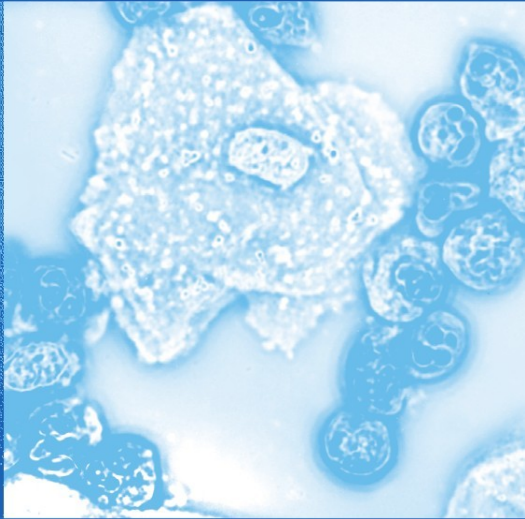




Neumann
Schäfer

Mikroskopische Diagnostik in der Frauenarztpraxis

Gerd Neumann
Axel Schäfer

Mikroskopische Diagnostik in der Frauenarztpraxis

Gerd Neumann
Axel Schäfer

Mikroskopische Diagnostik in der Frauenarztpraxis

Mit 195 größtenteils farbigen Abbildungen

Prof. Dr. med. Gerd Neumann
Facharzt für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Endokrinologikum Hamburg
Zentrum für Hormon-
und Stoffwechselerkrankungen
Gynäkologische Endokrinologie
und Pränatale Medizin
Lornsenstraße 4-6
22767 Hamburg

Priv.-Doz. Dr. med. Dr. Axel Schäfer
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Charité Campus Virchow-Klinikum
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin

ISBN 978-3-642-20935-2 Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detail-
lierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrags, der Entnahme von Abbildungen und Tabellen, der Funksendung, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes der Bundesrepublik Deutschland vom 9. September 1965 in der jeweils geltenden Fassung zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungspflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechtsgesetzes.

Springer Medizin

Springer-Verlag GmbH
ein Unternehmen von Springer Science+Business Media
springer.de

© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012

Produkthaftung: Für Angaben über Dosierungsanweisungen und Applikationsformen kann vom Verlag keine Gewähr übernommen werden. Derartige Angaben müssen vom jeweiligen Anwender im Einzelfall anhand anderer Literaturstellen auf ihre Richtigkeit überprüft werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

Planung: Dr. S. Höschele, Heidelberg
Projektmanagement: W. Bischoff, Heidelberg
Copy-Editing: T. Andronis, Köln
Umschlaggestaltung: deblik, Berlin
Satz: Crest Premedia Solutions (P) Ltd., Pune, India

SPIN: 80062353

Gedruckt auf säurefreiem Papier 22/2111 – 5 4 3 2 1 0

Vorwort

In fast jeder frauenärztlichen Praxis steht ein Mikroskop. Häufig ist es ein einfaches Lichtmikroskop, manchmal auch ein Phasenkontrastmikroskop, das vom Vorgänger übernommen wurde. Mitunter ist es etwas verstaubt, und man hat schon lange nicht mehr richtig hindurchsehen können, obwohl immer wieder an allen Schrauben gedreht wurde.

Das Mikroskop gehört zum Interieur eines gynäkologischen Behandlungszimmers, wird aber selten benutzt, da häufig kaum noch etwas darin erkennbar ist, weil das Gerät dringend neu eingestellt werden müsste.

Nun sind wir nicht der Meinung, dass Mikroskope in gynäkologischen Praxen generell zu einer unbedingt schützenswerten Gattung gehören. Aber wenn ein Mikroskop vorhanden ist, ist es von Vorteil, sich ein wenig damit auszukennen – denn damit lassen sich auf einfachem Wege viele Informationen gewinnen, mit denen wir unseren Patientinnen tatsächlich helfen können.

Die Betrachtung eines Nativpräparats oder gramgefärbten Präparats sind passable Methoden, mit denen einige genitale Infektionen ausreichend sicher erkannt werden können. Auch die Durchmusterung des alljährlichen zervikalen zytologischen Abstrichs in der Färbung nach Papanicolaou kann weitere Informationen zu eventuellen Infektionen geben. Allerdings haben nur noch wenige von uns die Qualifikation zur Beurteilung eines Pap.-Abstrichs im Rahmen der Exfoliativzytologie. Großlabore haben hier den Markt übernommen.

Für die mikroskopische Beurteilung eines Präparats in der Praxis erhält ein Arzt nur noch Centbeträge von den kassenärztlichen Vereinigungen. Also haben wir uns gefragt, ob es denn überhaupt noch sinnvoll ist, ein Buch über die mikroskopische Untersuchung der vaginalen Flora zu schreiben. Was dafür sprach, waren letztlich 2 Argumente. Erstens: die Kosten, denn die Mikroskopie ist sehr einfach und preiswert. Und zweitens: Die Mikroskopie wird kaum noch in der Facharztausbildung vermittelt.

In vielen Kliniken gibt es kein Mikroskop mehr, weder in der Ambulanz noch auf der Station. Die Kliniken sind meist operativ ausgerichtet, und selbst wenn ein Mikroskop in einer Klinik vorhanden ist, wissen meist nur wenige, wie man es pfleglich bedient und wie man das Mikroskopierbild interpretiert. Und in der Praxis, dem Ort, an dem die Mehrheit der gynäkologischen Infektionen zu diagnostizieren ist, stehen viele vor einem Problem: Es fehlt ihnen das mikroskopische Know-how. Aus diesem Grund neigen viele Kolleginnen und Kollegen dazu, mikrobiologische Abstriche zu versenden. Und wenn da einige Bakterien den Transport zum Labor überlebt haben, wird nach Resistenzlage antibiotisch behandelt.

Wir meinen, dass diese Handlungsweise dem polymikrobiellen Charakter der Besiedlung der Scheide nicht gerecht wird. Deshalb möchten wir mit diesem Buch eine Einführung in die mikroskopische Technik geben, damit alle in der Lage sind, ihr Mikroskop funktionsfähig zu halten und einzustellen. Zudem wollen wir die Hauptkriterien für die mikroskopische Beurteilung von Abstrichpräparaten nahebringen, um mit Hilfe einer mikroskopischen Untersuchung genitale Infektionen nicht nur zu diagnostizieren, sondern auch

hilfreiche Therapien daraus abzuleiten. Dabei sind wir uns durchaus bewusst, dass auch der Mikroskopie bei der Beurteilung von Beschwerden im Genitalbereich Grenzen gesetzt sind.

