbeitetes Hefeextrakt und mit der halben Konzentration von Pepton aus Casein (PA -H $\frac{1}{2}$ P)
 - 3.1 Mit 300 µl 5%igem Hefeextrakt auf der Oberfläche (PA -H $\frac{1}{2}$ P /+H)
 - 3.2 Mit 600 µl 10%iger Pepton-Lösung aus Casein auf der Oberfläche (PA -H $\frac{1}{2}$ P /+P)

3.3 Mit 300 µl 5%igem Hefeextrakt und 600 µl 10%iger Pepton-Lösung aus Casein auf der Oberfläche (PA -H $\frac{1}{2}$ P /+H +P)

Die Agarplatten wurden mit 100 µl der abgeschwemmten Keimsuspension beimpft und die Platten unter anaeroben Bedingungen für 48 h bei 38 °C im Brutschrank inkubiert. Anschließend erfolgte das Abschwemmen mit 5 ml 0,9%iger NaCl-Lösung unter vorsichtiger Manipulation mit dem Drigalski-Spatel und das Überführen der Suspension in ein verschließbares Reagenzglas. Die Ergebnisse der Messung der Optischen Dichte (OD) im UV/VIS-Spektrometer bei 600 nm und der Keimzahlbestimmung sind in der folgenden Abbildung zusammengefasst:

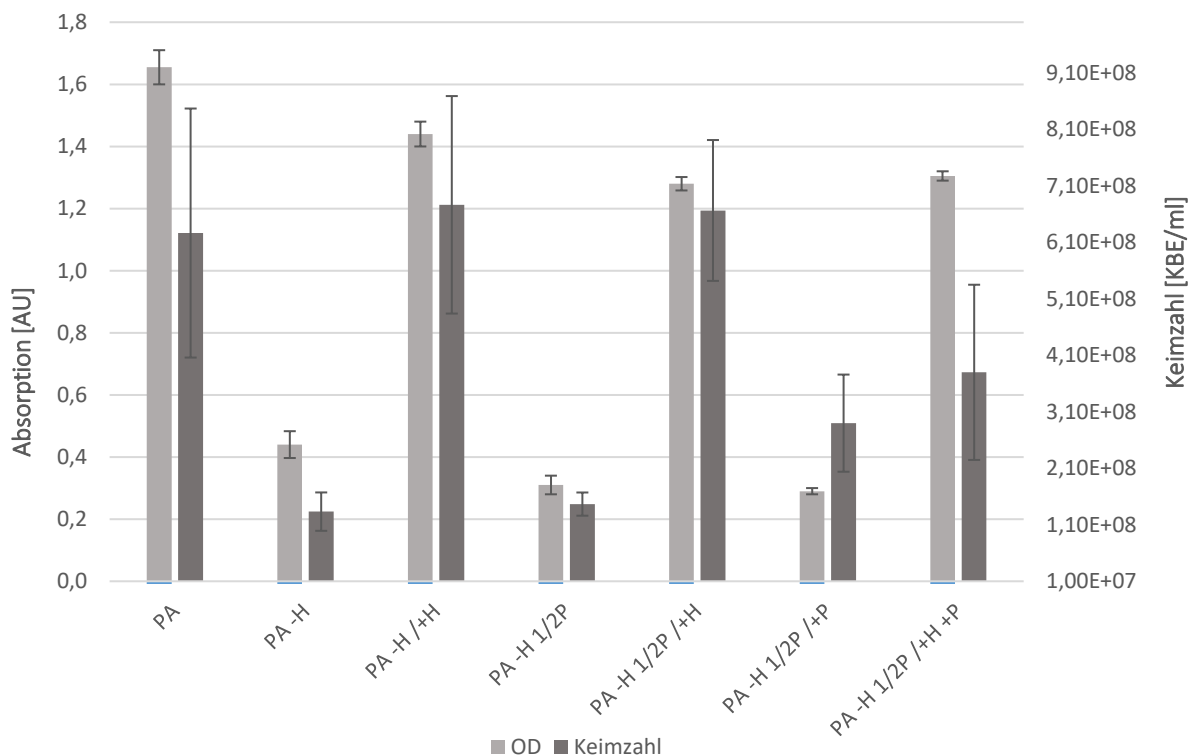


Abbildung 28: Vergleich von Keimzahl und OD nach 48 h Wachstum auf verschiedenen Agarproben

Wie in der Abbildung deutlich zu erkennen ist, liegt das stärkste Wachstum auf dem Propioni-Agar (PA) und PA -H mit nachträglich auf der Oberfläche zugegebener Hefe vor. Das geringste Wachstum liegt bei Agar ohne Hefe vor. Bei allen Kombinationen ist durch die nachträgliche Zugabe von Hefe eine deutliche Wachstumssteigerung aufgetreten. Im nachfolgenden Kapitel wird die Korrelation zwischen OD und Keimzahl erläutert [132]. Obwohl im Vergleich zwischen KZB und OD teilweise starke Schwankungen zu erkennen sind lässt dies den Rückschluss zu, dass Hefe die Hauptnährstoffquelle darstellt. Bei der Kombination

PA -H $\frac{1}{2}$ P liegt eine deutlich reduzierte Zellkonzentration vor, KZB und OD liegen dicht zusammen. Durch die Zugabe von 300 μ l 5%igem Hefeextrakt wurde eine deutliche Wachstumssteigerung erzielt, auch hier liegen KZB und OD dicht zusammen.

Daher erfolgte die Festlegung auf dieses Medium als Mangelagar für *Propionibacterium acnes*.

Bestandteile	Menge [g]
Agar Agar	20
Casein-Pepton	5
DL-Natriumlactat 50%	15,7
Aqua dest.	ad. 1000

Tabelle 25: Zusammensetzung des Propioni-Mangelagars

5.1.3 Erstellen empirisch ermittelter Kalibrierkurven

Zur quantitativen Auswertung der photometrisch erfassten OD-Werte erfolgte die Erstellung von individuellen Kalibrierkurven mit $n = 3$ für die einzelnen Keime. Die tatsächliche Lebendzellzahl und die OD korrelieren mit hohen Größenunterschieden, daher wurde eine logarithmische Skalierung der X-Achse gewählt.

Die Erstellung der Kalibrierkurve erfolgte über zwei Kalibrierfunktionen, welche unterschiedliche Messbereiche abbilden. Zur Veranschaulichung wurden diese in den folgenden Grafiken mit verschiedenen Farben hinterlegt. Im Bereich von Kurve 1 (schwarz) liegen die erfassten Werte sehr dicht zusammen, eine geringe Schwankung der OD korreliert mit einem großen Unterschied in der Keimzahl. Bei Funktion 2 (grau) bestehen deutlich größere Abstände zwischen den Messwerten. Große Veränderungen der OD korrelieren nur mit kleinen Keimzahlunterschieden. Daraus ist zu folgern, dass signifikante Unterschiede in der OD im Bereich von Kurve 1 eine deutlich höhere Aussagekraft als bei Kurve 2 haben. Ein zu hoher OD-Wert kann durch Rückstreuung des Lichtstrahls die Messung verfälschen, dies ist auch an den großen Standardabweichungen im Bereich von Kurve 2 zu erkennen. Um die Zellzahl zu berechnen, erfolgte die Verwendung der von Excel erzeugten Funktionsgleichungen. Zur Beurteilung der Anpassungsgüte wurde jeder Funktionsgleichung das Bestimmtheitsmaß R^2 beigefügt.

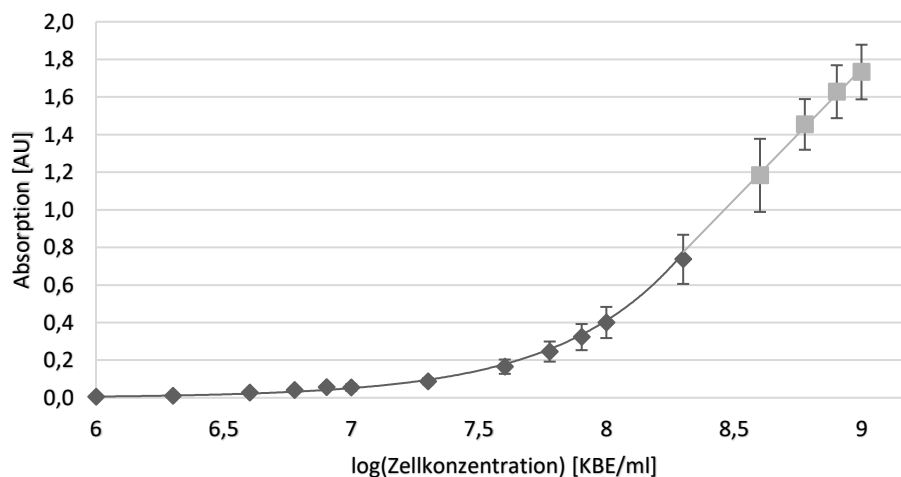


Abbildung 29: Kalibrierkurve von *Staphylococcus epidermidis* mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration

Den Bereich von Kurve 1 (schwarz) zwischen 0 und 0,8 AU bildet folgende Gleichung ab:

$$y = 2 * 10^{-8} * e^{2,0851x} \quad \text{mit } R^2 = 0,9877$$
$$\text{Absorption} = 2 * 10^{-8} * e^{2,0851 * \log(\text{Zellkonzentration})}$$

Den Bereich von Kurve 2 (grau) zwischen 0,8 und 2,0 AU bildet folgende Gleichung ab:

$$y = 1,395x - 10,806 \quad \text{mit } R^2 = 0,9954$$

$$\text{Absorption} = 1,395 * \log(\text{Zellkonzentration}) - 10,806$$

Um die tatsächliche Zellzahl zu erhalten, müssen die ermittelten Werte aus der logarithmischen Form wieder umgerechnet werden.

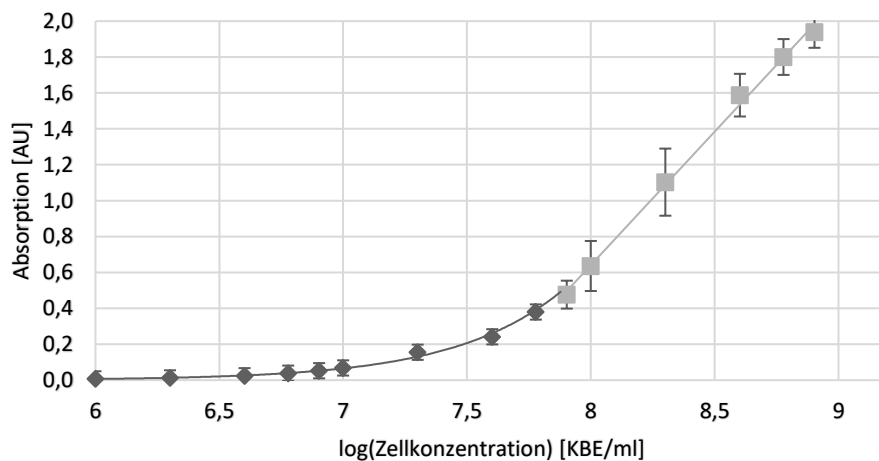


Abbildung 30: Kalibrierkurve von *Staphylococcus gallinarum* mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration

Den Bereich von Kurve 1 (schwarz) zwischen 0 und 0,4 AU bildet folgende Gleichung ab:

$$y = 7 * 10^{-9} * e^{2,2968x} \quad \text{mit } R^2 = 0,9877$$

$$\text{Absorption} = 7 * 10^{-9} * e^{2,2968 * \log(\text{Zellkonzentration})}$$

Den Bereich von Kurve 2 (grau) zwischen 0,8 und 2,0 AU bildet folgende Gleichung ab:

$$y = 1,4496x - 10,95 \quad \text{mit } R^2 = 0,9959$$

$$\text{Absorption} = 1,4496 * \log(\text{Zellkonzentration}) - 10,95$$

Um die tatsächliche Zellzahl zu erhalten, müssen die ermittelten Werte aus der logarithmischen Form wieder umgerechnet werden.

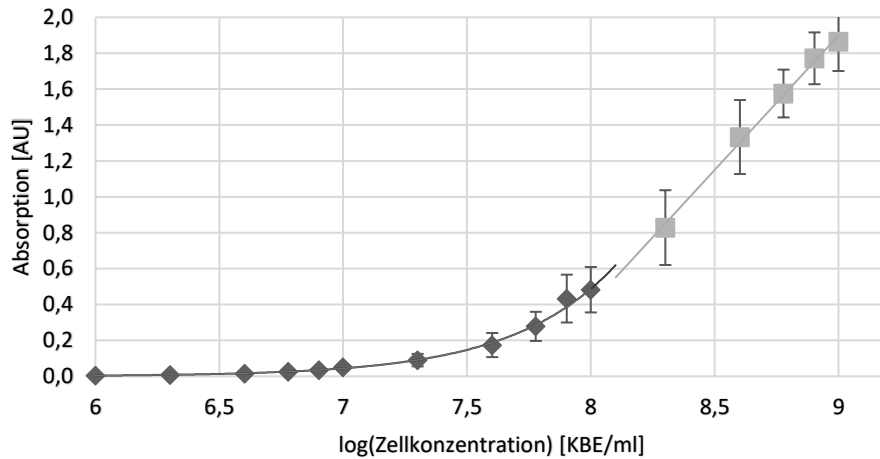


Abbildung 31: Kalibrierkurve von *Corynebacterium minutissimum* mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration

Den Bereich von Kurve 1 (schwarz) zwischen 0 und 0,5 AU bildet folgende Gleichung ab:

$$y = 2 * 10^{-9} * e^{2,3921x} \quad \text{mit } R^2 = 0,9973$$

$$Absorption = 2 * 10^{-9} * e^{2,3921 * \log(Zellkonzentration)}$$

Den Bereich von Kurve 2 (grau) zwischen 0,5 und 2,0 AU bildet folgende Gleichung ab:

$$y = 1,4985x - 11,588 \quad \text{mit } R^2 = 0,9955$$

$$Absorption = 1,4985 * \log(Zellkonzentration) - 11,588$$

Um die tatsächliche Zellzahl zu erhalten, müssen die ermittelten Werte aus der logarithmischen Form wieder umgerechnet werden.

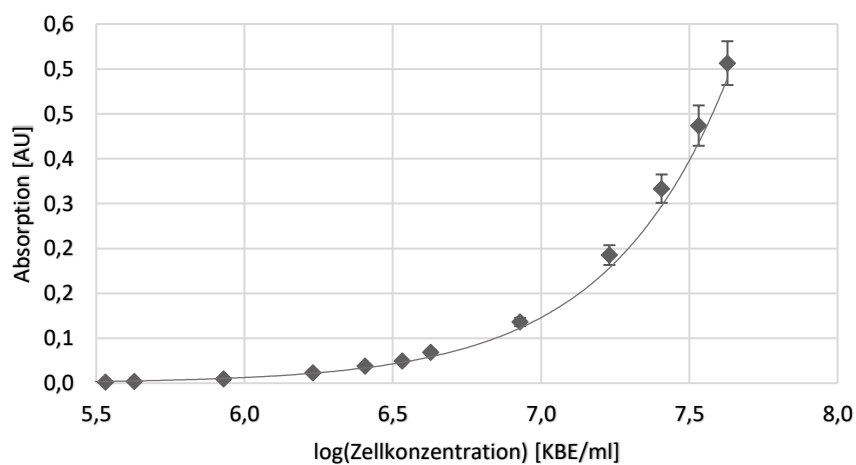


Abbildung 32: Kalibrierkurve von *Streptococcus mitis* mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration

Aufgrund des geringen Geltungsbereiches der Funktion wurde auf die Erstellung von zwei getrennten Funktionen verzichtet.

$$y = 4 * 10^{-9} * e^{2,4456x} \quad \text{mit } R^2 = 0,968$$

$$\text{Absorption} = 4 * 10^{-9} * e^{2,4456 * \log(\text{Zellkonzentration})}$$

Um die tatsächliche Zellzahl zu erhalten, müssen die ermittelten Werte aus der logarithmischen Form wieder umgerechnet werden.

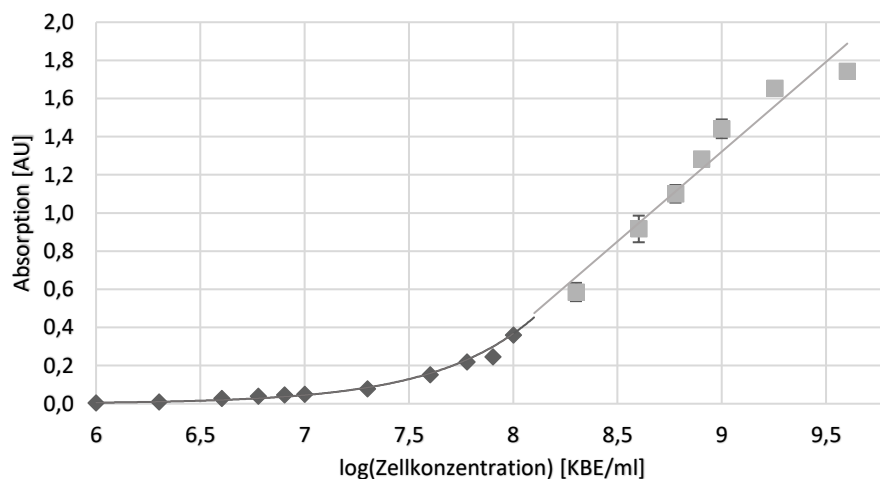


Abbildung 33: Kalibrierkurve von *Propionibacterium acnes* mit Gegenüberstellung von Absorption und logarithmierter Zellkonzentration

Den Bereich von Kurve 1 (schwarz) zwischen 0 und 0,5 AU bildet folgende Gleichung ab:

$$y = 2 * 10^{-8} * e^{2,0946x} \quad \text{mit } R^2 = 0,9722$$

$$\text{Absorption} = 2 * 10^{-8} * e^{2,0946 * \log(\text{Zellkonzentration})}$$

Den Bereich von Kurve 2 (grau) zwischen 0,5 und 2,0 AU bildet folgende Gleichung ab:

$$y = 0,9413x - 7,1504 \quad \text{mit } R^2 = 0,9467$$

$$\text{Absorption} = 0,9413 * \log(\text{Zellkonzentration}) - 7,1504$$

Um die tatsächliche Zellzahl zu erhalten, müssen die ermittelten Werte aus der logarithmischen Form wieder umgerechnet werden.

Die erstellten Kalibrierkurven und Funktionsgleichungen wurden in den Versuchen für eine erste Einschätzung der Proben genutzt. So konnten die sinnvollsten Verdünnungsstufen für einen Plattenausstrich ausgewählt werden. Allerdings kann die Messung der OD und die Anwendung der Kalibriergeraden nur bei hydrophilen Proben ohne nennenswerte Absorption in dem verwendeten Wellenlängenbereich zum Einsatz kommen, da diese keine Tröpfchenbildung aufweisen.

5.1.4 Etablierung der Testmethode zur Untersuchung der kosmetischen Hilfsstoffe

Die Untersuchung der zu testenden Hilfsstoffe ist prinzipiell über verschiedene Methoden möglich. In einigen Vorversuchen wurde das direkte Einrühren der Stoffe in den Agar getestet und verworfen, da die Struktur des Agars schon bei geringen Mengen hinzugefügtem Hilfsstoff deutlich beeinträchtigt wurde. Je nach chemischen Eigenschaften der Stoffe konnte beispielsweise keine homogene Verteilung im Agar erzielt werden, es traten Klumpen auf oder der Agar erreichte keine ausreichend feste Konsistenz. Aufgrund der Vorversuche, der einfacheren Verarbeitung und der Nähe zum Hautmodell fiel die Entscheidung zum Aufbringen sowohl der Keime als auch der zu testenden Stoffe auf die Oberfläche des Agars.

Für alle Bakterienspezies wurde das nun aufgeführte Verfahren angewandt und die jeweils benötigten Anpassungen beschrieben. Alle Arbeiten erfolgten unter grundsätzlich nahezu sterilen Bedingungen mit zuvor im Autoklav sterilisierten Materialien unter einer Sterilbank.

Nach entsprechender Vermehrung der Keime auf einer 7,5 cm messenden Platte des jeweiligen Anzuchtmediums (s.o.) wurde der Zellrasen mit 5 ml 0,9%iger NaCl-Lösung und unter vorsichtiger Manipulation mit einem Drigalski-Spatel abgelöst. Die entstandene Keimsuspension wurde abpipettiert und mit weiteren 5 ml NaCl-Lösung nachgespült. Aus dieser Keimlösung erfolgte der Ansatz der eigentlichen Stoff- und Kontrollproben auf vier 5 cm messenden Platten des entsprechenden Minimalmediums (s.o.) mit jeweiliger Dreifachbestimmung. Wie bereits weiter oben beschrieben, wurde bei *Corynebacterium minutissimum* kein reines Casein-Pepton, sondern eine Mischung mit ¼ Soja-Pepton, verwendet. Ebenso wurde bei *Propionibacterium acnes* 300 µl einer 5%igen Hefe-Lösung verwendet.

1. 100 µl Keimsuspension + 100 µl 0,9%ige NaCl-Lösung
2. 100 µl Keimsuspension + 100 µl Hilfsstoff
3. 100 µl Keimsuspension + 600 µl 10%ige Pepton-Lösung + 100 µl 0,9%ige NaCl-Lösung
4. 100 µl Keimsuspension + 600 µl 10%ige Pepton-Lösung + 100 µl Hilfsstoff

Die Ansätze 1 und 3 dienen als Kontrollgruppe und bilden die Referenz ohne zu testenden Hilfsstoff. Ansatz 2 soll überprüfen, ob den Keimen ein Wachstum möglich ist, wenn außer dem Hilfsstoff nahezu kein Nährstoffangebot zur Verfügung steht. Ansatz 4 zeigt, ob bei starker Vermehrung der Keime ein Verstoffwechseln der Hilfsstoffe stattfindet und sich so entweder deren Konsistenz ändert oder eventuell toxische Spaltprodukte entstehen. Anschließend erfolgte die Inkubation im Brutschrank bei 38° C für 24 bzw. 48 Stunden unter aeroben bzw. anaeroben Bedingungen.

Die Hilfsstoffe wurden entweder in vorher bestimmten Konzentrationen getestet, bei welchen sich an den in den meisten Formulierungen üblichen Mengen orientiert wurde, oder der einfacheren Verarbeitung halber in unverdünntem Zustand. Insbesondere bei den Konsistenzgebern war die maximal mögliche Konzentration aufgrund der zunehmenden Erstarrung limitiert. Die Lösung der verdünnt getesteten Stoffe erfolgte in 0,9%iger NaCl-Lösung. Bei den nur schwer löslichen Stoffen erfolgte der Vorgang unter vorsichtigem Erwärmen, die stark lipophilen Hilfsstoffe wurden mit 5 % Labrasol als Lösungsvermittler verarbeitet. Bei Labrasol konnte in mehreren Vorversuchen kein Einfluss auf das Wachstum der Keime nachgewiesen werden. Welche Konzentrationen und ob ein Lösungsvermittler verwendet wurde, ist in den Tabellen 4 – 7 aufgeführt.

Das Abschwemmen nach der Inkubation erfolgte mit insgesamt 5 ml 0,9%igem NaCl, wobei das Keim-Stoff-Gemisch zunächst mit 2,5 ml und unter vorsichtiger Manipulation mit einem Drigalski-Spatel abgelöst wurde. Die entstandene Suspension wurde abpipettiert und mit weiteren 2,5 ml NaCl-Lösung nachgespült. Die Menge von 5 ml erwies sich als optimal, da bei einem geringeren Volumen zu viel Material auf der Agarplatte verbleiben würde, bei einer größeren Menge hingegen wäre die Verdünnung zu groß. Nach der Überführung in ein verschließbares Reagenzglas erfolgte das Durchmischen mit einer Pipette bis zum Erreichen einer homogenen Suspension.

Für die Vermessung im UV/VIS-Spektralphotometer bei 600 nm wurden 800 µl der Suspension in eine Einmalküvette überführt. Anhand der gemessenen OD konnte die ungefähre Keimzahl über die zuvor erstellten Kalibrierkurven bestimmt werden. Dies diente zur Orientierung für die benötigten Konzentrationsstufen der Verdünnungsreihe. Um die exakte Keimzahl mittels Drigalski-Plattenausstrichverfahren zu bestimmen, wurde die oben beschriebene Verdünnungsreihe mit 900 zu 100 µl Stufen angelegt und 100 µl Keimsuspension aus der gewünschten Verdünnungsstufe entnommen. Nach dem Ausstreichen auf einer Platte des entsprechenden Agars (s.o.) und erneuter Inkubation konnten die KBE ausgezählt und die genaue Keimzahl, unter Berücksichtigung der entsprechenden Verdünnungsstufe, berechnet werden.

Während der Durchführung der Tests nach dem oben beschriebenen Schema, wurde schnell deutlich, dass bei den Emollientien nicht nur auf die Messung der OD verzichtet werden musste, da die Phasengrenzen aufgrund der Tröpfchenbildung die Messergebnisse vollständig verfälschten. Auch bei der Anlage der Verdünnungsreihe wurden stark schwankende und somit nicht reproduzierbare Ergebnisse verzeichnet. Die Zugabe von 5 % Labrasol zur Lösung der lipophilen Hilfsstoffe vor dem eigentlichen Test reichte für ein vollständiges Abschwemmen nicht aus. Schon mit bloßem Auge war ein verbliebener ölgiger Film mit enthaltenen Zellresten sichtbar. Auch an den verwendeten Drigalski-Spateln konnte

ein anhaftender Film beobachtet werden. Nach der Überführung in ein Reagenzglas trennten sich hydrophile und lipophile Phase sofort.

Um stabile Ergebnisse zu erzielen, musste entweder eine vollständige Trennung oder eine homogene Durchmischung von Keimen, Hilfsstoff und Trägerflüssigkeit erfolgen. Für die Lösung dieses Problems wurden verschiedene Konzepte zur Adaption an die Testung der stark lipophilen Stoffe erarbeitet und im Folgenden untersucht.

5.1.4.1 Zweiphasen-Extraktion

Der erste Ansatz basierte darauf, dass Hilfsstoff und Keime, nach dem für die Testung unerlässlichen Zusammenführen und darauffolgender Inkubation, wieder möglichst vollständig getrennt werden sollen. Sollte es gelingen, die Ölphase so gründlich zu entfernen, dass keine Tröpfchen mehr vorliegen, wäre auch eine Auswertung über die OD möglich. Wichtig hierfür ist allerdings, dass die Keime vollständig in der wässrigen Phase enthalten bleiben. Es erfolgte die Anlage von zwei Reihen in verschließbaren Reagenzröhrchen, jeweils mit Dreifachbestimmung, für die zweite Versuchsreihe wurde zunächst ausschließlich *Staphylococcus epidermidis* verwendet. Das erste Röhrchen enthielt lediglich 10 ml 0,9%ige NaCl-Lösung, das zweite Röhrchen 5 ml NaCl-Lösung und 5 ml Olivenöl. Beide Röhrchen wurden für 5 Minuten ausgiebig gevortext, um eine möglichst gute Durchmischung zu erzielen, wie sie auch durch das Pipettieren erreicht wird. Nach der Zentrifugation bei 4080 rpm für 15 Minuten wurde die Ölphase sorgfältig abpipettiert und die verbliebene wässrige Phase im UV/VIS-Spektrometer vermessen. Sowohl bei der Kontroll- als auch bei der Testprobe war keine Absorption messbar, was dafürspricht, dass die Trennung der Phasen durch Zentrifugation, sowie das anschließende Abpipettieren, erfolgreich und keine die Messung beeinflussenden Ölreste vorhanden waren.

Der nächste Schritt bezog über drei Ansätze die Mikroorganismen mit ein:

1. 2 ml 0,9%ige NaCl-Lösung + 2 ml Olivenöl
2. 3,9 ml 0,9%ige NaCl-Lösung + 100 µl Keimsuspension
3. 1,9 ml 0,9%ige NaCl-Lösung + 100 µl Keimsuspension + 2 ml Olivenöl

Hier wurde sich aus logistischen Gründen zunächst auf *Staphylococcus epidermidis* beschränkt. Wie bereits im Vorversuch, wurden die Proben sorgfältig gevortext und anschließend bei 4080 rpm für 15 Minuten zentrifugiert.

Optisch zeigten sich bei Ansatz 1 zwei deutlich separierte Phasen mit klarer wässriger Phase, bei Ansatz 2 eine klare Flüssigkeit mit Zellpellet am Boden. Bei Ansatz 3 war ein kleineres Zellpellet mit anhaftender dünner Ölschicht, sowie zahlreiche in der wässrigen Phase

verbliebene Tröpfchen erkennbar. Auch bildete sich hier keine deutliche Grenze zum an der Oberfläche treibenden Öl aus.

Die folgende Tabelle zeigt die Werte der OD-Messung nach dem Abpipettieren der Ölphase und sorgfältigen Durchmischen. NaCl steht hierbei jeweils für NaCl-Lösung

Ansatz				Mittelwert	Standard-abweichung
NaCl + Öl	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000
NaCl + Keim	0,131	0,125	0,142	0,133	0,007
NaCl + Öl + Keim	0,205	0,172	0,068	0,148	0,058

Tabelle 26: Versuchsauswertung zur Zweiphasen-Extraktion

Aus der Tabelle ist anhand der sehr niedrigen Absorption deutlich zu erkennen, dass die Trennung von Öl und NaCl-Lösung bei Ansatz 1 vollständig gelungen ist. Bei Ansatz 2 zeigt sich eine recht stabile OD im zu erwartenden Bereich für die zugegebene Keimmenge. Die von Ansatz 3 gemessenen Werte sind stark schwankend, was durch in der wässrigen Phase oder am Zellpellet verbliebene Öltröpfchen bzw. mit der Ölphase abpipettierte Keime erklärt werden kann. Da auch bei Wiederholung des Versuches keine stabilen Ergebnisse produziert werden konnten und das Problem des unvollständigen Abschwemmens weiterhin ungelöst blieb, wurde zunächst an weiteren Konzepten gearbeitet.

5.1.4.2 Filtration

Ein weiterer Ansatz basierte auf der Trennung des an den Keimen haftenden Öls durch Filtration. Hierfür wurde ein Einweg-Membranfilter mit einer Porengröße von 0,2 µm verwendet.

Analog zu den vorherigen Versuchen wurden drei Ansätze erstellt:

1. 9,5 ml 0,9%ige NaCl-Lösung + 500 µl Keimsuspension
2. 9,4 ml 0,9%ige NaCl-Lösung + 500 µl Keimsuspension + 100 µl Olivenöl
3. 9,3 ml 0,9%ige NaCl-Lösung + 500 µl Keimsuspension + 100 µl Olivenöl + 100 µl PEG-350

Auch hier wurde sich aus logistischen Gründen zunächst auf *Staphylococcus epidermidis* beschränkt. Die Ansätze wurden jeweils mit einer Spritze durch einen Filter gepresst und anschließend sowohl das Permeat als auch das Retentat ausgewertet. Um das Retentat aus dem Filter zu gewinnen, wurde dieser in 5 ml 0,9%iger NaCl-Lösung gevortext und mit einer Pipette ausgespült. Von der ursprünglichen Lösung, dem Retentat und dem Permeat erfolgte jeweils eine OD-Messung und eine KZB, die Ergebnisse sind in Tabelle 27 dargestellt.

Ansatz		1	2	3
UV/VIS	vor Filtration	0,354	0,711	2,286
	Retentat	0,153	0,468	0,407
	Permeat	0,003	0,002	1,714
KZB	vor Filtration	43,00E+06	49,00E+06	38,00E+06
	Retentat	41,00E+06	2,00E+06	29,00E+06
	Permeat	0,00E+06	0,00E+06	25,00E+02

Tabelle 27: Versuchsauswertung zur Filtration

Die Auswertung des Versuchs zeigte bereits in der ursprünglichen Lösung eine deutlich abweichende optische Dichte der verschiedenen Ansätze. Da in allen Proben die gleiche Menge an Keimen enthalten war, müssen die Unterschiede auf das zugegebene Öl bzw. den Lösungsvermittler zurückzuführen sein. Durch die sofort eintretende Phasentrennung ist eine sichere Reproduktion der OD-Werte allerdings kaum möglich. Sowohl in der OD als auch bei einer optischen Betrachtung fällt auf, dass der zugegebene Lösungsvermittler eine wesentlich feinere Tröpfchenbildung und langsamere Phasentrennung verursacht. Dies erklärt auch die deutlich höhere OD. Bei Ansatz 1 und 2 sind im Permeat bei OD und KZB keine Keime nachweisbar, was dafürspricht, dass erwartungsgemäß durch den Filter sowohl das Öl als auch die Bakterien entfernt wurden. Bei Ansatz 3 konnte der Filter nicht alles zurückhalten, schon optisch zeigte sich eine Trübung des Permeats mit feiner Tröpfchenbildung. Die wahrscheinlichste Ursache für dieses Phänomen ist eine Beschädigung des Filters durch den Lösungsvermittler oder den hohen Druck beim Pressen der Lösung durch das System.

Das aus dem Filter gewonnene Retentat von Ansatz 2 und 3 zeigt eine deutlich höhere OD als bei Ansatz 1, wahrscheinlich bedingt durch die ebenfalls herausgewaschenen Olivenöltröpfchen. Auch hier erklärt sich die nochmals deutlich höhere OD von Ansatz 3 durch die Zugabe des Lösungsvermittlers und die daraus resultierenden feineren Tröpfchen. Allerdings müssen Keime verloren gegangen sein, da die OD des Retentats jeweils wesentlich niedriger als in der Ausgangslösung ist. Die Ergebnisse der KZB lassen den Rückschluss zu, dass der Filter Keime und Öl effektiv zurückhält, sofern er nicht beschädigt ist. Aber obwohl ein Großteil der Keime wiedergewonnen werden konnte, sind die Keimzahlen des Retentats auch hier niedriger als in der Ausgangslösung.

Um festzustellen, ob diese Ergebnisse reproduzierbar sind, war eine Wiederholung des Versuchs mit einer Dreifachbestimmung notwendig. Dazu wurde die Konzentration des Lösungsvermittlers auf 180 µl PEG-350 erhöht und die Menge der NaCl-Lösung entsprechend auf 9,21 ml angepasst. Die Konzentration von Keimsuspension und Olivenöl blieben konstant.

	Ansatz	3.1	3.2	3.3
UVMIS	vor Filtration	0,682	0,775	0,819
	Retentat	0,395	0,382	0,445
	Permeat	0,003	0,002	0,001
KZB	vor Filtration	31,00E+06	28,00E+06	19,00E+06
	Retentat	22,00E+04	2,00E+04	7,00E+04
	Permeat	0,00E+04	0,00E+04	0,00E+04

Tabelle 28: Auswertung des angepassten Filtrationsversuches

Vor der Filtration zeigten sich bei OD und KZB sehr stabile Werte bei allen Proben. Im Permeat waren mit beiden Bestimmungsmethoden nahezu keine Keime nachweisbar, was darauf hindeutet, dass sowohl die Keime als auch das Öl annähernd vollständig durch den Filter zurückgehalten wurden. Auch optisch war keine Beschädigung des Filters erkennbar. Die Ergebnisse des Retentats sind zwar bezüglich OD und KZB bei allen drei Ansätzen stabil, allerdings deutlich niedriger als vor der Filtration. Das könnte bedeuten, dass die gefilterten Keime nicht vollständig aus dem Filter gelöst wurden, durch die Zugabe des Lösungsvermittlers abgestorben sind oder eine homogene Durchmischung aufgrund der Öltröpfchen verhindert wurde.

Zusammenfassend wurde die Filtration nur als teilweise erfolgreich bewertet. Das Herausfiltern der Keime aus der ursprünglichen Lösung war zwar möglich, allerdings fand keine stabile Trennung von Zellen und Ölphase statt. Es war keine stabile Messung der OD möglich, da die Trennung von wässriger und öliger Phase sofort einsetzte. Um reproduzierbare Ergebnisse in der KZB zu erzielen, müsste die Verteilung der Tröpfchen deutlich homogener und stabiler werden. Zudem blieb das Problem des Abschwemmens von der Platte ungelöst. Da die Trennung der Phasen nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte, wurde der Schwerpunkt der nächsten Versuche zunächst auf eine möglichst homogene Verteilung gelegt.

5.1.4.3 Homogene Verteilung

Um das Keim-Öl-Gemisch von der Platte abschwemmen zu können und stabile Ergebnisse bei der KZB zu erzielen, ist eine homogene und möglichst stabile Verteilung der Öltröpfchen und der daran haftenden Keime unumgänglich.

Der erste Versuch erfolgte nach dem oben beschriebenen Versuchsaufbau und zunächst nur mit *Staphylococcus epidermidis*. Es wurden folgende Ansätze in zweifacher Bestimmung auf dem zuvor entwickelten Minimalagar vorbereitet und für 24 h bei 38 °C inkubiert:

1. 100 µl Keimsuspension
2. 100 µl Keimsuspension + 100 µl Rapsöl
3. 100 µl Keimsuspension + 600 µl 10%ige Pepton-Lösung
4. 100 µl Keimsuspension + 600 µl + 10%ige Pepton-Lösung + 100 µl Rapsöl

Nach dem Abschwemmen mit 5 ml NaCl-Lösung erfolgte zunächst eine optische Beurteilung. Bereits hier war erkennbar, dass ein Ölfilm auf der Platte zurückgeblieben war. Die Ergebnisse der OD und KZB sind in Tabelle 29 dargestellt.

Reihe	Ansatz	Keim	Keim + Pepton	Keim + Öl	Keim + Öl + Pepton
1	UV/VIS	0,458	1,359	0,354	1,301
	KZB	4,80E+07	2,20E+08	8,00E+04	5,10E+07
2	UV/VIS	0,380	1,419	0,620	1,515
	KZB	3,80E+07	2,70E+08	7,00E+04	1,36E+08

Tabelle 29: Abschwemmen mittels NaCl-Lösung

Wie zu erwarten konnte durch die Zugabe von Pepton das Wachstum deutlich gesteigert werden. Bei beiden Versuchsreihen ist sowohl mit als auch ohne Pepton erkennbar, dass nach der Zugabe von Öl eine nicht unerhebliche Menge an Zellen verloren ging. Bei der Messung der OD waren die Werte aufgrund der sofort einsetzenden Phasentrennung stark schwankend. Der Ansatz mit NaCl-Lösung wurde nicht weiterverfolgt, da keine reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden konnten.

