Aus der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe des Vivantes Klinikum Am Urban
und der Praxis Lemm
Bötzowstr.10 in 10407 Berlin

DISSERTATION

Untersuchungen zur vaginalen und kolorektalen Flora und zur bakteriellen Vaginose in der Schwangerschaft bei Frauen und ihren Partnern

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charitè-Universitätsmedizin Berlin

von
Vesna Lemm
aus Kula (Serbien)

Gutachter/in: 1.Prof. Dr. med. W. Mendling

2 Prof. Dr. med. W. Hatzmann

3.Prof. Dr. med. J. Martius

Datum der Promotion: 19.11.2010

Dissertation

Untersuchungen zur vaginalen und kolorektalen Flora und zur bakteriellen Vaginose in der Schwangerschaft bei Frauen und ihren Partnern

DANKSAGUNG

Ich danke als erstes meinem Doktorvater um geduldige, vielfache und vor allem schnelle Korrekturen.

Meinen Arzthelferinnen Doreen Stern und Christiane Liezmann danke ich für den freundlichen und kompetenten Umgang mit meinen Patientinnen/Probandinnen. Christiane Liezmann danke ich darüber hinaus für die Korrekturen meiner legasthenischen Fehler.

Meinen beiden Kindern danke ich, dass sie sehr früh verstanden haben, wie wichtig mein Beruf für mich ist und sie mir das zeitintensive Schreiben dieser Arbeit nie zum Vorwurf gemacht haben.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 8
1.1 Die vaginale Normalflora 8
1.1.1 Laktobazillen: entscheidender Bestandteil physiologischer Vaginalflora 9
1.1.2 Weitere Bakterien der vaginalen Normalflora 11
1.2 Bakterielle Vaginose (BV) 14
1.2.1 BV während der Schwangerschaft 18
1.2.2 Die Behandlungsmöglichkeiten der BV 20
2 Ziele 23
3 Hypothesen 24
4 Material und Methoden 25
4.1 Studiendesign 25
4.2 Datenerhebung: 25
4.3 Material 25
4.4 Methoden 26
4.4.1 pH-Wert 26
4.4.2 Vaginalstatus 26
4.4.3 Nugent-Score 27
4.4.4 Urinentnahme und Fixierung 28
4.4.5 Urinuntersuchung mit der Fluoreszenz- *In situ* -Hybridisierung (FISH) 28
4.4.6 Stuhlstatus 29
4.4.7 Polymerase-Chain-Reaction (PCR) im Stuhl 29
4.5 Ein- und Ausschlusskriterien: 30
4.6 Statistik 30
4.7 Fragenbogendesign 31

5 Ergebnisse 32
5.1 Alter / Schwangerschaftswoche 32
5.2 Vaginale Beschwerden und Art der Beschwerden 32
5.3 Vaginaler Status 34
5.4 pH-Wert und veränderte vaginale Flora 39
FISH aus Urin 41
5.5 Nugent-Score und Entbindung 44
5.6 Korrelation von vaginalen und im Stuhl befindlichen H_2O_2-bildenden Laktobazillen 44
5.7 Korrelation von Gardnerella vaginalis in Vagina und Stuhl 45
6 Diskussion 46
7 Zusammenfassung 56
8 Literaturverzeichnis 59
9 Lebenslauf 63
10 Eidesstattliche Erklärung 64

Abkürzungsverzeichnis

BV	Bakterielle Vaginose
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindol
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
NaCl	Natriumchlorid
FISH	Fluoreszenz In-Situ Hybridisierung
RT	Raumtemperatur
SDS	Sodium-Dodecyl-Sulfat
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan

1 Einleitung

1.1 Die vaginale Normalflora

Neugeborene kommen praktisch völlig keimfrei auf die Welt (37). Die Besiedlung aller Oberflächen (Haut, Mucosa-assoziierte: Darm, alle Schleimhäute etc.) mit Keimen wird während der Geburt durch den Kontakt mit der mütterlichen Haut-, Vaginal- und Darmflora über den natürlichen Geburtsvorgang und während des Stillens über die Muttermilch eingeleitet. Alle primären Keime sind somit durch die mütterlichen Keime vorgegeben.

