

Zusammenfassung

Die Bakterien der humanen Achselflora setzen im apokrinen Schweiß enthaltene Substanzen um und tragen so zur Bildung des charakteristischen Schweißgeruchs bei. Um der Geruchsbildung entgegenzuwirken, werden Deodorantien mit antimikrobiellen Substanzen eingesetzt, die bei den Bakterien zur Resistenzentwicklung führen. Eine neue Wirkstrategie für Deodorantien, die keine Resistenzen verursachen würde, ist der Einsatz von Anti-Adhäsiva.

Bevor Bakterien apokrinen Schweiß umsetzen können, müssen sie zunächst an Hautzellen binden. Wenn die Bakterien nicht an die Haut adhäreren können, sind sie nicht mehr in der Lage den Schweiß umzusetzen und es käme zu keiner Geruchsbildung. Die Unterbindung der bakteriellen Adhäsion kann durch Anti-Adhäsiva erreicht werden. Diese können zum einen durch die Aufhebung der unspezifischen Adhäsion aufgrund von z.B. hydrophober Wechselwirkung, zum anderen durch die Verhinderung der bakteriellen Besiedelung über spezifische Wechselwirkungen wirken.

Um Anti-Adhäsiva entwickeln zu können, werden zunächst Kenntnisse über die Rezeptorstrukturen der Haut benötigt, an die die deorelevanten Keime, Staphylokokken und Corynebakterien, adhäreren. Als mögliche Rezeptorstrukturen wurden in dieser Arbeit Glykolipide und Lipide untersucht. Es wurden dafür Corynebakterien eingesetzt, da über ihren Adhäsionsmechanismus nur sehr wenig bekannt ist. Für Staphylokokken liegen bereits mehrere Ergebnisse über ihr Bindungsverhalten an Haut vor.

Die Untersuchung der Bindungsaffinität von Corynebakterien erfolgte mittels HPTLC-Auftrennung und Overlay-Assay. Hierfür wurden Glykolipide und Lipide auf HPTLC-Platten aufgetragen und mit fluoreszenzmarkierten Corynebakterien überschichtet. Nach Detektion mit UV-Licht konnte die Bindungsaffinität gemessen werden.

Alternativ sollte ein optischer Biosensor (IASys plus) für Adhäsionsuntersuchungen getestet werden. Aufgrund von Problemen bei der Herstellung der IASys-Küvetten seitens des Herstellers, konnten mit dieser Methode jedoch noch keine aussagekräftigen Ergebnisse gewonnen werden.

Aus den Untersuchungen von Glykolipiden und Lipiden als mögliche Rezeptorstrukturen lässt sich folgendes ableiten.

Corynebakterien weisen eine Bindungsaffinität zu den untersuchten Glykolipiden auf. Es zeigte sich aber, dass Glykolipide nur in sehr geringer Menge in der Haut enthalten sind. Somit scheinen sie nicht für die Adhäsion von Corynebakterien an die Haut relevant zu sein. Dennoch kann das Zuckermotiv für die Entwicklung von Anti-Adhäsiva genutzt werden.

Die Untersuchung der Adhäsion an Hautlipide ergab, dass Corynebakterien eine hohe Bindungsaffinität zu Cholesterol-3-sulfat und Cholesteryl-oleat aufweisen aber eine niedrige Bindungsaffinität zu Cholesterol. Weitere Untersuchungen mit strukturell ähnlichen Lipiden führten zu dem Schluss, dass die Länge der hydrophoben Seitenkette von Cholesteryl-estern einen Einfluss auf die Adhäsion von Corynebakterien hat. Die Corynebakterien zeigten an Verbindungen mit längerer Seitenkette eine höhere Affinität. Zu Pentacosan wurde ebenfalls eine hohe Bindungsaffinität beobachtet. Dies lässt darauf schließen, dass die Hydrophobizität eine wichtige Rolle bei der bakteriellen Adhäsion spielt. Die Polarität schien dagegen keinen Einfluss auf die Adhäsion zu haben ebenso wie Doppelbindungen in der Seitenkette. Cholesterol-3-sulfat behält bezüglich der hohen Bindungsaffinität eine Sonderstellung.

In einem Probandentest konnte gezeigt werden, dass die Bindungsmuster der Corynebakterien an die Hautlipide der Probanden sich sehr ähnelten. Für ein Anti-Adhäsiva würde dies ein breites Wirkungsspektrum bedeuten, ohne Einschränkungen durch z.B. Alter und Geschlecht der Anwender.

Summary

Bacteria of the human axillary flora contribute to the formation of the characteristic malodour by metabolising substances from the apocrine sweat gland. To counteract the formation of body odour deodorants with anti-microbial substances are inserted. This may cause the development of resistance against these biocides in bacteria. A new strategy for deodorants which can not cause the development of resistance is the insertion of anti-adhesives.

Before bacteria can metabolise the apocrine sweat they must bind (adhere) to the cells of the skin. If the bacteria can not adhere to the skin, they will not metabolise the sweat and malodour will not be developed. The bacterial adhesion can be prevented with anti-adhesives. These have two modes of action. First anti-adhesives can prevent the unspecific adhesion promoted by hydrophobic interaction. Second they can prevent the bacterial colonisation caused by specific interactions.

Knowledge about the receptor-structure on the human skin used by staphylococci and corynebacteria are required to develop anti-adhesives. Glycolipids and lipids are investigated in this work as possible structures of receptors. Corynebacteria are investigated in more detail since their mechanism of adhesion is not well understood. About the binding-behaviour of staphylococci on the skin several results are available.

The binding-affinity of corynebacteria was investigated by separation with HPTLC (high performance thin layer chromatography) and a subsequent overlay-assay. Glycolipids and lipids were applied on the HPTLC-plates and after separation coated with corynebacteria which were fluorescence-labelled. The binding-affinity was measured after detection with UV-light.

Alternative an optical biosensor (IASys plus) should be tested for the investigation of the adhesion. Results could not have been obtained with this method because the manufacturer had problems to make available the cuvettes for the IASys plus.

Due to the investigations from glycolipids and lipids as possible receptor-structures the following results can be deduced.

Corynebacteria show a binding-affinity to the investigated glycolipids but these glycolipids contribute only to a small amount to the skin-lipids. Thus glycolipids are

not relevant for the adhesion of corynebacteria to the skin. However, the motive of carbohydrates can be used for the development of anti-adhesives.

The investigation of the adhesion to skin-lipids showed that corynebacteria have a high binding-affinity to cholesterol-3-sulfat and cholesteryl-oleat but a low binding-affinity to cholesterol. Further investigations with structural similar lipids showed that the length of the hydrophobe lateral chain has an influence on the adhesion of corynebacteria. The corynebacteria showed a higher affinity to compounds with a longer lateral chain. A high binding-affinity to pentacosane was observed as well. Due to this result it can be concluded that the hydrophobicity plays an important role for bacterial adhesion. The polarity and double-bindings in the lateral chain seem to have no influence on the adhesion. Cholesterol-3-sulfat has a special position concerning the binding-affinity.

In tests with volunteers it could be shown that the motifs of binding of the corynebacteria to skinlipids are very similar. An anti-adhesive would have a wide field of activity without restrictions due to age or sex of the user.