



Vaginale Infektionen

Polymikrobielle Gemeinschaften bei der bakteriellen Vaginose

Die bakterielle Vaginose (BV) stellt die häufigste vaginale Infektion bei Frauen im reproduktiven Alter dar und ist durch einen übelriechenden vaginalen Ausfluss gekennzeichnet. Die genauen Pathomechanismen der BV waren bisher weitgehend ungeklärt, was die Entwicklung effektiver und rezidivfreier Therapiemethoden erschwerte. Ein neues Herangehen mit Ganz-Zell FISH, PCR und Sequenzierung eröffnet jedoch tiefe Einblicke in diese polymikrobielle Erkrankung.

Im Jahr 1955 beschrieben Gardner und Duker eine Erkrankung mit übelriechendem vaginalem Ausfluss. Die Vaginalabstriche enthielten dicht mit Bakterien ummantelte Epithelzellen, die bei Gesunden fehlten. Das Merkmal wurde als diagnostischer Schlüssel bewertet und aus diesem Grund «Schlüsselzellen» genannt. Mittels Bakterienkultur gelang die Isolierung einer zuvor unbekannten Bakterienspezies – *Gardnerella* (früher *Häemophilus*) *vaginalis*. Nach der Übertragung von Vaginalsekreten erkrankter Frauen auf Gesunde traten bei ihnen die typischen Symptome der Erkrankung auf.¹

Doch das Rätsel der Ätiologie blieb ungeklärt, denn der mutmaßliche Erreger wurde nicht nur bei erkrankten, sondern auch bei ca. 50% gesunder Frauen gefunden.² *Gardnerella*-Isolate erwiesen sich zudem als nicht infektiös. Ihre Übertragung auf Freiwillige blieb überwiegend ohne klinische Folgen und führte lediglich in einem von 13 Fällen zu typischer Symptomatik.¹ Andere Bakterienspezies korrelierten noch weniger mit der Erkrankung. Klassische Entzündungszeichen wie Leukozyten fehlten. Die Erkrankung wurde daraufhin in «bakterielle Vaginose» (BV) umbenannt, wobei die bis dahin ungewöhnliche Endung «ose» die nicht infektiöse Genese unterstreichen sollte.²

Wenn keine Infektion, was dann?

Döderlein beschrieb in Vaginalabstrichen gesunder Frauen grosse Laktobazillen-Stäbchen, welche in BV-Ausstrichen fehlten. Die Laktobazillendepletion wurde zur möglichen Erkrankungsursache erklärt. Demnach verhindern Laktobazillen die Ansiedlung ande-

rer Keime, ihr Verschwinden führt hingegen zur Überwucherung mit Konkurrenten. Auch diese Deutung hinkt und wirft mehr Fragen auf als sie beantwortet. Wieso sollten «Neuankömmlinge» in der Vagina besser wachsen als die hochspezialisierten Laktobazillen? Warum verschwinden Laktobazillen, wo sie doch ubiquitär vorkommen? Warum lässt sich die Dominanz von Laktobazillen bei keinem Säugetier, abgesehen vom Menschen, nachweisen? Sollte es sich um besondere humane Stämme handeln, so müsste Sex mit verschiedenen Partnern den Laktobazillenpool auffrischen können. Die Wahrscheinlichkeit, fehlende Laktobazillen zu empfangen, müsste mit der Anzahl sexueller Kontakte steigen. Alle epidemiologischen Studien zeugen vom Gegenteil. Die BV tritt am häufigsten im sexuell aktiven Alter auf und ihr Vorkommen steigt mit zunehmender Zahl an Partnern.³ Warum zeigt die Applikation von Laktobazillen bei der BV-Therapie deutlich schwächere Effekte als Antibiotika und verhindert Rezidive nicht?

Diagnostik

Der Streit über die Ätiologie der BV ist keine Haarspalterei. Denn wie soll man mit einer Krankheit umgehen, von der man nicht weiss, worin diese besteht? Für die Diagnostik werden derzeit die Amsel-Kriterien, lichtmikroskopische Verfahren (z. B. Nugent Score) sowie unterschiedliche Multiplex-PCR- und Sequenzierungsprotokolle (NGS) herangezogen.⁴

Die Amsel-Kriterien⁵ bestätigen eine BV, wenn drei der vier folgenden Merkmale zutreffen:

1. verstärkter, grau-weißer Fluor mit
2. fischigem Geruch insbesondere nach Zugabe von Kalilauge
3. pH > 4,5
4. Nachweis von Schlüsselzellen im Nativpräparat

Der Nugent Score⁶ quantifiziert verschiedene Morphotypen im Grampräparat nach einem Punktwert von 0 bis 12, wobei 0 bis 3 einer gesunden Mikrobiota bzw. 7 bis 10 einer sicheren BV entsprechen. Die Anwesenheit von >30 Laktobazillen im Gesichtsfeld ist das entscheidende Kriterium, das eine BV ausschliesst, gram-labile, kokkoide Stäbchenbakterien bilden absteufend den Gegenpol.