In den ersten Lebensjahren bis zur prämenstruellen Phase wird das atrophische Epithel der Vagina junger Mädchen von Darmkeimen wie *Escherichia coli* und Proteusarten dominiert. Später in der prämenstruellen Phase können sich des weiteren Corynebakterien, Clostridien und *Bacteroides fragilis* auf dem Vaginalepithel ansiedeln. Aufgrund des fehlenden Glykogens (keine Glykogenbildung ohne Östrogene) in dieser Lebensphase finden sich keine *Laktobazillus*-Arten und Hefepilze in dieser vaginalen Flora, wohl aber im Darm. Die gleiche Zusammensetzung von o.g. Keimen findet sich auch bei Frauen in der Postmenopause, wenn sie nicht hormonsubstituiert sind (37).

Die Aufrechterhaltung der gesunden vaginalen Flora, bzw. des physiologischen Scheidenmilieus (siehe nachstehenden Abschnitt) ist ein wichtiger Eckpfeiler in der Abwehr von fakultativ pathogenen Keimen, die bei fortpflanzungsfähigen Frauen beim Geschlechtsverkehr in die Vagina eindringen können. Der im Gebärmutterhals befindliche Schleimpfropf hindert die Keime physikalisch am Aufwärtswandern. Biochemisch werden Keime durch die lokal vorhandene Immunabwehr in Schach gehalten, der Eileiter besitzt die Möglichkeit, sich im Fimbrienbereich bei einer Infektion mechanisch zu verschließen (37).

Des weiteren sorgen die Sexualhormone einer Frau im gebärfähigen Alter zusätzlich für Stabilisierung des lokalen Scheiden-Immunsystems. Ein weiterer wichtiger Faktor ist der durch physiologische Scheidenbakterien bestimmte pH-Wert, der als Wachstumsmillieu nicht für fakultativ pathogene Keime geeignet ist und diese damit im Wachstum hemmt (37).

1.1.1 Laktobazillen: entscheidender Bestandteil physiologischer Vaginalflora

Nach der Erfindung und Entwicklung des Mikroskops wurden auch die ersten vaginalen Sekrete mikroskopisch untersucht; hierbei wurden *Trichomonaden* und Pilze im Vaginalsekret gefunden. Albert Döderlein beschrieb als erster gram-positive stäbchenförmige Bakterien, Laktobazillen, in der gesunden vaginalen Flora – die später auch nach ihm als Döderlein‘sche Flora bezeichnet wurde und bis heute als physiologische Scheidenflora verstanden wird.

In den Jahren danach wurden die entdeckten Laktobazillen-Spezies bzw. die Döderlein‘sche Flora näher definiert und die Vaginalflora in verschiedene Reinheitsgrade unterteilt (51). Die unterschiedlichen Grade beschrieben die vorhandene Menge an s.g. gesunder Döderlein’sche Flora und oder anderen Keimen. Es gibt aber auch einige Frauen ohne Laktobazillen, aber gesunden Scheidenverhältnissen und normalem pH-Wert.

Zu den verschiedenen Spezies in der gesunden vaginalen Flora gehören nach heutigem Verständnis: *Lactobacillus (L.) crispatus, L. gasseri, L. iners und L. jensenii*. Für eine gesunde vaginale Flora kommt es dabei besonders auf die Quantität und Qualität der H_2O_2 –produzierenden Laktobazillen an (12).

Die gesunde Vaginalflora besteht aus mindestens 50 verschiedenen Bakterienspezies (nachgewiesen durch herkömmliche Kulturtechniken), die in ihrer Zusammensetzung davon abhängt, in welcher Reproduktionsphase sich die Frau

befindet und welchen Faktoren die Vaginalflora ausgesetzt ist: so zum Beispiel Spermizide oder Antibiotikabehandlungen/ -applikationen, welche die gesunde Vaginalflora beeinflussen können (47). Die vorherrschenden Bakterien bei Frauen in der Prämenopause mit physiologischer Vaginalflora sind aber die der Gattung Laktobacillus (s.o.), die sich durch folgende Eigenschaften auszeichnet (37, 47):