Im nächsten Schritt wurden verschiedenen Emulgatoren zugegeben, um eine zumindest zeitweise stabile Emulsion aus hydrophiler NaCl-Lösung und lipophilen Stoffen zu erzielen. Dabei wurde darauf geachtet, einen Lösungsvermittler zu wählen, welcher keinesfalls das Wachstum der Keime beeinflusste oder eine zu starke Schaumbildung verursachte.

In der Literatur wird mehrfach eine Kombination aus Emulgator und Co-Emulgator empfohlen, welche die Wirkung verbessern soll. Der HLB-Wert eines Stoffes gibt an wie hydro- bzw. lipophil er ist. Es sind verschiedene Emulgator-Kombinationen möglich; ein ähnlicher HLB-Wert ist ebenso möglich wie ein stark abweichender Wert. Durch das Mischungsverhältnis der Emulgatoren können Wasser-in-Öl (w/o) bzw. Öl-in-Wasser (o/w) Emulsionen erzielt werden, meist wird hier ein 2:3 bzw. 3:2 Verhältnis gewählt [133].

Anhand der erwähnten Angaben in der Literatur und einigen Vorversuchen zur nötigen Konzentration für eine möglichst stabile Durchmischung wurden folgende Ansätze in 0,9%iger NaCl-Lösung erstellt:

1. 1,2 % Igepal + 1,8 % PEG-550
2. 1,2 % Labrasol + 1,8 % Transcutol
3. 4 % Tween 80 + 6 % Span 80
4. Pure 0,9%ige NaCl-Lösung

Mögliche Fehlerquellen sind ein auf Agar oder Spatel zurückbleibender Film, eine nicht ausreichend stabile Durchmischung oder eine bakterizide Wirkung der Emulgatoren. Es wurden jeweils 100 µl Keimsuspension und 100 µl Keimsuspension + 100 µl Olivenöl auf einer Platte des entsprechenden Minimalagars ausgestrichen, für 20 Minuten trocknen lassen und anschließend mit 5 ml der entsprechenden Lösung abgeschwemmt. Da sich schon optisch eine deutliche Tröpfchenbildung präsentierte, wurde die Messung der OD verworfen und sich ausschließlich auf die KZB konzentriert.

Keim	Ansatz	NaCl	Igepal + PEG-550	Labrasol + Transcutol	Tween 80 + Span 80
<i>Staph. epi.</i>	Keim	2,90E+07	0,00E+04	2,60E+07	1,90E+07
	Keim + Öl	5,00E+03	0,00E+04	1,60E+07	6,00E+06
<i>Staph. galli.</i>	Keim	1,27E+08	0,00E+00	1,2E+08	1,50E+08
	Keim + Öl	6,00E+06	0,00E+00	8,00E+07	9,00E+07
<i>Coryne. minut.</i>	Keim	9,00E+07	0,00E+00	2,00E+07	5,40E+07
	Keim + Öl	5,00E+04	0,00E+00	1,80E+07	3,20E+07
<i>Propioni. acnes</i>	Keim	6,51E+06	0,00E+00	7,46E+06	5,87E+06
	Keim + Öl	3,24E+04	0,00E+00	8,45E+06	8,12E+05

Tabelle 30: Auswertung verschiedener Emulgator-Kombinationen

Wie schon zuvor zeigte sich beim Abschwemmen mit NaCl-Lösung ein hoher Keimverlust nach der Zugabe von Öl. Bei der Kombination von Igepal + PEG-550 war bei allen Keimen kein Wachstum nachweisbar, was für eine toxische Wirkung spricht. Die stabilsten Ergebnisse bei gleichzeitig geringer Menge an Emulgator wurden mit 3 % Labrasol + Transcutol erzielt und die weiteren Versuche daher mit dieser Kombination durchgeführt. Bei einer Wiederholung des Versuches mittels einer Dreifachbestimmung konnte dieses Ergebnis bestätigt werden. Für die Auswertung der lipophilen Stoffe wurde zukünftig auf die Messung der OD verzichtet und ausschließlich eine KZB durchgeführt.

5.1.4.4 Fehleranalyse

Im Folgenden werden mögliche Fehler und Faktoren für Unsicherheiten sowie mögliche Schwankungen bei den mikrobiologischen Versuchsaufbauten aufgeführt und Maßnahmen zur Lösung bzw. Vermeidung dieser Probleme aufgezeigt [134].

Zufällige und anwenderbedingte Fehler:

- Nicht beeinflussbare biologische Variabilität der Keime; ein lebender Organismus reagiert naturbedingt nicht immer gleich
- Äußere Faktoren wie Luftfeuchtigkeit, Temperatur- und Luftdruckschwankungen; vermeidbar durch Arbeiten unter immer gleichen Bedingungen mit Brutschrank bzw. Sterilbank
- Überimpfen verschieden großer Mengen Biomasse während der Versuchsvorbereitung der Hefepilze, dadurch unterschiedlich starke Verstoffwechslung; nur teilweise vermeidbar durch sorgfältiges und genaues Arbeiten
- Ablesefehler bei der optischen Beurteilung der Pilzproben

Fehler der Zellzahlbestimmung mittels UV/VIS-Spektrometer:

- Systematische Fehler des Gerätes durch Messunsicherheit (laut Herstellerangabe $\pm 0,002$ A/h)
- Statistische Fehler durch schwankende Streuung der Messwerte
- Die zunehmende Rückstrahlung bei steigender Zellzahl/ml beeinflusst das Messergebnis; vermeidbar durch zusätzliche KZB
- Unzureichende homogene Durchmischung der Probe; vermeidbar durch sorgfältiges Pipettieren bzw. Vortexen
- Zusätzlich zu den lebenden Zellen Erfassung von Zelltrümmern, Fremdkörpern und toten Zellen; vermeidbar durch zusätzliche KZB

Fehler der KZB mittels Drigalski-Plattenausstrich:

- Zellverlust durch an der Pipettenspitze haftende Zellen während des Pipettiervorganges; nur teilweise vermeidbar durch sorgfältiges Arbeiten
- Überführen schwankender Volumina durch Lufteinschlüsse; vermeidbar durch sorgfältiges Pipettieren
- Unzureichende Durchmischung beim Pipettieren; vermeidbar durch sorgfältiges Pipettieren
- In der Verdünnungsreihe verstärken sich Fehler beim Pipettieren exponentiell
- Zellverlust durch unvollständig vom Agar abgelöste Zellen; vermeidbar durch sorgfältiges Arbeiten
- Ungleichmäßige Verteilung auf der Agarplatte; vermeidbar durch sorgfältiges Verstreichen
- Zellverlust durch am Spatel haftende Zellen; nur teilweise vermeidbar durch sorgfältiges Arbeiten

- Um Auszählungsfehler zu vermeiden, werden nur Platten ausgezählt, die zwischen 30 und 300 Zellen aufweisen. Darunter ist der prozentuale Zählfehler zu groß, darüber ist ein genaues Zählen nicht mehr möglich, da die Platte zu dicht bewachsen ist

Fehler bei der HPTLC-Analyse

- Messfehler durch Verwendung einer verunreinigten Standardlösung
- Verunreinigung der Probe durch anhaftendes Öl und abgelösten Agar bei der Analyse des Teststoffes; nur teilweise vermeidbar durch sorgfältiges Arbeiten

5.1.5 Statistische Überprüfung des entwickelten Testsystems

Um die prinzipiell verlässliche Aussagekraft des entwickelten Testsystems zu validieren ist eine statistische Überprüfung nötig. Wie bereits oben erwähnt kam hierbei ein t-Test mit den Faktoren Stichprobenzahl $n = 3$, Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ und Freiheitsgraden $df = 4$ zum Tragen. Der aus der Tabelle abgelesene kritische t-Wert $t = \pm 2,77$ muss über- bzw. unterschritten werden, um einen signifikanten Unterschied nachzuweisen. Beispielhaft werden [65] hier die Keimzahlen der Proben „Keim pur“ und „Keim +Pepton“ bzw. „Keim +Hefe“ für alle Bakterienspezies verglichen. Der beschriebene t-Test wurde bei jedem Bakterium und Hilfsstoff durchgeführt, die errechneten Werte sind in der jeweiligen Tabelle zu finden.

Keimspezies	Probe	KZB (MW) aus Kalibrierung \pm SD [KBE/ml]	t-Wert	Signifikanz
<i>Staph. epidermidis</i>	pur	3,04E+07 \pm 5,78E+05	-29,52	+
	Pepton	2,32E+08 \pm 9,66E+06		
<i>Staph. gallinarum</i>	pur	7,49E+07 \pm 2,63E+06	-32,49	+
	Pepton	2,12E+08 \pm 5,36E+06		
<i>Coryne. minutissimum</i>	pur	3,88E+07 \pm 2,85E+06	-21,52	+
	Pepton	7,58E+08 \pm 4,72E+07		
<i>Propioni. acnes</i>	pur	1,33E+08 \pm 3,40E+07	5,86	+
	Hefe	6,77E+08 \pm 1,93E+08		

Tabelle 31: Beispielhafte statistische Überprüfung des entwickelten Testsystems

Anhand der t-Werte ist die Differenz bei allen Keimen definitiv als signifikant einzustufen, wobei die Wachstumssteigerung bei *Propioni. acnes* im Vergleich am wenigsten deutlich ist. Dies ist eine Bestätigung für die prinzipielle Funktionalität des Testsystems; durch die Zugabe von Pepton bzw. Hefe ist also eine signifikante Steigerung des Wachstums möglich.

5.2 Ergebnisse der in vitro Tests zum Einfluss kosmetischer Hilfsstoffe auf das Wachstum von Mikroorganismen

5.2.1 Ergebnisse der Wachstumsversuche der Bakterienstämme

Die in diesem Kapitel dargestellten Tabellen 32 bis 108 präsentieren zunächst die Ergebnisse der Tests mit den verschiedenen Bakterienstämmen. Dabei erfolgt lediglich die Darstellung der zur Beurteilung unerlässlichen Werte. Sämtliche Mess- und die jeweils zugehörigen t-Werte werden aufgrund der Übersichtlichkeit im Anhang beigefügt.

Die Tabellen zeigen die mittels UV/VIS bestimmten OD-Werte, sowie die über die Kalibrierkurven berechneten (rechnerische KZB) und mittels Plattenausstrich bestimmten (experimentelle KZB) Keimzahlen. Zusätzlich wurden jeweils die Standardabweichung (SD) und das Ergebnis eines durchgeführten Signifikanztests mit einem Niveau von 0,05 aufgeführt. Da einige der getesteten Hilfsstoffe selbst eine Trübung der NaCl-Lösung hervorrufen, wurde der jeweilige Wert für jeden verwendeten Stoff bestimmt und von den Messwerten der jeweiligen Probe abgezogen

Dabei erfolgt wie bereits beschrieben der Vergleich einer Probe, welche auf dem entsprechenden Minimalmedium gewachsen ist (Keim), mit einer Probe, welcher der Teststoff zugegeben wurde (Keim + Stoff) und jeweils noch nach zusätzlicher Zugabe von Pepton bzw. Hefe (Keim + Pepton bzw. Keim + Pepton + Stoff).

Die Bewertung dieser Vergleiche bei der rechnerischen KZB erfolgt über den durchgeführten Signifikanztest:

- + bei im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöhtem Wachstum ($t < -2,77$)
- bei im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant vermindertem Wachstum ($t > 2,77$)
- o bei im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant verändertem Wachstum ($2,77 < t < -2,77$)

Allerdings sinkt wie bereits zuvor erwähnt die Genauigkeit der OD-Werte mit steigender AU, da mit zunehmender Zelldichte vermehrt Streuungseffekte auftreten [135]. Dies bedeutet, dass große Abweichungen bei der OD nur zu geringen Änderungen der berechneten Keimzahl führen können. Eine hohe OD korreliert also nicht zwangsläufig mit einem verstärkten Keimwachstum. Um das errechnete Ergebnis belegen zu können erfolgte daher parallel die experimentelle Bestimmung der Keimzahl mittels Drigalski-Plattenausstrich. Aus Zeit- und Platzgründen war hier allerdings nur eine einfache Bestimmung mit $n = 1$ und daher auch keine statistische Überprüfung, möglich. Auch hier wird die Aussagekraft mit den oben genannten Symbolen bewertet, wobei eine Abweichung von mehr als einer halben Zehnerpotenz als signifikant gilt. Dieser Wert wurde anhand der Vorversuche festgelegt.

Stimmen berechnete Signifikanz und experimentelle Beurteilung überein, ist mit hoher Wahrscheinlichkeit von einem tatsächlich erhöhten bzw. verminderten Wachstum auszugehen. Bei nur geringen Schwankungen besteht die Möglichkeit eines zufälligen Ergebnisses durch Messfehler oder den oben beschriebenen Effekt der verzerrten OD-Werte. Zusätzlich wurden stichprobenartig einzelne auffällige Stoffe mit einer höheren Konzentration getestet.

Wie bereits im Kapitel Methodenentwicklung erwähnt, war die Messung der optischen Dichte aufgrund der Tröpfchenbildung für die Auswertung der Emollientien nicht möglich. Daher erfolgte hier ausschließlich eine dreifache experimentelle Keimzahlbestimmung mittels Drigalski-Plattenausstrichverfahren und dem oben beschriebenen Signifikanztest.

Im Verlauf der Testung der Emollientien zeigte *Staph. gallinarum* zunehmende Auffälligkeiten. Beispielsweise erfolgte auch bei den Kontrollproben nach Zugabe von Pepton kein vermehrtes Wachstum mehr, so dass im Verlauf von weiteren Versuchen mit diesem Keim abgesehen wurde.

Aus Zeitgründen konnten nicht mehr alle Hilfsstoffe mit *Propioni. acnes* getestet werden, daher wurde sich hier auf sechs Emollientien beschränkt, bei welchen andere Keime Auffälligkeiten zeigten. Die restlichen Stoffe sollten im Rahmen weiterer Versuche noch abgedeckt werden,

5.2.1.1 Konservierungsmittel

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 32 bis 36 die Auswertungen der hydrophilen Konservierungsmittel Butylenglykol, Caprylylglykol, Ethanol, Pentylenglykol oder Propylenglykol dargestellt. Dabei erfolgt der Vergleich von rechnerischer KZB nach durchgeführter OD-Messung und experimenteller KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz und der experimentellen Beurteilung (Experim. Beurtlg.).

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurteilg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09 ± 0,01	2,14E+07 ± 3,42E+06	o	1,40E+06	o
	Keim + Stoff	0,09 ± 0,0	2,28E+07 ± 7,75E+05		1,40E+06	
	Keim + Pepton	0,76 ± 0,04	2,34E+08 ± 1,38E+07	o	1,03E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,76 ± 0,02	2,33E+08 ± 6,95E+06		1,02E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,23 ± 0,02	3,38E+07 ± 3,00E+06	o	1,70E+07	o
	Keim + Stoff	0,30 ± 0,09	4,54E+07 ± 1,30E+07		3,40E+07	
	Keim + Pepton	1,12 ± 0,05	2,13E+08 ± 1,65E+07	o	1,02E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,06 ± 0,06	1,93E+08 ± 1,70E+07		6,70E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,20 ± 0,02	4,91E+07 ± 5,13E+06	o	1,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,20 ± 0,01	4,92E+07 ± 1,54E+06		2,20E+06	
	Keim + Pepton	1,32 ± 0,01	4,11E+08 ± 9,11E+06	o	2,70E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,12 ± 0,08	3,03E+08 ± 3,42E+07		1,90E+08	
Propioni. acnes	Keim	0,31 ± 0,01	1,47E+08 ± 1,80E+07	o	1,32E+08	o
	Keim + Stoff	0,28 ± 0,02	7,37E+07 ± 6,84E+06		9,87E+07	
	Keim + Hefe	1,27 ± 0,02	6,75E+08 ± 1,28E+08	o	8,13E+08	o
	Keim + Hefe + Stoff	1,23 ± 0,03	8,14E+08 ± 4,44E+07		7,35E+08	

Tabelle 32: Auswertung des Konservierungsmittels Butylenglykol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09± 0,0	2,34E+07 ± 1,06E+06	o	2,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,11± 0,03	2,69E+07 ± 7,98E+06		1,50E+06	
	Keim + Pepton	0,74± 0,02	2,27E+08 ± 5,83E+06	o	1,99E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,72± 0,01	2,22E+08 ± 4,47E+06		1,56E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,48± 0,02	5,91E+07 ± 1,69E+07	o	4,20E+07	o
	Keim + Stoff	0,48 ± 0,02	5,67E+07 ± 2,02E+07		3,40E+07	
	Keim + Pepton	1,22± 0,05	2,49E+08 ± 1,81E+07	o	1,10E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,21± 0,07	2,45E+08 ± 2,63E+07		9,00E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,20± 0,02	5,02E+07 ± 4,08E+06	o	8,00E+03	o
	Keim + Stoff	0,16± 0,04	3,93E+07 ± 8,75E+06		3,00E+03	
	Keim + Pepton	1,42± 0,01	4,80E+08 ± 6,01E+06	o	1,79E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,20 ± 0,04	3,43E+08 ± 2,28E+07		1,28E+08	
Propioni. acnes	Keim	0,31 ± 0,01	1,47E+08 ± 1,80E+07	o	1,32E+08	o
	Keim + Stoff	0,28 ± 0,02	7,46E+07 ± 3,08E+06		9,87E+07	
	Keim + Hefe	1,27 ± 0,02	6,75E+08 ± 1,28E+08	o	8,13E+08	o
	Keim + Hefe + Stoff	1,23 ± 0,03	38,46E+08 ± 4,32E+07		7,35E+08	

Tabelle 33: Auswertung des Konservierungsmittels Caprylyglykol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09 ± 0,01	2,11E+07 ± 1,61E+06	o	2,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,08 ± 0,01	1,98E+07 ± 2,82E+06		1,50E+06	
	Keim + Pepton	0,67 ± 0,03	2,04E+08 ± 9,23E+06	o	1,70E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,70 ± 0,01	2,13E+08 ± 3,91E+06		1,35E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,46 ± 0,06	7,50E+07 ± 6,88E+06	o	2,00E+07	o
	Keim + Stoff	0,38 ± 0,04	5,71E+07 ± 6,12E+06		4,50E+07	
	Keim + Pepton	1,21 ± 0,06	2,47E+08 ± 2,31E+07	o	9,00E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,10 ± 0,07	2,08E+08 ± 2,17E+07		1,30E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,11 ± 0,02	2,80E+07 ± 5,77E+06	o	1,49E+03	o
	Keim + Stoff	0,16 ± 0,01	3,98E+07 ± 1,44E+06		3,00E+03	
	Keim + Pepton	1,28 ± 0,07	3,87E+08 ± 4,44E+07	o	5,60E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,94 ± 0,03	2,30E+08 ± 8,94E+06		4,18E+08	
Propioni. acnes	Keim	0,31 ± 0,01	1,47E+08 ± 1,80E+07	o	1,32E+08	o
	Keim + Stoff	0,28 ± 0,02	6,33E+07 ± 5,93E+06		9,87E+07	
	Keim + Hefe	1,27 ± 0,02	6,75E+08 ± 1,28E+08	o	8,13E+08	o
	Keim + Hefe + Stoff	1,23 ± 0,03	6,37E+08 ± 4,66E+07		7,35E+08	

Tabelle 34: Auswertung des Konservierungsmittels Ethanol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09 ± 0,0	2,34E+07 ± 1,06E+06	o	2,50E+06	o
	Keim + Stoff	0,09 ± 0,02	2,36E+07 ± 4,47E+06		2,50E+06	
	Keim + Pepton	0,74 ± 0,02	2,27E+08 ± 5,83E+06	o	1,60E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,74 ± 0,03	2,28E+08 ± 1,00E+07		1,58E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,48 ± 0,02	7,63E+07 ± 2,83E+06	o	2,10E+07	o
	Keim + Stoff	0,44 ± 0,02	7,21E+07 ± 2,85E+06		5,40E+07	
	Keim + Pepton	1,22 ± 0,05	2,49E+08 ± 1,81E+07	o	6,50E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,08 ± 0,08	2,01E+08 ± 2,41E+07		3,00E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,20 ± 0,02	5,02E+07 ± 4,08E+06	o	1,70E+04	o
	Keim + Stoff	0,21 ± 0,0	5,36E+07 ± 1,01E+06		2,86E+04	
	Keim + Pepton	1,42 ± 0,01	4,80E+08 ± 6,01E+06	o	5,40E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,21 ± 0,04	3,50E+08 ± 1,89E+07		3,66E+08	
Propioni. acnes	Keim	0,31 ± 0,01	1,47E+08 ± 1,80E+07	o	1,32E+08	o
	Keim + Stoff	0,28 ± 0,02	6,53E+07 ± 1,29E+07		9,87E+07	
	Keim + Hefe	1,27 ± 0,02	6,75E+08 ± 1,28E+08	o	8,13E+08	o
	Keim + Hefe + Stoff	1,23 ± 0,03	6,42E+08 ± 4,31E+07		7,35E+08	

Tabelle 35: Auswertung des Konservierungsmittels Pentylenglykol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurteilg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09 ± 0,01	2,14E+07 ± 3,42E+06	o	1,40E+06	o
	Keim + Stoff	0,11 ± 0,01	2,66E+07 ± 2,84E+06		3,00E+06	
	Keim + Pepton	0,76 ± 0,04	2,34E+08 ± 1,38E+07		1,03E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	0,73 ± 0,04	2,23E+08 ± 1,45E+07		1,14E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,23 ± 0,02	3,38E+07 ± 3,00E+06	o	1,70E+07	o
	Keim + Stoff	0,25 ± 0,05	3,72E+07 ± 8,22E+06		2,20E+07	
	Keim + Pepton	1,12 ± 0,05	2,13E+08 ± 1,65E+07		1,02E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	0,98 ± 0,06	1,70E+08 ± 1,57E+07		6,90E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,20 ± 0,02	4,91E+07 ± 5,13E+06	o	1,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,20 ± 0,0	4,98E+07 ± 7,47E+05		2,20E+06	
	Keim + Pepton	1,32 ± 0,01	4,11E+08 ± 9,11E+06		2,70E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	1,22 ± 0,03	3,53E+08 ± 1,46E+07		2,30E+08	
Propioni. acnes	Keim	0,31 ± 0,01	1,47E+08 ± 1,80E+07	o	1,32E+08	o
	Keim + Stoff	0,28 ± 0,02	7,74E+07 ± 5,71E+06		9,87E+07	
	Keim + Hefe	1,27 ± 0,02	6,75E+08 ± 1,28E+08		8,13E+08	
	Keim + Hefe + Stoff	1,23 ± 0,03	6,57E+08 ± 4,41E+07		7,35E+08	

Tabelle 36: Auswertung des Konservierungsmittels Propylenglykol mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Wie in den jeweiligen Tabellen ablesbar, konnten bei allen vier Keimen keine auffälligen Veränderungen hinsichtlich des Keimwachstums durch Zugabe von Butylenglykol, Caprylylglykol, Ethanol, Pentylenglykol oder Propylenglykol festgestellt werden. Abweichungen bei der OD-Messung bzw. der rechnerischen KZB fanden sich im Drigalski-Plattenausstrich nicht wieder. Eigentlich wäre eine Wachstumsminderung zu erwarten gewesen, da jedes Mittel in der jeweiligen oben genannten Konzentration zur Konservierung eingesetzt wird und daher prinzipiell antimikrobiell wirkt.

Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass die hydrophilen Stoffe in den ebenfalls hydrophilen Agar diffundiert sind und daher in wesentlich geringerer Konzentration auf die Keime eingewirkt haben. Eine andere Erklärung wäre, dass die eingesetzten Konservierungsmittel gegen die physiologischen Keime des Hautmikrobioms nur schwach wirksam sind. Dies erhöht natürlich das Risiko einer Verunreinigung, schont aber auf der anderen Seite die Hautmikroflora und verringert so das Risiko von Erkrankungen.

5.2.1.2 Konsistenzgeber

5.2.1.2.1 Diverse Konsistenzgeber

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 37 bis 40 die Auswertungen der natürlichen Wachse Bienenwachs und Carnaubawachs, des Fettalkohols Cetylstearylalkohol und des synthetischen Esters Cetyl palmitate dargestellt. Dabei erfolgt der Vergleich von rechnerischer KZB nach durchgeführter OD-Messung und experimenteller KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz und der experimentellen Beurteilung. Alle in diesem Kapitel aufgeführten Konsistenzgeber sind lipophil.

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,17 ± 0,01	4,55E+07 ± 2,38E+06	+	2,19E+07	+
	Keim + Stoff	0,21 ± 0,02	5,54E+07 ± 3,87E+06		9,60E+07	
	Keim + Pepton	0,90 ± 0,01	2,45E+08 ± 1,66E+06	-	4,42E+07	+
	Keim + Pepton + Stoff	0,55 ± 0,02	1,64E+08 ± 4,79E+06		9,20E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,24 ± 0,08	3,53E+07 ± 9,34E+06	+	1,00E+06	+
	Keim + Stoff	0,40 ± 0,06	6,00E+07 ± 6,92E+06		2,90E+07	
	Keim + Pepton	1,17 ± 0,08	2,32E+08 ± 2,38E+07	o	1,20E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	1,13 ± 0,05	2,15E+08 ± 1,38E+07		4,40E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,01	3,65E+07 ± 2,33E+06	o	9,00E+05	o
	Keim + Stoff	0,20 ± 0,07	5,05E+07 ± 1,14E+07		9,00E+05	
	Keim + Pepton	1,77 ± 0,09	8,18E+08 ± 9,12E+07	o	9,70E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	1,77 ± 0,06	8,10E+08 ± 6,09E+07		4,30E+08	

Tabelle 37: Auswertung des natürlichen Wachses Bienenwachs (Cera alba) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,17 ± 0,01	4,55E+07 ± 2,38E+06	+	2,19E+07	o
	Keim + Stoff	0,44 ± 0,09	1,28E+08 ± 2,34E+07		1,00E+07	
	Keim + Pepton	0,90 ± 0,01	2,45E+08 ± 1,66E+06	+	4,42E+07	+
	Keim + Pepton + Stoff	1,08 ± 0,07	3,48E+08 ± 1,98E+07		2,24E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,24 ± 0,08	3,53E+07 ± 9,34E+06	+	1,00E+06	+
	Keim + Stoff	0,50 ± 0,12	7,50E+07 ± 1,42E+07		2,70E+07	
	Keim + Pepton	1,17 ± 0,08	2,32E+08 ± 2,38E+07	+	1,20E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,41 ± 0,06	3,38E+08 ± 2,56E+07		7,10E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,01	3,65E+07 ± 2,33E+06	+	9,00E+05	o
	Keim + Stoff	0,51 ± 0,02	1,12E+08 ± 2,78E+06		2,78E+06	
	Keim + Pepton	1,77 ± 0,09	8,18E+08 ± 9,12E+07	+	9,70E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	2,01 ± 0,02	1,17E+09 ± 2,27E+07		1,54E+09	

Tabelle 38: Auswertung des natürlichen Wachses Carnaubawachs mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,12 ± 0,00	3,04E+07 ± 5,78E+05	+	1,50E+05	o
	Keim + Stoff	0,37 ± 0,04	1,05E+08 ± 1,03E+07		2,70E+05	
	Keim + Pepton	0,75 ± 0,03	2,32E+08 ± 9,66E+06	+	8,40E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,99 ± 0,10	3,15E+08 ± 2,99E+07		8,50E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,46 ± 0,03	7,49E+07 ± 2,63E+06	+	8,70E+07	o
	Keim + Stoff	1,09 ± 0,03	2,02E+08 ± 8,89E+06		6,10E+07	
	Keim + Pepton	1,12 ± 0,02	2,12E+08 ± 5,36E+06	+	9,00E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,61 ± 0,03	4,62E+08 ± 1,83E+07		9,20E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,15 ± 0,02	3,88E+07 ± 2,85E+06	+	4,80E+04	+
	Keim + Stoff	0,80 ± 0,06	1,72E+08 ± 2,03E+07		1,33E+05	
	Keim + Pepton	1,72 ± 0,05	7,58E+08 ± 4,72E+07	-	4,90E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,87 ± 0,08	1,90E+08 ± 3,16E+07		2,40E+06	

Tabelle 39: Auswertung des Fettalkohols Cetylstearylalkohol (Lanette O) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,12 ± 0,00	3,04E+07 ± 5,78E+05	o	1,50E+05	o
	Keim + Stoff	0,12 ± 0,02	2,98E+07 ± 4,54E+06	-	4,10E+05	o
	Keim + Pepton	0,75 ± 0,03	2,32E+08 ± 9,66E+06	-	8,40E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,27 ± 0,03	7,43E+07 ± 8,48E+06	-	3,70E+07	o
Staph. gallinarum	Keim	0,46 ± 0,03	7,49E+07 ± 2,63E+06	o	8,70E+07	o
	Keim + Stoff	0,57 ± 0,03	8,83E+07 ± 3,34E+06	o	7,20E+07	o
	Keim + Pepton	1,12 ± 0,02	2,12E+08 ± 5,36E+06	o	9,00E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,00 ± 0,16	1,78E+08 ± 3,34E+07	-	5,10E+07	o
Coryne. minutissimum	Keim	0,46 ± 0,03	3,88E+07 ± 2,85E+06	o	4,80E+04	-
	Keim + Stoff	0,57 ± 0,03	6,79E+07 ± 9,40E+06	-	0,00E+00	-
	Keim + Pepton	1,12 ± 0,02	7,58E+08 ± 4,72E+07	-	4,90E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	1,00 ± 0,16	1,08E+08 ± 1,23E+07	-	7,00E+03	-

Tabelle 40: Auswertung des synthetischen Esters Cetyl palmitate mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Die Auswertung des natürlichen Wachses Bienenwachs (Cera alba) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes eine Wachstumssteigerung sowohl in der rechnerischen als auch experimentell bestimmten Keimzahl. Bei zusätzlicher Zugabe von Pepton ist die Aussagekraft widersprüchlich, da das leicht verringerte Wachstum der rechnerischen KZB dem gesteigerten Wachstum der experimentellen Bestimmung gegenübersteht.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich ohne die Zugabe von Pepton ein gesteigertes Wachstum bei rechnerischer und experimenteller Keimzahl. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte die berechnete Keimzahl kein verändertes Wachstum, in der experimentellen Keimzahl war jedoch ein verringertes Wachstum zu verzeichnen. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffs durch den des Peptons überlagert.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich in allen Proben keinen Einfluss auf das Wachstum, lediglich bei der experimentellen KZB nach Zugabe von Pepton ist ein verringertes Wachstum zu beobachten. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Die Auswertung des natürlichen Wachses Carnaubawachs zeigte bei *Staph. epidermidis* sowohl mit als auch ohne Zugabe von Pepton eine Wachstumssteigerung. Lediglich die

experimentelle KZB ohne Pepton zeigte keine Wachstumsänderung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Zugabe von Pepton eine Wachstumssteigerung. Lediglich die experimentelle KZB mit Pepton zeigte keine Wachstumsänderung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Zugabe von Pepton eine Wachstumssteigerung in der rechnerischen KZB. Die experimentelle KZB zeigte kein verändertes Wachstum. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Die Auswertung des Fettalkohols Cetylstearylalkohol (Lanette O) zeigte bei *Staph. epidermidis* sowohl mit als auch ohne Zugabe von Pepton eine Wachstumssteigerung in der rechnerischen KZB. Die experimentelle KZB zeigte kein verändertes Wachstum. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Zugabe von Pepton eine Wachstumssteigerung in der rechnerischen KZB. Die experimentelle KZB zeigte kein verändertes Wachstum. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich ohne Pepton sowohl in der rechnerischen als auch experimentellen KZB eine Wachstumssteigerung. Mit Zugabe von Pepton war das Wachstum in beiden KZB deutlich verringert. Das verringerte Wachstum lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte, wie beispielsweise Palmitinsäure, während der Spaltung des Esters erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Die Auswertung des synthetischen Esters Cetyl palmitate zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Bei zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich in der rechnerischen KZB ein deutlich verringertes Wachstum, experimentell hingegen kein Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Das verringerte Wachstum lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich kein verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach Zugabe von Pepton sowohl in der rechnerischen als auch experimentellen KZB ein deutlich verringertes Wachstum. Das verringerte Wachstum lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff. Ohne Pepton war das Wachstum nur in der experimentellen KZB verringert. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt und von einem Fehler in der experimentellen Bestimmung ausgegangen.

5.2.1.2.2 Gelbildner

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 41 bis 46 die Auswertungen der hydrophilen Gelbildner Acrylamid (Sepineo P600), Carmellose-Natrium 7MF, Hydroxyethyl acrylate (Sepinov WEO), Hydroxyethyl cellulose (Cellosize PCG-10), Polyacrylsäure (Carbomer/Carbopol 980) und Xanthan dargestellt. Dabei erfolgt der Vergleich von rechnerischer KZB nach durchgeführter OD-Messung und experimenteller KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz und der experimentellen Beurteilung.

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
<i>Staph. epidermidis</i>	Keim	0,21 ± 0,01	5,68E+07 ± 3,31E+06	o	7,20E+06	o
	Keim + Stoff	0,20 ± 0,03	5,46E+07 ± 7,76E+06		8,86E+06	
	Keim + Pepton	0,83 ± 0,03	2,18E+08 ± 1,21E+07	+	5,10E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,91 ± 0,02	2,52E+08 ± 9,88E+06		5,10E+07	
<i>Staph. gallinarum</i>	Keim	0,31 ± 0,02	4,60E+07 ± 3,58E+06	+	2,10E+07	o
	Keim + Stoff	0,48 ± 0,07	7,74E+07 ± 9,34E+06		4,20E+07	
	Keim + Pepton	1,24 ± 0,04	2,56E+08 ± 1,65E+07	+	1,36E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,34 ± 0,01	3,00E+08 ± 6,81E+06		4,80E+08	
<i>Coryne. minutissimum</i>	Keim	0,14 ± 0,03	3,66E+07 ± 6,78E+06	o	4,70E+05	o
	Keim + Stoff	0,21 ± 0,04	5,16E+07 ± 9,34E+06		2,74E+05	
	Keim + Pepton	1,53 ± 0,08	5,72E+08 ± 6,82E+07	o	5,40E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,39 ± 0,2	4,78E+08 ± 1,27E+08		6,20E+08	

Tabelle 41: Auswertung des Gelbildners Acrylamid (Sepineo P600) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,15 ± 0,0	4,03E+07 ± 4,71E+05	o	1,46E+06	o
	Keim + Stoff	0,16 ± 0,0	4,07E+07 ± 4,91E+05		2,55E+06	
	Keim + Pepton	0,86 ± 0,02	2,30E+08 ± 7,33E+06	o	1,16E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,86 ± 0,02	2,15E+08 ± 7,48E+06		1,09E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,26 ± 0,01	3,87E+07 ± 2,06E+06	+	8,00E+06	+
	Keim + Stoff	0,36 ± 0,03	5,35E+07 ± 4,39E+06		5,20E+07	
	Keim + Pepton	1,04 ± 0,02	1,88E+08 ± 6,11E+06	+	2,30E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,14 ± 0,01	2,18E+08 ± 4,49E+06		3,90E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,12 ± 0,01	3,08E+07 ± 1,34E+06	+	2,43E+05	o
	Keim + Stoff	0,17 ± 0,02	4,23E+07 ± 5,09E+06		9,80E+04	
	Keim + Pepton	1,72 ± 0,03	7,58E+08 ± 3,09E+07	-	6,70E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,56 ± 0,04	6,00E+08 ± 4,16E+07		5,90E+08	

Tabelle 42: Auswertung des Gelbildners Carmellose-Natrium 7MF mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,15 ± 0,0	4,03E+07 ± 4,71E+05	o	1,46E+06	o
	Keim + Stoff	0,16 ± 0,03	4,10E+07 ± 7,81E+06		2,15E+06	
	Keim + Pepton	0,86 ± 0,02	2,30E+08 ± 7,33E+06	o	1,16E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,81 ± 0,03	2,13E+08 ± 1,14E+07		4,70E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,26 ± 0,01	3,87E+07 ± 2,06E+06	+	8,00E+06	+
	Keim + Stoff	0,54 ± 0,02	8,49E+07 ± 2,45E+06		4,20E+07	
	Keim + Pepton	1,04 ± 0,02	1,88E+08 ± 6,11E+06	+	2,30E+07	+
	Keim + Pepton + Stoff	1,24 ± 0,05	2,56E+08 ± 1,95E+07		8,00E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,12 ± 0,01	3,08E+07 ± 1,34E+06	+	2,43E+05	o
	Keim + Stoff	0,21 ± 0,03	5,15E+07 ± 7,31E+06		2,78E+05	
	Keim + Pepton	1,72 ± 0,03	7,58E+08 ± 3,09E+07	-	6,70E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,61 ± 0,02	6,42E+08 ± 2,00E+07		6,70E+08	

Tabelle 43: Auswertung des Gelbildners Hydroxyethyl acrylate (Sepinov WEO) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,13 ± 0,0	3,28E+07 ± 1,16E+06		1,00E+06	
	Keim + Stoff	0,13 ± 0,02	3,36E+07 ± 6,71E+06	o	1,06E+06	o
	Keim + Pepton	0,79 ± 0,02	2,44E+08 ± 6,82E+06		6,70E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	0,82 ± 0,02	2,17E+08 ± 6,90E+06	-	9,70E+07	o
Staph. gallinarum	Keim	0,37 ± 0,0	5,50E+07 ± 2,45E+05		5,60E+07	
	Keim + Stoff	0,44 ± 0,03	7,16E+07 ± 3,63E+06	+	8,70E+07	o
	Keim + Pepton	1,23 ± 0,02	2,54E+08 ± 8,03E+06		1,47E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	1,29 ± 0,03	2,80E+08 ± 1,49E+07	o	1,29E+08	o
Coryne. minutissimum	Keim	0,17 ± 0,01	4,35E+07 ± 2,97E+06		6,30E+04	
	Keim + Stoff	0,19 ± 0,01	4,79E+07 ± 1,79E+06	o	1,90E+04	o
	Keim + Pepton	1,63 ± 0,0	6,66E+08 ± 3,38E+06		7,40E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	1,51 ± 0,03	5,54E+08 ± 2,71E+07	-	3,70E+08	o

Tabelle 44: Auswertung des Gelbildners Hydroxyethyl cellulose (Cellosize PCG-10) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,13 ± 0,0	3,28E+07 ± 1,16E+06		1,00E+06	
	Keim + Stoff	0,12 ± 0,02	3,00E+07 ± 5,66E+06	o	1,75E+06	o
	Keim + Pepton	0,79 ± 0,02	2,44E+08 ± 6,82E+06		6,70E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	0,53 ± 0,05	1,58E+08 ± 1,73E+07	-	1,00E+07	-
Staph. gallinarum	Keim	0,37 ± 0,0	5,50E+07 ± 2,45E+05		5,60E+07	
	Keim + Stoff	0,28 ± 0,01	4,24E+07 ± 1,89E+06	-	1,20E+07	o
	Keim + Pepton	1,23 ± 0,02	2,54E+08 ± 8,03E+06		1,47E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	1,16 ± 0,06	2,26E+08 ± 2,13E+07	o	5,50E+07	-
Coryne. minutissimum	Keim	0,17 ± 0,01	4,35E+07 ± 2,97E+06		6,30E+04	
	Keim + Stoff	0,04 ± 0,01	1,05E+07 ± 1,94E+06	-	0,00E+00	-
	Keim + Pepton	1,63 ± 0,0	6,66E+08 ± 3,38E+06		7,40E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	0,24 ± 0,01	7,85E+07 ± 9,12E+05	-	6,30E+06	-

Tabelle 45: Auswertung des Gelbildners Polyacrylsäure (Carbomer/Carbopol 980) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,21 ± 0,01	5,68E+07 ± 3,31E+06		7,20E+06	
	Keim + Stoff	0,21 ± 0,01	5,81E+07 ± 2,70E+06	o	8,86E+06	o
	Keim + Pepton	0,83 ± 0,03	2,18E+08 ± 1,21E+07		5,10E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	0,86 ± 0,02	2,29E+08 ± 7,51E+06	o	5,10E+07	o
Staph. gallinarum	Keim	0,31 ± 0,02	4,60E+07 ± 3,58E+06		2,10E+07	
	Keim + Stoff	0,36 ± 0,0	5,45E+07 ± 3,53E+05	+	3,50E+07	o
	Keim + Pepton	1,24 ± 0,04	2,56E+08 ± 1,65E+07		1,36E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	1,14 ± 0,06	2,20E+08 ± 2,17E+07	o	9,80E+07	o
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,03	3,66E+07 ± 6,78E+06		8,70E+04	
	Keim + Stoff	0,22 ± 0,0	5,60E+07 ± 6,80E+05	+	2,84E+05	o
	Keim + Pepton	1,53 ± 0,08	5,72E+08 ± 6,82E+07		5,40E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	1,66 ± 0,05	6,93E+08 ± 5,26E+07	o	7,20E+08	o

Tabelle 46: Auswertung des Gelbildners Xanthan mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Die Auswertung des Gelbildners Acrylamid (Sepineo P600) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Bei zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich in der rechnerischen KZB ein leicht erhöhtes Wachstum, in der experimentellen Bestimmung hingegen kein Einfluss.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich ohne Pepton ein deutlich und mit Pepton ein leicht gesteigertes Wachstum der rechnerischen KZB, allerdings keinen Einfluss in der experimentellen Bestimmung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich kein verändertes Wachstum.