Sowohl die Amsel-Kriterien als auch der Nugent Score erfordern ein Mikroskop, Reagenzien und Erfahrung beim Mikroskopieren, über die immer weniger Ärzte verfügen. Die BV-Diagnostik wird zunehmend an Laboratorien delegiert, wobei die klinische Symptomatik dabei buchstäblich auf der Strecke bleibt. Im Labor kann das mikroskopische Bild nicht direkt mit den Beschwerden korreliert werden. Zudem verändert sich während des Transports das Untersuchungsmaterial. Um eine objektivere Beurteilung zu erhalten, greift man zunehmend zu molekulargenetischen Methoden. Sowohl PCR als auch NGS sind extrem empfindliche Nachweisverfahren, die jegliche Bakterienarten nachweisen können. Da jedoch kein spezifisches Pathogen bekannt ist, werden ihre Ergebnisse mit den Amsel- und Nugent-Kriterien korreliert und können über deren diagnostische Bedeutung nicht hinausgehen. Die



K.S. Storozheva, Sankt Petersburg
L.A., Tarnaeva, Moskau

erhaltenen detaillierten Auflistungen individueller Spezies gleichen den Eintragungen in einem Telefonbuch. Dabei wird vollkommen übersehen, dass Bakterien in ihrer natürlichen Umgebung nie in unzusammenhängenden Ansammlungen vorliegen wie ihre bloße Aufzählung suggeriert. Sie bilden Gemeinschaften, die wie militärische Formationen agieren. Was für eine Gemeinschaft leicht ist, erweist sich ausserhalb des Verbands als unmöglich, daher bleiben sie fest miteinander verbunden. Aus solchen polymikrobiellen Kooperationen ist vor 1,5 Milliarden Jahren der Eukaryot entstanden. Die einzelnen Organellen der Eukaryotenzelle wie Ribosomen, Kern, Mitochondrien waren einst eigenständige einzellige Lebewesen. Die Evolution band sie über Millionen von Jahren eines gemeinsamen Auftretens unzertrennlich aneinander. Die Überlegenheit der Eukaryoten ist enorm. Die vielfältigen unterschiedlich konsolidierten prokaryotischen Vorstufen sind jedoch nicht verschwunden. Sie besiedeln weiterhin alle Biotope der Erde. Beispiele für solche polymikrobiellen Gemeinschaften sind Stromatolithen, kohäsive, frei schwimmende Schlämme («sludge») sowie an Oberflächen anhaftende Biofilme.

Der Medizin waren derartige polymikrobielle Gemeinschaften als Krankheitsursache bis vor Kurzem unbekannt, was daran liegt, dass unsere Methoden sich vorwiegend auf den alleinigen Nachweis von Mikroorganismen, nicht aber ihrer strukturellen Bindungen richten. Die Methode der Ganz-Zell-FISH (Ribosomale-RNA-Ganz-Zell-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) schliesst diese Lücke.⁷

Ribosomale-RNA-Ganz-Zell-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

Bakterienzellen sind prall gefüllt mit Ribosomen. Jedes Bakterium besitzt 10^3 – 10^5 Ribosomen, wobei jedes Ribosom gruppen- und artspezifische RNA-Abschnitte aufweist. Eine Hybridisierung mit Fluoreszenzfarbstoff-markierten RNA-spezifischen Oligonukleotiden visualisiert daher nicht nur einzelne Gene, sondern das gesamte Bakterium, wodurch sie in ihren Beziehungen zueinander und zu den Wirtszellen sichtbar gemacht werden. Ganz-Zell-FISH-Untersuchungen haben unsere Vorstellungen von der bakteriellen Vaginose grundlegend verändert.⁸