- Sie produzieren in der Hauptsache Milchsäure und in geringerem Maße auch Essigsäure,
- Sie können Sauerstoff zu H_2O_2 reduzieren und ihn dadurch detoxifizieren,
- Sie produzieren Metabolite, s.g. Bakteriozine (proteinogene Toxine), die zusammen mit der gebildeten Milchsäure und dem Wasserstoffperoxid das Wachstum von fakultativ pathogenen Keimen hemmen,
- Sie behindern die Adhäsion von Bakterien am vaginalen Epithel durch Bildung von Biosurfactants (oberflächenaktive Substanzen, die die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten senken und Emulsionen stabilisieren können)
- Sie hemmen die Ausbreitung fakultativ pathogener Keime durch Bildung von Koaggregationsmolekülen (Oberflächenadhäsionsmoleküle, die Bakterien aneinander heften lassen, Erzeugung eines Biofilms)

In einem Milieu, in dem Laktobazillenspezies vorherrschen, werden schädliche *Trichomonaden-, Gonokokken*-, *Chlamydien*-, *Spirochäten*-, HIV-, HPV-Spezies u. a. auf natürliche Weise durch die Bildung der o.g Milchsäure und Bildung von Wasserstoffperoxid in ihrer Vermehrung gehemmt.

Milchsäurebakterien sind grampositive Bakterien und bilden keine Sporen (37). Der Anteil von Milchsäure, der von den Laktobazillen in der Scheide gebildet wird, kann 6 - 18 mg des gesamten Scheideninhalts betragen (27). Auch Streptokokken- und Staphylokokkenstämme sowie *Escherichia coli* sind in der Lage, Milchsäure zu produzieren, die gebildeten Mengen sind aber für das Milieu der physiologischen Scheidenflora nicht entscheidend. Bei gesunden Frauen sind 96% der Laktobazillen

H_2O_2-bildend (12).

Der pH-Wert der Scheide unterliegt zyklischen Schwankungen. So nimmt er während der Östrogenisierung und in der progesteroninduzierten Zytolyse prämenstruell ab (21, 37).

Laktobazillen reagieren empfindlich auf Behandlung mit Betalaktamantibiotika, so z.B. Amoxycillin bzw. Cephalosporine, weniger empfindlich reagieren sie auf Doxycyclin (37). Forschungsarbeiten zeigten, dass nach einwöchiger Behandlung mit Metronidazol (oral, 2 mal 500 mg) die normale Scheidenflora wieder hergestellt war (40). Dies liegt daran, dass Laktobazillen eine natürliche Resistenz gegenüber Metronidazol besitzen (2).

1.1.2 Weitere Bakterien der vaginalen Normalflora

Obwohl die gesunde Scheidenflora durch Milchsäurebakterien dominiert wird, die den pH-Wert bestimmen, gibt es noch weitere aerobe sowie vorwiegend anaerobe Spezies. Sie sind in der normalen Scheidenflora mikroskopisch schwer nachweisbar, können jedoch mit den üblichen Kultivierungstechniken für vaginale Keime nachweisbar gemacht werden. Bakterien, die neben milchsäurebildenden Spezies in der Scheidenflora zu finden sind, sind: *Prevotellaarten, Porphyromonasarten, Peptostreptokokken (alles Anaerobier) Staphylokokken, Streptokokken* und *Escherichia coli, Enterococcus faecalis und* Candida-Arten (37). Alle genannten Keime sind in geringer Zahl vorhanden (10^2 - 10^4/ml).

Bei 495 gesunden Frauen wurden in 6,6% der Fälle *Staphylococcus aureus*, in 10,6% *Streptococcus sp.* und in 19% der Fälle *Candida albicans* gefunden (9).