Die Mikroskopie ist mit einem Nativpräparat oder einem gramgefärbten Präparat rasch durchführbar und trotz Einschränkungen von Spezifität und Sensitivität auch aussagekräftig. Die erzielten Ergebnisse sind in vielen Fällen richtungweisend für therapeutische Sofortmaßnahmen, oder es ergeben sich Hinweise für den Einsatz einer weiterführenden, spezifischen mikrobiologischen sowie molekulargenetischen Diagnostik.

In vielen Frauenarztpraxen bestehen gegenwärtig Informationsdefizite zu den Qualitätsstandards der mikroskopischen Diagnostik von Vaginalinfektionen. Diese beziehen sich nicht nur auf die Frage, wann eine Untersuchung indiziert ist, sondern auch auf die Technik der Probenentnahme der Vaginalabstriche, die praxisrelevanten Färbemethoden, die mikroskopische Technik sowie auf die Interpretation der mikroskopischen Bilder. Die Durchführung einer mikroskopischen Infektionsdiagnostik im Bereich des weiblichen Genitale erfordert ein gewisses Fachwissen aus Theorie und Praxis.

Im vorliegenden Handbuch sind die langjährigen Erfahrungen der Autoren aus der Frauenarztpraxis sowie aus den zahlreichen durchgeführten Mikroskopiekursen eingeflossen. Es wurden außerdem Qualitätsstandards für die mikroskopische Infektionsdiagnostik zusammengestellt, die speziell für die frauenärztliche Praxis und Klinik von Bedeutung sind.

Prof. Dr. G. Neumann

Priv.-Doz. Dr. Dr. A. Schäfer

Inhaltsverzeichnis

1	Grundlagen	1
1.1	Infektionserreger	3
1.1.1	Bakterien	3
1.1.2	Viren	6
1.1.3	Sprosspilze	7
1.1.4	Protozoen	8
1.2	Biofilmbildung	9
1.3	Entwicklung der vaginalen Flora und das Lebensalter	12
1.4	Mikrobiologische Besiedlung der Vagina	13
1.5	Mechanismus zur vaginalen Fremdkeimabwehr	14
1.6	Vaginalinfektionen	19
2	Das Mikroskop	25
2.1	Historie	26
2.2	Grundaufbau von Mikroskopen	29
2.2.1	Mechanische Komponenten des Standardmikroskops	30
2.3	Optisches System des Mikroskops	33
2.3.1	Okulare	34
2.3.2	Objektive	34
2.3.3	Grundbegriffe des optischen Systems	40
2.3.4	Wellenoptische Aspekte	46
2.3.5	Optische Kontrastverfahren	46
3	Mikroskopie in der gynäkologischen Praxis	49
3.1	Technologie der Kontrastverfahren	50
3.1.1	Hellfeldmikroskopie	51
3.1.2	Phasenkontrastmikroskopie	52
3.2	Praxis des Mikroskopierens	58
3.2.1	Beleuchtungsverfahren nach Köhler	58
3.2.2	Mikroskopiertechnik	63
3.3	Mikroskoppflege und -reinigung	65
3.4	Anwendungsbereiche der Mikroskopie in der Frauenarztpraxis	65
4	Das mikroskopische Präparat	69
4.1	Abstrich- und Ausstrichtechnik	70
4.2	Herstellung von Nativ- und Färbepreparaten	71
4.2.1	Fixiermethoden	72
4.2.2	Färbetechnik	72
4.2.3	Das Deckglas	77
4.3	Betrachtung der bakterioskopischen Färbepreparate	78
4.4	Kriterien der mikroskopischen Infektionsdiagnostik	80
4.5	Umweltgerechte Entsorgung	87

5	Mikroorganismen	89
5.1	Laktobazillen	92
5.1.1	Erreger	92
5.1.2	Erreger-Wirt-Beziehung	92
5.1.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	94
5.1.4	Befunddokumentation	94
5.1.5	Therapeutische Konsequenz	97
5.2	Mischflora	99
5.2.1	Erreger	99
5.2.2	Erreger-Wirt-Beziehung	99
5.2.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	99
5.2.4	Befunddokumentation	100
5.2.5	Therapeutische Konsequenz	104
5.3	Gardnerella vaginalis	104
5.3.1	Erreger	104
5.3.2	Erreger-Wirt-Beziehung	104
5.3.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	105
5.3.4	Therapeutische Konsequenz	105
5.4	Bakterielle Kolpitis	105
5.4.1	Erreger	105
5.4.2	Erreger- Wirt-Beziehung	105
5.4.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	107
5.4.4	Befunddokumentationen	108
5.4.5	Therapeutische Konsequenz	109
5.5	Zervizitis	110
5.5.1	Erreger	110
5.5.2	Erreger-Wirt-Beziehung	110
5.5.3	Mikroskopisches Präparat	111
5.5.4	Therapeutische Konsequenz	111
5.6	Mobiluncus	112
5.6.1	Erreger	112
5.6.2	Erreger-Wirt-Beziehung	112
5.6.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	112
5.6.4	Therapeutische Konsequenz	112
5.7	Bakterielle Vaginose	113
5.7.1	Erreger	113
5.7.2	Erreger-Wirt-Beziehung	114
5.7.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	116
5.7.4	Befunddokumentation	116
5.7.5	Therapeutische Konsequenz	121
5.8	Sprosspilze	122
5.8.1	Erreger	122
5.8.2	Erreger-Wirt-Beziehung	123
5.8.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	123
5.8.4	Befunddokumentation	128
5.8.5	Therapeutische Konsequenzen	134
5.9	Trichomonaden	135
5.9.1	Erreger	135

5.9.2	Erreger-Wirt-Beziehung	135
5.9.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	136
5.9.4	Befunddokumentation	137
5.9.5	Therapeutische Konsequenz	141
5.10	Neisseria gonorrhoeae	141
5.10.1	Erreger	141
5.10.2	Erreger-Wirt-Beziehung	141
5.10.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	142
5.10.4	Befunddokumentation	143
5.10.5	Therapeutische Konsequenz	145
5.11	Treponema pallidum	146
5.11.1	Erreger	146
5.11.2	Erreger-Wirt-Beziehung	146
5.11.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	147
5.11.4	Therapeutische Konsequenz	148
5.12	Humane Papillomaviren (HPV)	148
5.12.1	Erreger	148
5.12.2	Erreger-Wirt-Beziehung	148
5.12.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	149
5.12.4	Therapeutische Konsequenz	151
5.13	Herpes genitalis	151
5.13.1	Erreger	151
5.13.2	Erreger-Wirt-Beziehung	151
5.13.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	153
5.13.4	Befunddokumentation	153
5.13.5	Therapeutische Konsequenz	154
5.14	Chlamydien	155
5.14.1	Erreger	155
5.14.2	Erreger-Wirt-Beziehung	155
5.14.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	156
5.14.4	Therapeutische Konsequenz	158
5.15	Leptothrix	159
5.15.1	Erreger	159
5.15.2	Erreger-Wirt-Beziehung	159
5.15.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	159
5.15.4	Befunddokumentation	159
5.15.5	Therapeutische Konsequenz	159
5.16	Aktinomyzeten	161
5.16.1	Erreger	161
5.16.2	Erreger-Wirt-Beziehung	161
5.16.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	161
5.16.4	Befunddokumentation	162
5.16.5	Therapeutische Konsequenz	163
5.17	Oxyuren	163
5.17.1	Erreger	163
5.17.2	Erreger-Wirt-Beziehung	163
5.17.3	Mikroskopisches Abstrichpräparat	164
5.17.4	Therapeutische Konsequenz	164