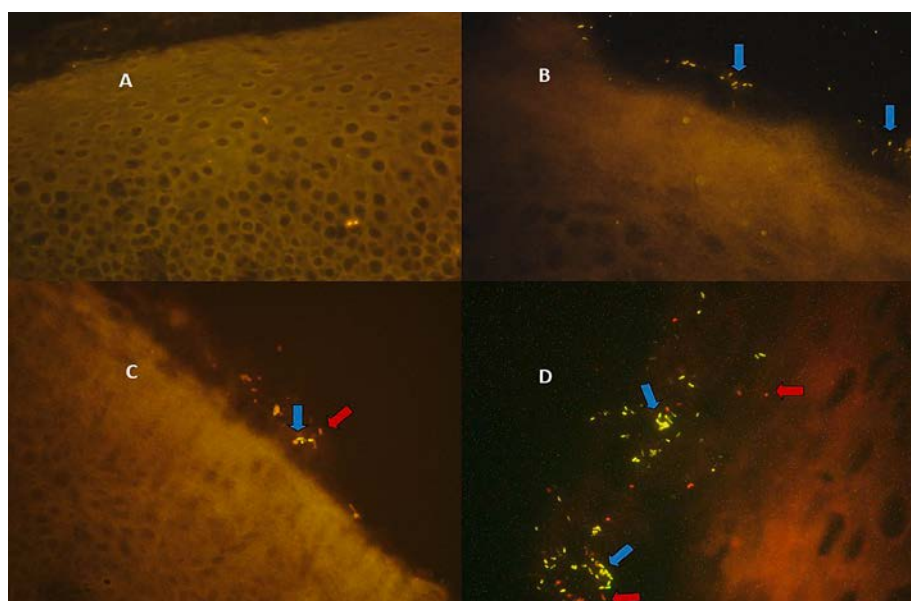


Abb. 1A–D: Ganz-Zell-FISH vaginaler Biopsien gesunder Frauen. Laktobazillen gelb, *Gardnerella* rot, rote Pfeile, $\times 400$

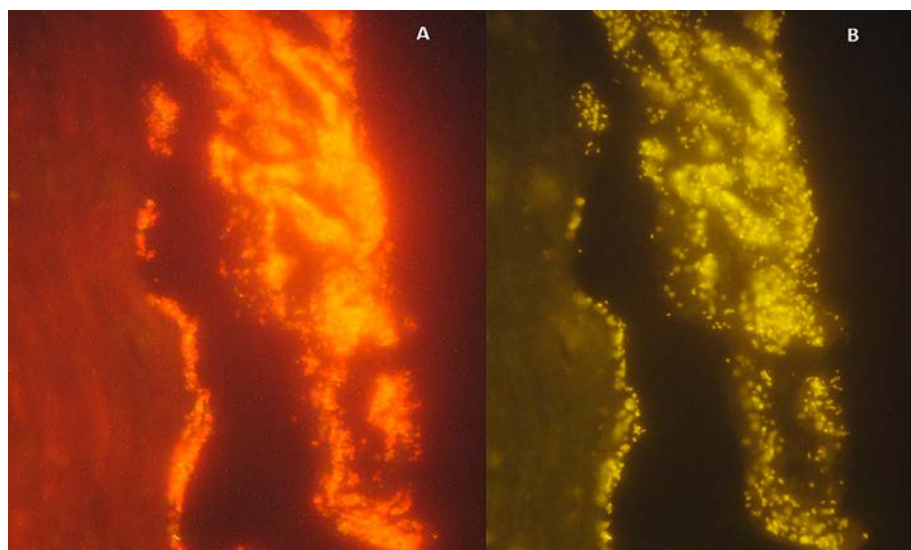


Abb. 2A–B: Ganz-Zell-FISH der vaginalen Biopsie einer BV-Patientin. *Gardnerella* rot, *Fannyhessea* gelb $\times 400$

Abbildung 1 zeigt die mehrfarbige Ganz-Zell-FISH-Untersuchung vaginaler Biopsien gesunder Frauen. Bakterien liegen in einer Konzentration von $<10^7$ und unstrukturiert im Schleim verteilt vor. Dabei dominieren Laktobazillen (gelbe Fluoreszenz), dazwischen befinden sich andere, weniger häufige Arten, einschliesslich *Gardnerella* spp. (rote Fluoreszenz). Es gibt weder einen offensichtlichen Antagonismus zwischen den einzelnen Arten noch feste Bindungen zueinander oder zur Biopsioberfläche. Dagegen sind die Mikroorganismen bei der BV in strukturierten Gemeinschaften organisiert, am häufigsten als Biofilm (Abb. 2A–B). Die Bakterien errei-

chen Konzentrationen von 10^{10-11} /ml, wobei kohäsive *Gardnerella* spp. das Rückgrat des Biofilms bilden (Abb. 2) und adhäsiv mit dem Vaginalepithel verbunden sind. Der BV-Biofilm bietet einen geschützten Lebensraum für eine Vielzahl anderer Spezies wie *Fannyhessea* (früher *Atopobium*) *vaginae*, (*Fannyhessea* gelb, *Gardnerella* rot, Abb. 2).