Die Auswertung des Gelbildners Carmellose-Natrium 7MF zeigte bei *Staph. epidermidis* kein verändertes Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein gesteigertes Wachstum. Lediglich die experimentelle KZB mit Pepton zeigte keinen Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes in der rechnerischen KZB ein leicht gesteigertes Wachstum, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen mit und ohne Pepton keinen Einfluss. Bei zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein verringertes Wachstum.

Die Auswertung des Gelbildners Hydroxyethyl acrylate (Sepinov WEO) zeigte bei *Staph. epidermidis* kein verändertes Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein gesteigertes Wachstum bei rechnerischer und experimenteller KZB.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein gesteigertes Wachstum in der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen mit und ohne Pepton kein Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Das verringerte Wachstum der rechnerischen KZB nach Zugabe von Pepton lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Die Auswertung des Gelbildners Hydroxyethyl cellulose (Cellosize PCG-10) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Bei zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich in der rechnerischen KZB ein geringfügig verringertes Wachstum, in der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen kein Einfluss.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht gesteigertes Wachstum in der rechnerischen KZB, in der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen kein Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich kein verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Bei zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich in der rechnerischen KZB ein leicht verringertes Wachstum, bei der experimentellen Bestimmung hingegen kein Einfluss.

Die Auswertung des Gelbildners Polyacrylsäure (Carbomer/Carbopol 980) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein deutlich reduziertes Wachstum. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach Zugabe des Teststoffes ein leicht verringertes Wachstum in der rechnerischen KZB, in der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen kein Einfluss. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton konnte in der rechnerischen KZB kein Einfluss festgestellt werden, die experimentelle Bestimmung zeigte hingegen eine

Wachstumsverringering. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich mit und ohne Pepton bei beiden KZB ein deutlich vermindertes Wachstum. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung der Nährstoffe oder Stoffwechselwege durch den Teststoff.

Die Auswertung des Gelbildners Xanthan zeigte bei *Staph. epidermidis* kein verändertes Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* und *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht verstärktes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich kein Einfluss. Nach der zusätzlichen Zugabe von Pepton zeigte sich kein verändertes Wachstum.

Um die auffälligen Ergebnisse bei der Auswertung von Polyacrylsäure genauer zu untersuchen, wurde ein weiterer Versuch durchgeführt. Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich mit und ohne Pepton ein stark vermindertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bzw. kein Wachstum bei der experimentellen Bestimmung ohne Pepton. Daher wurde der Versuch analog zu dem Vorherigen exemplarisch mit *Coryne. minutissimum* wiederholt, die Konzentration von Polyacrylsäure jedoch von 5 % auf 10 % erhöht. Das Ergebnis der dreifachen OD-Messung und einfachen experimentellen KZB ist in der folgenden Grafik dargestellt.

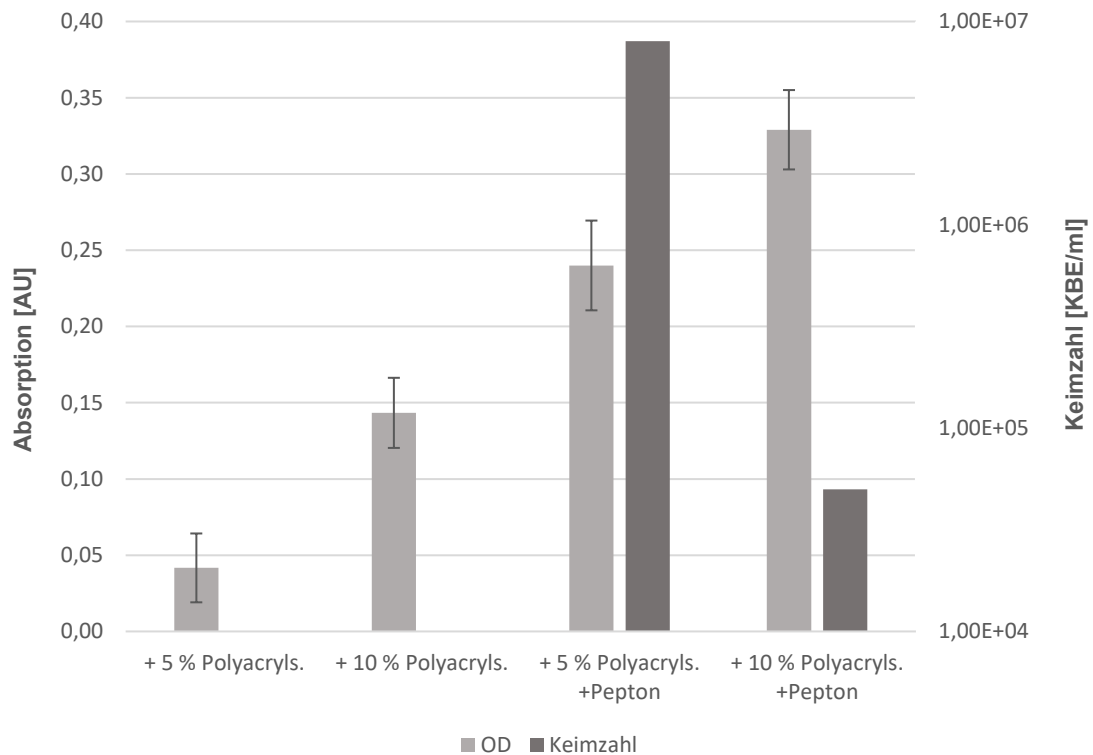


Abbildung 34: Auswertung des Versuches mit *Coryne. minutissimum* und erhöhter Konzentration von Polyacrylsäure

Sowohl bei 5 % als auch 10 % Polyacrylsäure konnte bei der experimentellen KZB kein Keimwachstum nachgewiesen werden. Die OD war bei 10 % leicht erhöht, was möglicherweise auf Zelltrümmer zurückzuführen ist. Nach Zugabe von Pepton waren sowohl OD als auch experimentell bestimmte KZ deutlich gesteigert, was erneut dafürspricht, dass der wachstumssteigernde Effekt von Pepton den -mindernden des Teststoffes überdeckt. Wie zu erwarten ist die KZ bei 10 % deutlich vermindert, der Stoff also in höherer Konzentration schädlicher. Auch hier war die OD bei 10 % erhöht, was möglicherweise auf Zelltrümmer zurückzuführen ist.

Eine mögliche Erklärung ist der pH-Wert von Polyacrylsäure, da bereits bei einer 1%igen Lösung der pH bei 2,5 - 3 liegt [136] und damit deutlich unter dem alkalischen Ideal für Corynebakterien [137]. Allerdings wäre dadurch auch ein stärkerer Einfluss auf die Staphylokokken zu erwarten gewesen.

5.2.1.3 Emulgatoren

5.2.1.3.1 Natürliche Emulgatoren

Im folgenden Kapitel wird in der Tabelle 47 die Auswertungen des natürlichen Emulgators Wollwachs dargestellt. Dabei erfolgt der Vergleich von rechnerischer KZB nach durchgeführter OD-Messung und experimenteller KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz und der experimentellen Beurteilung.

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurteilg.
<i>Staph. epidermidis</i>	Keim	0,12 ± 0,00	3,04E+07 ± 5,78E+05	+	1,50E+05	o
	Keim + Stoff	0,40 ± 0,12	1,15E+08 ± 3,17E+07		2,50E+05	
	Keim + Pepton	0,75 ± 0,03	2,32E+08 ± 9,66E+06	+	8,40E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,98 ± 0,08	3,12E+08 ± 2,39E+07		1,65E+08	
<i>Staph. gallinarum</i>	Keim	0,46 ± 0,03	7,49E+07 ± 2,63E+06	+	8,70E+07	-
	Keim + Stoff	0,77 ± 0,14	1,15E+08 ± 1,74E+07		2,70E+07	
	Keim + Pepton	1,12 ± 0,02	2,12E+08 ± 5,36E+06	+	9,00E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,51 ± 0,07	3,92E+08 ± 3,63E+07		6,60E+07	
<i>Coryne. minutissimum</i>	Keim	0,15 ± 0,02	3,76E+07 ± 3,10E+06	+	4,80E+04	o
	Keim + Stoff	0,36 ± 0,05	8,84E+07 ± 1,01E+07		5,00E+04	
	Keim + Pepton	1,72 ± 0,05	7,58E+08 ± 4,72E+07	-	4,90E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,57 ± 0,03	5,98E+08 ± 2,60E+07		5,30E+08	

Tabelle 47: Auswertung des natürlichen Emulgators Wollwachs mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Die Auswertung des natürlichen Emulgators Wollwachs zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein deutliches und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton ein leicht gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte keinen Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte keinen Einfluss, bzw. ein verringertes Wachstum ohne Pepton. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton ein verringertes Wachstum in der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte keinen Einfluss. Aufgrund der

dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

5.2.1.3.2 Synthetische Fettsäureester

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 48 bis 55 die Auswertungen der lipophilen synthetischen Fettsäureester Glyceryl oleate (Tegin OV), Glyceryl stearate, Methyl glucose isostearate (Isolan IS), PEG-7 Glyceryl cocoate (Tegosoft PC 31), Polyglyceryl-3 oleate (Isolan GO 33), Span 80 und Sucrose stearate (Surfhope 1803F) dargestellt. In den Tabellen 56 bis 62 werden die Auswertungen der hydrophilen synthetischen Fettsäureester Macrogol 40 Glycerolhydroxy Stearat (Cremophor RH 40), PEG-40 hydrogenated castor Oliv (Tagat CH 40), PEG-40 stearate (Tego Acid S 40 P), Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate, Sucrose palmitate (Surfhope 1615), Tween 40 (Polysorbat 40) und Tween 80 (Polysorbat 80) dargestellt. Dabei erfolgt der Vergleich von rechnerischer KZB nach durchgeführter OD-Messung und experimenteller KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz und der experimentellen Beurteilung.

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09 ± 0,01	2,18E+07 ± 2,28E+06	+	7,50E+05	+
	Keim + Stoff	0,19 ± 0,05	5,23E+07 ± 1,28E+07		4,36E+06	
	Keim + Pepton	0,84 ± 0,02	2,22E+08 ± 7,35E+06	+	1,53E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,93 ± 0,03	2,94E+08 ± 8,22E+06		2,89E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,18 ± 0,07	2,74E+07 ± 8,21E+06	+	2,00E+06	+
	Keim + Stoff	0,44 ± 0,03	6,63E+07 ± 3,83E+06		8,00E+06	
	Keim + Pepton	1,07 ± 0,03	1,96E+08 ± 7,69E+06	o	8,90E+07	-
	Keim + Pepton + Stoff	1,13 ± 0,03	2,16E+08 ± 7,13E+06		3,80E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,17 ± 0,02	4,23E+07 ± 3,47E+06	+	8,70E+04	+
	Keim + Stoff	0,93 ± 0,12	2,28E+08 ± 3,38E+07		2,70E+06	
	Keim + Pepton	0,50 ± 0,06	1,18E+08 ± 6,86E+06	o	3,04E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,49 ± 0,14	1,19E+08 ± 2,69E+07		2,95E+07	

Tabelle 48: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Glyceryl oleate (Tegin OV) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,17 ± 0,01	4,55E+07 ± 2,38E+06	+	2,19E+07	-
	Keim + Stoff	0,42 ± 0,09	1,22E+08 ± 2,45E+07		4,03E+06	
	Keim + Pepton	0,90 ± 0,01	2,45E+08 ± 1,66E+06	+	4,42E+07	+
	Keim + Pepton + Stoff	0,97 ± 0,03	3,08E+08 ± 7,52E+06		1,58E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,24 ± 0,08	3,53E+07 ± 9,34E+06	+	3,50E+06	+
	Keim + Stoff	0,70 ± 0,13	1,04E+08 ± 1,56E+07		7,40E+07	
	Keim + Pepton	1,17 ± 0,08	2,32E+08 ± 2,38E+07	+	1,20E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,52 ± 0,08	4,02E+08 ± 4,33E+07		9,50E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,01	3,52E+07 ± 2,53E+06	+	9,00E+05	+
	Keim + Stoff	0,53 ± 0,05	1,28E+08 ± 1,04E+07		4,00E+06	
	Keim + Pepton	1,77 ± 0,09	8,18E+08 ± 9,12E+07	o	5,00E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,72 ± 0,06	7,53E+08 ± 5,46E+07		4,37E+08	

Tabelle 49: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Glyceryl stearate mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,14 ± 0,04	3,53E+07 ± 8,40E+06	+	1,10E+07	o
	Keim + Stoff	0,31 ± 0,04	8,73E+07 ± 8,85E+06		7,90E+06	
	Keim + Pepton	1,05 ± 0,03	3,14E+08 ± 1,11E+07	-	1,78E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,89 ± 0,04	2,80E+08 ± 1,11E+07		1,21E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,50 ± 0,04	7,94E+07 ± 4,09E+06	+	1,59E+08	o
	Keim + Stoff	0,78 ± 0,02	1,23E+08 ± 3,59E+06		1,09E+08	
	Keim + Pepton	1,20 ± 0,04	2,40E+08 ± 1,21E+07	o	2,81E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,24 ± 0,13	2,59E+08 ± 4,30E+07		1,30E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,09 ± 0,02	2,34E+07 ± 4,61E+06	+	2,02E+05	+
	Keim + Stoff	0,58 ± 0,08	1,40E+08 ± 1,43E+07		1,01E+07	
	Keim + Pepton	1,64 ± 0,13	6,67E+08 ± 9,96E+07	o	3,80E+08	+
	Keim + Pepton + Stoff	1,66 ± 0,04	6,89E+08 ± 3,74E+07		2,00E+09	

Tabelle 50: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Methyl glucose isostearate (Isolan IS) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09 ± 0,00	2,12E+07 ± 7,99E+05	-	2,40E+05	o
	Keim + Stoff	0,05 ± 0,02	1,13E+07 ± 4,03E+06	-	1,50E+05	
	Keim + Pepton	0,80 ± 0,03	2,37E+08 ± 1,08E+07	-	1,16E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,61 ± 0,04	1,83E+08 ± 1,03E+07	-	1,27E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,22 ± 0,04	3,29E+07 ± 5,14E+06	o	1,30E+07	-
	Keim + Stoff	0,28 ± 0,10	4,21E+07 ± 1,28E+07	o	6,00E+06	
	Keim + Pepton	0,94 ± 0,05	1,58E+08 ± 1,06E+07	o	4,50E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,02 ± 0,07	1,81E+08 ± 1,55E+07	o	3,30E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,15 ± 0,00	3,73E+07 ± 8,69E+05	o	4,00E+04	-
	Keim + Stoff	0,17 ± 0,03	4,17E+07 ± 5,22E+06	o	0,00E+00	
	Keim + Pepton	1,47 ± 0,10	5,13E+08 ± 6,57E+07	-	4,30E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,26 ± 0,02	6,54E+07 ± 3,95E+06	-	1,61E+05	

Tabelle 51: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters PEG-7 Glyceryl cocoate (Tegosoft GC) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09 ± 0,01	2,18E+07 ± 2,28E+06	o	7,50E+05	-
	Keim + Stoff	0,24 ± 0,11	6,73E+07 ± 2,67E+07	o	2,30E+05	
	Keim + Pepton	0,84 ± 0,02	2,22E+08 ± 7,35E+06	o	1,53E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,56 ± 0,23	1,69E+08 ± 6,11E+07	o	1,00E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,18 ± 0,07	2,74E+07 ± 8,21E+06	+	2,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,47 ± 0,09	7,07E+07 ± 1,13E+07	+	1,84E+06	
	Keim + Pepton	1,07 ± 0,03	1,96E+08 ± 7,69E+06	-	8,90E+07	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,89 ± 0,04	1,34E+08 ± 5,26E+06	-	1,50E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,17 ± 0,02	4,23E+07 ± 3,47E+06	+	8,70E+04	-
	Keim + Stoff	0,49 ± 0,06	1,19E+08 ± 1,16E+07	+	1,00E+03	
	Keim + Pepton	0,50 ± 0,06	1,18E+08 ± 6,86E+06	o	3,04E+07	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,56 ± 0,06	1,35E+08 ± 1,05E+07	o	0,00E+00	

Tabelle 52: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Polyglyceryl-3 caprate (Tegosoft PC 31) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09 ± 0,01	2,18E+07 ± 2,28E+06	o	7,50E+05	+
	Keim + Stoff	0,23 ± 0,13	6,23E+07 ± 3,11E+07		9,18E+06	
	Keim + Pepton	0,84 ± 0,02	2,22E+08 ± 7,35E+06	+	1,53E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,87 ± 0,07	2,73E+08 ± 1,97E+07		2,43E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,18 ± 0,07	2,74E+07 ± 8,21E+06	+	2,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,53 ± 0,02	8,00E+07 ± 2,78E+06		4,12E+06	
	Keim + Pepton	1,07 ± 0,03	1,96E+08 ± 7,69E+06	+	8,90E+07	-
	Keim + Pepton + Stoff	1,17 ± 0,05	2,29E+08 ± 1,35E+07		4,40E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	0,17 ± 0,02	4,23E+07 ± 3,47E+06	+	8,70E+04	-
	Keim + Stoff	0,54 ± 0,01	1,31E+08 ± 1,56E+06		4,72E+03	
	Keim + Pepton	0,50 ± 0,06	1,18E+08 ± 6,86E+06	+	3,04E+07	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,92 ± 0,09	2,24E+08 ± 2,52E+07		8,00E+05	

Tabelle 53: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Polyglyceryl-3 oleate (Isolan GO 33) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Berechnete KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,14 ± 0,04	3,53E+07 ± 8,40E+06	+	1,10E+07	o
	Keim + Stoff	0,36 ± 0,06	1,04E+08 ± 1,43E+07		7,50E+06	
	Keim + Pepton	1,05 ± 0,03	3,14E+08 ± 1,11E+07	o	1,78E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,03 ± 0,08	3,04E+08 ± 3,32E+07		1,64E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,50 ± 0,04	7,94E+07 ± 4,09E+06	+	1,59E+08	o
	Keim + Stoff	0,91 ± 0,03	1,52E+08 ± 6,22E+06		2,16E+08	
	Keim + Pepton	1,20 ± 0,04	2,40E+08 ± 1,21E+07	+	2,81E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,40 ± 0,10	3,31E+08 ± 4,15E+07		1,80E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,09 ± 0,02	2,34E+07 ± 4,61E+06	+	2,02E+05	+
	Keim + Stoff	0,73 ± 0,03	1,64E+08 ± 6,29E+06		6,40E+06	
	Keim + Pepton	1,64 ± 0,13	6,67E+08 ± 9,96E+07	-	3,80E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,56 ± 0,04	1,35E+08 ± 7,62E+06		1,30E+06	

Tabelle 54: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Span 80 mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Berechnete KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,09 ± 0,00	2,12E+07 ± 7,99E+05	+	2,40E+05	o
	Keim + Stoff	0,40 ± 0,03	1,14E+08 ± 7,71E+06		3,60E+05	
	Keim + Pepton	0,80 ± 0,03	2,37E+08 ± 1,08E+07	+	1,16E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,99 ± 0,01	3,15E+08 ± 3,39E+06		1,54E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,22 ± 0,04	3,29E+07 ± 5,14E+06	+	1,30E+07	+
	Keim + Stoff	0,64 ± 0,16	9,89E+07 ± 2,25E+07		6,60E+07	
	Keim + Pepton	0,94 ± 0,05	1,58E+08 ± 1,06E+07	+	4,50E+07	-
	Keim + Pepton + Stoff	1,38 ± 0,02	3,22E+08 ± 6,81E+06		4,00E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	0,15 ± 0,00	3,73E+07 ± 8,69E+05	+	4,00E+04	-
	Keim + Stoff	0,68 ± 0,13	1,62E+08 ± 2,39E+07		2,08E+03	
	Keim + Pepton	1,47 ± 0,10	5,13E+08 ± 6,57E+07	-	4,30E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,61 ± 0,05	1,48E+08 ± 9,78E+06		7,00E+04	

Tabelle 55: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Sucrose stearate (Surfhope 1803F) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Glyceryl oleate (Tegin OV) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein gesteigertes Wachstum bei rechnerischer und experimenteller KZB. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich nur in der rechnerischen KZB ein leicht gesteigertes Wachstum. Bei diesem Stoff handelt es sich allerdings um einen Ester aus Ölsäure mit Glycerin bzw. Polyglycerin. In der Literatur findet sich allerdings kein Nachweis, dass *Staph. epidermidis* zu der Spaltung dieser Art von Verbindung in der Lage ist [138].

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach Zugabe des Teststoffes ein gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich kein verändertes Wachstum in der rechnerischen KZB bzw. ein Verringeres in der experimentellen Bestimmung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton konnte kein Einfluss auf das Wachstum festgestellt werden. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt durch den des Peptons überdeckt.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Glyceryl stearate zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Hilfsstoffes eine deutliche Wachstumssteigerung der rechnerischen KZB. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische

KZB gestützt. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ebenfalls eine leichte Steigerung.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Hilfsstoffes eine deutliche und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton eine leichte Steigerung. Die experimentelle Bestimmung mit Pepton zeigte keinen Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Hilfsstoffes eine deutliche Wachstumssteigerung. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikanter Einfluss festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt durch den des Peptons überdeckt.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Methyl glucose isostearate (Isolan IS) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche Wachstumssteigerung bei der rechnerischen KZB. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton war das Wachstum leicht verringert. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff. Die experimentelle Bestimmung zeigte keinen signifikanten Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine Wachstumssteigerung bei der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte keinen signifikanten Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton war kein Einfluss erkennbar. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche Wachstumssteigerung. Eine mögliche Begründung könnte sein, dass der Keim in der Lage ist Glucose zu verstoffwechseln [138]. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton war in der rechnerischen KZB kein Einfluss erkennbar, die experimentelle Bestimmung zeigte eine Wachstumssteigerung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt durch den des Peptons überdeckt.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters PEG-7 Glyceryl cocoate (Tegosoft GC) zeigte bei *Staph. epidermidis* mit und ohne Pepton ein leicht verringertes Wachstum in der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte keinen signifikanten Einfluss.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich mit und ohne Pepton kein verändertes Wachstum, lediglich die experimentelle Bestimmung zeigte ohne Pepton ein verringertes Wachstum. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach Zugabe des Teststoffes bei der rechnerischen KZB kein Einfluss, die experimentelle Bestimmung wies kein Wachstum nach. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt und von einem Fehler in der experimentellen Bestimmung ausgegangen. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein deutlich verringertes Wachstum. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. *Coryne. minutissimum* ist in der Lage Sucrose zu verstoffwechseln [138], die dabei freiwerdende veresterte Stearinsäure könnte das Wachstum inhibiert haben.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Polyglyceryl-3 caprate (Tegosoft PC 31) zeigte bei *Staph. epidermidis* mit und ohne Pepton kein signifikant verändertes Wachstum bei der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte ein leicht bis deutlich verringertes Wachstum. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, in der experimentellen Bestimmung hingegen kein Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich hier auf die rechnerische KZB gestützt. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein leicht verringertes Wachstum. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche Wachstumssteigerung bei der rechnerischen KZB, in der experimentellen Bestimmung hingegen eine deutliche Minderung. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton war in der rechnerischen KZB kein Einfluss erkennbar, die experimentelle Bestimmung zeigte kein Wachstum. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Polyglyceryl-3 oleate (Isolan GO 33) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes kein signifikantes Wachstum in der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung hingegen eine deutliche Steigerung.

Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte die rechnerische KZB eine geringe Wachstumssteigerung, welche die experimentelle Bestimmung nicht bestätigte. Auch hier handelt es sich um einen Ester aus Ölsäure mit Glycerin bzw. Polyglycerin und die Fähigkeit zur Spaltung dieser Art von Verbindung ist bei *Staph. epidermidis* bisher nicht bekannt [138]. Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche Wachstumssteigerung bei der rechnerischen KZB, welche die experimentelle Bestimmung nicht bestätigte. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich noch eine leichte Wachstumssteigerung bei der rechnerischen KZB, in der experimentellen Bestimmung hingegen eine Wachstumsminderung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton eine leichte Wachstumssteigerung bei der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte jeweils eine deutliche Wachstumsminderung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt und von einem Fehler der experimentellen Bestimmung ausgegangen.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Span 80 zeigte bei *Staph. epidermidis* nach Zugabe des Teststoffes eine deutliche Steigerung der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen kein signifikanter Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen kein Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich sowohl bei rechnerischer als auch experimenteller KZB ein deutlich gesteigertes Wachstum nach Zugabe des Teststoffes und ein verringertes Wachstum nach zusätzlicher Zugabe von Pepton. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Sucrose stearate (Surfhope 1803F) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche und nach der zusätzlichen Zugabe von Pepton eine leichte Wachstumssteigerung bei der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte keinen Effekt. Aufgrund der dreifachen

Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt. In der Literatur wurden allerdings wachstumsinhibierende Effekte bei Kombination von Keim und Teststoff beschrieben [139]. Eine mögliche Erklärung wäre, dass die verwendete Konzentration von 5 % zu gering für diesen Effekt ist.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte die rechnerische KZB eine leichte Steigerung, die experimentelle Bestimmung hingegen eine Reduzierung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung hingegen eine Reduzierung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt.

Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde eine Wachstumsreduzierung festgestellt. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. *Coryne. minutissimum* ist prinzipiell in der Lage, Sucrose zu verstoffwechseln [138], die dabei freiwerdende veresterte Stearinsäure könnte auch hier das Wachstum inhibiert haben.

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurteilg.
Staph. epidermidis	Keim	0,08 ± 0,01	1,92E+07 ± 2,07E+06	o	8,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,09 ± 0,01	2,35E+07 ± 2,69E+06		9,10E+06	
	Keim + Pepton	0,87 ± 0,02	2,35E+08 ± 8,50E+06	+	8,90E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,94 ± 0,01	2,61E+08 ± 4,40E+06		1,30E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,44 ± 0,05	7,18E+07 ± 5,74E+06	o	8,40E+07	o
	Keim + Stoff	0,48 ± 0,03	7,69E+07 ± 4,13E+06		1,10E+08	
	Keim + Pepton	1,28 ± 0,05	2,74E+08 ± 2,11E+07	o	1,10E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,28 ± 0,04	2,73E+08 ± 1,77E+07		1,90E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,21 ± 0,01	5,31E+07 ± 1,97E+06	o	4,00E+05	o
	Keim + Stoff	0,22 ± 0,04	5,50E+07 ± 1,02E+07		1,40E+06	
	Keim + Pepton	1,66 ± 0,1	7,04E+08 ± 1,09E+08	o	8,00E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,62 ± 0,17	6,74E+08 ± 1,61E+08		1,40E+09	

Tabelle 56: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Macrogol-40-Glycerylhydroxystearat (Cremophor RH 40) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,08 ± 0,00	1,96E+07 ± 1,21E+06	o	1,50E+07	o
	Keim + Stoff	0,07 ± 0,02	1,58E+07 ± 5,97E+06		9,00E+06	
	Keim + Pepton	0,66 ± 0,04	2,02E+08 ± 1,38E+07	o	1,21E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,72 ± 0,02	2,23E+08 ± 7,51E+06		1,31E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,41 ± 0,04	6,84E+07 ± 4,47E+06	-	8,40E+07	o
	Keim + Stoff	0,33 ± 0,03	4,87E+07 ± 5,20E+06		4,80E+07	
	Keim + Pepton	1,29 ± 0,08	2,82E+08 ± 3,90E+07	o	1,70E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,31 ± 0,04	2,86E+08 ± 1,77E+07		1,50E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,13 ± 0,04	3,42E+07 ± 8,72E+06	+	2,00E+04	o
	Keim + Stoff	0,21 ± 0,00	5,15E+07 ± 8,20E+05		8,00E+03	
	Keim + Pepton	1,33 ± 0,06	4,20E+08 ± 3,81E+07	-	3,01E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,15 ± 0,07	3,17E+08 ± 3,45E+07		1,90E+08	

Tabelle 57: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters PEG-40 hydrogenated castor oil (Tagat CH 40) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,15 ± 0,00	3,91E+07 ± 1,08E+06	o	9,20E+06	o
	Keim + Stoff	0,15 ± 0,01	4,03E+07 ± 1,65E+06		9,40E+06	
	Keim + Pepton	0,72 ± 0,03	2,20E+08 ± 8,54E+06	o	9,00E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,81 ± 0,04	2,14E+08 ± 1,24E+07		1,10E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,22 ± 0,07	5,10E+07 ± 5,45E+06	o	3,32E+07	o
	Keim + Stoff	0,36 ± 0,04	6,40E+07 ± 4,33E+06		4,45E+07	
	Keim + Pepton	1,03 ± 0,1	1,85E+08 ± 2,98E+07	o	1,10E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,86 ± 0,12	1,43E+08 ± 2,61E+07		4,02E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,11 ± 0,03	2,83E+07 ± 8,28E+06	o	8,40E+04	-
	Keim + Stoff	0,16 ± 0,01	4,11E+07 ± 1,78E+06		3,00E+04	
	Keim + Pepton	1,86 ± 0,03	9,42E+08 ± 3,68E+07	-	1,02E+09	-
	Keim + Pepton + Stoff	1,74 ± 0,02	7,84E+08 ± 2,85E+07		6,30E+08	

Tabelle 58: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters PEG-40 stearate (Tego Acid S 40 P) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,12 ± 0,03	3,08E+07 ± 7,53E+06	+	6,40E+06	+
	Keim + Stoff	0,60 ± 0,12	2,02E+08 ± 8,72E+06		2,80E+08	
	Keim + Pepton	0,81 ± 0,03	2,12E+08 ± 1,19E+07	+	3,80E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,08 ± 0,09	3,34E+08 ± 5,21E+07		3,70E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,36 ± 0,06	5,38E+07 ± 9,09E+06	+	7,30E+07	o
	Keim + Stoff	0,88 ± 0,05	1,45E+08 ± 1,13E+07		7,70E+07	
	Keim + Pepton	1,35 ± 0,06	3,08E+08 ± 3,03E+07	o	1,80E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,50 ± 0,1	3,93E+08 ± 5,91E+07		1,20E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,02	3,46E+07 ± 4,38E+06	+	4,80E+04	o
	Keim + Stoff	0,79 ± 0,05	1,82E+08 ± 1,31E+07		2,90E+04	
	Keim + Pepton	1,70 ± 0,04	7,39E+08 ± 4,12E+07	-	6,10E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,84 ± 0,05	1,96E+08 ± 1,41E+07		1,30E+07	

Tabelle 59: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,10 ± 0,01	2,58E+07 ± 2,16E+06	o	1,18E+06	-
	Keim + Stoff	0,07 ± 0,02	1,75E+07 ± 4,78E+06		4,80E+05	
	Keim + Pepton	0,75 ± 0,02	2,32E+08 ± 7,36E+06	-	4,70E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,56 ± 0,03	1,67E+08 ± 8,56E+06		2,30E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,31 ± 0,07	4,59E+07 ± 1,06E+07	+	2,60E+07	o
	Keim + Stoff	0,51 ± 0,01	8,06E+07 ± 1,03E+06		7,70E+07	
	Keim + Pepton	1,08 ± 0,04	1,99E+08 ± 1,24E+07	+	1,19E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,26 ± 0,04	2,66E+08 ± 1,84E+07		1,54E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,03	3,65E+07 ± 8,32E+06	+	4,04E+05	o
	Keim + Stoff	0,27 ± 0,02	6,74E+07 ± 4,33E+06		4,51E+05	
	Keim + Pepton	1,59 ± 0,03	6,22E+08 ± 2,65E+07	-	3,70E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,20 ± 0,02	4,96E+07 ± 5,99E+06		2,63E+07	

Tabelle 60: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Sucrose palmitate (Surfhope 1615) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,15 ± 0,01	4,00E+07 ± 2,06E+06	o	4,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,12 ± 0,03	2,94E+07 ± 7,05E+06		2,00E+06	
	Keim + Pepton	0,71 ± 0,02	2,17E+08 ± 7,54E+06	o	5,40E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,77 ± 0,05	2,37E+08 ± 1,56E+07		5,70E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,36 ± 0,06	5,35E+07 ± 8,67E+06	o	4,60E+07	o
	Keim + Stoff	0,40 ± 0,09	6,82E+07 ± 9,49E+06		8,60E+07	
	Keim + Pepton	1,32 ± 0,1	2,97E+08 ± 4,41E+07	-	2,54E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,93 ± 0,06	1,58E+08 ± 1,50E+07		1,63E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,18 ± 0,01	4,45E+07 ± 2,78E+06	o	5,00E+07	o
	Keim + Stoff	0,18 ± 0,01	4,44E+07 ± 3,15E+06		2,60E+07	
	Keim + Pepton	1,51 ± 0,17	5,72E+08 ± 1,54E+08	o	3,50E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,45 ± 0,08	5,06E+08 ± 5,61E+07		2,80E+08	

Tabelle 61: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Tween 40 (Polysorbat 40) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,20 ± 0,03	5,31E+07 ± 8,92E+06	o	1,40E+07	o
	Keim + Stoff	0,22 ± 0,02	5,99E+07 ± 5,43E+06		1,29E+07	
	Keim + Pepton	0,82 ± 0,13	2,19E+08 ± 4,61E+07	o	1,91E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,00 ± 0,13	2,98E+08 ± 5,99E+07		9,00E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,21 ± 0,05	3,09E+07 ± 6,85E+06	+	2,93E+08	-
	Keim + Stoff	0,35 ± 0,07	6,26E+07 ± 6,96E+06		6,50E+07	
	Keim + Pepton	0,72 ± 0,14	1,15E+08 ± 2,37E+07	o	3,24E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,83 ± 0,06	1,35E+08 ± 1,23E+07		3,00E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,18 ± 0,01	4,45E+07 ± 2,78E+06	o	4,20E+07	o
	Keim + Stoff	0,16 ± 0,01	3,95E+07 ± 2,68E+06		9,00E+06	
	Keim + Pepton	1,80 ± 0,06	8,69E+08 ± 8,38E+07	o	6,90E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,78 ± 0,0	8,31E+08 ± 6,04E+06		1,04E+09	

Tabelle 62: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Tween 80 (Polysorbat 80) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Macrogol-40-Glycerylhydroxystearat (Cremophor RH 40) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach Zugabe des Teststoffes kein signifikant verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte lediglich die rechnerische KZB eine leichte Wachstumszunahme.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich keine Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich kein Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters PEG-40 hydrogenated castor oil (Tagat CH 40) zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach Zugabe des Teststoffes lediglich ein leicht reduziertes Wachstum bei der rechnerischen KZB. Bei der experimentellen Bestimmung und nach Zugabe von Pepton zeigte sich kein verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht erhöhtes, und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton ein leicht reduziertes Wachstum. Bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich kein verändertes Wachstum.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters PEG-40 stearate (Tego Acid S 40 P) zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich kein Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum in der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte ein reduziertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein leicht reduziertes Wachstum. In einer Studie, in welcher der Effekt nichtionischer Emulgatoren auf die strukturelle Aktivität der menschlichen Haut untersucht wurde, konnte durch die Messung des transepidermalen Wasserverlustes eine Beeinträchtigung der Hautbarriere bei PEG-40 stearate nachgewiesen werden [140]. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung wäre eine Schädigung der Hautmikroflora, allerdings wäre dann eine stärkere Beeinträchtigung des Wachstums zu erwarten gewesen.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum bei rechnerischer und experimenteller KZB. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton konnte nur noch eine leichte Wachstumssteigerung festgestellt werden, die experimentelle Bestimmung zeigte keine signifikante Änderung. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt. Eine mögliche Erklärung für das gesteigerte Wachstum wäre eine Verstoffwechslung der Glukose nach Hydrolyse des Zuckeresters Methylglukosid, da *Staph. epidermidis* laut Literatur dazu prinzipiell in der Lage ist [141].