6	Epitheliale Zellen	165
6.1	Morphologie des vaginalen Plattenepithels	166
6.1.1	Basalzellen	166
6.1.2	Parabasalzellen	166
6.1.3	Intermediärzellen	167
6.1.4	Superfizialzellen	168
6.1.5	Befunddokumentation	169
6.2	Vaginalepithel in der zyklischen Östrogen- und Gestagenphase	175
6.3	Zyklusphasen	175
6.4	Zytomorphologische Hinweise auf Genitalinfektionen	178
7	Nicht epitheliale Zellen	181
7.1	Zellen des Blutes und des Immunsystems	182
7.1.1	Leukozyten	182
7.1.2	Histiozyten	186
7.1.3	Erythrozyten	187
7.2	Geschlechtszellen	189
7.2.1	Spermien	189
8	Mikroskopie als unterstützendes diagnostisches Verfahren	195
	Literatur	197
	Stichwortverzeichnis	201

Grundlagen

- 1.1 Infektionserreger – 3**
 - 1.1.1 Bakterien – 3
 - 1.1.2 Viren – 6
 - 1.1.3 Sprosspilze – 7
 - 1.1.4 Protozoen – 8
- 1.2 Biofilmbildung – 9**
- 1.3 Entwicklung der vaginalen Flora und das Lebensalter – 12**
- 1.4 Mikrobiologische Besiedlung der Vagina – 13**
- 1.5 Mechanismus zur vaginalen Fremdkeimabwehr – 14**
- 1.6 Vaginalinfektionen – 19**

Der Mensch trägt an und in sich mehr Bakterien, als sein Körper Zellen hat. Das ist die Biolast, mit der er zu leben hat (■ Tab. 1.1). An der Haut, im Urogenitalsystem, in der Mundhöhle und vor allem im Darm leben Schwärme verschiedener Bakterienspezies. So siedeln z. B. auf der Haut vor allem Staphylokokken wie *Staphylococcus aureus* und *epidermidis*, aber auch Streptokokken. In den Talgdrüsen, in denen der Sauerstoffgehalt abnimmt, leben vorwiegend Anaerobier wie *Korynebakterien*. In meist geringer Zahl lassen sich dort auch Sprosspilze der Gattung *Candida* nachweisen.

In der Vaginalflora finden sich über 100 Spezies von meist anaeroben Mikroorganismen sowie häufig Sprosspilze, Viren und seltener Protozoen.

Die meisten Mikroorganismen sind in den unterschiedlichen Habitaten harmlose Kommensalen. Sie alle aber tragen mit besonderen biologischen Fähigkeiten dazu bei, dass sie als polymikrobielle Gruppe an ihrem Standort überleben. Bestimmte Eigenschaften können sogar für den Wirt nützlich sein. Andererseits aber entwickeln sie auch Mechanismen, durch die sie der Abwehr des Wirts effektiv entgehen.

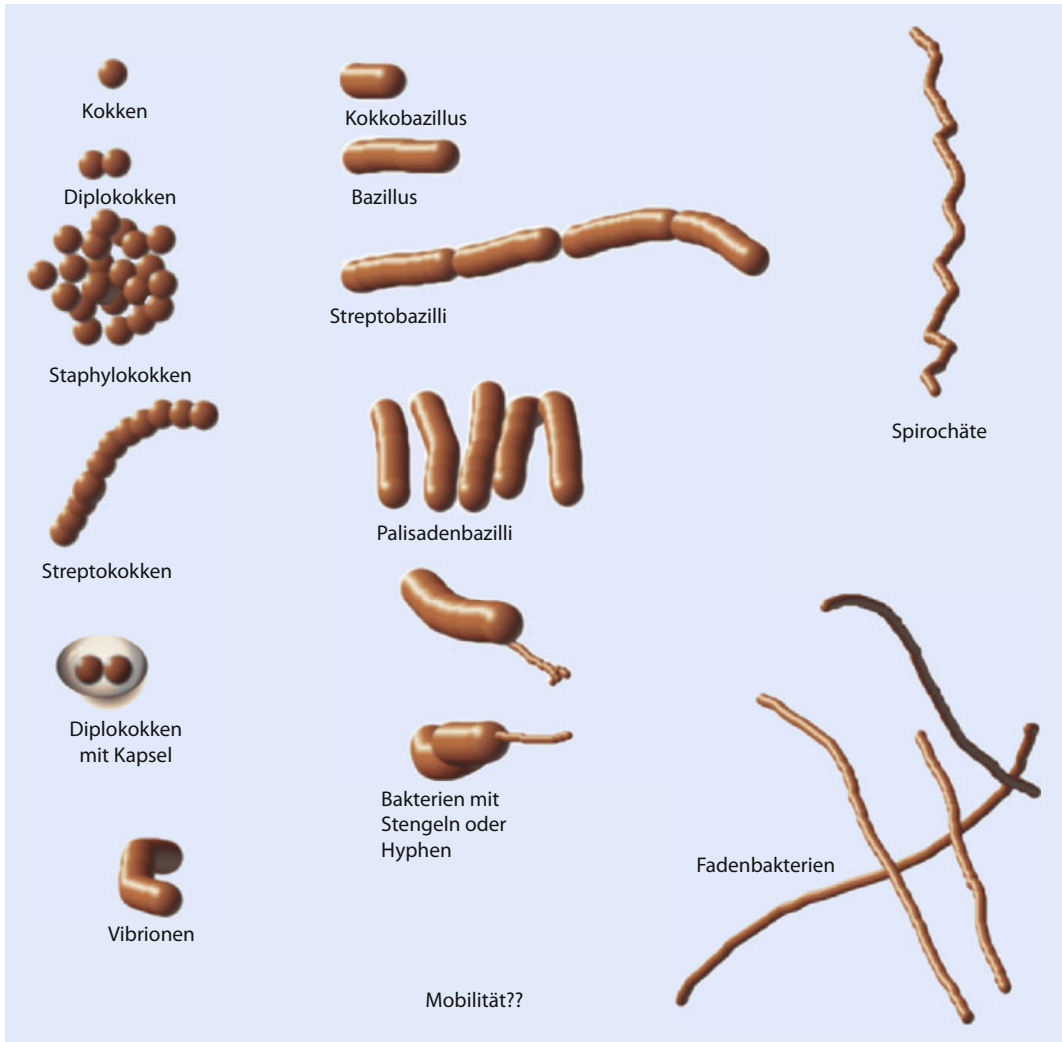
Mikroorganismen können ihr Wachstumsverhalten ändern und plötzlich pathogen werden, wenn ihre Keimzahl am Ort die Keimtoleranzgrenze überschreitet. Hinzu kommt, dass sie als typische Siedler an Oberflächen oder in Hohlorganen nicht nur frei herumschwimmen als planktonische Wesen. Mikroorganismen organisieren sich, haften an der Oberfläche der Zellen und betten sich in eine schützende Polysaccharidmatrix ein. Weil Antibiotika nur langsam in diese Matrix eindringen können, sind die Mikroorganismen so teilweise geschützt.