Ebenfalls häufig sind in der Vaginalflora Mycoplasmen nachzuweisen. Nachdem man über 30 Jahre hinweg glaubte, Mycoplasma hominis und Ureaplasma urealyticum seien klinisch bedeutungslos, wurde in den letzten Jahren die Anwesenheit von

Mycoplasmen in der vaginalen Flora während der Schwangerschaft in den Zusammenhang mit der Auslösung von Frühgeburten gebracht. Besonders galt dies für *Ureaplasma urealyticum.* Ein Screening im ersten Trimenon wurde sogar vorgeschlagen (58). Eine aktuellere Studie aus Lettland zeigte jedoch, dass es keine Hinweise auf eine Rolle von Mycoplasmen bei der Frühgeburt gibt (49) bzw. deren Rolle unklar ist. Das betonte auch kürzlich Romero (50). Mycoplasma genitalium hat allerdings sicher infektiöse Bedeutung, ist aber zurzeit noch nicht in kommerziellen Labors auszüchtbar.

Zu den anaeroben Keimen, die in der normalen Scheidenflora gefunden wurden und transient vorhanden sind, gehören *Mobiluncus*-Arten und *Atopobium vaginae* (37). *Mobiluncus* ist ein strikt anaerobes, sichelförmig gebogenes, durch Geißeln bewegliches Bakterium. *Atopobium vaginae* ist ein gram-positives, anaerobes, metronidazol-resistentes, kokkoides Stäbchen und wird häufig bei bakterieller Vaginose (BV) als ein wichtiger Kofaktor bei der Biofilmbildung in der BV gefunden (54).

Tabelle 1: Wichtige, transient vorhandene, anaerobe Bakterien in der gesunden Normalflora. Entnommen aus (37).

Heutige Nomenklatur	Frühere Nomenklatur
Porphyromonas asaccharolytica	*Bacteroides asaccharolyticus*
Prevotella intermedia	*Bacteroides intermedius*
Prevotalle bivia	*Bacteroides disiens*
Prevotella melaninogenica	*Bacteroides melaninogenicus*
Bacteroides fragilis	*Bacteroides fragilis*
Bacteroides thetaiotaomicron	*Bacteroides thetaiotaomicron*
Peptostreptococcus asaccharolyticus	*Peptococcus asaccharolyticus*
Peptostreptococcus magnus	*Peptococcus magnus*
Peptostreptococcus anaerobius	*Peptostreptococcus anaerobius*
Peptostreptococcus vaginalis	-
Mobiluncus curtisii	*Kommabakterien, anaerobe Vibrionen*
Mobiluncus mulieris	*Kommabakterien, anaerobe Vibrionen*
Gardnerella vaginalis	*Haemophilus vaginalis, Corynebacterium vaginale*
Atopobium vaginae	-

Mit modernen Techniken wie der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden mittlerweile noch differenziertere Einblicke in die Bakteriologie der Scheide gewonnen (16)

1.2 Bakterielle Vaginose (BV)

H. L. Gardner beschrieb 1954 (18) ein gramnegatives Stäbchen in Vaginalkulturen bei 141 von 1181 (12%) untersuchten Frauen. Er nannte es *Haemophilus vaginalis* und das Krankheitsbild *Haemophilus vaginalis*-*Vaginitis* (18). Auf einem ersten internationalen Kongress 1982 in Kristiansand, Norwegen, wurde das Krankheitsbild der bakteriellen Vaginose (BV) namentlich und inhaltlich definiert (41). *Gardnerella vaginalis* ist ein Gram-variables Stäbchen und ist mit den gram-positiven Bifidobakterien verwandt, sie kann sich mit Pili anheften, aber auch mit Hilfe eines Kapselpolysaccharids. Ihre Stoffwechselprodukte hemmen wahrscheinlich andere Anaerobier (37). *Gardnerella vaginalis* ist der vorherrschende Keim im adhärenten Biofilm bei BV (41, 54, 55).

Das Krankheitsbild der BV ist bisher als vaginale Dysbiose charakterisiert, da sich die physiologische Döderleinflora (s. 1.1.1) krankhaft verändert zeigt. Bei BV sind nur noch 6% H_2O_2 bildende Laktobazillen zu finden (12, 13). Warum sie abnehmen oder die Fähigkeit verlieren H_2O_2 zu bilden, ist nicht bekannt.