Aufgrund der extrem hohen Bakterienkonzentration, Artenvielfalt und Dichte unterscheidet sich das Aussehen von Bakterien im Biofilm stark von den «frei lebenden Verwandten», so wie eine Eiche im Wald sich von einer Eiche am Feldrand unterscheidet. Das trifft zum Beispiel auf Laktobazillen zu, die innerhalb des BV-Biofilms

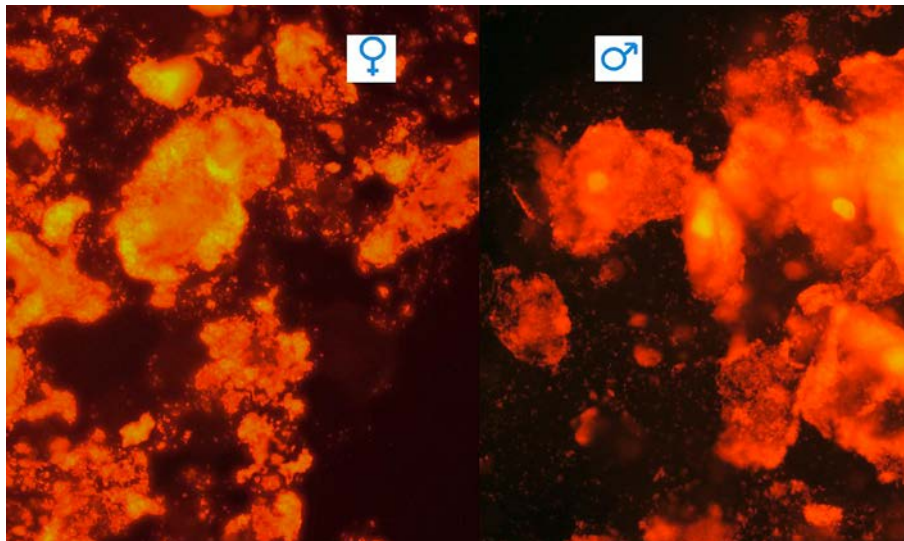


Abb. 3: Ganz-Zell-FISH – Schlüsselzellen in Urinsedimenten einer BV-Patientin und ihren männlichen Partners. *Gardnerella rot* x 400

sehr viel kürzer erscheinen als innerhalb gesunder Vaginalmikrobiota.

Jede am Biofilm beteiligte Spezies bereichert die funktionalen Möglichkeiten des Konsortiums. Welche davon existenziell für die Biofilmbildung sind und welche nur opportunistische Begleiter, ist noch zu ermitteln. Bewiesen ist jedoch, dass es sich bei verschiedenen BV-Patientinnen nicht um den gleichen Biofilm, sondern um ein Syndrom mit verschiedenen zusammengesetzten und konsolidierten Biofilmgemeinschaften handelt.²

Wenn die Infektionsursache bei der BV kein einzelnes Bakterium, sondern der vaginale Biofilm ist, so müsste er eine Infektionskette bilden können. Das ist in der Tat der Fall. Was Gardner als bakterienbedeckte Schlüsselzellen beschrieb, sind nachweislich desquamierter Epithelzellen, die vom Biofilm ummantelt sind. Sie sind nicht nur ein diagnostisches Merkmal, sondern auch Übertragungsvektor der Erkrankung. Beim Urinieren werden Epithelzellen der Vagina bzw. der Penisvorhaut und distalen Harnröhre abgespült, die sich im Sediment nachweisen lassen. Ganz-Zell-FISH-Untersuchungen des Urinsediments von je 100 Männern, Frauen und Kindern bestätigten das Vorhandensein von biofilmtragenden Schlüsselzellen bei 7 bis 13 % einer unselektierten Erwachsenenpopulation, nicht aber bei Kindern. Im Gegensatz dazu waren disperse, d.h. einzeln liegende und unstrukturierte *Gardnerella*-Bakterien gleich häufig in allen Gruppen nachweisbar.¹⁰ Bei 70 Paaren, die ein Kind erwarteten und präventiv eine Schwangerenberatung aufsuchten, waren alle Partner

von Frauen ohne Schlüsselzellen ebenfalls negativ. 13 männliche Partner von 18 BV-positiven Frauen hatten dagegen biofilmtragende Schlüsselzellen in ihrem Urinsediment (Abb. 3).¹⁰ Offensichtlich erfordert die Übertragung des polymikrobiellen Biofilms den Austausch von Sekreten, die Schlüsselzellen tragen, wie z.B. Präputiumzellen oder Sperma. Bei der Untersuchung von 20 Spermaproben einer humanen Kryobank wurden in vier von ihnen biofilmtragende Schlüsselzellen gefunden.¹¹