Im gynäkologisch-geburtshilflichen Fachbereich ist die Resident- und Transientflora der Vagina das wichtigste Erregerreservoir für genitale Infektionen. Sie bildet einen ätiologisch wichtigen Faktor für das Auftreten von Zervizitis, Adnexitis mit ihren Folgeerkrankungen sowie für infektiöse Komplikationen nach operativen Eingriffen. Bei Schwangeren besteht insbesondere ein Zusammenhang mit der präpartalen Infektion, mit Frühgeburtlichkeit und postpartaler Endomyometritis.

Die Resident- und Transientflora der Vagina ist das wichtigste Erregerreservoir für genitale Infektionen.

■ Tab. 1.1 Biolast von Mikroorganismen an verschiedenen Körperregionen

Reservoir	Biolast oder »colony forming units«/g	Aerobier : Anaerobier
Haut	10 ⁴⁻⁶	1:10
Mundhöhle	10 ⁶⁻⁸	1:10
Vaginal	10 ⁸⁻⁹	1:100
Gastrointestinal	10 ¹¹⁻¹²	1:1000



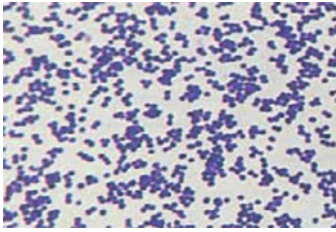
■ Abb. 1.1 Morphologie der Bakterien

1.1 Infektionserreger

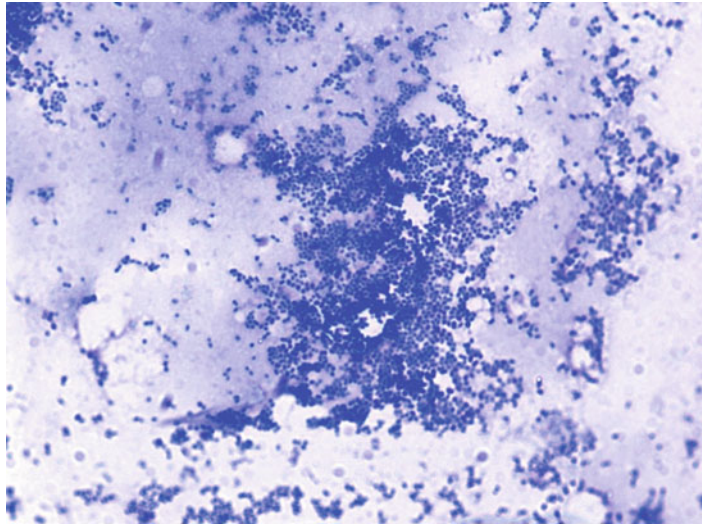
1.1.1 Bakterien

Bakterien sind sehr kleine, einzellige Lebewesen, die meistens zwischen $0,2$ und $2,0\ \mu\text{m}$ groß sind und sich durch einfache Querteilung vermehren. Es handelt sich dabei um selbstständige Lebewesen, die eine Zellstruktur besitzen und die zum Leben erforderliche Energie durch einen eigenen Stoffwechsel gewinnen. Die kleinen, artspezifisch rundlichen, gebogenen, gekrümmten oder gestreckten, kompakt kugeligen oder auch spindeldürren Zellen besitzen keinen Zellkern und keine sonstigen Zellkörperchen (■ Abb. 1.1).

Bakterien gehören zu den Prokaryoten, einer Zellform ohne Zellkern.



■ **Abb. 1.2** Kokkenflora in der Methylenblaufärbung (×400)



■ **Abb. 1.3** Dichte Kokkenbesiedlung eines mit Methylenblau gefärbten Abstrichpräparates (×200)

Die DNA der Bakterien liegt »nackt« im Zytoplasma der Zelle vor. Diese Zellform wird als Protozyt bezeichnet und repräsentiert die einfachste vollständige Zelle. Sie ist die Zellform der **Prokaryoten**, zu denen alle Bakterien gehören (Kremer 2002). Im Gegensatz dazu liegt die DNA von pflanzlichen, tierischen und menschlichen Zellen geschützt in einem Zellkern. Diese Zellformen gehören zu den **Eukaryoten**.

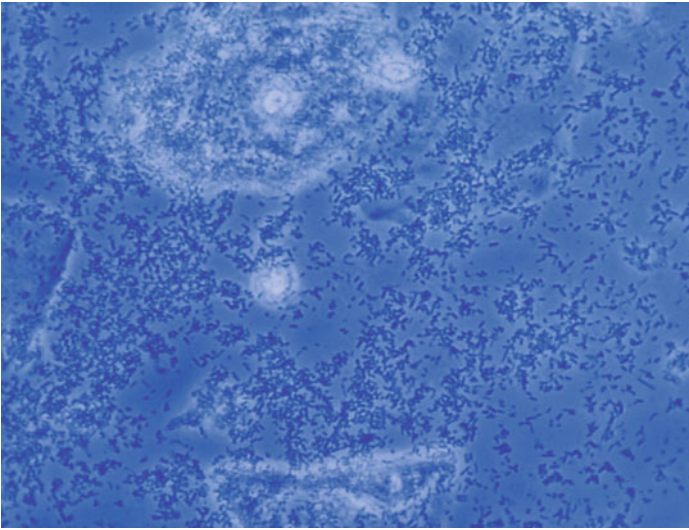
➤ **Für die mikroskopische Diagnostik sind insbesondere 3 morphologische Grundformen der Bakterien von Bedeutung: Kokken, Stäbchen und schraubenförmige Bakterien.**