Das klinische Symptom ist übel riechender Ausfluss, wobei keine Kolpitis vorliegt und auch mikroskopisch keine vermehrte Leukozytenzahl zu finden ist (20, 37). Gardner und Dukes sind trotz nur 3 von 4 erfüllten Kriterien der Koch‘schen Postulate für BV davon ausgegangen, dass es sich hier aufgrund der Bestätigung Postulate 1, 2 und 3 (s. Tabelle 2), um eine obligat sexuell übertragbare, neu entdeckte Krankheit handele. Weitere Gründe waren, dass bei 6 Partnern von 9 erfassten Frauen mit rezidivierender BV dieser Keim isoliert wurde.

Die BV ist nach bisheriger Auffassung aber keine durch Geschlechtsverkehr übertragbare Krankheit wie zum Beispiel die Trichomoniasis. Verkehr mit

wechselnden Partnern scheint jedoch ein Risiko darzustellen. Wie die verschiedenen Faktoren die Krankheitsentwicklung beeinflussen, ist jedoch bis heute nicht ausreichend geklärt (37).

Tabelle 2: Die 4 Koch'schen Postulate bei der BV nach der Argumentation von Gardner und Dukes (41).

Postulat	***Das Bakterium muss in jedem Fall der Krankheit gefunden werden.***	Bei 92 % der Patientinnen wurde Haemophilus vaginalis gefunden.
Postulat	***Es muss isoliert werden können und in einer Reinkultur wachsen.***	Dieser Vorgang gelang.
Postulat	***Das Bakterium, in einer Reinkultur gezüchtet, muss inokuliert wieder die Erkrankung hervorrufen***	Von 13 freiwilligen gesunden Frauen erkrankten nach Inokulation 10 Frauen nicht, 2 der drei verbliebenen hatten 2-3 Monate lang positive Kulturen mit *Haemophilus vaginalis* ohne klinische Symptome, nur bei einer Frau kam es aber zur BV
Postulat	***Das Bakterium muss danach wieder rekultiviert werden können.***	Das Postulat erfüllte sich bei der einen genannten inokulierten Patientin.
		15 weiteren freiwilligen gesunden Frauen wurden der Fluor von an „*Hämophilus vaginalis-Vaginitis*" erkrankten Frauen in die Scheide appliziert, 11 davon entwickelten die Symptome der heute als typische BV beschriebenen Erkrankung, 8 davon innerhalb von 7 Tagen!

Es ist bekannt, dass bei gesunden Frauen und sogar bei jungen Frauen, die noch keinen Geschlechtsverkehr hatten, *Gardnerella vaginalis* gefunden worden kann. Bei gesunden Frauen liegt die Konzentration bei maximal $5x10^5$/ml Keimen im vaginalen Abstrich. Eine BV weist dementsprechend eine Zahl von $\geq 10^7$/ml Keimen/ pro Art auf. Andere anaerobe Keime verändern sich von 10^4/ml auf 10^7/ml. Mycoplasma hominis steigt von 10^2/ml auf 10^6/ml an, wogegen die Zahl der Laktobazillen von $8x10^6$/ml auf

$3x10^6$/ml abnimmt (37).

Die nachstehenden Tabellen geben beispielhaft Aufschluss über Keime, die bei der BV zu finden sind:

Tabelle 3: Prävalenz und Keimkonzentration in der Vaginalflüssigkeit von Frauen mit BV (n=67) sowie einer beschwerdefreien Kontrollgruppe (n=28). Nach Eschenbach aus (26). (*p<0,001, **p<0,01)

Keim	Prävalenz ((%)		Konzentration (ml^{-1})	
	BV	Kontrolle	BV	Kontrolle
Gardnerella vaginalis	100	50*	$1,3x10^7$	$9,7x10^{5*}$
Anaerobier	100	50*	$3,6x10^7$	$5,6x10^{4*}$
Bacteroides spp.	100	40*	$5,6x10^6$	$2,9x10^{3*}$
Peptokokken	50	5*	$4,1x10^6$	$3,7x10^{7*}$
Peptostreptokokken	50	10*	$1,0x10^7$	$8,8x10^{5*}$
Mycoplasma hominis	90	15*	$1,0x10^8$	$1,0x10^{2*}$
Corynebakterien	60	25**	$1,3x10^4$	$1,2x10^3$
Streptokokken	50	15*	$9,4x10^6$	$1,8x10^4$
Laktobazillen	40	100*	$8,0x10^6$	$3,1x10^6$

Tabelle 4: Prozentualer Nachweis von Bakterien in der Scheide von Frauen mit BV (26).