Fazit

Die bakterielle Vaginose ist ein komplexes Syndrom, dem strukturierte polymikrobielle Gemeinschaften zugrunde liegen. Der Zusammenschluss und die Kooperation der Mikroorganismen untereinander ermöglichen es diesen, die Immunreaktionen des Wirtes zu umgehen und dort zu gedeihen, wo ein einzelner Erreger keine Chance hat. Die häufigste Ursache der BV ist der polymikrobielle *Gardnerella*-Biofilm mit einer Vielzahl darin eingeschlossener Partner-Mikroorganismen, die seine pathogenen Möglichkeiten erweitern. Der Biofilm kann nur als Ganzes wachsen und über direkten Kontakt mittels biofilmtragender Schlüsselzellen sexuell übertragen werden. Er betrifft stets beide Sexualpartner. Daneben existieren viele andere Formen polymikrobieller Interaktionen, die sich in kohäsiivem «sludge», «triplets», «quartets» äussern und eigene pathogene, saprophytische und antagonistische Eigenschaften aufweisen. Ihre Erscheinungsformen und spezifische Bedeu-

tung sind der Medizin noch zum grössten Teil unbekannt. Die Aufdeckung, Handhabung und Therapie polymikrobieller Gemeinschaften bei vaginalen, aber auch anderen Infektionen wie Colitis, Tonsillitis, Stomatitis etc. ist daher eine zentrale Herausforderung der Infektiologie des 21. Jahrhunderts. ■

Autor:innen:

Dr. med. **Sonja Swidsinski**¹

Dr. med. **Alexander Swidsinski**²

Ksenia S. Storozheva³

Liana A. Tarnaeva⁴

¹ Hauptstadtlabor MVZ, Berlin

² Molekulargenetisches Labor für Polymikrobielle Infektionen und Biofilme, Charité,

Universitätsmedizin Berlin

Institut für öffentliche Gesundheit, I.M. Sechenov

Medizinische Universität, Moskau

³ D.D.Ott Institut für Geburtshilfe und

Gynäkologie, Sankt Petersburg

⁴ V.I. Kulakov Zentrum für Gynäkologie und

Rehabilitation, Moskau

Korrespondierende Autorin:

Dr. med. **Sonja Swidsinski**

E-Mail: s.swidsinski@hauptstadtlabor.berlin

■12

Literatur:

- 1** Gardner HL, Dukes CD: Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified non-specific vaginitis. Am J Obstet Gynecol 1955; 69(5): 962-76
- 2** Spiegel CA: Bacterial vaginosis. Clin Microbiol Rev 1991; 4(4): 485-502
- 3** Fethers KA et al.: Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2008; 47(11): 1426-35
- 4** Vieira-Baptista P et al.: International Society for the Study of Vulvovaginal Disease recommendations for the diagnosis and treatment of vaginitis. Lisbon: Admedic 2023; doi:10.59153/adm.rdtv.001
- 5** Amsel R et al.: Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. Am J Med 1983; 74(1): 14-22
- 6** Nugent RP et al.: Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. J Clin Microbiol 1991; 29(2): 297-301
- 7** Swidsinski A, Loenning-Baucke V: Evaluation of polymicrobial involvement using fluorescence in situ hybridization (FISH) in clinical practice. In: Liehr T (ed): Fluorescence In Situ Hybridization (FISH). Springer Protocols Handbooks. Springer, Berlin, Heidelberg: 2009. https://doi.org/10.1007/978-3-662-52959-1_52
- 8** Swidsinski A et al.: Infection through structured polymicrobial Gardnerella biofilms (StPM-GB). Histol Histopathol 2014; 29(5): 567-87
- 9** Swidsinski A et al.: Polymicrobial consortia in the pathogenesis of biofilm vaginosis visualized by FISH. Historic review outlining the basic principles of the polymicrobial infection theory. Microbes Infect 2024; 26(8): 105403
- 10** Swidsinski A et al.: Gardnerella biofilm involves females and males and is transmitted sexually. Gynecol Obstet Invest 2010; 70(4): 256-63
- 11** Swidsinski A et al.: Desquamated epithelial cells covered with a polymicrobial biofilm typical for bacterial vaginosis are present in randomly selected cryopreserved donor semen. FEMS Immunol Med Microbiol 2010; 59(3): 399-404