■ Kokken

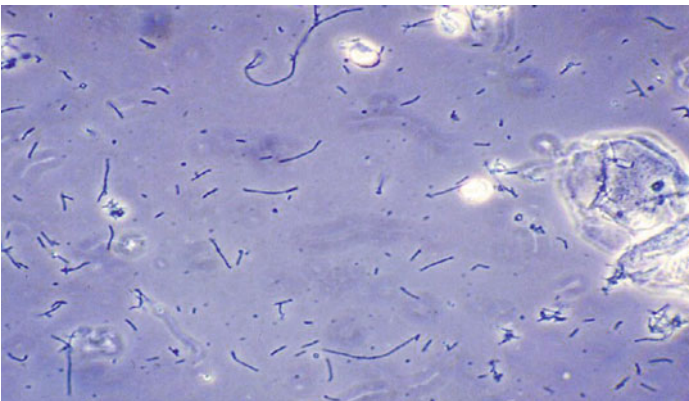
Bei den Kokken handelt es sich morphologisch um runde oder ovale Bakterien, deren Durchmesser etwa $0,1\ \mu\text{m}$ beträgt. Kokken treten einzeln auf oder lagern sich zusammen. Dabei kommen sie als »bröckchenähnliche« Paare (Diplokokken), Vierergruppen (Tetraden) oder Achtergruppen (Sarzinen) vor. Kokken können auch in größeren, traubenartigen Haufen (Staphylokokken) oder in Kettenform (Streptokokken) vorkommen (■ Abb. 1.2; ■ Abb. 1.3).

■ Stäbchen

Stäbchen sind gestreckte, zylinderförmige Bakterien mit einer Länge von ca. $6\ \mu\text{m}$. Sie bilden eine große Gruppe mit vielen Formen und Arten. Man unterscheidet Kurzstäbchen und Langstäbchen (bis zu $10\text{--}15\ \mu\text{m}$). Stäbchenförmige Bakterien können plump (kokkoid) oder schlank aussehen. Die Enden der Stäbchen sind entweder spitz, abgerundet oder beinahe rechteckig. Stäbchenbakterien können begeißelt



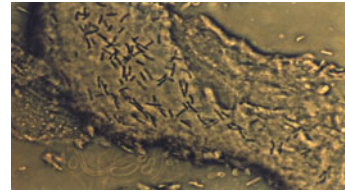
■ **Abb. 1.4** Verdrängung der Laktobazillen und Übersiedlung mit Stäbchen und Kokken



■ **Abb. 1.7** Nicht mobile, längliche Laktobazillen im Nativpräparat; zum Größenvergleich am Rand 2 Epithelzellen und im Präparat sichtbare Leukozyten



■ **Abb. 1.5** Stäbchenbakterien, Reinkultur von *E. coli* (×1.000)



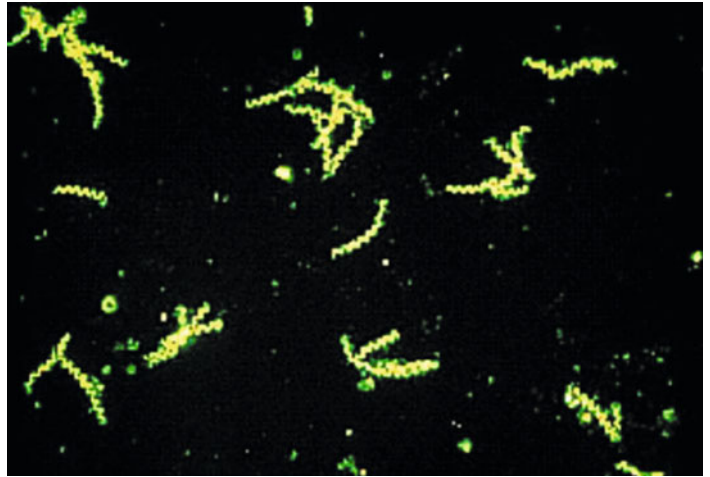
■ **Abb. 1.6** Epithelzelle mit aufliegenden stäbchenförmigen Bakterien. Nebenbei sieht man den Austritt von Zytoplasma durch Membranschädigung

oder unbegeißelt sein. Sie lassen sich grampositiv oder gramnegativ anfärben (■ Abb. 1.4; ■ Abb. 1.5; ■ Abb. 1.6; ■ Abb. 1.7).

■ **Schraubenförmige Bakterien**

Manche Bakterien sind schraubenförmig gekrümmt und zeigen unter dem Mikroskop sogar voll ausgebildete Windungen (*Treponema pallidum*) (■ Abb. 1.8).

Durch Färbemethoden können die Mikroorganismen in gramnegative und grampositive Bakterien unterschieden werden. Die unterschiedliche Färbbarkeit hängt von der Zusammensetzung der Zellmembran ab.



■ Abb. 1.8 *Treponema pallidum* im Dunkelfeld

■ Mobilität

Viele Bakterien haben eine eigene Art, sich zu bewegen, was sich ausschließlich im Nativpräparat und in der Phasenkontrastmikroskopie beobachten lässt. Doch genau in den spezifischen Bewegungen liegen wichtige Informationen: Laktobazillen liegen still und bewegungslos. Vibrionen schlingern durch das Präparat, Spirochäten und Spirillen drehen sich wie Korkenzieher.

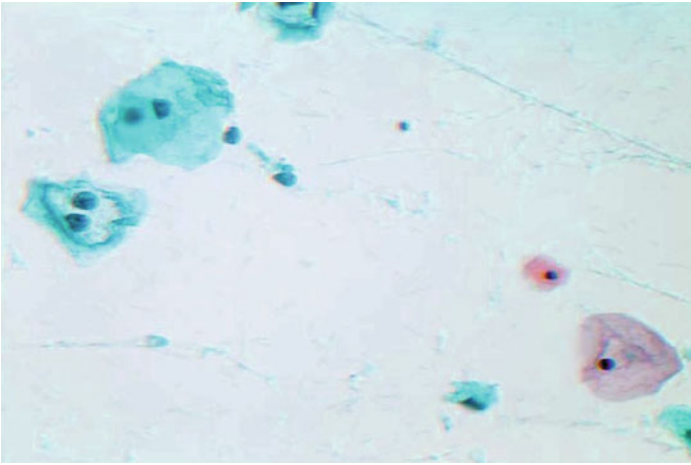
➤ **Durch Anfärbungen, aber auch anhand spezifischer Bewegungsmuster lassen sich Bakterien unter dem Mikroskop unterscheiden.**

Da Viren keinen eigenen Stoffwechsel haben, brauchen sie zur Vermehrung die Organellen ihrer Wirtszelle.

1.1.2 Viren

Viren sind nichtzelluläre, äußerst kleine Partikel mit Nukleinsäuren, die die Information zu ihrer Vermehrung und zum Zusammenbau tragen. Die einzelnen Viruspartikel werden als Vibrionen bezeichnet, sie sind die extrazelluläre Transportform eines Virus. Es besteht aus einer »Kapsid« genannten Proteinhülle mit einer Vielzahl einzelner Bauteile (Kapsomere), die sich selbstständig zu regelmäßigen Mustern zusammenfügen. Manche Viren sind zusätzlich von einer Membran umhüllt. Der spezifische Virusdurchmesser liegt etwa zwischen 30 und 300 nm.