Erreger	BV (n = 73)	Keine BV (n = 520)
Gardnerella vaginalis	97	45
Mycoplasma hominis	74	20
Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas	70	18
Peptostreptokokken	70	25

In kulturellen Untersuchungen von 31 Frauen mit BV wurden folgende Keime der Gruppe der Aerobier und fakultativer Anaerobier nachgewiesen: *Gardnerella vaginalis*, 8 verschiedene Streptococcusarten, Corynebakterien, *Escherichia coli* (9-mal) sowie gelegentlich *Proteus mirabilis, Eikenella, Moraxella, Morganella,*

Enterobacter cloacae, Acinetobacter, Candidaspezies (4-mal) und Laktobazillusarten (11-mal) (37). Strikte Anaerobier waren: Peptococcusarten (4 verschiedene), Peptostreptococcusarten (3 verschiedene), Bacteroidesarten (>7), Propionibakterien, Eubacterium-, Clostridium- und Fusobacteriumarten. Kulturelle Untersuchungstechniken sind dabei hinsichtlich des Spektrums an weiteren Keimen neben Gardnerella vaginalis den modernen molekularbiologischen Methoden (Polymerase-Chain-Reaction, PCR) weit unterlegen (16, 37).

Aus klinischen Gründen wird die BV nach den „Amsel"-Kriterien diagnostiziert - Score" Nach Amsel müssen mindestens 3 Kriterien erfüllt sein, damit von einer BV gesprochen werden kann:

1. vaginaler homogener, grau-weißer Fluor;
2. pH-Wert der Vagina über 4,5;
3. ein positiver „Whiff"-Test nach Zugabe von 10% KOH - Lösung;
4. Schlüsselzellen (18) bei mindestens 20% der Epithelzellen (400fache Vergrößerung) im Nativpräparat aus Vaginalsekret mit Kochsalzlösung

Der beschriebene üble Geruch entsteht durch Stoffwechselprodukte der Anaerobier, wie zum Beispiel Isobutylamin und Phenytylamin u.a. Besonders das von den Mobiluncusarten gebildete Trymethylamin ist Ursache für den stark fischigen, unangenehmen Geruch bei BV (8). Die von den Anaerobiern gebildeten Amine hemmen das Wachstum von Hefepilzen, so dass Frauen mit BV selten gleichzeitig an Kandidose erkranken (20). Erst nachdem die Keime der BV durch eine Behandlung verschwinden und mit ihnen die gebildeten Amine, kommt es häufig zu Kandidosen.

1991 beschrieben Nugent, Krohn und Hillier eine neue Diagnosemethode der BV (44). Diese Methode sollte eine hohe Reproduzierbarkeit gewährleisten und basierte auf der Anfärbbarkeit von Bakterien in vaginalen Sekreten mit der Gram-Färbung.

Die gefundenen Bakterien sollten der Zugehörigkeit nach in Laktobazillen, Gram-negative Stäbchen (Gardnerella, Prevotella und Bacteroides-Arten) und Mobiluncus-Arten unterteilt werden sowie in ihrer Anzahl geschätzt werden.

Tabelle 5 zeigt das Schema der Berechnung des Scores. Die Bakterien werden bei 1000-facher Vergrößerung gezählt.

Tabelle 5: Einteilung von Gram-gefärbten vaginalen Abstrichen in das Score-System nach Nugent (44). Die Auswertung erfolgt mikroskopisch bei 1000-facher Vergrößerung. Gezählt werden die Laktobazillen, *Gardnerella-, Pevotella-, Bacteroides*- sowie *Mobiluncus*-Arten je Gesichtsfeld als Durchschnittswert. Ein Score von 0–3 entspricht einer normalen vaginalen Flora, 7–10 entspricht einer Erkrankung an BV und ein Score von 4–6 wird als „intermediate" bezeichnet.