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Hilfsstoffes eine deutliche Wachstumssteigerung bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen kein Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Hilfsstoffes eine deutliche Wachstumssteigerung bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen kein Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt. Nach der zusätzlichen Zugabe von Pepton zeigte sich ein deutlich reduziertes Wachstum. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Sucrose palmitate (Surfhope 1615) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes keinen Einfluss bei der berechneten und ein reduziertes Wachstum bei der experimentellen KZB. Nach der zusätzlichen Zugabe von Pepton zeigte sich ein leicht reduziertes Wachstum. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff. In der Literatur [142] konnte schon bei geringen Konzentrationen von Sucrose palmitate eine wachstumshemmende Wirkung auf *Staph. epidermidis* nachgewiesen werden, was die erzielten Ergebnisse prinzipiell untermauert.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich mit und ohne Pepton ein gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen kein signifikanter Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen kein Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein deutlich reduziertes Wachstum. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Tween 40 (Polysorbat 40) zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein signifikant verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein leicht reduziertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung hingegen keinen Einfluss. Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich kein Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Tween 80 (Polysorbat 80) zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen eine Wachstumsminderung. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich keine Einfluss auf das Wachstum.

Um die auffälligen Ergebnisse bei der Auswertung von Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate genauer zu untersuchen wurde ein weiterer Versuch durchgeführt. Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe von Pepton ein deutlich vermindertes Wachstum bei berechneter und experimenteller KZB. Ohne Zugabe von Pepton waren die Ergebnisse widersprüchlich. Daher wurde der Versuch analog zu dem Vorherigen exemplarisch mit *Coryne. minutissimum* wiederholt, die Konzentration von Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate jedoch von 5 % auf 20 % erhöht. Das Ergebnis der dreifachen OD-Messung und experimentellen KZB ist in der folgenden Grafik dargestellt.

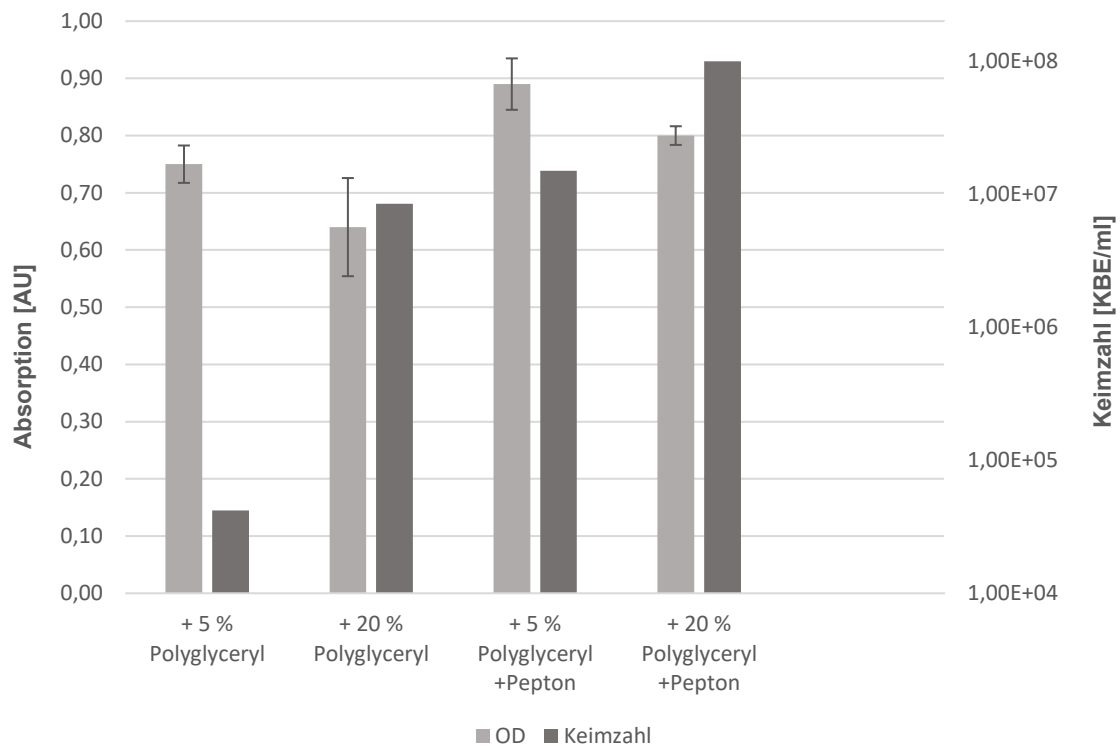


Abbildung 35: Auswertung des Versuches mit *Coyne. minutissimum* und erhöhter Konzentration von Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate

Entgegen dem zu erwartenden Ergebnis einer deutlicheren Wachstumsminderung zeigte bei der experimentellen KZB mit und ohne Pepton eine deutliche Steigerung des Wachstums nach der Zugabe von 20%igem Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate. Die OD hingegen war jeweils nach Zugabe des Teststoffes leicht reduziert. Hier ist keine klare Zuordnung des Effektes möglich und ggf. sind weitere Versuche angebracht.

5.2.1.3.3 Synthetische Fettsäureether

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 63 bis 66 die Auswertungen der synthetischen Fettsäureether Ceteth-25 (Cetareth-25), Laureth-20, Oleth-20 (Chemonic OE-20) und Steareth-20 (Lipocol S-20) dargestellt. Dabei erfolgt der Vergleich von rechnerischer KZB nach durchgeführter OD-Messung und experimenteller KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz und der experimentellen Beurteilung.

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,12 ± 0,0	3,10E+07 ± 7,03E+05	-	4,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,12 ± 0,0	2,45E+07 ± 2,30E+06		4,00E+06	
	Keim + Pepton	0,81 ± 0,01	2,12E+08 ± 3,85E+06		6,10E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,93 ± 0,02	2,60E+08 ± 7,35E+06	+	9,00E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,49 ± 0,06	7,81E+07 ± 7,65E+06	o	1,13E+07	o
	Keim + Stoff	0,46 ± 0,01	7,38E+07 ± 1,36E+06		2,60E+07	
	Keim + Pepton	1,26 ± 0,06	2,68E+08 ± 2,45E+07	o	1,70E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,25 ± 0,03	2,60E+08 ± 1,10E+07		2,40E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,12 ± 0,02	2,95E+07 ± 4,31E+06	+	6,30E+04	-
	Keim + Stoff	0,16 ± 0,0	4,16E+07 ± 4,14E+05		2,00E+01	
	Keim + Pepton	1,20 ± 0,1	3,46E+08 ± 5,31E+07	-	3,60E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,30 ± 0,1	7,39E+07 ± 2,44E+07		6,00E+07	

Tabelle 63: Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Ceteth-25 (Cetareth-25) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,13 ± 0,02	3,39E+07 ± 6,03E+06	o	8,40E+06	o
	Keim + Stoff	0,15 ± 0,01	3,91E+07 ± 3,65E+06		1,04E+07	
	Keim + Pepton	0,81 ± 0,03	2,14E+08 ± 9,87E+06		1,29E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,86 ± 0,01	2,30E+08 ± 2,17E+06	o	1,61E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,32 ± 0,01	4,71E+07 ± 1,36E+06	+	5,20E+07	o
	Keim + Stoff	0,42 ± 0,07	7,03E+07 ± 7,93E+06		1,15E+08	
	Keim + Pepton	1,35 ± 0,06	3,07E+08 ± 3,15E+07	-	1,90E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,17 ± 0,02	2,31E+08 ± 7,67E+06		1,20E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,02	3,46E+07 ± 4,38E+06	o	1,30E+02	o
	Keim + Stoff	0,16 ± 0,03	3,94E+07 ± 7,27E+06		4,00E+02	
	Keim + Pepton	1,70 ± 0,04	7,39E+08 ± 4,12E+07	-	6,10E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,50 ± 0,01	5,40E+08 ± 1,02E+07		6,80E+08	

Tabelle 64: Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Laureth-20 mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,10 ± 0,01	2,58E+07 ± 2,16E+06	o	1,18E+06	o
	Keim + Stoff	0,11 ± 0,01	2,72E+07 ± 2,89E+06		1,02E+06	
	Keim + Pepton	0,75 ± 0,02	2,32E+08 ± 7,36E+06	o	4,70E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,84 ± 0,03	2,22E+08 ± 1,00E+07		5,90E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,31 ± 0,07	4,59E+07 ± 1,06E+07	o	2,60E+07	o
	Keim + Stoff	0,37 ± 0,1	5,56E+07 ± 1,50E+07		2,70E+07	
	Keim + Pepton	1,08 ± 0,04	1,99E+08 ± 1,24E+07	o	1,19E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,19 ± 0,06	2,37E+08 ± 2,18E+07		1,22E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,03	3,65E+07 ± 8,32E+06	o	4,04E+05	o
	Keim + Stoff	0,09 ± 0,03	2,35E+07 ± 6,48E+06		8,40E+05	
	Keim + Pepton	1,59 ± 0,03	6,22E+08 ± 2,65E+07	-	3,70E+09	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,81 ± 0,07	1,88E+08 ± 2,12E+07		3,81E+09	

Tabelle 65: Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Oleth-20 (Chemonic OE-20) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,12 ± 0,0	3,10E+07 ± 7,03E+05	o	4,00E+05	o
	Keim + Stoff	0,10 ± 0,01	2,54E+07 ± 3,78E+06		4,00E+05	
	Keim + Pepton	0,81 ± 0,01	2,12E+08 ± 3,85E+06	+	6,10E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,93 ± 0,03	2,57E+08 ± 1,39E+07		7,00E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,49 ± 0,06	7,81E+07 ± 7,65E+06	o	1,13E+08	o
	Keim + Stoff	0,46 ± 0,02	7,39E+07 ± 2,12E+06		7,10E+07	
	Keim + Pepton	1,26 ± 0,06	2,68E+08 ± 2,45E+07	o	1,70E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,16 ± 0,03	2,27E+08 ± 9,15E+06		2,00E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,12 ± 0,02	2,95E+07 ± 4,31E+06	+	6,30E+04	o
	Keim + Stoff	0,17 ± 0,0	4,24E+07 ± 1,21E+06		2,50E+04	
	Keim + Pepton	1,20 ± 0,1	3,46E+08 ± 5,31E+07	-	3,60E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,89 ± 0,06	2,14E+08 ± 2,10E+07		7,00E+07	

Tabelle 66: Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Steareth-20 (Lipocol S-20) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Ceteth-25 (Cetareth-25) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht reduziertes Wachstum bei der rechnerischen KZB. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte die rechnerische KZB ein leicht gesteigertes Wachstum. Die experimentelle Bestimmung zeigte jeweils keinen signifikanten Einfluss.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich kein Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte eine deutliche Reduzierung. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein deutlich reduziertes Wachstum. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff. Ebenfalls in Betracht gezogen werden sollte ein Einfluss des pH-Wertes, da der Fettsäureether nach der Verarbeitung einen pH-Wert von 4,5 aufweisen kann [143], Corynebakterien hingegen ein leicht alkalisches Milieu bevorzugen [137].

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Laureth-20 zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht gesteigertes und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton ein leicht verringertes Wachstum bei der rechnerischen KZB. Die experimentelle Bestimmung zeigte jeweils keinen Einfluss.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein leicht reduziertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung hingegen kein Einfluss.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Oleth-20 (Chemonix OE-20) zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich kein Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte die rechnerische KZB ein deutlich reduziertes Wachstum, die experimentelle Bestimmung hingegen keinen Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureethers Steareth-20 (Lipocol S-20) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte die rechnerische KZB eine geringe Wachstumssteigerung, die experimentelle Bestimmung zeigte hingegen keinen Einfluss.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich kein Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich bei der rechnerischen KZB nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht gesteigertes und nach der zusätzlichen Zugabe von Pepton ein leicht reduziertes Wachstum. Die experimentelle Bestimmung konnte dies nicht bestätigen.

In einer Studie, in welcher der Effekt nichtionischer Emulgatoren auf die strukturelle Aktivität der menschlichen Haut untersucht wurde, konnte durch die Messung des transepidermalen Wasserverlustes bei Steareth-20 keine Beeinträchtigung der Hautbarriere nachgewiesen werden [140]. Dies spricht ebenfalls gegen einen schädigenden Effekt auf die Hautmikroflora.

5.2.1.3.4 Polymere

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 67 und 68 die Auswertungen des lipophilen Polymers Cetyl PEG (PPG-10/Dimethicon/Abil EM 90) und des hydrophilen Polymers Poloxamer 407 dargestellt. Dabei erfolgt der Vergleich von rechnerischer KZB nach durchgeführter OD-Messung und experimenteller KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz und der experimentellen Beurteilung.

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurteilg.
Staph. epidermidis	Keim	0,14 ± 0,04	3,53E+07 ± 8,40E+06	o	1,10E+07	o
	Keim + Stoff	0,12 ± 0,00	2,98E+07 ± 1,13E+06		8,10E+06	
	Keim + Pepton	1,05 ± 0,03	3,14E+08 ± 1,11E+07	-	1,78E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,79 ± 0,02	2,32E+08 ± 1,50E+07		1,86E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,50 ± 0,04	7,94E+07 ± 4,09E+06	+	1,59E+08	o
	Keim + Stoff	0,66 ± 0,04	1,01E+08 ± 5,10E+06		1,51E+08	
	Keim + Pepton	1,20 ± 0,04	2,40E+08 ± 1,21E+07	o	2,81E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,27 ± 0,06	2,70E+08 ± 1,97E+07		1,36E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,09 ± 0,02	2,34E+07 ± 4,61E+06	+	2,02E+05	+
	Keim + Stoff	1,64 ± 0,13	6,67E+08 ± 9,96E+07		3,90E+06	
	Keim + Pepton	0,96 ± 0,11	2,37E+08 ± 3,14E+07	+	3,80E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,75 ± 0,03	7,85E+08 ± 2,84E+07		6,60E+08	

Tabelle 67: Auswertung des Polymers Cetyl PEG (PPG-10/Dimethicon/Abil EM 90) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurteilg.
Staph. epidermidis	Keim	0,08 ± 0,0	1,96E+07 ± 1,21E+06	o	1,50E+06	o
	Keim + Stoff	0,08 ± 0,01	1,84E+07 ± 3,78E+06		1,50E+06	
	Keim + Pepton	0,66 ± 0,04	2,02E+08 ± 1,38E+07	o	1,21E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,79 ± 0,09	2,45E+08 ± 3,05E+07		8,50E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,33 ± 0,03	4,87E+07 ± 5,20E+06	+	8,40E+07	o
	Keim + Stoff	0,47 ± 0,03	7,57E+07 ± 3,70E+06		4,10E+07	
	Keim + Pepton	1,29 ± 0,08	2,82E+08 ± 3,90E+07	o	1,70E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,25 ± 0,03	2,62E+08 ± 1,24E+07		1,60E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,13 ± 0,04	3,42E+07 ± 8,72E+06	+	2,00E+04	o
	Keim + Stoff	0,22 ± 0,01	5,57E+07 ± 1,64E+06		2,20E+04	
	Keim + Pepton	1,33 ± 0,06	4,20E+08 ± 3,81E+07	o	3,01E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,36 ± 0,09	4,40E+08 ± 5,70E+07		2,97E+08	

Tabelle 68: Auswertung des Polymers Poloxamer 407 mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Die Auswertung des Polymers Cetyl PEG (PPG-10/Dimethicon/Abil EM 90) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte die rechnerische KZB eine geringe Wachstumssteigerung, die experimentelle Bestimmung zeigte hingegen keinen Einfluss.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB. Bei der experimentellen Bestimmung und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich kein Einfluss.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte die rechnerische KZB eine deutliche Steigerung, die experimentelle Bestimmung zeigte hingegen keinen Einfluss. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt.

Die Auswertung des Polymers Poloxamer 407 zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, die experimentelle Bestimmung zeigte keinen Einfluss. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich kein verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht gesteigertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, die experimentelle Bestimmung zeigte keinen Einfluss. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich kein verändertes Wachstum.

5.2.1.3.5 Lösungsvermittler

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 69 bis 71 die Auswertungen der Lösungsvermittler PEG-300 (Kolliphor P407), PEG-350 (PEG-6) und PEG-550 (PEG-6 methyl ether) dargestellt. Dabei erfolgt der Vergleich von rechnerischer KZB nach durchgeführter OD-Messung und experimenteller KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz und der experimentellen Beurteilung.

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,19 ± 0,0	5,21E+07 ± 6,08E+05	o	3,10E+06	o
	Keim + Stoff	0,19 ± 0,01	5,22E+07 ± 4,01E+06		4,80E+06	
	Keim + Pepton	0,89 ± 0,02	2,44E+08 ± 8,12E+06	o	9,70E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,76 ± 0,03	2,34E+08 ± 1,13E+07		6,00E+07	
Staph. gallinarum	Keim	0,44 ± 0,02	7,18E+07 ± 1,92E+06	-	4,80E+07	o
	Keim + Stoff	0,23 ± 0,04	3,47E+07 ± 5,37E+06		2,70E+07	
	Keim + Pepton	1,16 ± 0,04	2,25E+08 ± 1,30E+07	+	8,40E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,43 ± 0,01	3,49E+08 ± 4,99E+06		2,30E+08	
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,02	3,62E+07 ± 4,09E+06	+	3,70E+04	o
	Keim + Stoff	0,18 ± 0,0	4,59E+07 ± 7,49E+05		5,00E+04	
	Keim + Pepton	1,48 ± 0,04	5,23E+08 ± 3,00E+07	+	6,40E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,67 ± 0,06	7,04E+08 ± 5,81E+07		6,70E+08	

Tabelle 69: Auswertung des Lösungsvermittlers PEG-300 (Kolliphor P407) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,19 ± 0,0	5,21E+07 ± 6,08E+05	-	3,10E+06	-
	Keim + Stoff	0,16 ± 0,0	4,25E+07 ± 7,24E+05		1,20E+05	
	Keim + Pepton	0,89 ± 0,02	2,44E+08 ± 8,12E+06	o	9,70E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,00 ± 0,05	2,91E+08 ± 2,51E+07		2,00E+08	
Staph. gallinarum	Keim	0,44 ± 0,02	7,18E+07 ± 1,92E+06	-	4,80E+07	-
	Keim + Stoff	0,14 ± 0,02	2,11E+07 ± 3,37E+06		2,70E+06	
	Keim + Pepton	1,16 ± 0,04	2,25E+08 ± 1,30E+07	o	8,40E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,19 ± 0,02	2,39E+08 ± 8,75E+06		9,10E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	0,14 ± 0,02	3,62E+07 ± 4,09E+06	+	3,70E+05	o
	Keim + Stoff	0,18 ± 0,0	4,47E+07 ± 1,02E+06		3,20E+05	
	Keim + Pepton	1,48 ± 0,04	5,23E+08 ± 3,00E+07	+	6,40E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,59 ± 0,04	6,22E+08 ± 3,52E+07		1,20E+08	

Tabelle 70: Auswertung des Lösungsvermittlers PEG-350 (PEG-6) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Keim	Probe	OD MW ± SD [AU]	Rechnerische KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz	Experim. KZB [KBE/ml]	Experim. Beurtlg.
Staph. epidermidis	Keim	0,08 ± 0,01	1,92E+07 ± 2,07E+06	o	8,00E+06	o
	Keim + Stoff	0,09 ± 0,01	2,24E+07 ± 1,71E+06	o	7,10E+06	o
	Keim + Pepton	0,87 ± 0,02	2,35E+08 ± 8,50E+06	o	8,90E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	0,86 ± 0,03	2,29E+08 ± 1,12E+07	o	1,60E+08	o
Staph. gallinarum	Keim	0,44 ± 0,05	7,18E+07 ± 5,74E+06	o	8,40E+07	o
	Keim + Stoff	0,44 ± 0,05	7,20E+07 ± 5,60E+06	o	7,50E+07	o
	Keim + Pepton	1,28 ± 0,05	2,74E+08 ± 2,11E+07	o	1,05E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,21 ± 0,07	2,47E+08 ± 2,74E+07	o	1,34E+08	o
Coryne. minutissimum	Keim	0,21 ± 0,01	5,31E+07 ± 1,97E+06	o	4,00E+05	o
	Keim + Stoff	0,21 ± 0,02	5,29E+07 ± 5,91E+06	o	6,00E+05	o
	Keim + Pepton	1,66 ± 0,1	7,04E+08 ± 1,09E+08	o	8,00E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,68 ± 0,13	7,31E+08 ± 1,42E+08	o	1,27E+09	o

Tabelle 71: Auswertung des Lösungsvermittlers PEG-550 (PEG-6 methyl ether) mit Vergleich der experimentellen und rechnerischen KZB

Die Auswertung des Lösungsvermittlers PEG-300 (Kolliphor P407) zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich reduziertes Wachstum bei der rechnerischen KZB, bei der experimentellen Bestimmung zeigte sich hingegen keine signifikanter Effekt. Aufgrund der dreifachen Bestimmung wird sich auf die rechnerische KZB gestützt. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte die rechnerische KZB eine leichte Wachstumssteigerung. Hier ist davon auszugehen, dass der wachstumsmindernde Effekt durch das Pepton überdeckt wurde.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich bei der rechnerischen KZB mit und ohne Pepton eine leichte Wachstumszunahme. Die experimentelle Bestimmung zeigte keinen Einfluss.

Die Auswertung des Lösungsvermittlers PEG-350 (PEG-6) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach Zugabe des Teststoffes ein leicht reduziertes Wachstum bei berechneter und experimenteller KZB. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich kein Einfluss.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach Zugabe des Teststoffes ein deutlich reduziertes Wachstum bei berechneter und experimenteller KZB. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich kein Einfluss.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich bei der rechnerischen KZB mit und ohne Pepton eine leichte Wachstumszunahme. Die experimentelle Bestimmung zeigte keinen Einfluss.

Die Auswertung des Lösungsvermittlers PEG-550 (PEG-6 methyl ether) zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich kein Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich kein Einfluss auf das Wachstum.

Um die auffälligen Ergebnisse bei der Auswertung von PEG-350 genauer zu untersuchen, wurde ein weiterer Versuch durchgeführt. Sowohl bei *Staph. epidermidis* als auch bei *Staph. gallinarum* zeigte sich ein stark vermindertes Wachstum bei rechnerischer und experimenteller KZB. Nach jeweiliger Zugabe von Pepton wurde keine signifikante Änderung festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumsmindernde Effekt des Teststoffes durch den wachstumssteigernden Effekt des Peptons überdeckt. Daher wurde der Versuch analog zu dem Vorherigen exemplarisch mit *Staph. gallinarum* wiederholt, die Konzentration von PEG-350 jedoch von 5 % auf 20 % erhöht. Das Ergebnis der dreifachen OD-Messung und einfachen experimentellen KZB ist in der folgenden Grafik dargestellt.

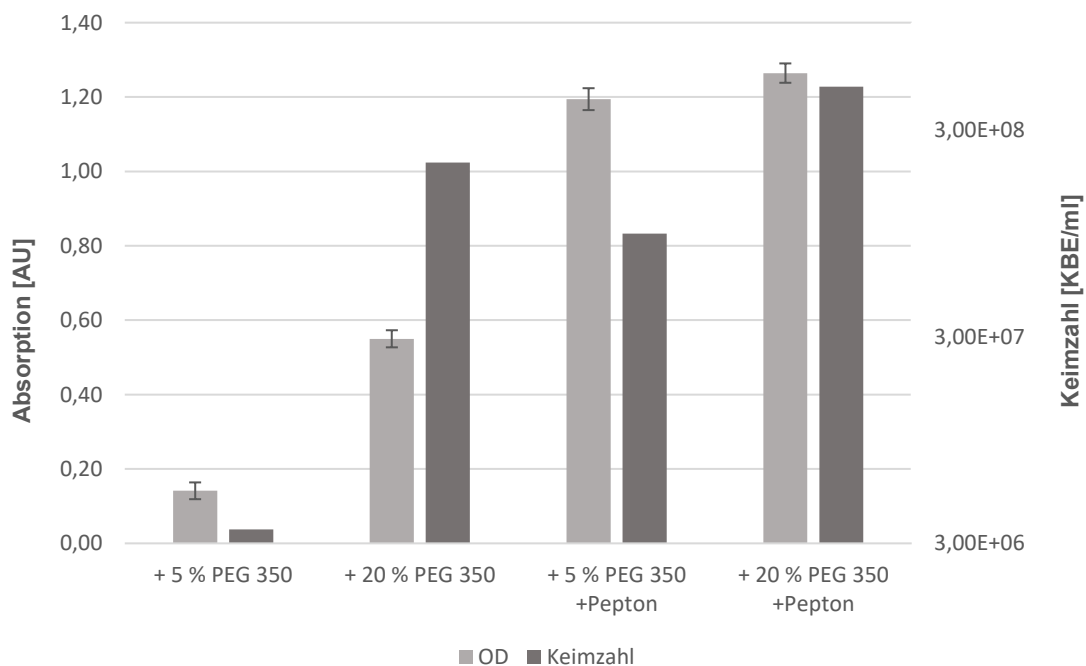


Abbildung 36: Auswertung des Versuches mit *Staph. gallinarum* und erhöhter Konzentration von PEG-350

Entgegen dem zu erwartenden Ergebnis einer deutlicheren Wachstumsminderung, zeigte sich sowohl bei der OD als auch KZB eine deutliche Steigerung des Wachstums nach der Zugabe von 20 % PEG-350. Der Unterschied zwischen 5 % und 20 % nach zusätzlicher Zugabe von Pepton ist als marginal zu betrachten. Hier ist keine klare Zuordnung des Effektes möglich und ggf. sind weitere Versuche angeraten.

5.2.1.4 Emollientien

Wie bereits im Kapitel Methodenentwicklung erwähnt, war die Messung der optischen Dichte aufgrund der Tröpfchenbildung für die Auswertung der Emollientien nicht möglich. Daher erfolgte hier ausschließlich eine dreifache experimentelle Keimzahlbestimmung mittels Drigalski-Plattenausstrichverfahren.

Im Verlauf der Testung der Emollientien zeigte *Staph. gallinarum* zunehmende Auffälligkeiten. Beispielsweise erfolgte auch bei den Kontrollproben nach Zugabe von Pepton kein vermehrtes Wachstum mehr, so dass im Verlauf von weiteren Versuchen mit diesem Keim abgesehen und nur ein Teil der natürlichen Emollientien in dieser Kombination getestet wurde.

5.2.1.4.1 Natürliche Emollientien

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 72 bis 84 die Auswertungen der natürlichen Emollientien Avocadoöl, Erdnussöl, Jojobaöl, Leinöl, Mandelöl, Nachtkerzenöl, Olivenöl, Rapsöl, Rizinusöl, Sesamöl, Sojaöl, Traubenkernöl und Weizenkeimöl dargestellt. Dabei erfolgt die Auswertung anhand der experimentellen KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz.

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signifikanz
<i>Staph. epidermidis</i>	Keim	1,27E+06 ± 3,21E+05	+
	Keim + Stoff	6,37E+07 ± 9,39E+06	
	Keim + Pepton	3,87E+07 ± 1,10E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	5,57E+07 ± 2,07E+06	
<i>Staph. gallinarum</i>	Keim	6,37E+07 ± 3,86E+06	o
	Keim + Stoff	6,37E+07 ± 1,43E+07	
	Keim + Pepton	5,13E+07 ± 1,39E+07	+
	Keim + Pepton + Stoff	1,18E+08 ± 1,82E+07	
<i>Coryne. minutissimum</i>	Keim	8,03E+03 ± 3,75E+03	+
	Keim + Stoff	2,52E+05 ± 1,06E+05	
	Keim + Pepton	3,60E+06 ± 1,61E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	5,00E+06 ± 2,16E+06	

Tabelle 72: Auswertung des natürlichen Emollients Avocadoöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW \pm SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	5,43E+06 \pm 2,50E+06	o
	Keim + Stoff	2,60E+06 \pm 1,28E+06	
	Keim + Pepton	7,23E+07 \pm 9,74E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	5,60E+07 \pm 1,82E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	3,64E+05 \pm 5,07E+04	+
	Keim + Stoff	5,29E+05 \pm 4,88E+04	
	Keim + Pepton	2,36E+07 \pm 1,21E+07	+
	Keim + Pepton + Stoff	4,66E+08 \pm 7,16E+07	

Tabelle 73: Auswertung des natürlichen Emollients Erdnussöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW \pm SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	5,37E+06 \pm 1,85E+06	o
	Keim + Stoff	1,85E+06 \pm 1,79E+06	
	Keim + Pepton	1,06E+08 \pm 8,25E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,34E+08 \pm 8,72E+07	
Staph. gallinarum	Keim	6,30E+07 \pm 1,12E+07	o
	Keim + Stoff	4,50E+07 \pm 1,74E+07	
	Keim + Pepton	7,07E+07 \pm 3,30E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	4,83E+07 \pm 1,16E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	1,66E+05 \pm 9,34E+04	o
	Keim + Stoff	2,34E+05 \pm 1,58E+05	
	Keim + Pepton	2,36E+07 \pm 1,21E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	8,07E+06 \pm 4,42E+06	

Tabelle 74: Auswertung des natürlichen Emollients Jojobaöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signifikanz
Staph. epidermidis	Keim	3,70E+06 ± 7,35E+05	o
	Keim + Stoff	2,36E+07 ± 2,44E+07	
	Keim + Pepton	2,70E+07 ± 6,16E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	2,93E+07 ± 1,42E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	7,33E+05 ± 2,05E+05	o
	Keim + Stoff	4,83E+05 ± 2,36E+04	
	Keim + Pepton	3,60E+06 ± 1,61E+06	+
	Keim + Pepton + Stoff	1,09E+08 ± 3,11E+07	

Tabelle 75: Auswertung des natürlichen Emollients Leinöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signifikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,27E+06 ± 3,21E+05	+
	Keim + Stoff	6,50E+06 ± 5,35E+05	
	Keim + Pepton	3,87E+07 ± 1,10E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	2,58E+07 ± 1,31E+06	
Staph. gallinarum	Keim	6,37E+07 ± 3,86E+06	-
	Keim + Stoff	4,83E+07 ± 4,99E+06	
	Keim + Pepton	5,13E+07 ± 1,39E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	7,47E+07 ± 6,65E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	8,03E+03 ± 3,75E+03	o
	Keim + Stoff	9,33E+03 ± 5,25E+03	
	Keim + Pepton	1,60E+07 ± 1,49E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,23E+06 ± 1,60E+05	

Tabelle 76: Auswertung des natürlichen Emollients Mandelöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,27E+06 ± 3,21E+05	+
	Keim + Stoff	6,23E+06 ± 4,19E+05	
	Keim + Pepton	3,87E+07 ± 1,10E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	3,62E+07 ± 5,73E+06	
Staph. gallinarum	Keim	6,37E+07 ± 3,86E+06	o
	Keim + Stoff	7,17E+07 ± 1,46E+07	
	Keim + Pepton	5,13E+07 ± 1,39E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	6,17E+07 ± 8,73E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	8,03E+03 ± 3,75E+03	o
	Keim + Stoff	1,93E+04 ± 2,17E+04	
	Keim + Pepton	1,60E+07 ± 1,49E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,55E+07 ± 8,20E+06	

Tabelle 77: Auswertung des natürlichen Emollients Nachtkerzenöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	4,15E+06 ± 1,07E+05	-
	Keim + Stoff	1,10E+04 ± 6,98E+03	
	Keim + Pepton	1,17E+08 ± 1,70E+07	-
	Keim + Pepton + Stoff	3,67E+07 ± 1,39E+07	
Staph. gallinarum	Keim	4,93E+07 ± 2,62E+06	+
	Keim + Stoff	1,36E+08 ± 1,41E+07	
	Keim + Pepton	1,36E+08 ± 1,94E+07	-
	Keim + Pepton + Stoff	2,73E+07 ± 6,85E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	3,37E+04 ± 5,56E+03	o
	Keim + Stoff	2,53E+04 ± 1,91E+04	
	Keim + Pepton	1,60E+07 ± 1,49E+07	+
	Keim + Pepton + Stoff	1,17E+08 ± 1,16E+07	
Propioni. acnes	Keim	6,95E+06 ± 3,90E+05	+
	Keim + Stoff	8,88E+06 ± 3,12E+05	
	Keim + Hefe	1,10E+07 ± 1,52E+07	o
	Keim + Hefe + Stoff	1,97E+07 ± 1,27E+06	

Tabelle 78: Auswertung des natürlichen Emollients Olivenöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	6,37E+06 ± 6,93E+05	o
	Keim + Stoff	5,08E+06 ± 4,08E+05	
	Keim + Pepton	4,80E+07 ± 8,18E+05	o
	Keim + Pepton + Stoff	3,52E+07 ± 2,51E+07	
Staph. gallinarum	Keim	6,43E+07 ± 1,10E+07	o
	Keim + Stoff	9,50E+07 ± 2,81E+07	
	Keim + Pepton	6,65E+07 ± 7,15E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	5,02E+07 ± 5,95E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	1,66E+05 ± 9,34E+04	o
	Keim + Stoff	4,01E+05 ± 1,71E+05	
	Keim + Pepton	2,36E+07 ± 1,21E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	5,05E+06 ± 2,62E+06	

Tabelle 79: Auswertung des natürlichen Emollients Rapsöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	5,43E+06 ± 2,50E+06	o
	Keim + Stoff	3,33E+06 ± 1,08E+06	
	Keim + Pepton	7,23E+07 ± 9,74E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	6,27E+07 ± 2,33E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	3,64E+05 ± 5,07E+04	+
	Keim + Stoff	7,38E+05 ± 7,59E+04	
	Keim + Pepton	3,60E+06 ± 1,61E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	2,68E+08 ± 1,90E+08	

Tabelle 80: Auswertung des natürlichen Emollients Rizinusöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	3,70E+06 ± 7,35E+05	+
	Keim + Stoff	1,20E+07 ± 1,79E+06	
	Keim + Pepton	2,70E+07 ± 6,16E+06	+
	Keim + Pepton + Stoff	4,67E+07 ± 6,94E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	7,33E+05 ± 2,05E+05	+
	Keim + Stoff	1,33E+06 ± 1,80E+05	
	Keim + Pepton	3,60E+06 ± 1,61E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	9,50E+05 ± 4,71E+05	

Tabelle 81: Auswertung des natürlichen Emollients Sesamöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,40E+07 ± 2,47E+06	o
	Keim + Stoff	9,30E+06 ± 2,89E+06	
	Keim + Pepton	5,63E+07 ± 2,87E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	4,67E+07 ± 4,50E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	1,19E+05 ± 3,85E+04	+
	Keim + Stoff	4,17E+05 ± 6,24E+04	
	Keim + Pepton	8,00E+07 ± 1,82E+07	+
	Keim + Pepton + Stoff	1,38E+08 ± 1,31E+07	

Tabelle 82: Auswertung des natürlichen Emollients Sojaöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	4,15E+06 ± 1,07E+05	o
	Keim + Stoff	3,57E+06 ± 2,00E+06	
	Keim + Pepton	1,17E+08 ± 1,70E+07	-
	Keim + Pepton + Stoff	6,20E+07 ± 1,35E+07	
Staph. gallinarum	Keim	4,93E+07 ± 2,62E+06	+
	Keim + Stoff	1,00E+08 ± 2,62E+06	
	Keim + Pepton	1,36E+08 ± 1,94E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,88E+08 ± 4,39E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	3,37E+04 ± 5,56E+03	+
	Keim + Stoff	2,26E+05 ± 4,18E+04	
	Keim + Pepton	1,60E+07 ± 1,49E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	5,75E+06 ± 9,74E+04	

Tabelle 83: Auswertung des natürlichen Emollients Traubenkernöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	6,17E+06 ± 8,65E+05	o
	Keim + Stoff	4,19E+06 ± 6,53E+05	
	Keim + Pepton	4,82E+07 ± 8,50E+05	o
	Keim + Pepton + Stoff	3,47E+07 ± 1,86E+07	
Staph. gallinarum	Keim	6,60E+07 ± 1,12E+07	o
	Keim + Stoff	6,34E+07 ± 1,39E+07	
	Keim + Pepton	6,84E+07 ± 4,95E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,64E+08 ± 5,50E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	1,66E+05 ± 9,34E+04	o
	Keim + Stoff	2,68E+05 ± 1,09E+05	
	Keim + Pepton	2,36E+07 ± 1,21E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	2,33E+07 ± 2,03E+07	

Tabelle 84: Auswertung des natürlichen Emollients Weizenkeimöl mit Vergleich der experimentellen KZB

Die Auswertung des natürlichen Emollients Avocadoöl zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche Wachstumssteigerung. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton war die beobachtete Zunahme nicht mehr signifikant, hier ist davon auszugehen, dass der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überlagert wurde.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes keine Wachstumssteigerung. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde eine deutliche Steigerung beobachtet. Möglicherweise trat der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes nur durch die bereitgestellten Ressourcen des Peptons auf oder wurde durch den wachstumssteigernden Effekt des Peptons überlagert.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche Wachstumssteigerung. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton war die beobachtete Zunahme nicht mehr signifikant, hier ist davon auszugehen, dass der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überlagert wurde.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Erdnussöl zeigte bei *Staph. epidermidis* sowohl mit als auch ohne Pepton keinen signifikanten Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach Zugabe des Teststoffes ein leicht und nach zusätzlicher Zugabe des Peptons ein stark gesteigertes Wachstum. Möglicherweise trat der stark wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes nur durch die bereitgestellten Ressourcen des Peptons auf.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Jojobaöl zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen signifikanten Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich kein signifikanter Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich kein signifikanter Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Leinöl zeigte bei *Staph. epidermidis* trotz einer Steigerung nach Zugabe des Teststoffes keinen signifikanten Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein signifikanter Einfluss auf das Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich eine deutliche Steigerung. Möglicherweise trat der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes nur durch die bereitgestellten Ressourcen des Peptons auf.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Mandelöl zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes eine signifikante Wachstumssteigerung, nach zusätzlicher Zugabe von Pepton allerdings keinen Einfluss. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht reduziertes Wachstum, nach zusätzlicher Zugabe von Pepton allerdings keine Einfluss. Möglicherweise wurde der wachstumsreduzierende Effekt des Teststoffes durch den -steigernden des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte kein signifikanter Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Nachtkerzenöl zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes eine signifikante Wachstumssteigerung, nach zusätzlicher Zugabe von Pepton allerdings keinen Einfluss. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich kein signifikanter Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich kein signifikanter Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Olivenöl zeigte bei *Staph. epidermidis* sowohl mit als auch ohne Pepton ein deutlich reduziertes Wachstum.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche Wachstumssteigerung, nach zusätzlicher Zugabe von Pepton allerdings eine deutliche Reduzierung. Dies ist widersprüchlich, lässt sich aber möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum, welches allerdings nicht als signifikant gewertet wurde. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde die deutliche Steigerung als signifikant bewertet. Möglicherweise trat der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes nur durch die bereitgestellten Ressourcen des Peptons auf.