Im Gegensatz zu Bakterien besitzen Viren keinen eigenen Stoffwechsel. Sie bedürfen zu ihrer eigenen Vermehrung der Organellen ihrer Wirtszelle. Der Syntheseapparat der Wirtszelle wird durch das Virus zur Herstellung der einzelnen Virusbestandteile »umprogrammiert«. Die Virusbestandteile mitsamt ihrer Nukleinsäuren lagern sich zum kompletten Virus zusammen und werden dann aus der



■ **Abb. 1.9** Koilozyt mit Doppelkern bei HPV-Infektion (×400)

Zelle ausgeschleust. Viren sind wirtsspezifisch. Der Klassiker eines Virusstigmas einer Epithelzelle ist der Koilozyt. Dabei lagern sich die Humanen Papillomaviren (HPV) um den Kern, sodass im Mikroskop eine sog. perinukleäre Aufhellungszone in der Färbung nach Papanikolaou zu erkennen ist (■ Abb. 1.9). Das ist jedoch nur ein Hinweis und kein Beweis für eine Infektion mit Papillomaviren.

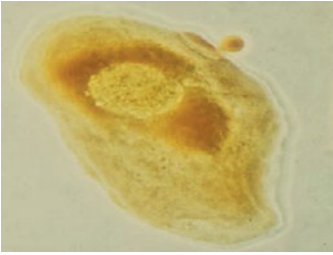
1.1.3 Sprosspilze

Pilze sind höher entwickelte Lebewesen als die prokaryotischen Bakterien. Sie zählen zu den Eukaryoten und besitzen einen Zellkern, der mit einer Kernmembran vom Zytoplasma abgetrennt ist. Das Zytoplasma beinhaltet die Strukturen für die Proteinsynthese, die an den zahlreichen Ribosomen stattfindet. Diese sind am endoplasmatischen Retikulum entlang aufgereiht.

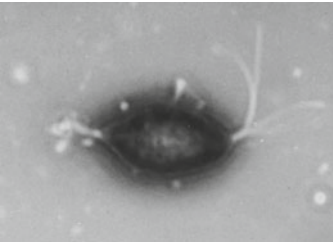
Ein weiteres Charaktermerkmal der Pilzzelle ist die starre Zellwand, die zu 90 % aus Polysacchariden wie Glukanen und Mannanen sowie aus Chitin besteht.

Sprosspilze sind keine homogene, sondern eine heterogene Pilzgruppe, die sich durch Zellsprossung vermehrt. Beim Wachstum durch Sprossung bildet sich an der Mutterzelle eine Ausstülpung, die sich mit Protoplasma und einem Zellkern füllt. Durch Abschnürung trennt sich schließlich die Spross- oder Tochterzelle von der Mutterzelle (■ Abb. 1.10; ■ Abb. 1.11; ■ Abb. 1.12). Aus Sprosszellen kann ein fädiger, verzweigter Zellverband, das sog. Pseudomyzel, entstehen. In vielen Fällen ist die Gestaltung des Pseudomyzels ein gattungs- oder artspezifisches Merkmal. Ein charakteristisches Pseudomyzel bilden z. B. die Arten der Gattung *Candida*, ohne Pseudomyzelbildung wachsen dagegen die *Torulopsis*-Gattungen.

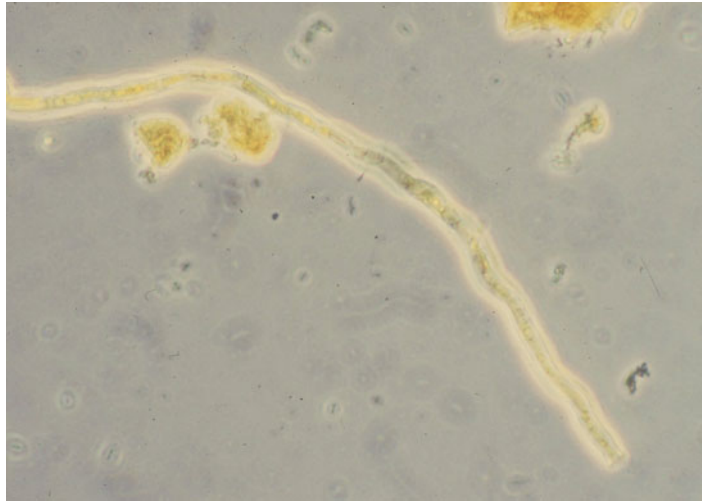
Sprosspilze gehören zu den Eukaryoten, einer Zellform mit Zellkern. Sprosspilze vermehren sich durch Zellsprossung.



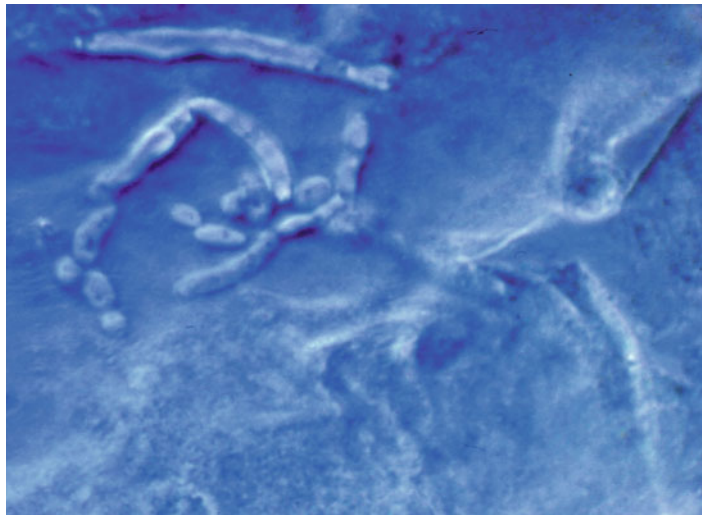
■ **Abb. 1.12** Epithelzelle mit kleiner ansitzender Blastospore (Phasenkontrast, $\times 1.000$)



■ **Abb. 1.13** *Trichomonas vaginalis* in Vitalform mit Geißeln ($\times 1.000$)



■ **Abb. 1.10** Sprossender Keimschlauch bei *Candida*. Mit 2 Leukozyten (Phasenkontrast, $\times 1.000$)