Bei *Propioni. acnes* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein nur leicht gesteigertes Wachstum, welches allerdings als signifikant gewertet wurde. Nach zusätzlicher Zugabe von Hefe wurde kein verändertes Wachstum festgestellt.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Rapsöl zeigte bei *Staph. epidermidis*, *Staph. gallinarum* und *Coryne. minutissimum* keinen signifikanten Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Rizinusöl zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen signifikanten Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich ohne Pepton eine signifikante und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton eine leichte, als nicht signifikant gewertete, Wachstumssteigerung.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Sesamöl zeigte bei *Staph. epidermidis* nach Zugabe des Teststoffes eine deutliche und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton eine leichte Wachstumssteigerung.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine signifikante Wachstumssteigerung, nach zusätzlicher Zugabe des Peptons zeigte sich allerdings kein signifikanter Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Sojaöl zeigte bei *Staph. epidermidis* keinen signifikanten Einfluss auf das Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein leicht gesteigertes Wachstum, welches als signifikant gewertet wurde.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Traubenkernöl zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum, nach zusätzlicher Zugabe von Pepton jedoch eine signifikante Reduzierung. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Bei *Staph. gallinarum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche Wachstumssteigerung, nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich allerdings kein signifikanter Einfluss. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt oder es kam aufgrund zu vieler anfallender Stoffwechselprodukte zu einer Wachstumslimitierung.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes eine deutliche Wachstumssteigerung, nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte ich allerdings kein signifikanter Einfluss. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt oder es kam aufgrund zu vieler anfallender Stoffwechselprodukte zu einer Wachstumslimitierung.

Die Auswertung des natürlichen Emollients Weizenkeimöl zeigte bei *Staph. epidermidis*, *Staph. gallinarum* und *Coryne. minutissimum* keinen signifikanten Einfluss auf das Wachstum.

5.2.1.4.2 Synthetische Fettsäureester

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 85 bis 95 die Auswertungen der synthetischen Fettsäureester Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812), Cetearyl isononanoate (Cetiol SN), Decyl oleate (Coco-caprylate/Cetiol LC), Decyl oleate (Kollicream DO), Ethyl linoleate, Ethyl oleate (Acros 98 %), Ethyl oleate (Crodamol EO-LQ), Isopropyl myristate, Isopropyl palmitate, Octyldodecanol (Eutanol G) und Oleyl oleate dargestellt. Dabei erfolgt die Auswertung anhand der experimentellen KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz.

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signifikanz
Staph. epidermidis	Keim	8,90E+06 ± 1,22E+06	-
	Keim + Stoff	2,00E+05 ± 8,16E+04	
	Keim + Pepton	9,00E+07 ± 5,06E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	3,43E+07 ± 9,10E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	+
	Keim + Stoff	8,13E+05 ± 2,05E+04	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	1,42E+09 ± 1,27E+08	
Propioni. acnes	Keim	1,11E+07 ± 3,07E+06	o
	Keim + Stoff	6,67E+06 ± 4,14E+06	
	Keim + Hefe	8,07E+07 ± 1,55E+07	
	Keim + Hefe + Stoff	7,97E+07 ± 3,43E+07	

Tabelle 85: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signifikanz
Staph. epidermidis	Keim	8,90E+06 ± 1,22E+06	+
	Keim + Stoff	1,29E+07 ± 1,51E+06	
	Keim + Pepton	9,00E+07 ± 5,06E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	5,57E+07 ± 4,19E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	+
	Keim + Stoff	1,37E+05 ± 4,03E+04	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	4,23E+08 ± 3,40E+07	

Tabelle 86: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Cetearyl isononanoate (Cetiol SN) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	8,90E+06 ± 1,22E+06	+
	Keim + Stoff	1,62E+07 ± 2,94E+05	
	Keim + Pepton	9,00E+07 ± 5,06E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	4,50E+07 ± 6,38E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	+
	Keim + Stoff	1,17E+05 ± 4,50E+04	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
Propioni. acnes	Keim	6,95E+06 ± 3,90E+05	-
	Keim + Stoff	1,66E+06 ± 6,98E+05	
	Keim + Hefe	1,10E+07 ± 1,52E+07	o
	Keim + Hefe + Stoff	2,52E+07 ± 1,18E+07	

Tabelle 87: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Cococaprylate/Cetiol LC) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,83E+06 ± 2,49E+05	+
	Keim + Stoff	1,14E+07 ± 2,57E+06	
	Keim + Pepton	9,43E+07 ± 1,92E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	5,90E+07 ± 1,41E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	+
	Keim + Stoff	1,23E+05 ± 5,31E+04	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	+
	Keim + Pepton + Stoff	3,35E+07 ± 1,11E+06	
Propioni. acnes	Keim	1,11E+07 ± 3,07E+06	o
	Keim + Stoff	7,57E+06 ± 1,58E+06	
	Keim + Hefe	8,07E+07 ± 1,55E+07	o
	Keim + Hefe + Stoff	5,27E+07 ± 1,27E+07	

Tabelle 88: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Kollcream DO) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	5,00E+05 ± 2,94E+05	o
	Keim + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
	Keim + Pepton	7,77E+07 ± 1,25E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	2,97E+07 ± 4,64E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	-
	Keim + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	4,60E+08 ± 7,26E+07	

Tabelle 89: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Ethyl linoleate mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,83E+06 ± 2,49E+05	+
	Keim + Stoff	1,00E+07 ± 1,75E+06	
	Keim + Pepton	9,43E+07 ± 1,92E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	7,20E+07 ± 1,19E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	+
	Keim + Stoff	3,77E+05 ± 6,55E+04	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	7,33E+06 ± 1,25E+06	

Tabelle 90: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Ethyl oleate (Acros 98 %) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,83E+06 ± 2,49E+05	o
	Keim + Stoff	3,80E+06 ± 2,08E+06	
	Keim + Pepton	9,43E+07 ± 1,92E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	3,90E+07 ± 8,29E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	-
	Keim + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	5,17E+06 ± 3,59E+06	

Tabelle 91: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Ethyl oleate (Crodamol EQ-LQ) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,40E+07 ± 2,47E+06	-
	Keim + Stoff	6,93E+06 ± 4,03E+05	
	Keim + Pepton	5,63E+07 ± 2,87E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	3,23E+07 ± 1,27E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	1,19E+05 ± 3,85E+04	+
	Keim + Stoff	3,30E+05 ± 3,30E+04	
	Keim + Pepton	8,00E+07 ± 1,82E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	3,95E+08 ± 3,01E+07	

Tabelle 92: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Isopropyl myristate mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	8,90E+06 ± 1,22E+06	o
	Keim + Stoff	9,70E+06 ± 2,08E+06	
	Keim + Pepton	9,00E+07 ± 5,06E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	2,67E+07 ± 6,24E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	+
	Keim + Stoff	6,20E+05 ± 6,98E+04	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	9,53E+06 ± 6,94E+05	
Propioni. acnes	Keim	1,11E+07 ± 3,07E+06	o
	Keim + Stoff	1,02E+07 ± 3,81E+06	
	Keim + Hefe	8,07E+07 ± 1,55E+07	
	Keim + Hefe + Stoff	1,73E+07 ± 6,34E+06	

Tabelle 93: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Isopropyl palmitate mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
<i>Staph. epidermidis</i>	Keim	8,90E+06 ± 1,22E+06	o
	Keim + Stoff	7,23E+06 ± 9,18E+05	
	Keim + Pepton	9,00E+07 ± 5,06E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	6,67E+07 ± 4,50E+06	
<i>Coryne. minutissimum</i>	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	o
	Keim + Stoff	1,30E+05 ± 7,12E+04	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	+
	Keim + Pepton + Stoff	3,77E+08 ± 4,99E+07	

Tabelle 94: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Octyldodecanol (Eutanol G) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
<i>Staph. epidermidis</i>	Keim	1,83E+06 ± 2,49E+05	o
	Keim + Stoff	3,90E+06 ± 5,72E+05	
	Keim + Pepton	9,43E+07 ± 1,92E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	5,90E+07 ± 1,42E+07	
<i>Coryne. minutissimum</i>	Keim	2,67E+03 ± 9,43E+02	+
	Keim + Stoff	1,93E+05 ± 9,03E+04	
	Keim + Pepton	7,00E+06 ± 3,56E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,33E+06 ± 1,05E+06	
<i>Propioni. acnes</i>	Keim	6,95E+06 ± 3,90E+05	-
	Keim + Stoff	4,83E+06 ± 1,88E+05	
	Keim + Hefe	1,10E+07 ± 1,52E+07	o
	Keim + Hefe + Stoff	2,67E+07 ± 3,37E+06	

Tabelle 95: Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit Vergleich der experimentellen KZB

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich reduziertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde die Wachstumsminderung als nicht signifikant eingestuft. Möglicherweise wurde der wachstumsreduzierende Effekt des Teststoffes durch den -steigernden des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein deutlich gesteigertes Wachstum.

Bei *Propioni. acnes* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Hefe eine als nicht signifikant eingestufte leichte Wachstumsminderung.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Cetearyl isononanoate (Cetiol SN) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes eine leichte Wachstumssteigerung, welche als signifikant eingestuft wurde. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein deutlich gesteigertes Wachstum.

Bei Cetiol SN handelt es sich um einen Ester aus Isononansäure und Cetylstearylalkohol, welcher im Rahmen der Konsistenzgeber ebenfalls getestet wurde und auch dort eine Wachstumssteigerung verursachte. Allerdings wurde hier nach zusätzlicher Zugabe von Pepton ein vermindertes Wachstum beobachtet.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Coco-caprylate/Cetiol LC) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes eine leichte Wachstumssteigerung, welche als signifikant eingestuft wurde. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton konnte kein Wachstum mehr festgestellt werden. Dies lässt sich möglicherweise durch einen Fehler bei der Verarbeitung oder entstandene schädliche Stoffwechselprodukte, wie beispielsweise Ölsäure, während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Dieser Effekt konnte aber bei anderen Ölsäure beinhaltenden Emollientien nicht beobachtet werden.

Bei *Propioni. acnes* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich vermindertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Hefe wurde kein verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumsreduzierende Effekt des Teststoffes durch den -steigernden der Hefe überdeckt.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Kollicream DO) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein deutlich gesteigertes Wachstum.

Bei *Propioni. acnes* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Hefe kein signifikant verändertes Wachstum.

Wie zu erwarten, zeigten beide Decyl oleate bei einem ähnlichen Aufbau auch ähnliche Effekte auf die Hautkeime.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Ethyl linoleate zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes kein Wachstum mehr. Entweder wirkt der Stoff stark wachstumshemmend oder es lag ein Fehler bei der Verarbeitung vor. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde ebenfalls ein signifikant reduziertes Wachstum festgestellt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein Wachstum mehr. Entweder wirkt der Stoff stark wachstumshemmend oder es lag ein Fehler bei der Verarbeitung vor. Widersprüchlich ist allerdings, dass nach zusätzlicher Zugabe von Pepton ein deutlich gesteigertes Wachstum festgestellt wurde. Dies spricht eher für einen Verarbeitungsfehler bei einer der Proben.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Ethyl oleate (Acros 98 %) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Ethyl oleate (Crodamol EQ-LQ) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde ein deutlich reduziertes Wachstum festgestellt. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte, wie beispielsweise Ölsäure, während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt des Peptons mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Dieser Effekt konnte aber bei anderen Ölsäure beinhaltenen Emollientien nicht beobachtet werden. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung des Peptons durch den Teststoff.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein Wachstum mehr. Entweder wirkt der Stoff stark wachstumshemmend oder es lag ein Fehler bei der Verarbeitung vor. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein leicht reduziertes Wachstum,

welches allerdings nicht als signifikant eingestuft wurde. Möglicherweise wurde der wachstumsmindernde Effekt des Teststoffes durch den -steigernden des Peptons überdeckt.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Isopropyl myristate zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein reduziertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein leicht reduziertes Wachstum, welches allerdings nicht als signifikant eingestuft wurde. Möglicherweise wurde der wachstumsmindernde Effekt des Teststoffes durch den -steigernden des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein gesteigertes Wachstum.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Isopropyl palmitate zeigte bei *Staph. epidermidis* sowohl mit als auch ohne Pepton kein verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein leicht gesteigertes Wachstum, welches allerdings nicht als signifikant eingestuft wurde. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Propioni. acnes* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Hefe wurde ein deutlich reduziertes Wachstum festgestellt. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt der Hefe mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung der Hefe durch den Teststoff.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Octyldodecanol (Eutanol G) zeigte bei *Staph. epidermidis* sowohl mit als auch ohne Pepton kein verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum, welches allerdings nicht als signifikant eingestuft wurde. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich eine deutliche Wachstumssteigerung. Möglicherweise trat der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes nur durch die bereitgestellten Ressourcen des Peptons auf.

Die Auswertung des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate zeigte bei *Staph. epidermidis* sowohl mit als auch ohne Pepton kein signifikant verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich kein signifikant

verändertes Wachstum mehr. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Propioni. acnes* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht reduziertes Wachstum, welches allerdings als signifikant eingestuft wurde. Nach zusätzlicher Zugabe von Hefe wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt.

5.2.1.4.3 Emollientien auf Kohlenwasserstoffbasis

Im folgenden Kapitel werden in den Tabellen 96 bis 102 die Auswertungen der Emollientien auf Kohlenwasserstoffbasis Cyclopentasiloxan (Abil OSW5), Dimethicon (Abil 350), Dimethicon 100 (Silikonöl), Dimethicon 350 (Silikonöl), Paraffin (dickflüssig), Squalan (Sigma) und Squalen 98 % (Alfa Aesar) dargestellt. Dabei erfolgt die Auswertung anhand der experimentellen KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz.

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
<i>Staph. epidermidis</i>	Keim	1,40E+07 ± 2,47E+06	-
	Keim + Stoff	7,60E+06 ± 1,66E+06	
	Keim + Pepton	5,63E+07 ± 2,87E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	5,23E+07 ± 7,85E+06	
<i>Coryne. minutissimum</i>	Keim	1,19E+05 ± 3,85E+04	o
	Keim + Stoff	2,90E+05 ± 3,20E+04	
	Keim + Pepton	8,00E+07 ± 1,82E+07	
	Keim + Pepton + Stoff	2,33E+08 ± 9,09E+06	

Tabelle 96: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Cyclopentasiloxan (Abil OSW5) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW \pm SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	4,15E+06 \pm 1,07E+05	o
	Keim + Stoff	3,88E+06 \pm 8,59E+05	
	Keim + Pepton	1,17E+08 \pm 1,70E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	9,70E+07 \pm 5,00E+07	
Staph. gallinarum	Keim	4,93E+07 \pm 2,62E+06	o
	Keim + Stoff	4,77E+07 \pm 8,81E+06	
	Keim + Pepton	1,36E+08 \pm 1,94E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,42E+08 \pm 3,38E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	2,67E+03 \pm 9,43E+02	o
	Keim + Stoff	9,33E+04 \pm 5,91E+04	
	Keim + Pepton	7,00E+06 \pm 3,56E+06	+
	Keim + Pepton + Stoff	1,57E+08 \pm 2,05E+07	

Tabelle 97: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Dimethicon (Abil 350) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW \pm SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	3,70E+06 \pm 7,35E+05	+
	Keim + Stoff	7,77E+06 \pm 1,68E+06	
	Keim + Pepton	2,70E+07 \pm 6,16E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	2,40E+07 \pm 9,63E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	7,33E+05 \pm 2,05E+05	-
	Keim + Stoff	9,83E+04 \pm 2,39E+04	
	Keim + Pepton	3,60E+06 \pm 1,61E+06	-
	Keim + Pepton + Stoff	2,87E+05 \pm 2,71E+05	

Tabelle 98: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Dimethicon 100 (Silikonöl) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	3,70E+06 ± 7,35E+05	o
	Keim + Stoff	3,70E+06 ± 1,31E+06	
	Keim + Pepton	2,70E+07 ± 6,16E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	3,00E+07 ± 7,12E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	7,33E+05 ± 2,05E+05	o
	Keim + Stoff	4,93E+05 ± 2,19E+05	
	Keim + Pepton	3,60E+06 ± 1,61E+06	+
	Keim + Pepton + Stoff	1,09E+07 ± 2,86E+06	

Tabelle 99: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Dimethicon 350 (Silikonöl) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	3,70E+06 ± 7,35E+05	+
	Keim + Stoff	6,37E+06 ± 8,99E+05	
	Keim + Pepton	2,70E+07 ± 6,16E+06	+
	Keim + Pepton + Stoff	5,00E+07 ± 9,80E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	7,33E+05 ± 2,05E+05	o
	Keim + Stoff	1,23E+06 ± 2,05E+05	
	Keim + Pepton	3,60E+06 ± 1,61E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,34E+06 ± 9,42E+04	

Tabelle 100: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Paraffin (dickflüssig) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,40E+07 ± 2,47E+06	o
	Keim + Stoff	1,35E+07 ± 4,03E+05	
	Keim + Pepton	5,63E+07 ± 2,87E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	6,67E+07 ± 1,24E+07	
Coryne. minutissimum	Keim	1,19E+05 ± 3,85E+04	+
	Keim + Stoff	4,36E+05 ± 5,91E+04	
	Keim + Pepton	8,00E+07 ± 1,82E+07	+
	Keim + Pepton + Stoff	2,56E+08 ± 3,18E+07	

Tabelle 101: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Squalan (Sigma) mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,40E+07 ± 2,47E+06	-
	Keim + Stoff	6,20E+06 ± 1,41E+06	
	Keim + Pepton	5,63E+07 ± 2,87E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	5,70E+07 ± 1,41E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	1,19E+05 ± 3,85E+04	+
	Keim + Stoff	3,17E+05 ± 7,74E+04	
	Keim + Pepton	8,00E+07 ± 1,82E+07	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,24E+08 ± 3,35E+07	

Tabelle 102: Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Squalen 98 % (Alfa Aesar) mit Vergleich der experimentellen KZB

Die Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Cyclopentasiloxan (Abil OSW5) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein signifikant vermindertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumsmindernde Effekt des Teststoffes durch den - steigernden des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein signifikant verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein signifikant gesteigertes Wachstum. Möglicherweise trat der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes nur durch die bereitgestellten Ressourcen des Peptons auf.

Die Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Dimethicon (Abil 350) zeigte bei *Staph. epidermidis* und *Staph. gallinarum* kein signifikant verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum, welches allerdings als nicht signifikant eingestuft wurde. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein deutlich gesteigertes Wachstum.

Die Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Dimethicon 100 (Silikonöl) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein signifikant erhöhtes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich mit und ohne Pepton ein deutlich reduziertes Wachstum.

Die Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Dimethicon 350 (Silikonöl) zeigte bei *Staph. epidermidis* mit und ohne Pepton kein verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein signifikant verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde eine signifikante Wachstumssteigerung festgestellt. Möglicherweise trat der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes nur durch die bereitgestellten Ressourcen des Peptons auf.

Die Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Paraffin (dickflüssig) zeigte bei *Staph. epidermidis* mit und ohne Pepton ein leicht erhöhtes Wachstum, welches als signifikant eingestuft wurde.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich mit und ohne Pepton kein signifikant verändertes Wachstum.

Die Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Squalan (Sigma) zeigte bei *Staph. epidermidis* mit und ohne Pepton kein verändertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton ein signifikant erhöhtes Wachstum.

Die Auswertung des kohlenwasserstoffbasierten Emollients Squalen 98 % (Alfa Aesar) zeigte bei *Staph. epidermidis* nach der Zugabe des Teststoffes ein signifikant vermindertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt. Möglicherweise wurde der wachstumsmindernde Effekt des Teststoffes durch den - steigernden des Peptons überdeckt.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein leicht erhöhtes Wachstum, welches als signifikant eingestuft wurde. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum festgestellt.

5.2.1.5 Fettsäuren

Im folgenden Kapitel wird in den Tabellen 103 bis 105 die Auswertungen der Fettsäuren Caprinsäure, Ölsäure und Palmitinsäure dargestellt. Dabei erfolgt die Auswertung anhand der experimentellen KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz.

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,97E+07 ± 2,36E+07	-
	Keim + Stoff	1,25E+05 ± 6,50E+04	
	Keim + Pepton	1,75E+08 ± 2,16E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	6,67E+05 ± 1,25E+05	
Coryne. minutissimum	Keim	5,50E+03 ± 5,40E+03	-
	Keim + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
	Keim + Pepton	1,30E+06 ± 1,65E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
Propioni. acnes	Keim	2,47E+06 ± 1,16E+06	o
	Keim + Stoff	8,17E+06 ± 4,03E+06	
	Keim + Hefe	2,23E+07 ± 7,41E+06	
	Keim + Hefe + Stoff	5,67E+06 ± 5,91E+06	

Tabelle 103: Auswertung der Fettsäure Caprinsäure mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,97E+07 ± 2,36E+07	o
	Keim + Stoff	6,11E+06 ± 6,36E+05	
	Keim + Pepton	1,75E+08 ± 2,16E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	1,31E+07 ± 2,16E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	5,50E+03 ± 5,40E+03	-
	Keim + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
	Keim + Pepton	1,30E+06 ± 1,65E+06	
	Keim + Pepton + Stoff	1,99E+06 ± 1,41E+06	
Propioni. acnes	Keim	2,47E+06 ± 1,16E+06	o
	Keim + Stoff	3,10E+06 ± 2,62E+06	
	Keim + Hefe	2,23E+07 ± 7,41E+06	
	Keim + Hefe + Stoff	6,43E+07 ± 4,22E+07	

Tabelle 104: Auswertung der Fettsäure Ölsäure mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
<i>Staph. epidermidis</i>	Keim	1,97E+07 ± 2,36E+07	
	Keim + Stoff	4,42E+06 ± 1,12E+06	o
	Keim + Pepton	1,75E+08 ± 2,16E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	2,26E+07 ± 2,16E+06	o
<i>Coryne. minutissimum</i>	Keim	5,50E+03 ± 5,40E+03	+
	Keim + Stoff	9,51E+05 ± 1,77E+05	
	Keim + Pepton	1,30E+06 ± 1,65E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	3,88E+06 ± 1,56E+06	
<i>Propioni. acnes</i>	Keim	2,47E+06 ± 1,16E+06	o
	Keim + Stoff	4,33E+06 ± 9,46E+05	
	Keim + Hefe	2,23E+07 ± 7,41E+06	
	Keim + Hefe + Stoff	2,00E+07 ± 9,42E+06	o

Tabelle 105: Auswertung der Fettsäure Palmitinsäure mit Vergleich der experimentellen KZB

Die Auswertung der Fettsäure Caprinsäure zeigte bei *Staph. epidermidis* mit und ohne Pepton ein deutlich reduziertes Wachstum.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton kein messbares Wachstum mehr, was für eine toxische Wirkung des Teststoffes spricht.

Bei *Propioni. acnes* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein signifikant verändertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton zeigte sich ein reduziertes Wachstum. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt der Hefe mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung der Hefe durch den Teststoff.

Die Auswertung der Fettsäure Ölsäure zeigte bei *Staph. epidermidis* mit und ohne Pepton eine als nicht signifikant eingestufte Wachstumsminderung.

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes kein messbares Wachstum mehr. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde kein signifikant verändertes Wachstum beobachtet. Möglicherweise wurde der wachstumsmindernde Effekt des Teststoffes durch den -steigernden des Peptons überdeckt.

Bei *Propioni. acnes* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Hefe kein signifikant verändertes Wachstum.

Die Auswertung der Fettsäure Palmitinsäure zeigte bei *Staph. epidermidis* mit und ohne Pepton eine als nicht signifikant eingestufte Wachstumsminderung

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich nach der Zugabe des Teststoffes ein deutlich gesteigertes Wachstum. Nach zusätzlicher Zugabe von Pepton wurde keine signifikante Wachstumssteigerung beobachtet. Möglicherweise wurde der wachstumssteigernde Effekt des Teststoffes durch den des Peptons überdeckt.

Bei *Propioni. acnes* zeigte sich sowohl mit als auch ohne Pepton kein signifikant verändertes Wachstum.

5.2.1.6 Entwickelte Formulierungen

Im folgenden Kapitel wird in den Tabellen 106 bis 108 die Auswertungen der anhand der Vorversuche entwickelten Formulierungen 6.1 bis 6.3 dargestellt. Dabei erfolgt die Auswertung anhand der experimentellen KZB mit jeweiliger Angabe der Signifikanz.

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW \pm SD [KBE/ml]	Signifikanz
<i>Staph. epidermidis</i>	Keim	1,97E+07 \pm 2,36E+07	
	Keim + Stoff	6,17E+06 \pm 2,00E+06	o
	Keim + Pepton	1,75E+08 \pm 2,16E+08	
	Keim + Pepton + Stoff	1,65E+07 \pm 4,63E+06	o
<i>Coryne. minutissimum</i>	Keim	5,50E+03 \pm 5,40E+03	o
	Keim + Stoff	2,33E+03 \pm 4,71E+02	
	Keim + Pepton	1,30E+06 \pm 1,65E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	2,38E+06 \pm 1,21E+06	
<i>Propioni. acnes</i>	Keim	2,47E+06 \pm 1,16E+06	o
	Keim + Stoff	3,07E+06 \pm 2,21E+06	
	Keim + Hefe	2,23E+07 \pm 7,41E+06	
	Keim + Hefe + Stoff	6,33E+06 \pm 2,49E+06	-

Tabelle 106: Auswertung der Formulierung 6.1 mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,97E+07 ± 2,36E+07	o
	Keim + Stoff	2,67E+06 ± 4,71E+05	
	Keim + Pepton	1,75E+08 ± 2,16E+08	o
	Keim + Pepton + Stoff	1,65E+07 ± 2,82E+06	
Coryne. minutissimum	Keim	5,50E+03 ± 5,40E+03	o
	Keim + Stoff	2,07E+04 ± 1,79E+04	
	Keim + Pepton	1,30E+06 ± 1,65E+06	o
	Keim + Pepton + Stoff	2,99E+07 ± 3,54E+07	
Propioni. acnes	Keim	2,47E+06 ± 1,16E+06	o
	Keim + Stoff	4,43E+06 ± 1,11E+06	
	Keim + Hefe	2,23E+07 ± 7,41E+06	o
	Keim + Hefe + Stoff	1,52E+07 ± 5,72E+06	

Tabelle 107: Auswertung der Formulierung 6.2 mit Vergleich der experimentellen KZB

Keim	Probe	Experimentelle KZB MW ± SD [KBE/ml]	Signi- fikanz
Staph. epidermidis	Keim	1,97E+07 ± 2,36E+07	-
	Keim + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
	Keim + Pepton	1,75E+08 ± 2,16E+08	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
Coryne. minutissimum	Keim	5,50E+03 ± 5,40E+03	-
	Keim + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
	Keim + Pepton	1,30E+06 ± 1,65E+06	-
	Keim + Pepton + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
Propioni. acnes	Keim	2,47E+06 ± 1,16E+06	-
	Keim + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	
	Keim + Hefe	2,23E+07 ± 7,41E+06	-
	Keim + Hefe + Stoff	0,00E+00 ± 0,00E+00	

Tabelle 108: Auswertung der Formulierung 6.3 mit Vergleich der experimentellen KZB

Die Auswertung der Formulierung 6.1 zeigte lediglich bei *Propioni. acnes* und nach zusätzlicher Zugabe von Pepton ein reduziertes Wachstum. Dies lässt sich möglicherweise durch entstandene schädliche Stoffwechselprodukte während des Abbaus des Teststoffes erklären, da durch den Effekt der Hefe mehr stoffwechselaktive Zellen vorhanden sind als ohne. Eine andere Erklärung wäre eine Blockade bei der Aufnahme oder Verwertung der Hefe durch den Teststoff.

Bei den anderen Keimen zeigte sich mit und ohne Pepton kein verändertes Wachstum.

Die Auswertung der Formulierung 6.2 zeigte bei allen drei Keimen mit und ohne Pepton bzw. Hefe kein verändertes Wachstum.

Die Auswertung der Formulierung 6.3 zeigte bei allen drei Keimen mit und ohne Pepton bzw. Hefe kein messbares Wachstum. Dies lässt sich damit begründen, dass ein Waschschaum die Haut reinigen soll und durch die fettlösende Wirkung auch das Wachstum der Mikroflora beeinträchtigt. Zudem wird ein Waschschaum nur für sehr kurze Zeit aufgetragen, die Inkubation über 24 Stunden oder länger bildet die Realität also nicht exakt ab.

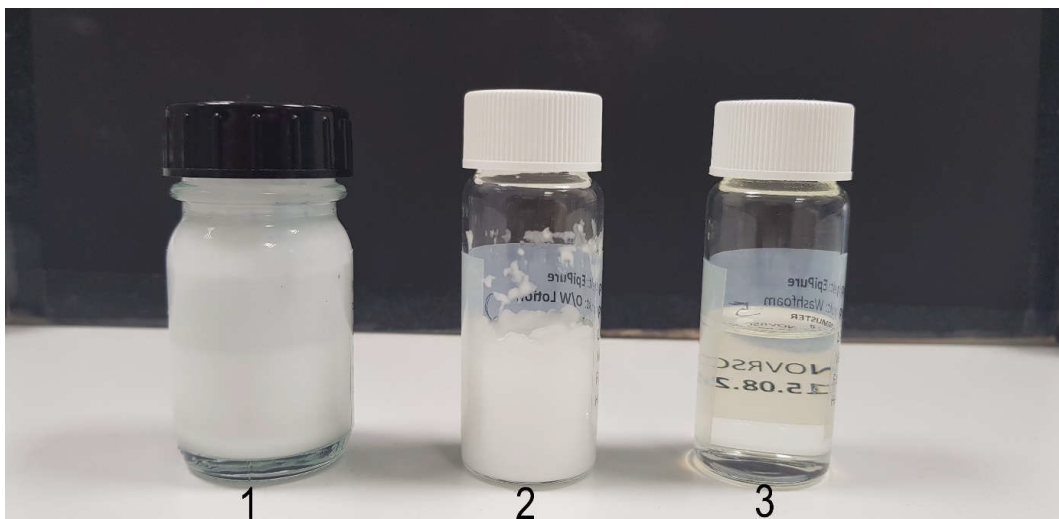


Abbildung 37: Darstellung der entwickelten Formulierungen 6.1 (1 – Wasser-in-Öl Lotion), 6.2 (2 – Öl-in-Wasser Lotion) und 6.3 (3 – Waschschaum)

5.2.2 Ergebnisse der Wachstumsversuche der Hefepilze

In der folgenden Tabelle werden die optischen Auswertungen der Teststoffe nach Inkubation mit den Hefepilzen und $n = 1$ dargestellt. Wie oben erwähnt erfolgte die Auswertung der Wachstumsversuche der Hefepilze rein optisch, indem das Wachstum der Keime in einer Box vor dunklem Hintergrund abfotografiert und der entstandene Zellrasen verglichen wurde. Da die Hefepilze sehr charakteristische Populationen bilden ist dieses Verfahren hier im Gegensatz zu den Wachstumsversuchen der Bakterien möglich und zudem äußerst zeitsparend. Dennoch ist diese Methode als deutlich unsicherer und unzuverlässiger anzusehen, da keine direkt vergleichbaren Parameter erfasst werden. Daher wurden nur geringe Wachstumsänderungen als nicht signifikant bewertet und mit o markiert, deutlich sichtbare Reaktionen hingegen mit + bzw. -. Falls eine Abweichung nur leicht erkennbar war, wurde sie als eingeschränkt relevant bewertet und zusätzlich mit () versehen.

		Malassezia furfur (Mf)	Malassezia globosa (Mg)	Malassezia sympodialis (Ms)
	Konservierungsmittel	Mf	Mg	Ms
	Butylenglykol	o	o	o
	Caprylylglykol	o	o	o
	Ethanol	o	o	o
	Pentylenglykol	o	o	o
	Propylenglykol	o	o	o
	Konsistenzgeber	Mf	Mg	Ms
	Bienenwachs/Cera alba	o	o	o
Diverse	Carnaubawachs	o	o	o
	Cetylstearylalkohol/Lanette O	o	o	o
	Cetyl palmitate	(+)	o	o
Gelbildner	Hydroxyethyl cellulose/Cellosize PCG-10	o	o	o
	Xanthan	o	o	o

	Emulgatoren	Mf	Mg	Ms
Synthetische Fettsäureester	Glyceryl oleate/Tegin OV	o	o	o
	Glyceryl stearate	o	o	o
	Methyl glucose isostearate/ Isolan IS	o	o	o
	PEG-7 Glyceryl cocoate/ Tegosoft GC	(+)	o	(+)
	Polyglyceryl-3 caprate/ Tegosoft PC 31	o	o	o
	Polyglyceryl 3 oleate/Isolan GO 33	o	o	o
	Span 80	(+)	(+)	(+)
	Sucrose stearate/Surfhope 1803F	o	o	o
	Macrogol 40 Glycerolhydroxy stearate/Cremophor RH 40	o	o	o
	PEG-40 hydrogenated castor oil/Tagat CH 40	o	o	o
	PEG-40 stearate/Tego Acid S 40 P	o	o	o
	Sucrose palmitate/Surfhope 1615	o	o	o
	Tween 40/Polysorbat 40	o	o	o
	Tween 80/Polysorbat 80	o	o	o
Synthetische Fettsäureether	Ceteth-25/Cetareth-25	o	o	o
	Laureth-20	o	o	o
	Oleth-20/Chemonix OE-20	o	o	o
	Steareth-20/Lipocol S-20	o	o	o
Polymere	Cetyl PEG/PPG-10/ Dimethicon/Abil EM 90	o	o	o
	Poloxamer 407	o	o	o

	Emollientien	Mf	Mg	Ms
Natürliche Emollientien	Avocadoöl	o	+	o
	Erdnussöl	o	(+)	+
	Jajobaöl	o	o	o
	Leinöl	o	o	o
	Mandelöl	o	(+)	(+)
	Nachtkerzenöl	o	(+)	+
	Olivenöl	(+)	(+)	(+)
	Rapsöl	o	(+)	+
	Rizinusöl	o	o	o
	Sesamöl	o	(+)	(+)
	Sojaöl	o	(+)	(+)
	Traubenkernöl	o	(+)	(+)
Weizenkeimöl	(+)	o	(+)	
Synthetische Fettsäureester	Caprylic/Capric triglyceride/ Miglyol 812	o	o	o
	Cetearyl isononanoate/ Cetiol SN	o	o	o
	Decyl oleate/Coco-caprylate/ Cetiol LC	o	o	o
	Decyl oleate/Kollicream DO	o	o	o
	Ethyl oleate/Acros 98 %	+	(+)	+
	Ethyl oleate/Crodomol EO-LQ	(+)	o	o
	Isopropyl myristate	(+)	o	o
	Isopropyl palmitate	(+)	o	o
	Octyldodecanol/Eutanol G	o	o	o
	Oleyl oleate	o	o	o

Emollientien auf Kohlenwasserstoffbasis	Cyclopentasiloxan/Abil OSW5	o	o	o
	Dimethicon/Abil 350	o	o	o
	Dimethicon 100/Silikonöl	o	o	o
	Dimethicon 350/Silikonöl	o	o	o
	Paraffin (dickflüssig)	o	o	o
	Squalan (Sigma)	o	o	o
	Squalen 98 % (Alfa Aesar)	o	o	o
Fettsäuren		Mf	Mg	Ms
	Caprinsäure	o	o	o
	Ölsäure	o	o	o
	Palmitinsäure	(+)	o	o
Formulierungen		Mf	Mg	Ms
	6.1	o	o	o
	6.2	o	o	o
	6.3	o	o	o

Tabelle 109: Auswertung der Wachstumsversuche der Hefepilze

Die Auswertung der Konservierungsmittel zeigte bei keinem der Hefepilze einen relevanten Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung der Konsistenzgeber zeigte bei nahezu keinem der Hefepilze einen relevanten Einfluss auf das Wachstum, lediglich bei der Kombination von Cetyl palmitate und *Malassezia furfur* war eine leichte Wachstumssteigerung erkennbar.

Die Auswertung der Emulgatoren zeigte bei den synthetischen Fettsäureestern bei nahezu keinem der Hefepilze einen relevanten Einfluss auf das Wachstum. Lediglich bei PEG-7 Glyceryl cocoate (Tegosoft GC) war bei *Malassezia furfur* und *Malassezia sympodialis* eine leichte Wachstumssteigerung erkennbar. Span 80 zeigte bei allen drei Stämmen ein leicht gesteigertes Wachstum.

Die synthetischen Fettsäureether und Polymere zeigten bei keinem der Hefepilze einen relevanten Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung der Emollientien zeigte bei den meisten natürlichen Emollientien zumindest eine leichte Wachstumssteigerung. Bei *Malassezia furfur* wirkten Olivenöl und Weizenkeimöl leicht wachstumssteigernd. *Malassezia globosa* zeigte nach der Zugabe von Erdnussöl, Mandelöl, Nachtkerzenöl, Olivenöl, Rapsöl, Sesamöl, Sojaöl und Traubenkernöl eine leichte, sowie nach der Zugabe von Avocadoöl eine deutliche Wachstumssteigerung. Bei *Malassezia sympodialis* bewirkten Mandelöl, Olivenöl, Sesamöl, Sojaöl, Traubenkernöl und Weizenkeimöl ein leicht, sowie Erdnussöl, Nachtkerzenöl und Rapsöl ein deutlich verstärktes Wachstum.

Die synthetischen Fettsäureester zeigten bei nahezu keinem der Hefepilze einen relevanten Einfluss auf das Wachstum. Lediglich Ethyl oleate (Crodomol EO-LQ), Isopropyl myristate und Isopropyl palmitate hatten einen leicht wachstumssteigernden Einfluss auf *Malassezia furfur*. Die Zugabe von Ethyl oleate (Acros 98 %) hatte bei *Malassezia furfur* und *Malassezia sympodialis* ein deutlich gesteigertes Wachstum zur Folge, *Malassezia globosa* zeigte hier ein leicht gesteigertes Wachstum.

Die Emollientien auf Kohlenwasserstoffbasis zeigten bei keinem der Hefepilze einen relevanten Einfluss auf das Wachstum.

Die Auswertung der Fettsäuren zeigte bei nahezu keinem der Hefepilze einen relevanten Einfluss auf das Wachstum, lediglich bei der Kombination von Palmitinsäure und *Malassezia furfur* war eine leichte Wachstumssteigerung erkennbar

Die Auswertung der entwickelten Formulierungen zeigte bei keinem der Hefepilze einen relevanten Einfluss auf das Wachstum.

5.2.3 Ergebnisse der HPTLC-Analyse nach Inkubation mit Bakterien

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der nach dem oben beschriebenen Verfahren durchgeführten HPTLC-Analyse dargestellt. Aus Zeitgründen war eine vollständige Testung aller Teststoffe nicht möglich. Daher wurden exemplarisch Kombinationen aus Bakterienstämmen und Teststoffen verschiedener Klassen ausgewählt, welche in den Wachstumsversuchen Auffälligkeiten gezeigt haben.

Dabei wurde bei jeder Analyse eine Probe, der nach dem oben beschriebenen Verfahren inkubierten und vorbereiteten Keim-Teststoff-Kombination (grün), mit einer Referenzprobe des Teststoffes (schwarz) verglichen. Der hohe Peak bei einem R_f von 0,00 bei jeder Probe ist durch Zelltrümmer und Reste des Agars zu erklären.

5.2.3.1 Emulgatoren

Methyl glucose isostearate (Isolan IS)

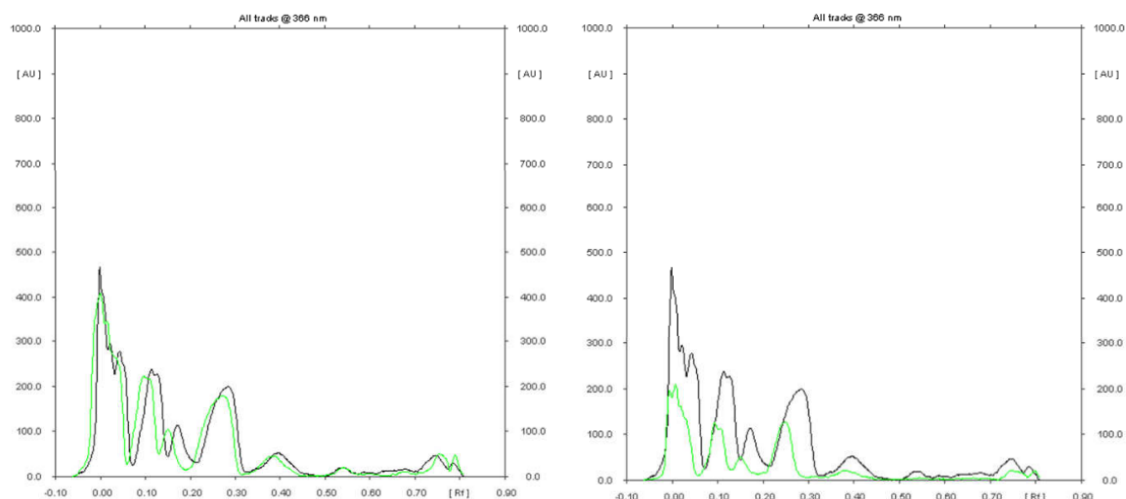


Abbildung 38: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Methyl glucose isostearate (Isolan IS) mit *Coryne. minutissimum* (links) und *Propioni. acnes* (rechts)

Obwohl *Coryne. minutissimum* in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung zeigte, konnte in der HPTLC-Analyse keine Verstoffwechslung des Esters nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Span 80

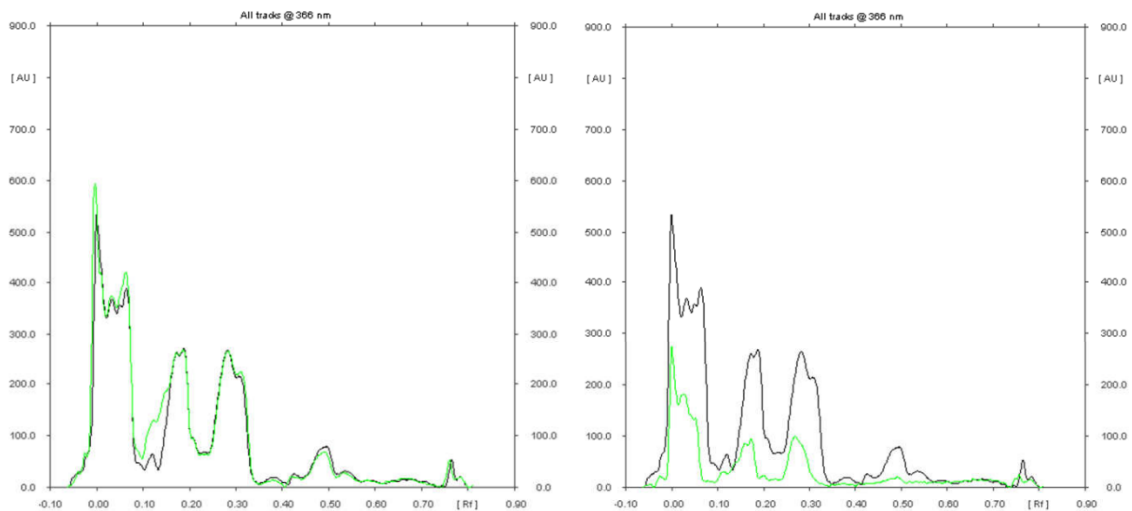


Abbildung 39: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Span 80 mit *Coryne. minutissimum* (links) und *Propioni. acnes* (rechts)

Obwohl *Coryne. minutissimum* in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung zeigte, konnte in der HPTLC-Analyse keine Verstoffwechslung des Esters nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Cetyl PEG/PPG-10/Dimethicon/Abil EM 90

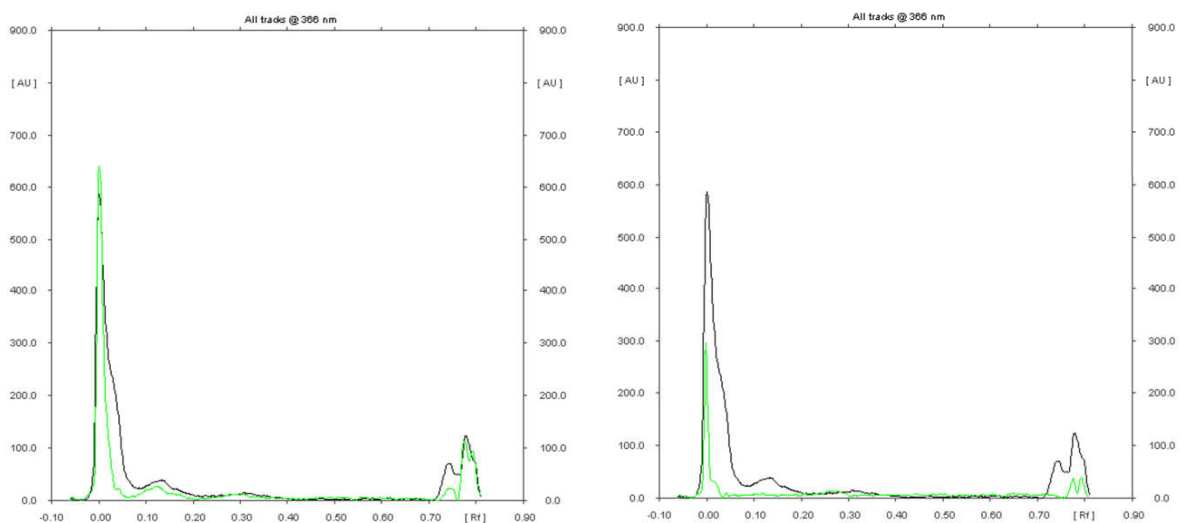


Abbildung 40: Auswertung nach Inkubation des Polymeres Cetyl PEG (PPG-10/Dimethicon/Abil EM 90) mit *Coryne. minutissimum* (links) und *Propioni. acnes* (rechts)

Obwohl *Coryne. minutissimum* in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung zeigte, konnte in der HPTLC-Analyse keine Verstoffwechslung des Polymers nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

5.2.3.2 Emollientien

Avocadoöl

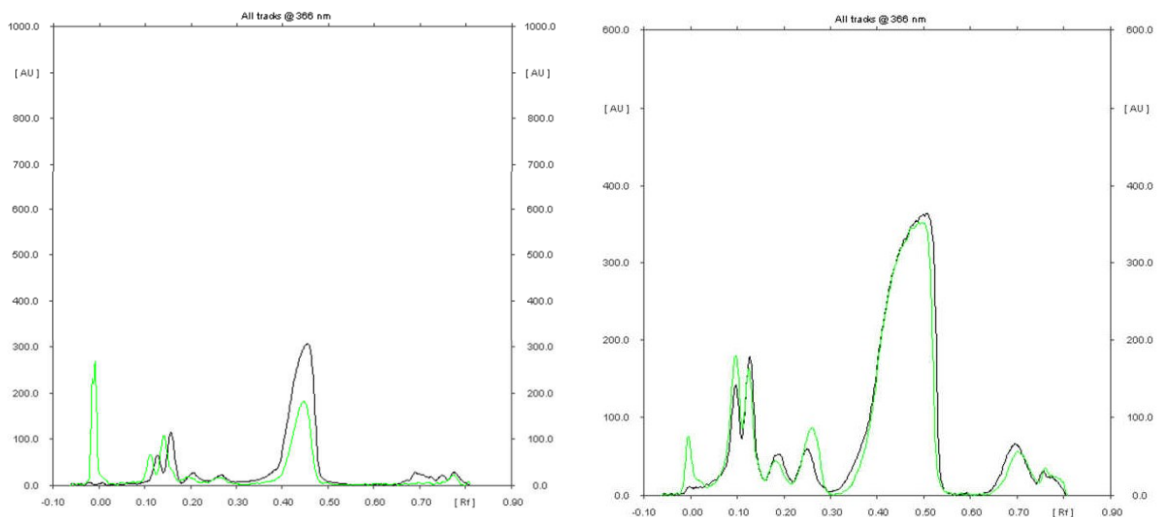


Abbildung 41: Auswertung nach Inkubation des natürlichen Emollients Avocadoöl mit *Coryne. minutissimum* (links) und *Propioni. acnes* (rechts)

Obwohl *Coryne. minutissimum* in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung zeigte, konnte in der HPTLC-Analyse keine Verstoffwechslung des natürlichen Emollients nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Olivenöl

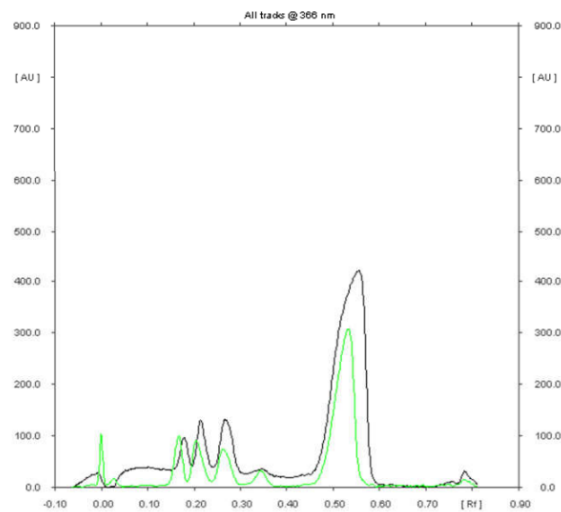


Abbildung 42: Auswertung nach Inkubation des natürlichen Emollients Olivenöl mit *Propioni. acnes*

Obwohl *Propioni. acnes* in den Wachstumsversuchen eine leichte Steigerung zeigte, konnte in der HPTLC-Analyse keine Verstoffwechselung des natürlichen Emollients nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Sesamöl

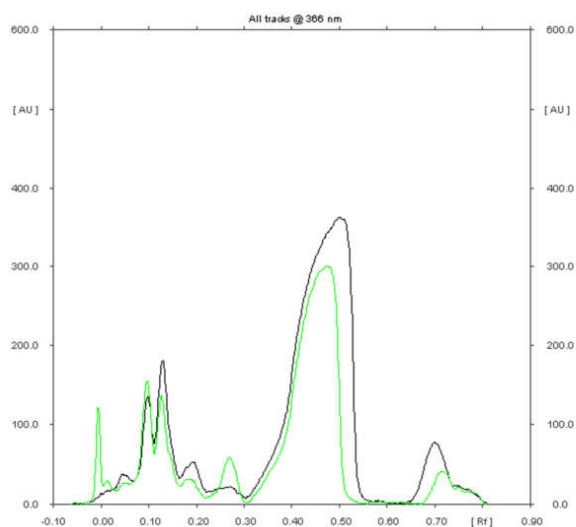


Abbildung 43: Auswertung nach Inkubation des natürlichen Emollients Sesamöl mit *Propioni. acnes*

Propioni. acnes wurde in den Wachstumsversuchen nicht mit Sesamöl kombiniert. In der HPTLC-Analyse konnte ein kleiner neu entstandener Peak bei einem R_f von 0,29 detektiert werden. Dieser liegt in der Nähe freier Fettsäuren ($R_f = 0,19 - 0,30$), ist aufgrund seiner geringen Höhe allerdings als eingeschränkt relevant zu betrachten. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin. Die sonstigen Schwankungen der Peakhöhen sind durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812)

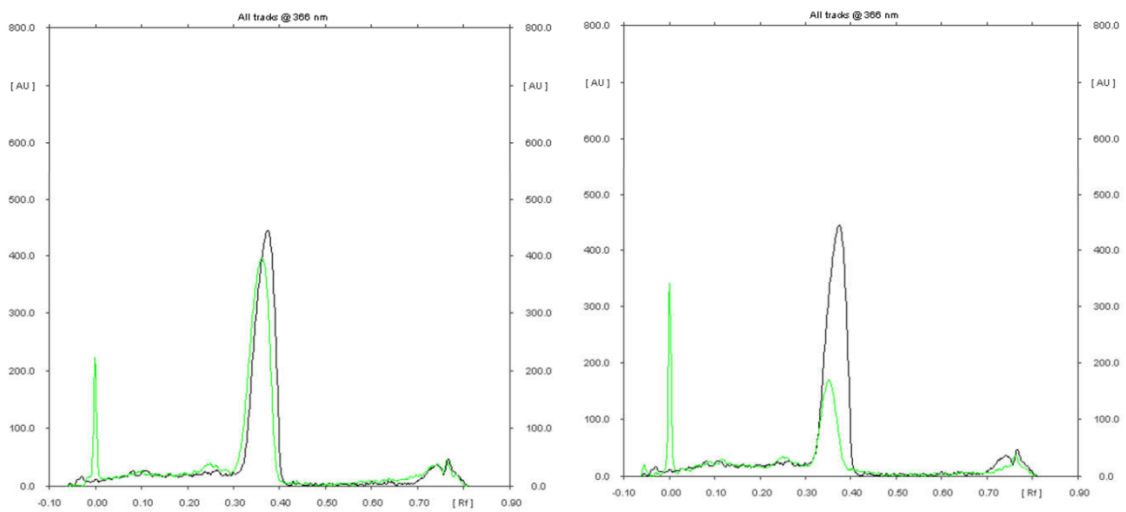


Abbildung 44: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit *Staph. epidermidis* (links) und *Staph. gallinarum* (rechts)

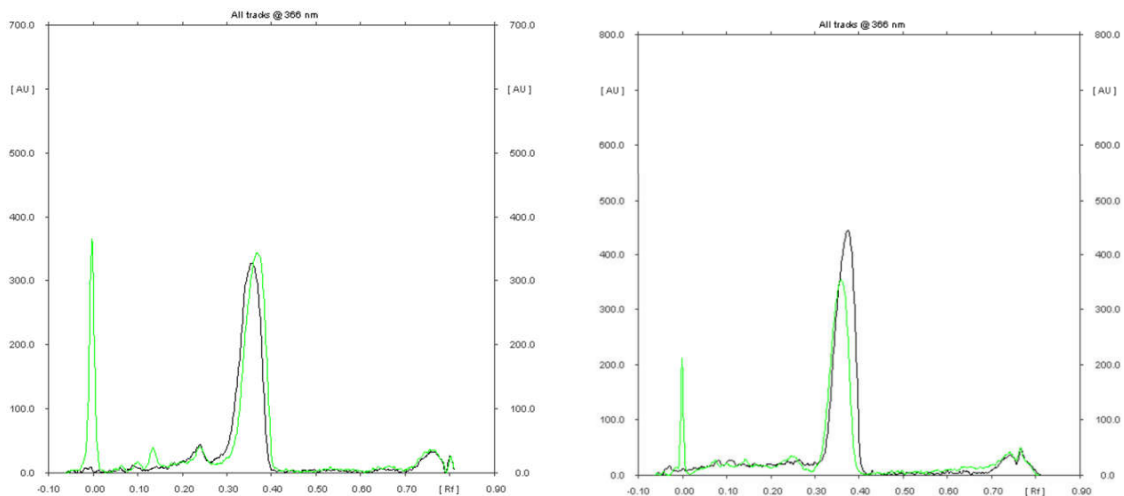


Abbildung 45: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit *Coryne. minutissimum* (links) und *Propioni. acnes* (rechts)

Bei *Staph. epidermidis* zeigte sich in den Wachstumsversuchen eine deutliche Reduzierung, bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich hingegen eine Steigerung und bei *Propioni. acnes* zeigte sich kein erkennbarer Einfluss. *Staph. gallinarum* wurde in dieser Kombination nicht getestet. In der HPTLC-Analyse konnte lediglich bei *Coryne. minutissimum* ein kleiner neu entstandener Peak bei einem R_f von 0,14 detektiert werden. Dieser liegt in der Nähe freier Fettsäuren ($R_f = 0,19 - 0,30$), ist aufgrund seiner geringen Höhe allerdings als eingeschränkt relevant zu betrachten. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist bei den anderen Keimen nicht erkennbar. Es konnte keine weitere Verstoffwechselung des synthetischen Fettsäureesters nachgewiesen werden. Die sonstigen Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Cetearyl isononanoate (Cetiol SN)

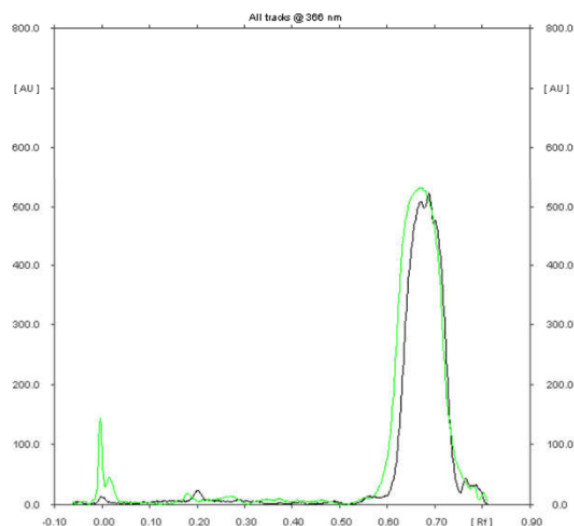


Abbildung 46: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Cetearyl isononanoate (Cetiol SN) mit *Propioni. acnes*

Obwohl *Propioni. acnes* in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung zeigte, konnte in der HPTLC-Analyse keine Verstoffwechselung des synthetischen Fettsäureesters nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Decyl oleate (Coco-caprylate/Cetiol LC)

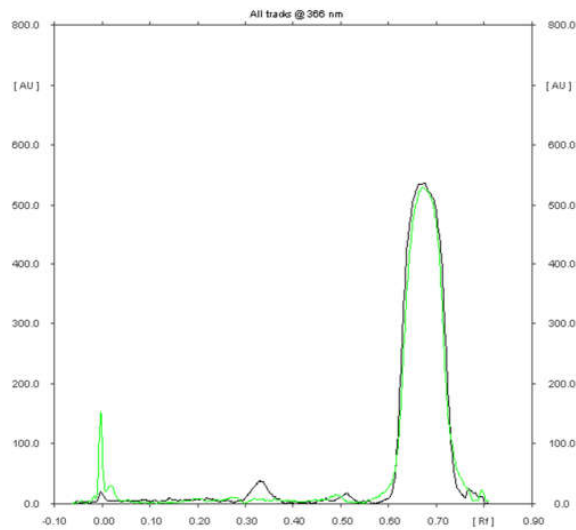


Abbildung 47: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Coco-caprylate/Cetiol LC) mit *Propioni. acnes*

Obwohl *Propioni. acnes* in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung zeigte, konnte in der HPTLC-Analyse keine Verstoffwechslung des synthetischen Fettsäureesters nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Decyl oleate (Kollicream DO)

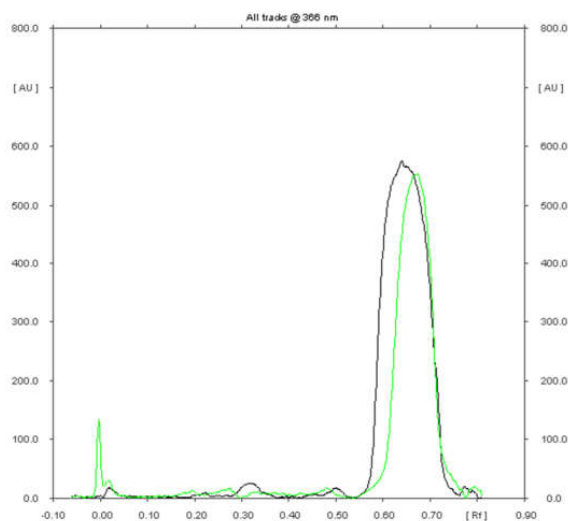


Abbildung 48: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Decyl oleate (Kollicream DO) mit *Propioni. acnes*

Obwohl *Propioni. acnes* in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung zeigte, konnte in der HPTLC-Analyse keine Verstoffwechslung des synthetischen Fettsäureesters nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Ethyl linoleate

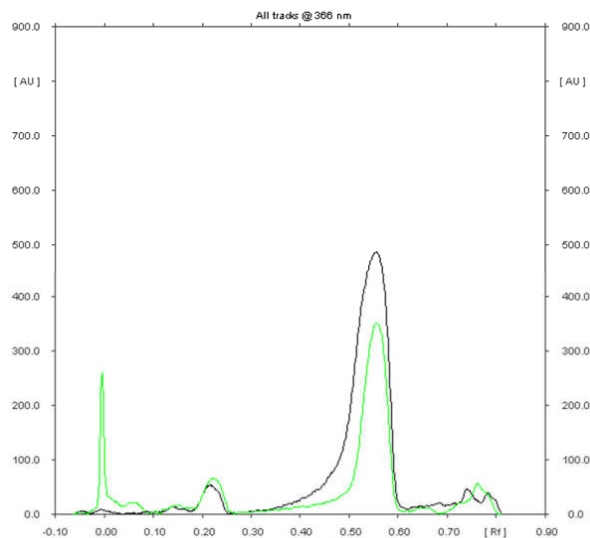


Abbildung 49: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Ethyl linoleate mit *Staph. epidermidis*

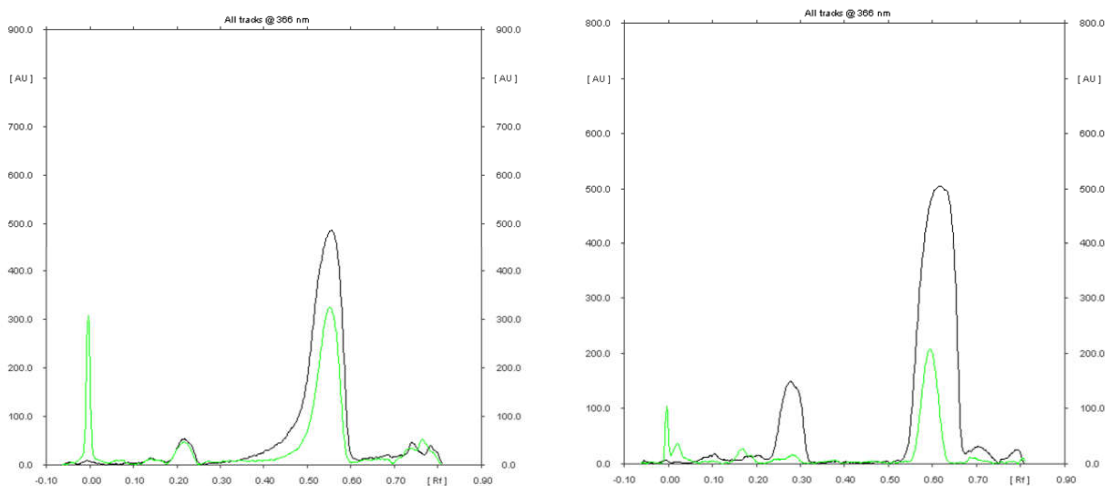


Abbildung 50: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Ethyl linoleate mit *Coryne. minutissimum* (links) und *Propioni. acnes* (rechts)

Bei *Staph. epidermidis* zeigte sich in den Wachstumsversuchen kein erkennbarer Einfluss, bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich hingegen eine deutliche Reduzierung. *Propioni. acnes* wurde in dieser Kombination nicht getestet. In der HPTLC-Analyse konnte bei keinem der Keime eine Verstoffwechslung des synthetischen Fettsäureesters nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Ethyl oleate (Acros 98 %)

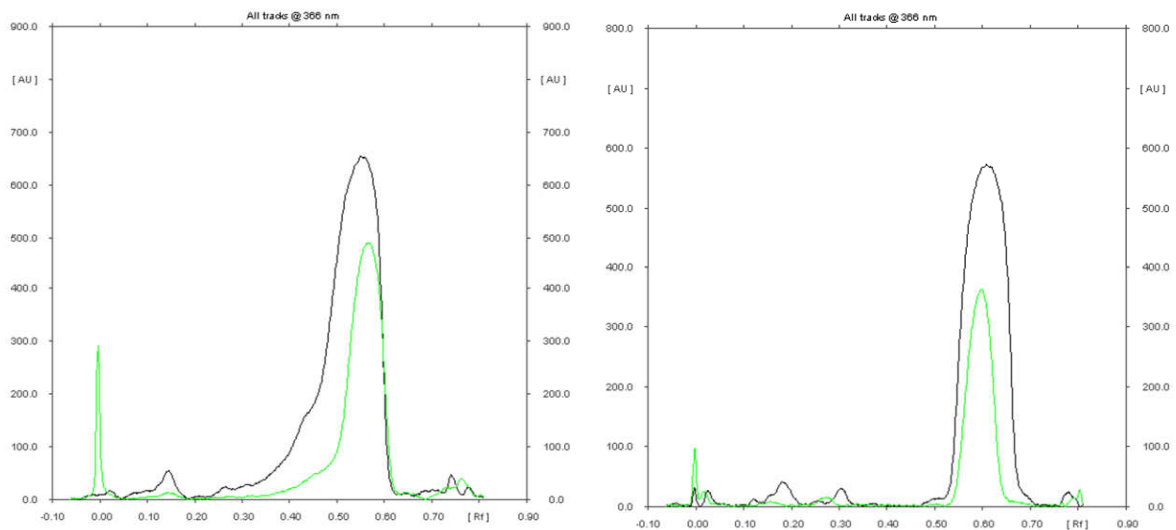


Abbildung 51: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Ethyl oleate (Acros 98 %) mit *Staph. epidermidis* (links) und *Propioni. acnes* (rechts)

Bei *Staph. epidermidis* zeigte sich in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung, *Propioni. acnes* wurde in dieser Kombination nicht getestet. In der HPTLC-Analyse konnte keine Verstoffwechslung des synthetischen Fettsäureesters nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Isopropyl palmitate

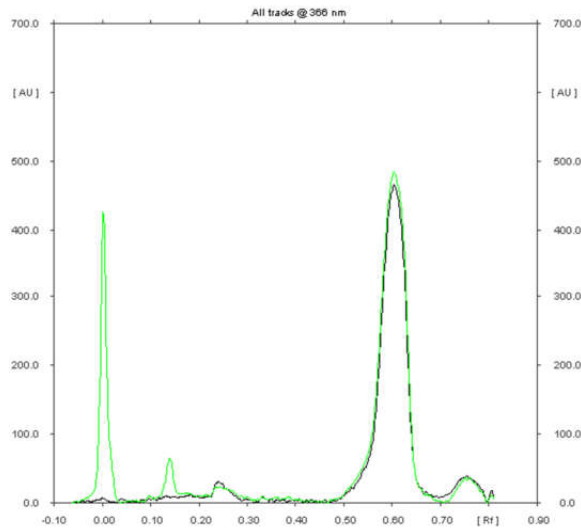


Abbildung 52: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Isopropyl palmitate mit *Coryne. minutissimum*

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung. In der HPTLC-Analyse konnte ein kleiner neu entstandener Peak bei einem R_f von 0,14 detektiert werden. Dieser liegt in der Nähe freier Fettsäuren (R_f = 0,19 – 0,30), ist aufgrund seiner geringen Höhe allerdings als eingeschränkt relevant zu betrachten. Neu entstandene weitere Peaks würden auf entstandene Spaltprodukte hinweisen. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Oleyl oleate

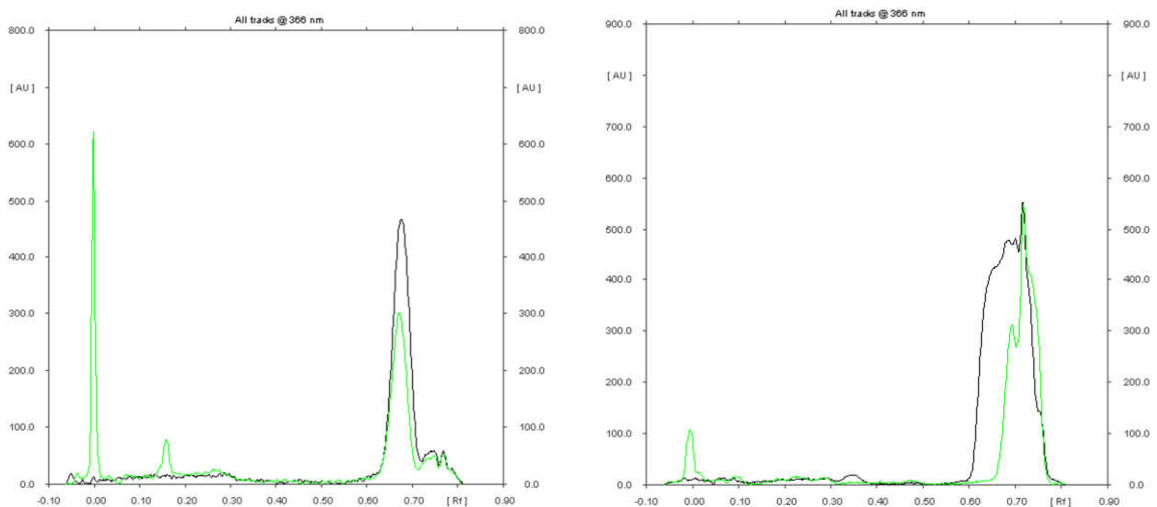


Abbildung 53: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit *Coryne. minutissimum* (links) und *Propioni. acnes* (rechts)

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich in den Wachstumsversuchen eine deutliche Steigerung, bei *Propioni. acnes* hingegen eine leichte Reduzierung. In der HPTLC-Analyse konnte lediglich bei *Coryne. minutissimum* ein kleiner neu entstandener Peak bei einem R_f von 0,16 detektiert werden. Dieser liegt in der Nähe von Oleylalkohol ($R_f = 0,19$), bzw. freier Fettsäuren ($R_f = 0,19 - 0,30$), ist aufgrund seiner geringen Höhe allerdings als eingeschränkt relevant zu betrachten. Neu entstandene weitere Peaks würden auf entstandene Spaltprodukte hinweisen, dies ist bei den anderen Keimen nicht erkennbar. Es konnte keine weitere Verstoffwechslung des synthetischen Fettsäureesters nachgewiesen werden. Die Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks, durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

Dimethicon 100 (Silikonöl)

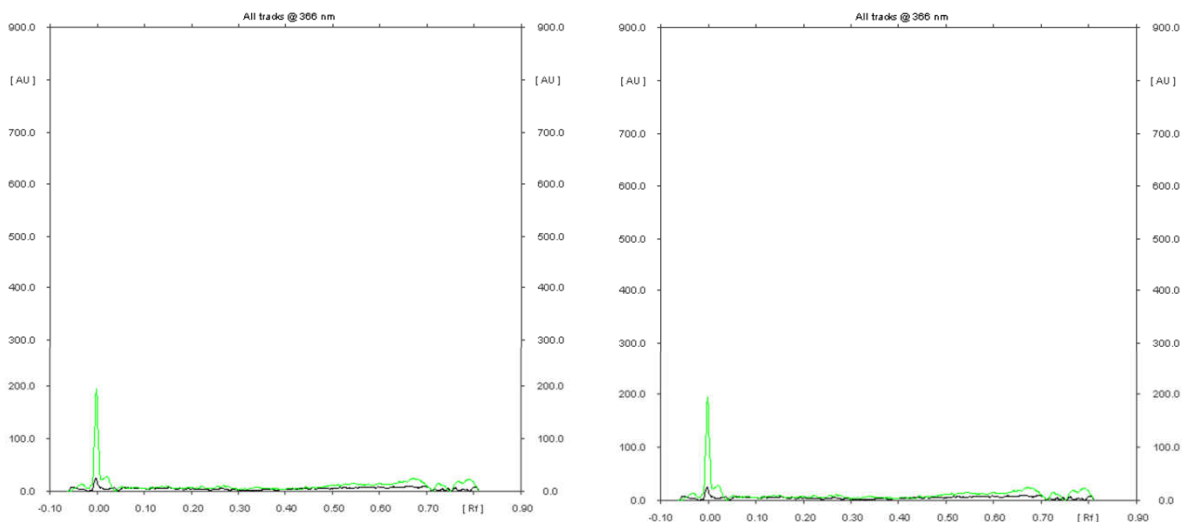


Abbildung 54: Auswertung nach Inkubation des Emollientien auf Kohlenwasserstoffbasis Dimethicon 100 (Silikonöl) mit *Coryne. minutissimum* (links) und *Propioni. acnes* (rechts)

Bei *Coryne. minutissimum* zeigte sich in den Wachstumsversuchen eine deutliche Reduzierung, *Propioni. acnes* wurde dort nicht getestet. In der HPTLC-Analyse konnte keine Verstoffwechslung des Emollientien auf Kohlenwasserstoffbasis nachgewiesen werden. Neu entstandene Peaks weisen auf entstandene Spaltprodukte hin, dies ist hier nicht erkennbar. Auffällig ist, dass auch die Referenzprobe keine relevanten Peaks aufweist. Die minimalen Schwankungen der Peakhöhen sind, ohne neu entstandene Peaks durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

5.2.4 Ergebnisse der HPTLC-Analysen nach Inkubation mit Hefepilzen

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der nach dem oben beschriebenen Verfahren durchgeführten HPTLC-Analysen dargestellt. Aus Zeitgründen war eine vollständige Testung aller Teststoffe nicht möglich. Daher wurden exemplarisch nur einige Kombinationen aus Hefepilzen und Teststoffen verschiedener Klassen ausgewählt, welche nach Literaturrecherche vielversprechend erschienen. Dabei wurde bei jeder Analyse eine Probe, der nach dem oben beschriebenen Verfahren inkubierten und vorbereiteten Keim-Teststoff-Kombination (grün), mit einer Referenzprobe des Teststoffes (schwarz) verglichen. Der hohe Peak bei einem R_f von 0,00 bei jeder Probe ist durch Zelltrümmer und Reste des Agars zu erklären.

Da sich in der HPTLC-Analyse der Hefepilze, im Gegensatz zu denen der Bakterienstämme, deutliche Auffälligkeiten zeigten, wurden einzelne Stoffe noch einmal zur Evaluation der Abbaukinetik getestet. Dies erfolgte mit $n = 6$, um die zuvor beobachteten Schwankungen der Peakhöhen bestmöglich auszugleichen. Für die Auswertung wurde hier die prozentuale Abnahme der Peakhöhen bestimmt und graphisch aufgetragen.