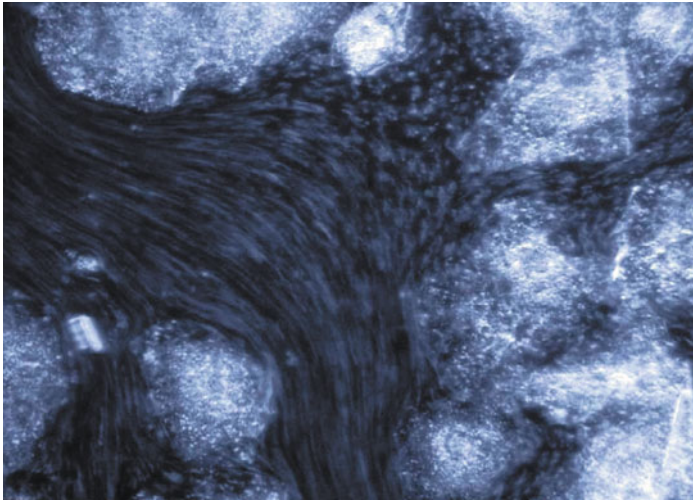


■ **Abb. 1.11** Epithelzelle mit anhaftender Candidapseudohyph (Phasenkontrast, $\times 1000$). Durch Abschnürung trennt sich die Spross- oder Tochterzelle von der Mutterzelle

1.1.4 Protozoen

Protozoen gehören zu den Eukaryoten und sind besonders anpassungsfähig.

Protozoen sind einzellige Lebewesen, die als Parasiten leben. Sie besitzen einen Zellkern und Zellorganellen wie Mitochondrien und den Golgi-Apparat. Viele Protozoen besitzen Geißeln, mit denen sie sich fortbewegen. Im Gegensatz zu den Bakterien, die keinen Zellkern haben und deswegen zu den Prokaryoten zählen, rechnet man die Protozoen zu den Eukaryoten (■ Abb. 1.13).



■ **Abb. 1.14** Epithelzellen mit Bakterien, die durch Eigenbewegung durch die Zwischenräume strömen. (Die Keimdichte ist sehr hoch, und durch ihre Mobilität gewinnen wir beim Mikroskopieren oft den Eindruck, als würden wir die Highways von Los Angeles zur Rushhour von oben betrachten)

Eine besondere Eigenschaft der Protozoen ist ihre besondere Anpassungsfähigkeit an die unterschiedlichsten Lebensbedingungen. Ihre Vermehrung kann geschlechtlich oder ungeschlechtlich erfolgen. Protozoen können auf unterschiedlichen Wegen von Wirt zu Wirt übertragen werden. Zum Beispiel können gegen Umwelteinflüsse sehr widerstandsfähige Dauerstadien (Zysten) über den Kot von Mensch oder Tier übertragen werden oder auch über einen Zwischenwirt. Das häufigste vaginal anzutreffende Protozoon wird durch sexuellen Kontakt übertragen.

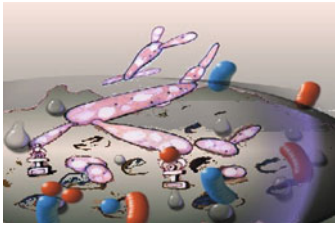
1.2 Biofilmbildung

Bei einer beginnenden Übersiedlung der bakteriellen Flora durch meist anaerobe Keime erhöht sich die Keimzahl und die Bakterien sind mobil (■ Abb. 1.14).

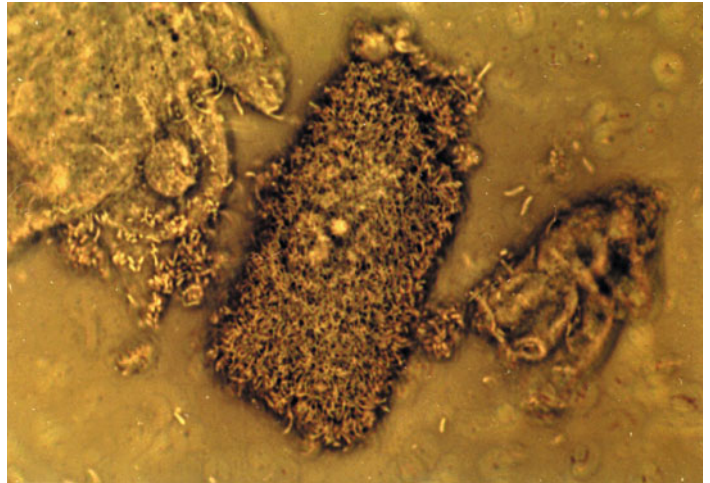
Ein Teil der Bakterien bewirkt eine Biofilmauflagerung, d. h. einen bakteriellen Besatz auf der Oberfläche der Epithelzelle, ein Phänomen, das sich mikroskopisch als »clue cell« gut erkennen lässt (■ Abb. 1.15). Die Bilder sind nicht immer so eindeutig, denn der Prozess, aus dem sich eine Veränderung der Flora entwickelt, ist meist langwierig.

Als typische Siedler an Oberflächen oder in Hohlorganen schwimmen die fakultativ pathogenen Mikroorganismen der Vaginalflora im Volumenkompartement der Vagina nicht nur als planktonische Wesen frei herum, sondern sie organisieren sich und haften an der Oberfläche der Zellen. Sie betten sich in eine Polysaccharidmatrix ein, die sie schützt (■ Abb. 1.16).

Mikroorganismen der Vaginalflora organisieren sich, haften an der Oberfläche der Zellen und betten sich in eine schützende Polysaccharidmatrix.



■ **Abb. 1.16** Schematische Darstellung eines gemischten Biofilms von *Candida* mit Bakterien



■ **Abb. 1.15** Epithelzelle mit massiver bakterieller Besiedlung der Oberfläche im Biofilm (Nativpräparat)

Anfänglich lagern sich die planktonischen Formen an der Oberfläche locker und reversibel an. Steigt die Zahl der Bakterien, entwickelt sich eine Kolonie, die ihr Verhalten durch veränderte Genexpression wandelt. Es werden vermehrt Polysaccharide freigesetzt, die den Biofilm bilden. Dabei können auch unterschiedliche Spezies beteiligt sein, die gemeinsam den Film bilden. Im Film formen sich Kanäle, durch die Nahrungsbestandteile heranfließen können. Häufig ist der bakterielle Stoffwechsel deutlich heruntergefahren und das Wachstum deutlich verlangsamt.