5.2.4.1 Emollientien

Oleyl oleate

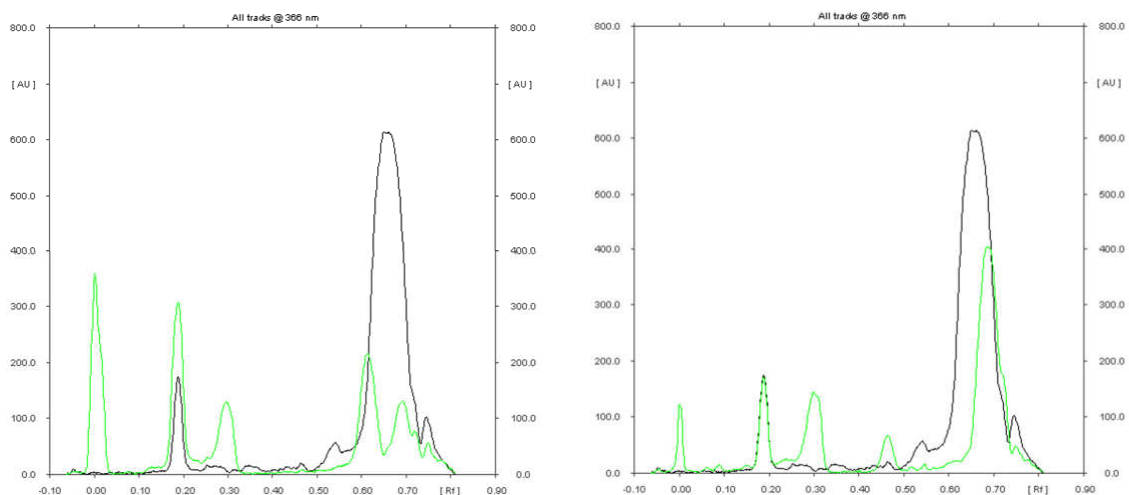


Abbildung 55: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit *Malassezia furfur* (links) und *Malassezia globosa* (rechts)

Obwohl *Malassezia furfur* und *globosa* in den Wachstumsversuchen keine Veränderung nach Inkubation mit Oleyl oleate zeigten, sind in der HPTLC-Analyse deutliche Hinweise auf eine Verstoffwechslung des Fettsäureesters erkennbar. Bei beiden Keimen ist der Peak bei einem

R_f von 0,68 nach der Inkubation mit dem Hefepilz deutlich reduziert, was auf eine verringerte Menge des Stoffes hinweist. Bei *Malassezia globosa* ist jeweils ein neu entstandener Peak bei einem R_f von 0,47 und 0,3 erkennbar, bei *Malassezia furfur* liegen diese bei 0,19 und 0,3. Dies weist auf neu entstandene Moleküle hin, wobei vor allem die bei einer Spaltung an der zentralen Esterbindung entstehenden Bestandteile Ölsäure ($R_f = 0,30$) und Oleylalkohol ($R_f = 0,19$) in Betracht zu ziehen sind. Die minimalen Schwankungen der Peakhöhen sind durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

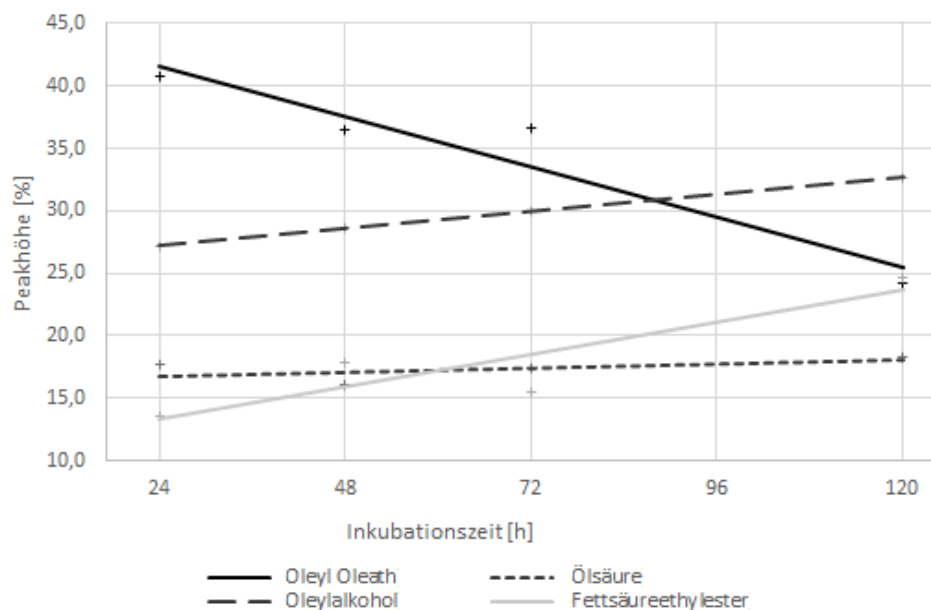


Abbildung 56: Auswertung der Abbaukinetik nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit *Malassezia furfur*

Wie über den Zeitraum von 24 bis 120 Stunden zu erkennen ist, nimmt die Menge an vorhandenem Oleyl oleate deutlich ab. Dies deckt sich auch mit der zuvor durchgeführten HPTLC-Analyse nach 120 Stunden. Auffällig ist allerdings, dass zwar die Menge an Oleylalkohol kontinuierlich zunimmt, Ölsäure aber nur in relativ konstanter Menge nachgewiesen werden kann. Da beides Spaltprodukte von Oleyl oleate sind, wäre ein gleichmäßiger Zuwachs zu erwarten gewesen. Dies kann dadurch erklärt werden, dass *Malassezia furfur* die entstandene Ölsäure weiter verwertet und so z.B. Stoffe zur Synthese von Zellwänden erzeugt [144]. Dazu zählen auch Fettsäureethylester, deren Peak auch in der vorherigen Analyse bei einem R_f von 0,60 erkennbar ist [52].

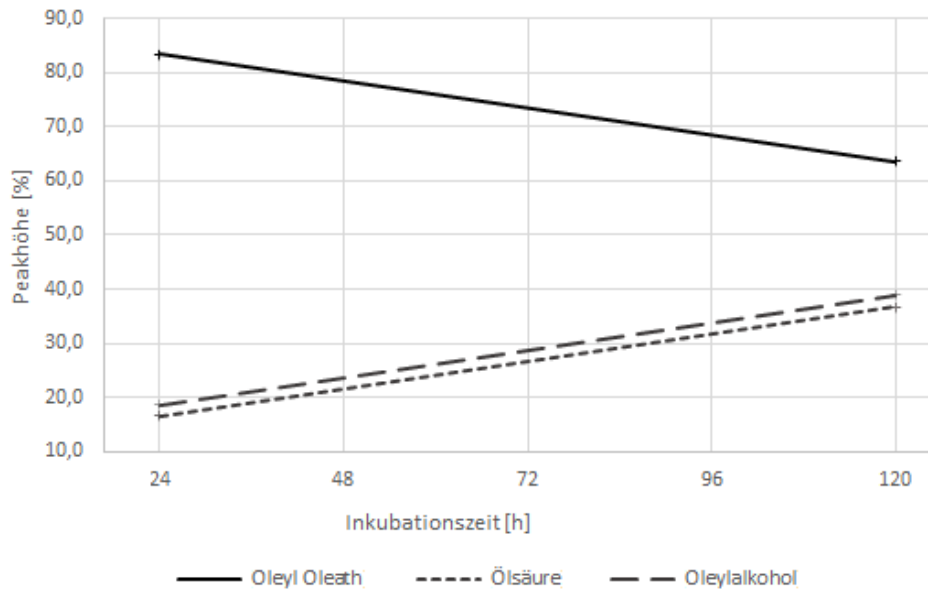


Abbildung 57: Auswertung der Abbaukinetik nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Oleyl oleate mit *Malassezia globosa*

Wie über den Zeitraum von 24 bis 120 Stunden zu erkennen ist, nimmt die Menge an vorhandenem Oleyl oleate deutlich ab. Dies deckt sich auch mit der zuvor durchgeführten HPTLC-Analyse nach 120 Stunden. Die bei der Spaltung von Oleyl oleate entstehenden Produkte Ölsäure und Oleylalkohol nehmen gleichmäßig und kontinuierlich zu. Dies spricht gegen eine weitere Verstoffwechslung der Ölsäure und deckt sich mit den zuvor beobachteten Peaks.

Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812)

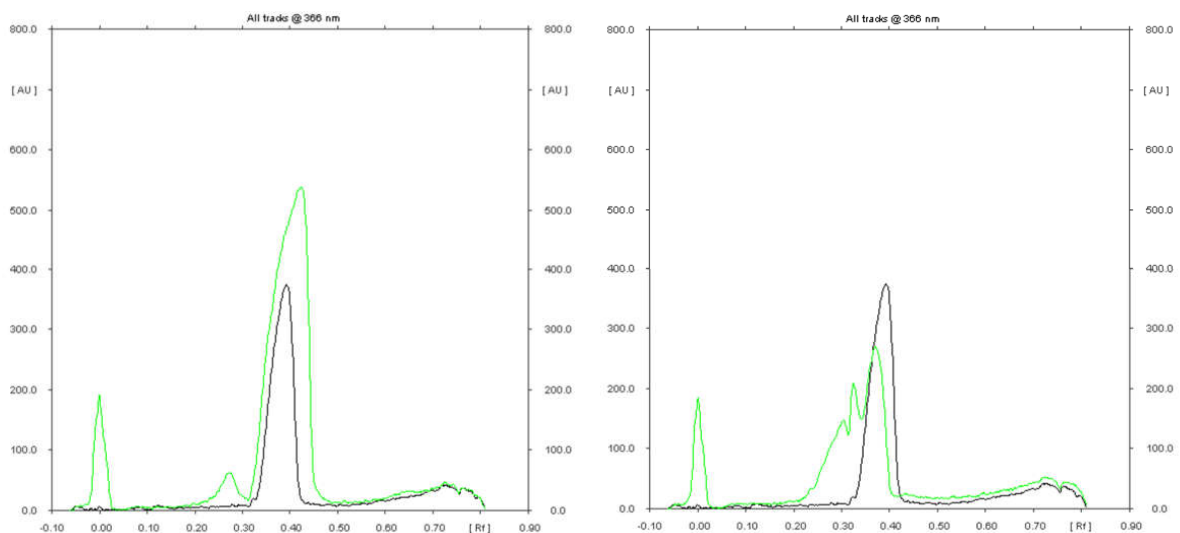


Abbildung 58: Auswertung nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit *Malassezia furfur* (links) und *Malassezia globosa* (rechts)

Obwohl *Malassezia furfur* und *globosa* in den Wachstumsversuchen keine Veränderung nach Inkubation mit Caprylic/Capric triglyceride (Miglyol 812) zeigten, sind in der HPTLC-Analyse deutliche Hinweise auf eine Verstoffwechselung des Fettsäureesters erkennbar. Bei beiden Keimen ist jeweils bei einem R_f von 0,27 bis 0,30 ein neu entstandener Peak erkennbar. Dies weist auf neu entstandene Moleküle hin, die sich unter anderem im Bereich der freien Fettsäuren ($R_f = 0,19 - 0,30$) bewegen. Die Schwankungen der Peakhöhen sind durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

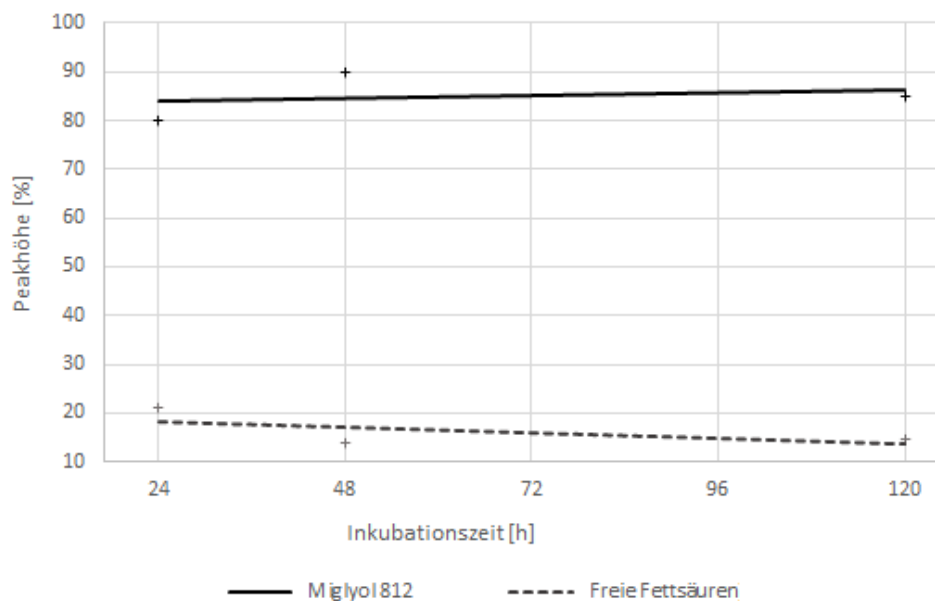


Abbildung 59: Auswertung der Abbaukinetik nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprylic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit *Malassezia furfur*

Wie über den Zeitraum von 24 bis 120 Stunden zu erkennen ist, sind sowohl bei den mittelkettigen Triglyceriden als auch bei den freien Fettsäuren keine relevanten Schwankungen der Stoffmengen erkennbar. Dies deckt sich auch mit der zuvor durchgeführten HPTLC-Analyse nach 120 Stunden, wo bei *Malassezia furfur* keine verringerte Menge Miglyol 812 detektiert wurde. Der neu entstandene Peak bei einem R_f von 0,27 in Abbildung 58 deckt sich nicht mit dem konstant niedrigen Niveau an freien Fettsäuren.

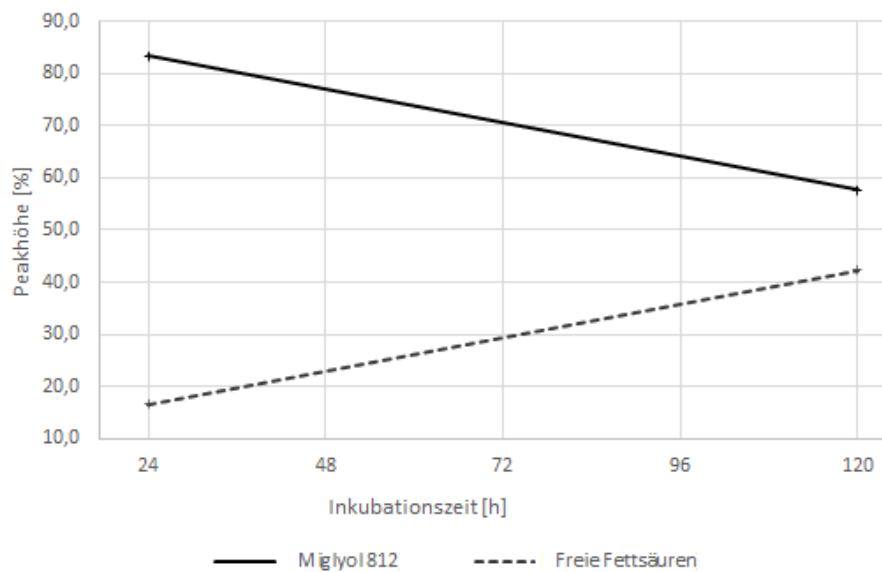


Abbildung 60: Auswertung der Abbaukinetik nach Inkubation des synthetischen Fettsäureesters Caprilic/Capric triglyceride (Miglyol 812) mit *Malassezia globosa*

Wie über den Zeitraum von 24 bis 120 Stunden zu erkennen ist, nimmt die Menge an mittelkettigen Triglyceriden konsequent ab, wobei die Peakhöhen der freien Fettsäuren in gleichem Maße ansteigen. Dies deckt sich auch mit der zuvor durchgeführten HPTLC-Analyse nach 120 Stunden, wo bei *Malassezia globosa* eine deutlich verringerte Menge Miglyol 812 detektiert wurde. Der neu entstandene Peak bei einem R_f von 0,30 in Abbildung 58 weist ebenfalls auf neu entstandene Moleküle hin, die sich unter anderem im Bereich der freien Fettsäuren ($R_f = 0,19 - 0,30$) bewegen.

5.2.4.2 Fettsäuren

Ölsäure

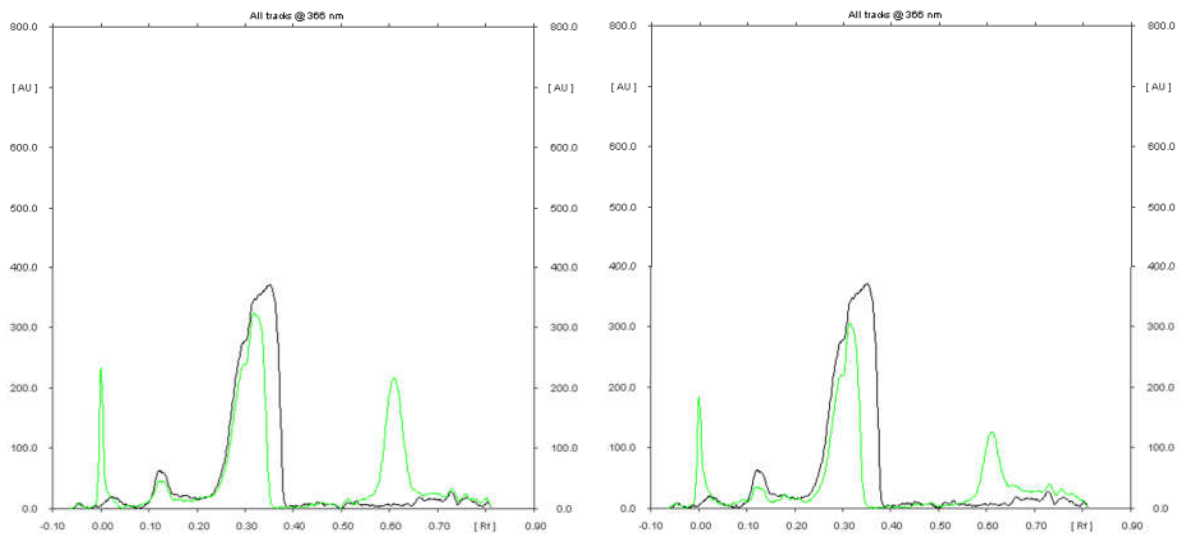


Abbildung 61: Auswertung nach Inkubation der Fettsäure Ölsäure mit *Malassezia furfur* (links) und *Malassezia globosa* (rechts)

Obwohl *Malassezia furfur* und *globosa* in den Wachstumsversuchen keine Veränderung nach Inkubation mit der einfach ungesättigten Ölsäure zeigten, sind in der HPTLC-Analyse deutliche Hinweise auf eine Verstoffwechslung der Fettsäure erkennbar. Bei beiden Keimen ist der Peak bei einem R_f von 0,30 nach der Inkubation mit dem Hefepilz leicht reduziert, was auf eine verringerte Menge des Stoffes hinweist. Ebenso ist bei beiden Keimen ein neu entstandener Peak bei einem R_f von 0,61 erkennbar. Dies weist auf neu entstandene Moleküle höherer Kettenlänge hin, die sich beispielsweise im Bereich von Fettsäureethylestern ($R_f = 0,60$) bewegen. Die Schwankungen der Peakhöhen sind durch Verunreinigungen oder einen Verlust von Material beim Abschwemmen bzw. der Verarbeitung zu erklären.

6 Diskussion

Die folgende Tabelle fasst sämtliche getesteten Keim-Stoff-Kombinationen zusammen. Dabei werden als signifikant gewertete Wachstumsänderungen mit + bzw. - markiert. Falls eine Wachstumssteigerung bzw. -minderung zwar festgestellt wurde, bei den Bakterien eine halbe Zehnerpotenz aber nicht überschritt, bzw. bei den Hefepilzen nur leicht erkennbar war, wurde sie als eingeschränkt relevant bewertet und zusätzlich mit () versehen.

	Staph. epidermidis (Se)	Staph. gallinarum (Sg)	Coryne. minutissimum (Cm)	Propioni. acnes (Pa)	Malassezia furfur (Mf)	Malassezia globosa (Mg)	Malassezia sympodialis (Ms)
Konservierungsmittel	Se	Sg	Cm	Pa	Mf	Mg	Ms
Butylenglykol	o	o	o	o	o	o	o
Caprylylglykol	o	o	o	o	o	o	o
Ethanol	o	o	o	o	o	o	o
Pentylenglykol	o	o	o	o	o	o	o
Propylenglykol	o	o	o	o	o	o	o
Konsistenzgeber	Se	Sg	Cm	Pa	Mf	Mg	Ms
Diverse							
Bienenwachs/Cera alba	(+)	(+)	o		o	o	o
Carnaubawachs	+	+	+		o	o	o
Cetylstearylalkohol/Lanette O	+	(+)	+		o	o	o
Cetyl palmitate	o	o	o		(+)	o	o
Gelbildner							
Acrylamid/Sepineo P600	o	(+)	o				
Carmellose-Natrium 7MF	o	(+)	(+)				
Hydroxyethyl acrylate/ Sepinov WEO	o	+	(+)				
Hydroxyethyl cellulose/Cellosize PCG-10	o	(+)	o		o	o	o
Polyacrylsäure/Carbomer/ Carbopol 980	o	(-)	(-)				
Xanthan	o	(+)	(+)		o	o	o

Emulgatoren		Se	Sg	Cm	Pa	Mf	Mg	Ms
Natürliche	Wollwachs	+	(+)	+				
	Glyceryl oleate/Tegin OV	(+)	(+)	+		o	o	o
Synthetische Fettsäureester	Glyceryl stearate	+	+	+		o	o	o
	Methyl glucose isostearate/Isolan IS	+	(+)	+		o	o	o
	PEG-7 Glyceryl cocoate/Tegosoft GC	(-)	o	o		(+)	o	(+)
	Polyglyceryl-3 caprate/Tegosoft PC 31	o	(+)	(+)		o	o	o
	Polyglyceryl 3 oleate/Isolan GO 33	o	+	+		o	o	o
	Span 80	+	(+)	+		(+)	(+)	(+)
	Sucrose stearate/Surfhopho 1803F	+	+	+		o	o	o
	Macrogol 40 Glycerolhydroxystearate/Cremophor RH 40	o	o	o		o	o	o
	PEG-40 hydrogenated castor oil/Tagat CH 40	o	(-)	(+)		o	o	o
	PEG-40 stearate/Tego Acid S 40 P	o	o	o		o	o	o
	Polyglyceryl-3 Methylglucose distearate	+	+	+				
	Sucrose palmitate/Surfhopho 1615	o	(+)	(+)		o	o	o
	Tween 40/Polysorbat 40	o	o	o		o	o	o
	Tween 80/Polysorbat 80	o	(+)	o		o	o	o
Synthetische Fettsäureether	Ceteth-25/Cetareth-25	(-)	o	(+)		o	o	o
	Laureth-20	o	(+)	o		o	o	o
	Oleth-20/Chemonoc OE-20	o	o	o		o	o	o
	Steareth-20/Lipocol S-20	o	o	(+)		o	o	o
Polymere	Cetyl PEG/PPG-10/Dimethicon/Abil EM 90	o	(+)	+		o	o	o
	Poloxamer 407	o	(+)	(+)		o	o	o

Lösungs- vermittler	PEG-300/Kolliphor P407	o	(-)	(+)				
	PEG-350/PEG-6	(-)	(-)	(+)				
	PEG-550/PEG-6 Methylether	o	o	o				
	Emollientien	Se	Sg	Cm	Pa	Mf	Mg	Ms
Natürliche Emollientien	Avocadoöl	+	o	+		o	+	o
	Erdnussöl	o		(+)		o	(+)	+
	Jojobaöl	o	o	o		o	o	o
	Leinöl	o		o		o	o	o
	Mandelöl	+	(-)	o		o	(+)	(+)
	Nachtkerzenöl	(+)	o	o		o	(+)	+
	Olivenöl	-	+	o	(+)	(+)	(+)	(+)
	Rapsöl	o	o	o		o	(+)	+
	Rizinusöl	o		(+)		o	o	o
	Sesamöl	+		(+)		o	(+)	(+)
	Sojaöl	o		(+)		o	(+)	(+)
	Traubenkernöl	o	+	+		o	(+)	(+)
	Weizenkeimöl	o	o	o		(+)	o	(+)
Synthetische Fettsäureester	Caprylic/Capric triglyceride/ Miglyol 812	-		+	o	o	o	o
	Cetearyl isononanoate/ Cetiol SN	(+)		+		o	o	o
	Decyl oleate/Coco-caprylate/ Cetiol LC	(+)		+	-	o	o	o
	Decyl oleate/Kollicream DO	+		+	o	o	o	o
	Ethyl linoleate	o		-				
	Ethyl oleate/Acros 98 %	+		+		+	(+)	+
	Ethyl oleate/Crodomol EO- LQ	o		-		(+)	o	o
	Isopropyl myristate	(-)		(+)		(+)	o	o
	Isopropyl palmitate	o		+	o	(+)	o	o
	Octyldodecanol/Eutanol G	o		o		o	o	o
Oleyl oleate	o		+	(-)	o	o	o	

Emollientien auf Kohlenwasserstoffbasis	Cyclopentasiloxan/Abil OSW5	(-)		o		o	o	o
	Dimethicon/Abil 350		o	o	o	o	o	o
	Dimethicon 100/Silikonöl	(+)			-	o	o	o
	Dimethicon 350/Silikonöl		o		o	o	o	o
	Paraffin (dickflüssig)	(+)			o	o	o	o
	Squalan (Sigma)		o		(+)	o	o	o
	Squalen 98 % (Alfa Aesar)		-		(+)	o	o	o
Fettsäuren		Se	Sg	Cm	Pa	Mf	Mg	Ms
Caprinsäure		-		-	o	o	o	o
Ölsäure		o		-	o	o	o	o
Palmitinsäure		o		+	o	(+)	o	o
Formulierungen		Se	Sg	Cm	Pa	Mf	Mg	Ms
6.1		o		o	o	o	o	o
6.2		o		o	o	o	o	o
6.3		-		-	-	o	o	o

Tabelle 110: Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Wachstumsversuchen

Betrachtet man die obige Tabelle, so fällt auf, dass alle Bakterienstämme in nahezu jeder Stoffklasse bei einigen Teststoffen ein verändertes Wachstum zeigen. In den meisten Fällen lag diese Änderung allerdings in einem Bereich, der als wenig relevant zu betrachten ist. Eine genaue Festlegung auf bestimmte Stoffklassen, die durchweg eine eindeutige Wachstumssteigerung oder -reduzierung verursachen, ist allerdings nicht möglich.

In der Literatur finden sich Hinweise darauf, dass *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium minutissimum* und *Propionibacterium acnes* Lipaseaktivitäten aufweisen [145]. Bei *Staphylococcus epidermidis* und *Propionibacterium acnes* wurden auch exogene Lipaseaktivitäten beobachtet [146]. Laufen Stoffwechselvorgänge, die die Spaltung der Teststoffe zur Folge haben, nur innerhalb der Zelle ab, so ist nur ein Einfluss auf das Wachstum der Bakterien und damit auch auf das Gleichgewicht der Hautmikroflora möglich. Damit Spaltprodukte eine komedogene oder den pH-Wert der Haut veränderte Wirkung entfalten können, müssen sie außerhalb der Zelle entstehen. Eine exogene Lipaseaktivität ist für diesen Prozess also zwingend erforderlich, muss aber nicht mit einem veränderten Wachstum einhergehen. Lipasen spalten Moleküle hydrolytisch an der Esterbindung, beispielsweise zwischen Glycerin und Fettsäure [147]. Ein verstärktes Wachstum, bzw. die

Entstehung von Spaltprodukten, wäre also am ehesten bei den oben genannten Keimen und den Fettsäureestern zu erwarten gewesen. Da die natürlichen Emollientien ein Gemisch verschiedenster Fette sind, kommen hier ebenfalls Ester vor. Wie in der obigen Tabelle zu erkennen ist dies zumindest bei *Staphylococcus epidermidis* und *Corynebacterium minutissimum* der Fall. Allerdings sind auch Wachstumsänderungen bei den Fettsäureethern erkennbar. Dies könnte auch durch Änderungen des pH-Wertes, osmotische Drücke oder die zunehmend antibakterielle Wirkung ungesättigter Fettsäuren mit steigender Anzahl der enthaltenen Doppelbindungen [148] erklärt werden.

In der HPTLC-Analyse konnten lediglich wenige neu entstandene Peaks mit geringer Höhe detektiert werden. *Propionibacterium acnes* zeigte nach Inkubation mit Sesamöl einen Peak im Bereich der freien Fettsäuren, was mit der exogenen Lipaseaktivität korrelieren könnte. Obwohl diese bei *Corynebacterium minutissimum* nicht bekannt ist, wurden hier neu entstandene Peaks im Bereich freier Fettsäuren nach Inkubation mit Isopropyl palmitate und Miglyol 812, bzw. im Bereich von Oleylalkohol nach Inkubation mit Oleyl oleate, detektiert. Dies weist trotz fehlender Literatur auf die Verstoffwechslung der Teststoffe hin.

Bei den entwickelten Formulierungen 6.1 und 6.2 konnte wie zu erwarten kein verändertes Wachstum detektiert werden. Das fehlende Wachstum bei der Waschseife 6.3 ist durch den stark alkalischen pH-Wert und die daraus resultierende antibakterielle Wirkung zu erklären. Zudem wird ein Waschschaum nur für sehr kurze Zeit aufgetragen, die Inkubation über 24 Stunden oder länger bildet die Realität also nicht exakt ab.

Obwohl die Hefepilze in den Wachstumsversuchen nur geringe bis keine Steigerungen zeigten, finden sich in der Literatur zahlreiche Nachweise für extrazelluläre Stoffwechselfvorgänge. Beispielsweise ist *Malassezia furfur* als Kommensaler der menschlichen Hautmikroflora in der Lage, intra- und extrazelluläre Lipasen zu synthetisieren und so die Triglyceride des Sebums [149, 150] und andere Fette, wie beispielsweise Teebaumöl [151], zu verwerten. Dies spricht für eine geringe Substratspezifität der Lipasen. Möglich ist auch hier eine Verstoffwechslung der Teststoffe ohne ein verändertes Wachstum der Pilzpopulationen. Ein vermehrtes oder vermindertes Wachstum der Hefepilze muss nicht zwangsläufig mit pathologischen Vorgängen einhergehen, vor allem in Hinblick auf Krankheiten wie Acne vulgaris sind die entstehenden Spaltprodukte als deutlich problematischer anzusehen.

Die Auswertungen der HPTLC-Analyse sind deutlich aussagekräftiger als bei den Bakterienstämmen. Sowohl *Malassezia furfur* als auch *globosa* sind in der Lage, die in Oleyl oleate vorhandene Esterbindung zu spalten und so Oleylalkohol und Ölsäure zu erzeugen. Dieser Prozess läuft bei *Malassezia furfur* allerdings in deutlich größerem Ausmaß ab als bei *globosa*. *Malassezia furfur* synthetisiert aus der Ölsäure sogar Fettsäureethylester, wie sie

zum Aufbau neuer Zellwände [152] und damit zur Vermehrung der Keime benötigt werden. Dies wird bei *Malassezia globosa* nicht beobachtet. Der Abbau der mittelketten Triglyceride von Miglyol 812 hingegen findet bei *Malassezia globosa* in deutlich größerem Ausmaß als bei *Malassezia furfur* statt.

Es ist noch unklar, inwieweit der Einfluss der freien Fettsäuren auf den pH-Wert die zur Spaltung bzw. Synthese nötigen Enzyme in ihrer Arbeit behindert oder fördert. Für einige Hefepilze wird ein optimaler pH-Wert von 5,0 angegeben [153]. Es ist daher denkbar, dass die Synthese freier Fettsäuren zunächst ideale Bedingungen für die Enzyme schafft, diese mit zunehmend saurer werdendem Milieu aber wieder gehemmt werden [147].

In Vorversuchen wurden bereits hydrolytische Vorgänge durch *Malassezia*-Hefen beobachtet [154], welche abhängig von der Menge an Zellen und der Anzahl der extrazellulären Lipasen von einzelnen Pilzstämmen waren [155]. Dort wurde auch die rein physische Wirkung der Spaltprodukte genauer beleuchtet [124]. Nebenbefundlich war ebenfalls eine Verstoffwechslung der durch die Anzucht verbliebenen Reste des natürlichen Olivenöls zu erkennen, was die geringe Substratspezifität der Lipasen belegt [124].

Bei Versuchen mit Ethyl oleate konnte, ebenso wie bei dem in dieser Arbeit verwendeten Oleyl oleate, die Entstehung der ungesättigten freien Fettsäure Ölsäure nachgewiesen werden [124]. Auch hier wurde nach 36 Stunden eine abnehmende Menge Ölsäure detektiert, was die Theorie der Weiterverarbeitung der Fettsäure untermauert. Da Ölsäure bei Körpertemperatur flüssig bleibt und nicht ausfällt, war keine Plateauphase erkennbar und der Teststoff wurde nahezu vollständig umgesetzt [124]. In den Wachstumsversuchen zeigten alle drei Pilzstämme ein leicht bis deutlich gesteigertes Wachstum nach Inkubation mit Ethyl oleate.

Bei dem synthetischen Fettsäuremonoester Isopropyl palmitate, welcher in den Wachstumsversuchen lediglich bei *Malassezia furfur* ein leicht verstärktes Wachstum hervorruft, wurde der Abbau durch alle drei Pilzstämme beobachtet. Dabei entstand die freie Fettsäure Palmitinsäure [124]. Die nach ca. 24 Stunden einsetzende Plateauphase der Reaktion lässt sich auf ein Auskristallisieren der Palmitinsäure bei Körpertemperatur und die damit einhergehende Immobilisierung der Enzyme zurückführen. Schon makroskopisch ist auch bei dieser Arbeit das Erstarren des Gemisches mit zunehmender Inkubationsdauer ersichtlich, was für eine stark komedogene Wirkung spricht [156]. Auch mikroskopisch wurde ein zunehmendes Auftreten von Kristallen mit steigendem Gehalt an Palmitinsäure beobachtet. Eine weitere Verwertung von Palmitinsäure konnte nicht detektiert werden [124].

Dies deckt sich mit den Ergebnissen vorheriger Studien und dem dort publizierten Rückschluss, dass die wachstumsfördernden Eigenschaften der Fettsäuren mit deren Sättigungsgrad korrelieren [157]. Die ungesättigte Ölsäure wird, im Gegensatz zu der gesättigten Palmitinsäure, durch die Hefepilze als Kohlenstoffquelle genutzt. Schon zuvor

wurde die Hydrolysierbarkeit von Fettsäureestern als abhängig vom Alkoholanteil beschrieben [157]. Der Ethylester fördert das Wachstum der Hefepilze deutlich stärker als der Isopropylester. Kurzkettige Fettsäuren sowie langkettige einwertige Alkohole wurden in vorherigen Studien kaum verstoffwechselt [124]. Ebenso wird ein Vorliegen von Fettsäuren mit einer Kettenlänge von mehr als 12 C-Atomen wird als obligat für das Wachstum von Malassezia-Hefen beschrieben [59].

Die starke Vermehrung von Hefen spielt eine signifikante Rolle bei Malassezia-assoziierten Erkrankungen [157, 158]. Ein Ansatz zur Behandlung oder Prävention ist also die Reduktion der Zellzahl. Wenn zu viele freie Fettsäuren entstehen kann das Wachstum anderer Hautkeime unterdrückt werden und so zu starker Vermehrung der Hefepilze führen [157]. Da auch die Fettsäuren selbst die Hautbarriere überwinden und als Entzündungsmediatoren die Struktur der Epidermis pathologisch verändern können [90, 159], fördert deren Synthese wahrscheinlich die Krankheitsverläufe.

Die hydrolytischen Eigenschaften der Hefepilze könnten allerdings auch gezielt genutzt werden, wenn die Freisetzung einer bestimmten freien Fettsäure aus einem Fettsäureester gewünscht wird. Ein Beispiel hierfür wäre die Omega-6-Fettsäure Linolsäure, welcher pflegende Eigenschaften für Haut und Haare zugeschrieben werden [160].

Für den Fall unerwünschter Effekte, wie die komedogene Wirkung fester Spaltprodukte, sollten die entsprechenden Stoffe in Kosmetika [160] durch unproblematische Substanzen ersetzt werden.

Bei den nach diesen Grundsätzen entwickelten Formulierungen 6.1 bis 6.3 konnte, wie zu erwarten, kein verändertes Wachstum detektiert werden.

7.1 Zusammenfassung

Kunden und Patienten haben an Kosmetika und topisch applizierte Medizinprodukte die berechnete Erwartung einer gesundheitlichen Unbedenklichkeit. Je länger sich eine Substanz auf der Haut befindet, umso stärker ist deren Einfluss. Dies bedeutet auch, dass die verwendeten Inhaltsstoffe der Formulierungen keinen negativen Effekt auf die Hautmikroflora haben dürfen. Obwohl dieser Aspekt noch immer unterrepräsentiert ist, sind auf dem Markt langsam mehr Produkte mit diversen Labels, welche einen schonenden Umgang mit der Hautmikroflora versprechen, zu finden.

Das Ziel dieser Arbeit war es, ein Testsystem zur Identifizierung von Hilfsstoffen zu finden, welche letztlich eine pathogene Wirkung auf die Haut haben können. Dies beinhaltet sowohl Störungen des Gleichgewichtes der Hautkeime, die Entstehung von Stoffen, die eine direkt schädigende Wirkung auf die Epidermis haben, als auch die komedogene Wirkung von ausfallenden Spaltprodukten. Durch die Kombination und Entwicklung verschiedener Techniken und Methoden zur Anzucht, Inkubation und Analyse der Keim-Teststoff-Kombinationen soll eine allgemeingültige Empfehlung zur Vermeidung bestimmter Substanzen möglich sein.

Da während der Versuche Unregelmäßigkeiten mit *Staphylococcus gallinarum* und *Streptococcus mitis* auftraten, sind die Testungen dieser Keime nur unvollständig erfolgt und als eingeschränkt relevant zu betrachten. Auch mit *Propionibacterium acnes* sowie den Malassezia-Hefen war aufgrund des logistischen Umfangs keine vollständige Testung aller Stoffe möglich. Auch die HPTLC-Analyse aller Keim-Teststoff-Kombinationen und die Untersuchung der Wechselwirkungen von Bakterien und Hefepilzen bleibt für künftige Versuche offen.

Grundsätzlich scheinen die Bakterien der Hautmikroflora bezüglich der Verstoffwechslung topisch applizierter Substanzen nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Im Vergleich treten kaum Interaktionen mit den Teststoffen auf, in dem meisten Fällen sind die Wachstumsänderungen als nicht relevant zu betrachten. Neben den Malassezia-Hefen sind auch einige Bakterienstämme der Haut prinzipiell in der Lage, mittels Hydrolyse das durch Talgdrüsen produzierte Sebum zu verwerten. Dabei entstehen für das saure Milieu und die Schutzbarriere der Haut wichtige freie Fettsäuren. Bei einer Überproduktion durch die zusätzliche Spaltung von Fettsäureestern aus Kosmetika könnten Entzündungsreaktionen getriggert oder das Gleichgewicht der Haut gestört und die Ansiedelung nicht residenter Keime ermöglicht werden. Dies kann bezüglich der in der HPTLC-Analyse durchgeführten Bakterien-Teststoff-Kombinationen jedoch nicht bestätigt werden. Hier sind keine Spaltprodukte in relevanter Menge erkennbar.

Die Hefepilze hingegen zeigen deutliche Einflüsse; sie nutzen die Teststoffe als Nahrungsquelle und es kann die Entstehung von komedogenen Spaltprodukten nachgewiesen werden. Einfluss auf die Stoffwechselfvorgänge haben unter anderem die Inkubationszeit, die Anzahl der vorhandenen Zellen und der vorherrschende Pilzstamm. Aufgrund des breiten Spektrums an verwerteten Stoffen ist von einem Großteil substratunspezifischer Lipasen auszugehen, die Isolation einzelner Enzyme wird nicht untersucht.

Nach Abgleich der Testergebnisse mit der vorhandenen Literatur sind Fettsäuren mit Kettenlängen von mehr als 12 C-Atomen für Wachstum und Vermehrung der Pilze obligat. Ein Großteil der lipophilen Hautpflegeprodukte auf der Basis von Ölen bzw. Emollientien basieren auf Fettsäureestern. Fettalkohole, Fettsäuren und deren Ester werden besonders häufig durch die Lipasen der Hefepilze hydrolysiert. Die dabei entstehenden langkettigen Spaltprodukte erstarren bereits bei Körpertemperatur und können so die Poren verschließen. Aufgrund ihres hohen Anteils an langkettigen Fettsäuren fallen nahezu alle pflanzlichen und ein Großteil der synthetischen Emollientien in die Kategorie und sind daher als kritisch einzustufen.

Fettalkohole und Fettsäuren mit Kettenlängen von weniger als 12 C-Atomen, deren Ester, Moleküle mit sterischer Konformation, sowie Fettether und Kohlenwasserstoffe auf Basis von Silikonen oder Polymeren ohne Estergruppen sind eher als unkritisch einzustufen. Entweder findet keine Verstoffwechselfung statt oder die entstehenden Spaltprodukte führen nicht zu verstärktem Wachstum bzw. verbleiben bei Körpertemperatur flüssig und haben daher keine komedogene Wirkung.