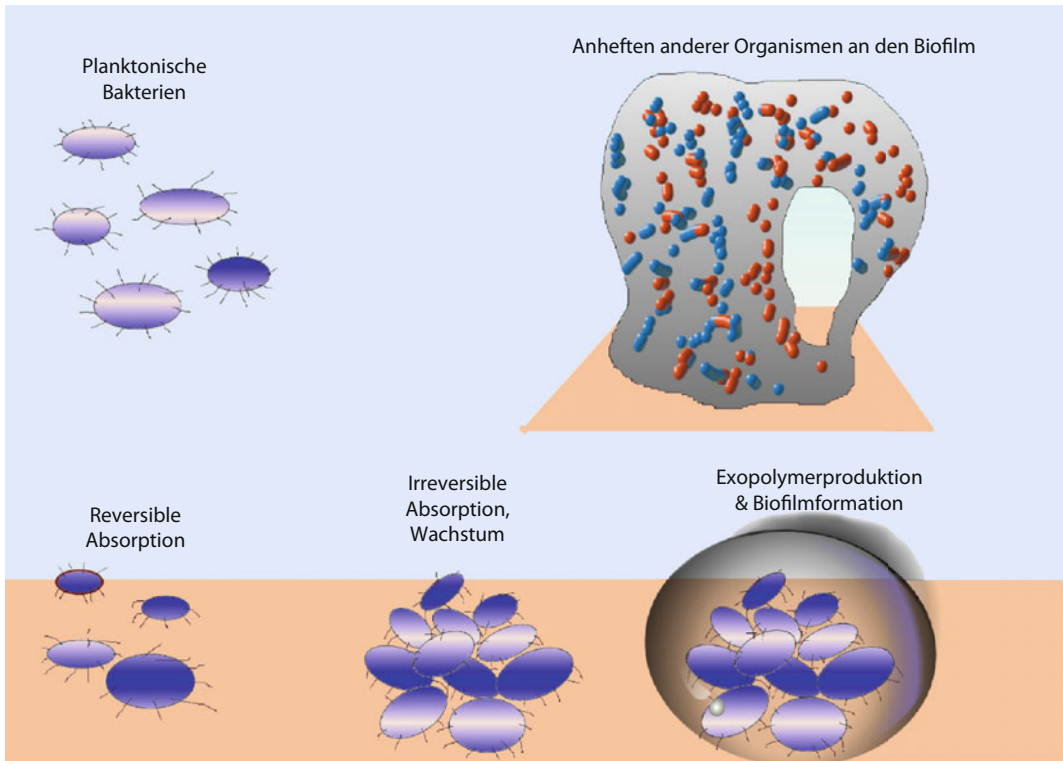
Die Lebensvorgänge der Bakterien im Biofilm unterscheiden sich deutlich von denen im planktonischen Zustand.

In Biofilmen leben normalerweise verschiedene Mikroorganismen gemeinsam. Im Abstand von wenigen hundert Mikrometern können aerobe und anaerobe Zonen vorkommen, sodass aerobe und anaerobe Mikroorganismen eng nebeneinander leben können (Multispeziesbiofilm) (■ Abb. 1.17).

Der Film ist eine Art Superkolonie, in der die Bakterien auch vor Antibiotika geschützt werden, weil diese nur langsam in die Matrix eindringen können. Durch die Freisetzung von Signalmolekülen, ein Prozess, der als »Quorum sensing« (interzelluläres Kommunikationssystem, das auch genetische Programme aktiviert) bezeichnet wird, können die Bakterien in diesen Kolonien kommunizieren (Singh et al. 2000) und sich z. B. plötzlich aktivieren.

Infolge der Vermehrung der Zellen, die sich an einer Oberfläche angelagert haben, kommt es zu einer Ausbreitung der Organismen. Die Oberfläche wird in Form eines Biofilms erst flächig besiedelt. Gleichzeitig oder später wachsen die Biofilme mehrschichtig auf und bilden schließlich heterogene dreidimensionale Strukturen.

Bakterien im Biofilm kommunizieren über Signalmoleküle miteinander.



■ **Abb. 1.17** Mehrstufige Entwicklung eines Biofilms mit polymikrobieller Zusammensetzung

In den tieferen Schichten des Biofilms kommt es leicht zu einem Substrat- oder Sauerstoffmangel. Daher haben fakultativ anaerobe bzw. strikt anaerobe Bakterien in diesem Milieu einen Wachstumsvorteil gegenüber den aeroben Mikroorganismen.

Die Matrix bietet mechanische Stabilität und erlaubt es den Biofilmorganismen, langfristige synergistische Wechselwirkungen aufzubauen und Hungerperioden zu überstehen; sie verhindert auch das Abschwemmen extrazellulärer Enzyme. Der Biofilm bietet dem einzelnen Mikrobewesen einen ausgezeichneten Schutz. So steigt die Toleranz gegenüber pH-Schwankungen und Bakteriziden.

➤ **Bei mehr als 60 % aller bakteriellen Infektionskrankheiten schützen sich die Erreger durch die Bildung von Biofilmen vor den Abwehrkräften des Immunsystems.**

Biofilme werden mit einer Reihe von Infektionen in Verbindung gebracht. Beispiele hierfür sind:

- Wundinfektionen
- Bakterielle Endokarditis
- Periodontitis
- Urethritis
- Prostatitis

- Zahnkaries
- Bakterielle Vaginose
- Kolpitis

Es kommen grampositive und gramnegative Bakterien sowie Pilze als Einzel- oder Multispezies im Biofilm vor. Beispiele für häufig beteiligte Erreger sind:

- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Escherichia coli*
- *Candida albicans*
- Weitere anaerobe und aerobe Mikroorganismen

1.3 Entwicklung der vaginalen Flora und das Lebensalter

Die Residentflora der Vagina wird weitgehend durch Übersiedlung von Mikroorganismen aus der Perianalregion, also der Haut- und Darmflora (rektovaginale Kolonisation), gebildet. Transiente, pathogenetisch relevante Mikroorganismen, die extern in die Vagina eingeschleppt werden und als fakultativ pathogen zu betrachten sind, ergänzen diese Vaginalflora.

In Abhängigkeit von der Gesamtheit der individuellen Biotopfaktoren ist die Vagina durch eine mehr oder weniger charakteristische Standortflora (autochthone Flora) besiedelt, die in ihrer Zusammensetzung relativ konstant ist, sich aber im Laufe der verschiedenen Lebensabschnitte physiologisch verändert.

Die Vaginalflora verändert sich physiologisch im Lauf der verschiedenen Lebensabschnitte.

■ Neugeborenenflora

Unmittelbar nach der Geburt siedeln sich noch unter dem Einfluss der mütterlichen Östrogene in der Säuglingsvagina Laktobazillen an, die aber schon nach wenigen Wochen nicht mehr nachweisbar sind und sich erst ab der Menarche wiederfinden.

Präpubertär Präpubertär besteht die Vaginalflora hauptsächlich aus Anaerobiern und Kokken, die Vaginalkeime entsprechen der Fäkalflora. Es sind keine Laktobazillen vorhanden.

■ Menarche bis zur Menopause

Die typische Vaginalflora etabliert sich mit Beginn der Menarche. Sie besteht überwiegend aus verschiedenen Laktobazillenarten und in Abhängigkeit vom Zyklusstatus aus fakultativ pathogenen aeroben und anaeroben Keimen. Die Anaerobier bilden nach Anzahl der Arten und nach der Menge den größten Anteil.