Auch der Sättigungsgrad der Fettsäuremonoester nimmt Einfluss auf die Stoffwechselfaktivität; ungesättigte Fettsäuren werden von den Hefepilzen als Kohlenstoffquelle verwertet und führen im Vergleich mit gesättigten Fettsäuren zu verstärktem Wachstum.

Zur Optimierung von Kosmetikaformulierungen sind prinzipiell weitere HPTLC-Analysen angeraten, um alle Keim-Teststoff-Kombinationen abzudecken. Zumindest in den durchgeführten Wachstumsversuchen zeigten sich bei den nach den oben genannten Grundsätzen entwickelten Formulierungen kein verändertes Wachstum.

7.2 Summary

Customers and patients have the justified expectation, that cosmetics and topically applied medical products are harmless to health. The longer a substance remains on the skin, the stronger its influence. This also means, that the ingredients used in the formulations should not have any negative effect on the skin microflora. Although this aspect is still underrepresented, more and more products with various labels promise gentle handling of the skin's microflora are gradually being found on the market.

The aim of this work is to find a test system for identifying excipients that can ultimately have a pathogenic effect on the skin. This includes both disturbances in the balance of skin germs, the development of substances that have a direct damaging effect on the epidermis as well as the comedogenic effect of precipitating cleavage products. By combining and developing different techniques and methods for cultivation, incubation and analysis of the germ-test substance combinations, a general recommendation to avoid certain substances should be possible.

Due to irregularities with *Staphylococcus gallinarum* and *Streptococcus mitis* occurred during the tests, these germs were only tested incompletely and can be regarded as of limited relevance. Also, with *Propionibacterium acnes* and the *Malassezia* yeasts it was not possible to fully test all substances due to the logistical scope. The HPTLC analysis of all combinations of germs and test substances and the investigation of the interactions between bacteria and yeast fungi also remain open for future experiments.

Basically, the bacteria of the skin microflora seem to play only a subordinate role with regard to the metabolism of topically applied substances. In comparison, there are hardly any interactions with the test substances, and in most cases the growth changes are not relevant. Beside the *Malassezia* yeasts, some bacterial strains of the skin are in principle able to utilize the sebum, produced by the sebaceous glands, by means of hydrolysis. Thus creating important free fatty acids for the acidic environment and the protective barrier of the skin. In case of overproduction due to the additional splitting of fatty acid esters from cosmetics inflammatory reactions could be triggered or the balance of the skin be disturbed and allow non-resident germs to settle. However, this cannot be confirmed with regard to the combinations of bacteria and substance carried out in the HPTLC analysis. Here, no fission products are recognizable in relevant quantities.

The yeast fungi, on the other hand, show clear influences; they use the test substances as a food source and the formation of comedogenic breakdown products can be detected. The incubation period, the number of cells present and the predominant fungal strain have an influence on the metabolic processes. Due to the wide range of substances used, it can be

assumed that the majority of substrate-unspecific lipases are involved; we have not investigated the isolation of individual enzymes.

After comparing the test results with the available literature, fatty acids with chain lengths of more than 12 carbon atoms are obligatory for the growth and reproduction of the fungi. Most of the lipophilic skin care products based on oils or emollients are based on fatty acid esters. Fatty alcohols, fatty acids and their esters are very frequently hydrolyzed by the lipases of the yeast fungi. The resulting long-chain cleavage products solidify at body temperature and can thus close the pores. Due to their high proportion of long-chain fatty acids, almost all plant-based and most synthetic emollients fall into this category and are therefore classified as critical.

Fatty alcohols and fatty acids with chain lengths of more than 12 carbon atoms, their esters, molecules with a steric conformation, as well as fatty ethers and hydrocarbons based on silicones or polymers without ester groups are classified as non-critical. Either no metabolism takes place or the resulting breakdown products do not lead to increased growth or remain liquid at body temperature and therefore have no comedogenic effect.

The degree of saturation of the fatty acid monoesters also influences the metabolic activity; unsaturated fatty acids are used by the yeast fungi as a source of carbon and lead to increased growth compared to saturated fatty acids.

In principle, further HPTLC analyzes are recommended for the optimization of cosmetic formulations, in order to cover all combinations of germs and test substances. At least in the growth tests carried out, there was no change in growth with the formulations developed according to the principles mentioned above.

8 Literaturverzeichnis

1. Industrieverband Körperpflege & Waschmittel. <https://www.ikw.org/ikw/der-ikw/faktenzahlen/marktzahlen/>.
2. NIVEA. https://www.nivea.de/beratung/schoene-haut/mikrobiom-die-unsichtbare-welt-der-hautflora?gclid=CjwKCAjwzIH7BRABEiwAoDxxTldQjsFwBn2kuyPsdDE8I-dZWA4fJ_PGduITIMURWNYHG9RNURzP3xoCU44QAvD_BwE.
3. Mims C, Ackermann G, Rempe-Baldin W, Anderson RM. Medizinische Mikrobiologie, Infektiologie: Mit Virologie und Immunologie]. 2nd ed. München: Elsevier Urban & Fischer; 2007.
4. Herrmann K, Trinkkeller U. Dermatologie und medizinische Kosmetik: Leitfaden für die kosmetische Praxis. 3rd ed. Berlin: Springer; 2015.
5. Sterry W, Czaika VA, Drecoll U, editors. Kurzlehrbuch Dermatologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2011.
6. Krech T TJ. Bakterien in chronischen Wunden. ARS MEDICI.
7. Braun-Falco O, Burgdorf WHC, Landthaler M, Plewig G. Dermatologie und Venerologie. 5th ed. s.l.: Springer-Verlag; 2005.
8. Fritsch P, Schwarz T. Dermatologie Venerologie: Grundlagen. Klinik. Atlas. 3rd ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2018.
9. P. B. Price. The Bacteriology of Normal Skin; A New Quantitative Test Applied to a Study of the Bacterial Flora and the Disinfectant Action of Mechanical Cleansing. *J Invest Dermatol*:S. 301–318.
10. Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1996;69:337–55. doi:10.1007/BF00399623.
11. Frank U, Probst-Kepper M, editors. Hygiene, Mikrobiologie. 2nd ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2018.
12. Worret W-I, Gehring W. Kosmetische Dermatologie: Empfohlen von der Arbeitsgemeinschaft für ästhetische Dermatologie und Kosmetologie, ADK. Berlin: Springer; 2004.
13. Kirchherr JL, Bowden GH, Richmond DA, Sheridan MJ, Wirth KA, Cole MF. Clonal diversity and turnover of *Streptococcus mitis* bv. 1 on shedding and nonshedding oral surfaces of human infants during the first year of life. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005;12:1184–90. doi:10.1128/CDLI.12.10.1184-1190.2005.
14. Király CL, Alén M, Korvola J, Horsmanheimo M. The effect of testosterone and anabolic steroids on the skin surface lipids and the population of *Propionibacteria acnes* in young postpubertal men. *Acta Derm Venereol*. 1988;68:21–6.
15. Yosipovitch G, Xiong GL, Haus E, Sackett-Lundeen L, Ashkenazi I, Maibach HI. Time-dependent variations of the skin barrier function in humans: transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and skin temperature. *J Invest Dermatol*. 1998;110:20–3. doi:10.1046/j.1523-1747.1998.00069.x.
16. Otto M. *Staphylococcus epidermidis* – the “accidental” pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7:555–67. doi:10.1038/nrmicro2182.
17. Deutschmann G. Die Haut und ihre Anhangsgebilde: Lehrbuch für Krankenpflegepersonal und andere Gesundheitsberufe. Vienna: Springer-Verlag/Wien; 2005.
18. Eitinger T. Allgemeine Mikrobiologie. 10th ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2017.
19. Kramer A, Assadian O, Exner M, Hübner N-O, Simon A. Krankenhaus- und Praxishygiene: Hygienemanagement und Infektionsprävention in Medizinischen und Sozialen Einrichtungen. 3rd ed. Philadelphia: Urban & Fischer Verlag GmbH & Co. KG; 2016.
20. Cypionka H. Grundlagen der Mikrobiologie. 4th ed. Heidelberg: Springer; 2010.
21. Moll I, editor. Dermatologie. 8th ed. Stuttgart: Thieme; 2016.
22. Ashbee HR, Scheynius A. *Malassezia*. In: Ashbee R, Bignell EM, editors. *Pathogenic Yeasts*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2010. p. 209–230. doi:10.1007/978-3-642-03150-2_10.

23. Brotherton J. The sulphur metabolism of *Pityrosporum ovale* and its inhibition by selenium compounds. *J Gen Microbiol.* 1967;49:393–400. doi:10.1099/00221287-49-3-393.
24. Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP, Brock TD, Thomm M, Wirth R. Brock Mikrobiologie. 13th ed. München: Pearson; 2013.
25. Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U, editors. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg; 2001.
26. Elsner P, Hatch K, Wigger-Alberti W, editors. Textiles and the skin: 16 tables. Basel: KARGER; 2003.
27. Roth RR, James WD. Microbial ecology of the skin. *Annu Rev Microbiol.* 1988;42:441–64. doi:10.1146/annurev.mi.42.100188.002301.
28. Oh J, Conlan S, Polley EC, Segre JA, Kong HH. Shifts in human skin and nares microbiota of healthy children and adults. *Genome Med.* 2012;4:77. doi:10.1186/gm378.
29. Dr. med Frederique Heim-Glod, Dominic Schüler. Die Mikroflora der menschlichen Haut und ihre Ökologie: Die Bakterienflora. *Nature + Science.* 2004;4.
30. Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9:244–53. doi:10.1038/nrmicro2537.
31. Holland KT, Bojar RA. Cosmetics: what is their influence on the skin microflora? *Am J Clin Dermatol.* 2002;3:445–9. doi:10.2165/00128071-200203070-00001.
32. Tancrede C. Role of human microflora in health and disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1992;11:1012–5.
33. Shi D, Fang D, Hu X, Li A, Lv L, Guo J, et al. Draft Genome Sequence of *Staphylococcus gallinarum* DSM 20610T, Originally Isolated from the Skin of a Chicken. *Genome Announc* 2015. doi:10.1128/genomeA.00580-15.
34. Whitfeld M, Gunasingam N, Leow LJ, Shirato K, Preda V. *Staphylococcus epidermidis*: a possible role in the pustules of rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2011;64:49–52. doi:10.1016/j.jaad.2009.12.036.
35. Williams S, Davids M, Reuther T, Kraus D, Kerscher M. Gender difference of in vivo skin surface pH in the axilla and the effect of a standardized washing procedure with tap water. *Skin Pharmacol Physiol.* 2005;18:247–52. doi:10.1159/000086671.
36. Pearce C, Bowden GH, Evans M, Fitzsimmons SP, Johnson J, Sheridan MJ, et al. Identification of pioneer viridans streptococci in the oral cavity of human neonates. *J Med Microbiol.* 1995;42:67–72. doi:10.1099/00222615-42-1-67.
37. Ohman H, Vahlquist A. The pH gradient over the stratum corneum differs in X-linked recessive and autosomal dominant ichthyosis: a clue to the molecular origin of the "acid skin mantle"? *J Invest Dermatol.* 1998;111:674–7. doi:10.1046/j.1523-1747.1998.00356.x.
38. Brinkmeier T. Springer Kompendium Dermatologie: Mit Therapieschwerpunkt - Dermatologie von A bis Z - topaktuell und umfassend. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2006.
39. Gallo RL, Nakatsuji T. Microbial Symbiosis with the Innate Immune Defense System of the Skin. *J Invest Dermatol.* 2011;131:1974–80. doi:10.1038/jid.2011.182.
40. Prof. Dr. med. H. Lode. Wichtige Erreger in Klinik und Praxis. *Zeitschrift für Chemotherapie*:11.
41. Yeh M-L, Huang C-F, Hsieh M-H, Ko Y-M, Chen K-Y, Liu T-W, et al. Reactivation of hepatitis B in patients of chronic hepatitis C with hepatitis B virus infection treated with direct acting antivirals. *J Gastroenterol Hepatol.* 2017;32:1754–62. doi:10.1111/jgh.13771.
42. Kolawole DO, Shittu AO. Unusual recovery of animal staphylococci from septic wounds of hospital patients in Ile-Ife, Nigeria. *Letters in Applied Microbiology.* 1997;24:87–90. doi:10.1046/j.1472-765X.1997.00337.x.
43. Bengtsson T, Lönn J, Khalaf H, Palm E. The lantibiotic gallidermin acts bactericidal against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* and antagonizes the bacteria-induced proinflammatory responses in dermal fibroblasts. *Microbiologyopen.* 2018;7:e00606. doi:10.1002/mbo3.606.

44. COLLINS M d., d. JONES. *Corynebacterium minutissimum* sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1983;33:870–1. doi:10.1099/00207713-33-4-870.
45. Jungersted JM, Scheer H, Mempel M, Baurecht H, Cifuentes L, Høgh JK, et al. Stratum corneum lipids, skin barrier function and filaggrin mutations in patients with atopic eczema. *Allergy*. 2010;65:911–8. doi:10.1111/j.1398-9995.2010.02326.x.
46. Zlotogorski A. Distribution of skin surface pH on the forehead and cheek of adults. *Arch Dermatol Res*. 1987;279:398–401. doi:10.1007/BF00412626.
47. Wisplinghoff H, Rosato AE, Enright MC, Noto M, Craig W, Archer GL. Related Clones Containing SCCmec Type IV Predominate among Clinically Significant *Staphylococcus epidermidis* Isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:3574–9. doi:10.1128/AAC.47.11.3574-3579.2003.
48. Gill SR, Fouts DE, Archer GL, Mongodin EF, DeBoy RT, Ravel J, et al. Insights on Evolution of Virulence and Resistance from the Complete Genome Analysis of an Early Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strain and a Biofilm-Producing Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis* Strain†. *J Bacteriol*. 2005;187:2426–38. doi:10.1128/JB.187.7.2426-2438.2005.
49. Wilkin JK. Oral thermal-induced flushing in erythematotelangiectatic rosacea. *J Invest Dermatol*. 1981;76:15–8.
50. Hinestrosa F, Djurkovic S, Bourbeau PP, Foltzer MA. *Propionibacterium acnes* as a Cause of Prosthetic Valve Aortic Root Abscess ▽. *J Clin Microbiol*. 2006;45:259–61. doi:10.1128/JCM.01598-06.
51. Yamasaki K, Kanada K, Macleod DT, Borkowski AW, Morizane S, Nakatsuji T, et al. TLR2 expression is increased in rosacea and stimulates enhanced serine protease production by keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 2011;131:688–97. doi:10.1038/jid.2010.351.
52. Wang Y, Kuo S, Shu M, Yu J, Huang S, Dai A, et al. *Staphylococcus epidermidis* in the human skin microbiome mediates fermentation to inhibit the growth of *Propionibacterium acnes*: Implications of probiotics in acne vulgaris. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013;98:411–24. doi:10.1007/s00253-013-5394-8.
53. Korting HC, Lukacs A, Vogt N, Urban J, Ehret W, Ruckdeschel G. Influence of the pH-value on the growth of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes* in continuous culture. *Zentralbl Hyg Umweltmed*. 1992;193:78–90.
54. Plewig G, Kligman AM. *Akne und Rosazea*. Berlin, Heidelberg: Springer; 1994.
55. Choudhary DK, Johri BN. Basidiomycetous Yeasts: Current Status. In: Satyanarayana T, Kunze G, editors. *Yeast biotechnology: Diversity and applications*. Dordrecht: Springer; 2010. p. 19–46. doi:10.1007/978-1-4020-8292-4_2.
56. Midgley G. Morphological Variation in *Malassezia* and its Significance in Pityriasis Versicolor. In: Bossche H, Odds FC, Kerridge D, editors. *Dimorphic Fungi in Biology and Medicine*. Boston, MA: Springer US; Imprint; Springer; 1993. p. 267–277. doi:10.1007/978-1-4615-2834-0_22.
57. Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE, et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol Res*. 2007;111:509–47. doi:10.1016/j.mycres.2007.03.004.
58. Elsner P. What Textile Engineers Should Know about the Human Skin. In: Elsner P, Hatch K, Wigger-Alberti W, editors. *Textiles and the skin: 16 tables*. Basel: KARGER; 2003. p. 24–34. doi:10.1159/000072235.
59. Harada K, Saito M, Sugita T, Tsuboi R. *Malassezia* species and their associated skin diseases. *J Dermatol*. 2015;42:250–7. doi:10.1111/1346-8138.12700.
60. Wolff HH, Plewig G, Januschke E. Ultrastruktur der Mikroflora in Follikeln und Komedonen. [Ultrastructure and microflora in follicles and comedones]. *Hautarzt*. 1976;27:432–40.
61. Paulino LC, Tseng C-H, Blaser MJ. Analysis of *Malassezia* microbiota in healthy superficial human skin and in psoriatic lesions by multiplex real-time PCR. *FEMS Yeast Res*. 2008;8:460–71. doi:10.1111/j.1567-1364.2008.00359.x.
62. Benham RW. The Cultural Characteristics of *Pityrosporum Ovale*—A Lipophylic Fungus. *Journal of Investigative Dermatology*. 1939;2:187–203. doi:10.1038/jid.1939.17.

63. Mayser P, Imkamp A, Winkeler M, Papavassilis C. Growth requirements and nitrogen metabolism of *Malassezia furfur*. *Arch Dermatol Res.* 1998;290:277–82.
64. Hartmann AA, Pietzsch C, Elsner P, Lange T, Hackel H, Fischer P, Bertelt T. Antibacterial efficacy of Fabry's tinctura on the resident flora of the skin at the forehead. Study of bacterial population dynamics in stratum corneum and infundibulum after single and repeated applications. *Zentralbl Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene B.* 1986;182:499–514.
65. Wu G, Zhao H, Li C, Rajapakse MP, Wong WC, Xu J, et al. Genus-Wide Comparative Genomics of *Malassezia* Delineates Its Phylogeny, Physiology, and Niche Adaptation on Human Skin. *PLoS Genet.* 2015;11:e1005614. doi:10.1371/journal.pgen.1005614.
66. Noble WC, Midgley G. Scalp carriage of *Pityrosporum* species: the effect of physiological maturity, sex and race. *Sabouraudia.* 1978;16:229–32.
67. Wilde PF, Stewart PS. A study of the fatty acid metabolism of the yeast *Pityrosporum ovale*. *Biochem J.* 1968;108:225–31. doi:10.1042/bj1080225.
68. Porro MN, Passi S, Caprilli F, Nazzaro P, Morpurgo G. Growth Requirements And Lipid Metabolism Of *Pityrosporum Orbiculare*. *Journal of Investigative Dermatology.* 1976;66:178–82. doi:10.1111/1523-1747.ep12481919.
69. SHIFRINE M, MARR AG. THE REQUIREMENT OF FATTY ACIDS BY *PITYROSPORUM OVALE*. *J Gen Microbiol.* 1963;32:263–70. doi:10.1099/00221287-32-2-263.
70. Gupta AK, Boekhout T, Theelen B, Summerbell R, Batra R. Identification and Typing of *Malassezia* Species by Amplified Fragment Length Polymorphism and Sequence Analyses of the Internal Transcribed Spacer and Large-Subunit Regions of Ribosomal DNA. *J Clin Microbiol.* 2004;42:4253–60. doi:10.1128/JCM.42.9.4253-4260.2004.
71. Aktuelle Aspekte der atopischen Dermatitis - https://www.rosenfluh.ch/dermatologie-aesthetische-medizin-2006-01/07_atop-dermatitis_1-06.
72. Kim GK. Seborrheic Dermatitis and *Malassezia* species: How Are They Related? *J Clin Aesthet Dermatol.* 2009;2:14–7.
73. Voss JG. Acne vulgaris and free fatty acids. A review and criticism. *Arch Dermatol.* 1974;109:894–8.
74. Tilgen W, Dill-Müller D, Koch P, Reinhold U. Empfehlungen zur Patienteninformation: Dermatologie. Darmstadt: Steinkopff Verlag Darmstadt; 2005.
75. Nenoff P, Krüger C, Mayser P. Kutane *Malassezia*-Infektionen und *Malassezia*-assoziierte Dermatosen : Ein Update. [Cutaneous *Malassezia* infections and *Malassezia* associated dermatoses: An update]. *Hautarzt.* 2015;66:465-84; quiz 485-6. doi:10.1007/s00105-015-3631-z.
76. Braun-Falco O, Gloor M, Korting HC. Nutzen und Risiko von Kosmetika. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2000.
77. Dr. phil. nat. Nana Heim. Akne - eine Überempfindlichkeitsreaktion? *Nature + Science.* 2001;1.
78. <https://www.rd.com/wp-content/uploads/2018/01/perioral-dermatitis-courtesy-American-Academy-of-Dermatology.jpg>.
79. Abeck D, Cremer H. Häufige Hautkrankheiten im Kindesalter: Klinik - Diagnose - Therapie. 4th ed. Berlin: Springer; 2015.
80. Schlecht S, Freudenberg MA, Galanos C. Culture and biological activity of *Propionibacterium acnes*. *Infection.* 1997;25:247–9. doi:10.1007/bf01713155.
81. Scannapieco FA, Torres G, Levine MJ. Salivary alpha-amylase: role in dental plaque and caries formation. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1993;4:301–7. doi:10.1177/10454411930040030701.
82. <https://www.hautarztzentrum-kiel.de/bilder/rosacea-krankheitsbild.jpg>.
83. Piérard-Fraudimont C, Arrese J, Durupt G, Ries G, Cauwenbergh G, Piérard G. Correlation between *malassezia* spp load and dandruff severity. *J Mycol Méd.* 1998;8:83–6.
84. <http://www.dermaamin.com/site/images/clinical-pic/p/pityriasis-versicolor/pityriasis-versicolor1.jpg>.
85. DeAngelis YM, Saunders CW, Johnstone KR, Reeder NL, Coleman CG, Kaczvinsky JR, et al. Isolation and expression of a *Malassezia globosa* lipase gene, LIP1. *J Invest Dermatol.* 2007;127:2138–46. doi:10.1038/sj.jid.5700844.

86. Mayser PA, Preuss J. Pityriasis versicolor : Aktuelles zu einer alten Erkrankung. [Pityriasis versicolor : new aspects of an old disease]. *Hautarzt*. 2012;63:859–67. doi:10.1007/s00105-012-2380-5.
87. Williams HC, Dellavalle RP, Garner S. Acne vulgaris. *The Lancet*. 2012;379:361–72. doi:10.1016/s0140-6736(11)60321-8.
88. <http://www.symbinatur.com/de/obrazky/texty/2063/1.jpg>.
89. Turner GA, Hoptroff M, Harding CR. Stratum corneum dysfunction in dandruff. *Int J Cosmet Sci*. 2012;34:298–306. doi:10.1111/j.1468-2494.2012.00723.x.
90. Marples RR, Downing DT, Kligman AM. Influence of *Pityrosporum* species in the generation of free fatty acids in human surface lipids. *J Invest Dermatol*. 1972;58:155–9. doi:10.1111/1523-1747.ep12539044.
91. <https://www.rtv.de/gesundheit/content/uploads/2018/02/seborrhoisches-ekzem-kopfhaut.jpg>.
92. Käser H. *Naturkosmetische Rohstoffe: Wirkung, Verarbeitung, kosmetischer Einsatz*. 5th ed. Linz: Freya; 2016.
93. Ellsäcker S. *Körperpflegekunde und Kosmetik: Ein Lehrbuch für die PTA-Ausbildung und die Beratung in der Apothekenpraxis*. 2nd ed. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2008.
94. Platzek T, Krätke R, Schulz C. Kosmetische Mittel : Sicherheitsaspekte. [Cosmetic products : Safety aspects]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2010;53:610–4. doi:10.1007/s00103-010-1058-3.
95. Dr. Hans Lautenschläger. Hilfsstoffe in Kosmetika. *Kosmetische Praxis*. 2004:8–10.
96. Dr. Hans Lautenschläger. Konservierungsstoffe. *Kosmetische Praxis*. 2005:6–8.
97. Lück E, Jäger M. *Chemische Lebensmittelkonservierung: Stoffe - Wirkungen - Methoden*. Berlin, Heidelberg: Springer; 1995.
98. Weidenauer U, Beyer C. *Arzneiformenlehre kompakt: Einführung in die Herstellung der Arzneiformen ; mit 36 Tabellen und kommentierten Examensfragen unter www.Online-PlusBase.de*. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges; 2008.
99. Dr. Hans Lautenschläger. Mini- Kuppler - Von der Seife zum Hightech-Emulgator. *Beauty Forum*. 2010:20–2.
100. Iwata H, Shimada K. *Formulas, Ingredients and Production of Cosmetics: Technology of Skin- and Hair-Care Products in Japan*. Tokyo: Springer; 2013.
101. Umbach W, editor. *Kosmetik und Hygiene von Kopf bis Fuß*. 3rd ed. Weinheim: Wiley-VCH GmbH & Co. KGaA; 2004.
102. Kerscher M, Trüeb RM, Williams S. *Dermatokosmetik*. Heidelberg: Steinkopff; 2009.
103. Vogel I&G. (2008). Kortikosteroide zur lokalen Anwendung auf der Haut. *Pharma-Kritik*. 30. 29-37.
104. Dr. Hans Lautenschläger. Wachse - eine unverzichtbare Stoffklasse. *Kosmetik International*. 2014:52–6.
105. Dr. Hans Lautenschläger. Pflanzenöle. *Kosmetik International*. 2009:16–8.
106. Dr. Hans Lautenschläger. Fette und Öle -Kohlenwasserstoffe in Kosmetika. *Kosmetik International*. 2008:47–50.
107. *Europäisches Arzneibuch 7.0-7.8: Amtliche deutsche Ausgabe*. 1st ed. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; 2013.
108. Winter F. *Riechstoffe und Parfümierungstechnik*. Vienna: Springer Vienna; 1933.
109. <https://de.academic.ru/dic.nsf/dewiki/310379>. Decansäure.
110. Bährle-Rapp M. *Springer Lexikon Kosmetik und Körperpflege*. 3rd ed. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2007.
111. <https://edubily.de/fette/fette-das-der-n3n6n9-fettsaeuren/>. Ölsäure.
112. <https://edubily.de/fette/fette-das-der-n3n6n9-fettsaeuren/>. Palmitinsäure.
113. Spangenberg B. *Quantitative Dünnschichtchromatographie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014.
114. *Chemie 2006*: Teubner. doi:10.1007/978-3-8351-9047-4.

115. Gey MH. Instrumentelle Bioanalytik: Biosubstanzen, Trennmethode, Strukturanalytik, Applikationen. Wiesbaden, s.l.: Vieweg+Teubner Verlag; 1998.
116. Shantha NC, Napolitano GE. Lipid analysis using thin-layer chromatography and the Iatroscan. In: Hamilton RJ, editor. Lipid Analysis in Oils and Fats. Boston, MA: Springer US; 1997. p. 1–33. doi:10.1007/978-1-4613-1131-7_1.
117. Mayser P, Pickel M, Haze P, Erdmann F, Papavassilis C, Schmidt R. Different utilization of neutral lipids by *Malassezia furfur* and *Malassezia sympodialis*. *Med Mycol*. 1998;36:7–14. doi:10.1080/02681219880000021.
118. J. Lehnhardt. Etablierung einer HPTLC-Methode zur quantitativen Analyse von kosmetischen Hilfsstoffen und deren Spaltprodukten.
119. Sprenger B. Umweltmikrobiologische Praxis. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1996.
120. Produkt-Datenblatt: CASO-Agar.
121. STEINBÜCHEL A, OPPERMANN-SANIO FB. Mikrobiologisches Praktikum. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2003.
122. John-Marvin Schneider. Wirkung von dermalen Hilfsstoffen auf das Hautmikrobiom.
123. Epidemiologisches Bulletin 4.39 (2016).
124. Julia Lehnhardt. Etablierung einer HPTLC-Methode zur quantitativen Analyse von kosmetischen Hilfsstoffen und deren Spaltprodukten.
125. Timischl W. Angewandte Statistik: Eine Einführung für Biologen und Mediziner. 3rd ed. Wien, Heidelberg, Dordrecht, London, New York: Springer; 2013.
126. TU Dortmund: t-Tabelle: abgerufen am: 15.09.2019.
127. Leibniz Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH: https://www.dsmz.de/de/kataloge/catalogue/culture/DSM-12643.html?tx_dsmzresources_pi5%5BreturnPid%5D=304. Accessed 1 Oct 2018.
128. Hugh R, Leifson E. THE TAXONOMIC SIGNIFICANCE OF FERMENTATIVE VERSUS OXIDATIVE METABOLISM OF CARBOHYDRATES BY VARIOUS GRAM NEGATIVE BACTERIA. *J Bacteriol*. 1953;66:24–6.
129. Russell PJ. Genetik: Eine Einführung. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1983.
130. KILIAN M, MIKKELSEN L, HENRICHSEN J. Taxonomic Study of Viridans Streptococci: Description of *Streptococcus gordonii* sp. nov. and Emended Descriptions of *Streptococcus sanguis* (White and Niven 1946), *Streptococcus oralis* (Bridge and Sneath 1982), and *Streptococcus mitis* (Andrewes and Horder 1906). *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1989;39:471–84. doi:10.1099/00207713-39-4-471.
131. Schau H-P. J. F. MacFaddin, Media for Isolation - Cultivation - Identification - Maintenance of Medical Bacteria, Volume I. XI + 929 S., 163 Abb., 94 Tab. Baltimore, London 1985. Williams and Wilkins. \$ 90.00. ISBN: 0-683-05316-7. *J Basic Microbiol*. 1986;26:240. doi:10.1002/jobm.3620260414.
132. Monod J. The Growth of Bacterial Cultures. *Annu Rev Microbiol*. 1949;3:371–94. doi:10.1146/annurev.mi.03.100149.002103.
133. Mollet H, Grubemann A. Formulierungstechnik - Emulsionen, Suspensionen, feste Formen. Weinheim: Wiley-VCH; 2000.
134. Bast E. Mikrobiologische Methoden: Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken. 2nd ed. Heidelberg: Spektrum Akad.-Verl.; 2010.
135. Kortüm G. Kolorimetrie und Spektralphotometrie: Eine Anleitung zur Ausführung von Absorptions-, Fluoreszenz- und Trübungsmessungen an Lösungen: Springer-Verlag; 2013.
136. Sicherheitsdatenblatt Carbomer <https://www.caelo.de/getfile.html?type=sdb&num=4158>.
137. Jakob K. Growth and acid stress response of *Corynebacterium glutamicum* and other ripening bacterial species belonging to soft smear-ripened cheese. 2005. <https://mediatum.ub.tum.de/603595>. Accessed 8 Nov 2020.528Z.
138. Söhngen C, Bunk B, Podstawka A, Gleim D, Overmann J. BacDive--the Bacterial Diversity Metadatabase. *Nucleic Acids Res*. 2014;42:D592-9. doi:10.1093/nar/gkt1058.

139. G Pauly PG. Use of sugar esters in cosmetic and/or pharmaceutical preparations. 2005. <https://patents.google.com/patent/US20050220726A1/en>.
140. Bárány E, Lindberg M, Lodén M. Unexpected skin barrier influence from nonionic emulsifiers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000;195:189–95. doi:10.1016/S0378-5173(99)00388-9.
141. Kayser O, Aversch N. *Technische Biochemie: Die Biochemie und industrielle Nutzung von Naturstoffen*. Wiesbaden: Springer Spektrum; 2015.
142. Anthony J. Conley, Jon J. Kabara. Antimicrobial Action of Esters of Polyhydric Alcohols. *Antimicrob Agents Chemother*. 1973;4:501–6. doi:10.1128/AAC.4.5.501.
143. Produktdatenblatt. 2018. <https://www.frankenchemie.de/component/products/?type=produktanzeige&catid=49>.
144. Georgios Gaitanis, Prokopios Magiatis, Markus Hantschke, Ioannis D. Bassukas, Aristeia Velegriki. The *Malassezia* Genus in Skin and Systemic Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 2012;25:106–41. doi:10.1128/CMR.00021-11.
145. James AG, Casey J, Hyliands D, Mycock G. Fatty acid metabolism by cutaneous bacteria and its role in axillary malodour. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2004;20:787–93. doi:10.1007/s11274-004-5843-8.
146. Pablo G, Hammons A, Bradley S, Fulton JE. Characteristics of the extracellular lipases from *Corynebacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. *J Invest Dermatol*. 1974;63:231–8. doi:10.1111/1523-1747.ep12679494.
147. Berg JM, Tymoczko JL, Gatto GJ, Stryer L. *Stryer Biochemie 2018: Springer Berlin Heidelberg*. doi:10.1007/978-3-662-54620-8.
148. Nieman C. INFLUENCE OF TRACE AMOUNTS OF FATTY ACIDS ON THE GROWTH OF MICROORGANISMS. *Bacteriol Rev*. 1954;18:147–63.
149. Sascha Brunke, Bernhard Hube. MfLIP1, a gene encoding an extracellular lipase of the lipid-dependent fungus *Malassezia furfur*. *Microbiology*. 2006;152:547–54. doi:10.1099/mic.0.28501-0.
150. Mayser P, Scheurer C, Papavassilis C, Gründer K. Hydrolase activity of 150 *Malassezia furfur* isolates of different clinical origin. *Mycoses*. 1996;39:225–31. doi:10.1111/j.1439-0507.1996.tb00130.x.
151. K. A. Hammer, C. F. Carson, T. V. Riley. In Vitro Activities of Ketoconazole, Econazole, Miconazole, and Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil against *Malassezia* Species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:467–9. doi:10.1128/AAC.44.2.467-469.2000.
152. Mittag H. Fine structural investigation of *Malassezia furfur*. II. The envelope of the yeast cells. *Mycoses*. 1995;38:13–21. doi:10.1111/j.1439-0507.1995.tb00003.x.
153. Ran Y, Yoshiike T, Ogawa H. Lipase of *Malassezia furfur*: some properties and their relationship to cell growth. *J Med Vet Mycol*. 1993;31:77–85. doi:10.1080/02681219380000081.
154. Juntachai W, Oura T, Murayama SY, Kajiwarra S. The lipolytic enzymes activities of *Malassezia* species. *Med Mycol*. 2009;47:477–84. doi:10.1080/13693780802314825.
155. Dawson, Thomas, and Trevor Darcy. "Malassezia require saturated, not unsaturated fatty acids for growth: Role of Malassezia lipid metabolism in seborrheic dermatitis (dandruff) P1622." *Journal of the American Academy of Dermatology* 54.3 (2006).
156. N. C. for B. I. P. C. Database;, „Cholesterol, CID=3658“. [Online]. Verfügbar unter: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3658#section=Chemical-and-Physical-Properties>.
157. Hänsel R, Sticher O. *Pharmakognosie - Phytopharmazie*. 8th ed. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2007.
158. John P. Leeming, K. T. Holland, W. J. Cunliffe. The Microbial Ecology of Pilosebaceous Units Isolated from Human Skin. *Microbiology*. 1984;130:803–7. doi:10.1099/00221287-130-4-803.
159. Faergemann J, Bernander S. Micro-aerophilic and anaerobic growth of *Pityrosporum* species. *Medical Mycology*. 1981;19:117–21. doi:10.1080/00362178185380181.
160. Guidoni M, Christo Scherer MM de, Figueira MM, Schmitt EFP, Almeida LC de, Scherer R, et al. Fatty acid composition of vegetable oil blend and in vitro effects of pharmacotherapeutical skin care applications. *Braz J Med Biol Res*. 2019;52:e8209. doi:10.1590/1414-431X20188209.

Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer in Gießen waren die Damen & Herren:

Acker, Altinkilic, Alzen, Andersen, Azen, Basad, Bauer, Benson, Bergert, Beuerlein, Bödeker, Böker, Brenck, Broicher, Chakraborty, Deinsberger, Deinzer, Deubner, Domann, Eckhard, Erdogan, Fink, Fleischer, Gallhofer, Galuska, Geyer, Giese, Giffhorn-Katz, Görlach, Göttlich, Grimminger, Haberbosch, Hackethal, Hackstein, Hain, Herr, Herrendorf, Jauß, Jung, Jurkat, Kasseckert, Kießling, Knecht, Knipper, Krasteva, Kreuder, Kummer, Kupfer, Lange, Leweke, Lochnit, Lorenz, Mayer, Mayser, Müller-Ladner, Nanova, Niemeier, Nolte, Novotny, Nowacki, Nöll, Padberg, Paddenberg, Preissner, Riepl, Roelcke, Rohrbach, Sammer, Sauer, Schaumberg, Schlüter, Schmitz, Schneider, Schnettler, Schüttler, Schweiger, Skrandies, Steinberger, Stolz, Tarnier, Traupe, Valerius, Weidner, Willems

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mir die Erstellung dieser Arbeit überhaupt erst ermöglicht und mich in allen Phasen meiner Promotion unterstützt haben.

Ein besonderer Dank geht an Herr Prof. Dr. med. Pfützner und Herr Prof. Dr. Runkel für die Möglichkeit, diese Dissertation als Kooperation der Philipps Universität Marburg und der Technischen Hochschule Mittelhessen anzufertigen. Ebenso möchte ich mich bei Herr Prof. Dr. Schmidts dafür bedanken, dass er mir das Arbeiten in den Laboren des Institutes für Bioverfahrenstechnik und Pharmazeutische Technologie im Fachbereich Life Science Engineering ermöglicht hat.

Bei Frau Dr. Dobler möchte ich mich sehr herzlich für ihre direkte Betreuung, die wissenschaftliche Unterstützung, ihre lehrreichen Ideen und die konstruktive Kritik während der gesamten Zeit bedanken.

Sehr herzlich bedanken möchte ich mich bei Ilona Seewald, Claudio Bertinelli und Lena Hain für die konstruktiven, anregenden und manchmal auch etwas ratlosen Gespräche, sowie für ihre tatkräftige Unterstützung im Labor.

Ohne die beständige Motivation und Unterstützung meiner Familie und Freunde, welche mir während meines gesamten Studiums zur Seite gestanden haben, hätte ich meinen Weg so niemals finden können. Insbesondere für die Dauer dieser Arbeit sind sie mir jederzeit mit Verständnis und Rücksichtnahme begegnet, haben mir zugehört und dafür gesorgt, dass ich nie das Ziel aus den Augen verliere.

Ein letzter Dank geht an all die Personen die mir unermüdlich mit Ratschlägen, Ideen und der Bereitschaft, immer wieder Korrektur zu lesen, zur Seite gestanden haben.