Score	Laktobazillen		Gardnerella/ Pevotella/ Bacteroides	Gramnegative Kommabakterien (Mobiluncus)
0	4+ (mehr als 30)		0	0
1	3+	(5 bis 30)	1+	1+ oder 2+
2	2+	(1 bis 4)	2+	3+ oder 4+
3	1+	(weniger 1)	3+	
4	0	(0)	4+	

Typisch für die BV ist, dass keine Entzündungszeichen vorliegen. Einzig das Interleukin 1, ein Marker für Entzündungsgeschehen auf immunologischer Ebene, liegt erhöht vor. Bei vermehrter Leukozytenzahl (> 25/ Gesichtsfeld 400x) sollte man somit an eine aerobe Vaginitis, eine vaginale Kandidose oder eine Zervitis denken. Eine aerobe Vaginitis ist durch das Fehlen der Laktobazillen mit erniedrigten Laktatwerten, fehlende Schlüsselzellen und das klinische Bild einer Kolpitis (macularis oder diffus oder fleckig) gekennzeichnet. Des weiteren ist der pH-Wert stark erhöht (pH: bis 6) und es liegt ein verstärkter gelbgrüner Fluor ohne typischen Amin-Geruch vor (10).

1.2.1 BV während der Schwangerschaft

In den letzten 20 Jahren nahmen Hinweise auf die BV als Risikofaktor für Frühgeburtlichkeit zu (37). Studien aus den USA, aber auch aus Deutschland zeigten signifikante Zusammenhänge zwischen vorzeitigen Wehen, vorzeitigem Blasensprung, Frühgeburt und pathologischer Scheidenbesiedlung der Mutter auf (13, 14, 36, 37, 39).

Die Prognose für den Verlauf einer Schwangerschaft mit diagnostizierter BV hängt stark von weiteren Faktoren ab. Die BV ist ein signifikanter Risikofaktor für Frühgeburtlichkeit, wie die Tabelle 6 bis 8 zeigen:

Tabelle 6: Befunde bei Patientinnen mit Frühgeburt im Vergleich zu Patientinnen mit Entbindung am vorgesehenen Termin (26).

Befund	<37. SSW (n=57)	<37. SSW (n=114)	P
	(%)	(%)	
Bakterielle Vaginose	49	24	<0,001
Vorzeitiger Blasensprung	46	4	<0,005
Amnioninfektionssyndrom	11	1	<0,01

Tabelle 7: Zusammenhang zwischen Frühgeburt und BV (39).

	Nativ- und Gram-Pärparat					
	Normal		Bakterielle Vaginose		Total	
	n	%	n	%	n	%
Total	88	77,8	25	22,1	113	100
Geburten nach der 38. SSW ohne vorzeitigen Blasensprung	61	80,2	15	19,7	76	67,2
Geburten nach der 38. SSW	78	82,1	17	17,8*	95	84
Vorzeitiger Blasensprung vor der 38. SSW	5	-	6	-	11	9,7
Vorzeitige Wehen vor der 38. SSW (2-mail Gemini)	5	-	2	-	7	6,1
Alle vor der 38. SSW	10	55,5	8	44,4*	18	15,9

*exakter Fisher-Test: p≤0,03

Tabelle 8: geburtshilfliche Komplikationen, assoziiert mit BV (aus (26, 37).

Komplikationen	Relatives Risiko	N	P
Frühgeburtlichkeit	1,4	13.521	<0,01
	2,6	202	0,03
	3,8	54	0,03
	2,3	96	<0,05
Vorzeitiger Blasensprung	2,4	534	<0,01
Fruchtwasserinfektionen	1,5	125	0,03
	2,7	534	<0,05
Chorioamnionitis	2,6	99	0,05
Postpartale Endometritis	5,8	427	<0,001
	2,2	483	<0,001

1.2.2 Die Behandlungsmöglichkeiten der BV

Es sieht so aus, als ob die Therapie der BV in der Schwangerschaft bessere Erfolge erzielte als außerhalb der Schwangerschaft (15). Eventuell ist das durch die fehlende Menstruation und die damit verbundene pH-Störung bedingt. In einer Studie konnte oft eine spontane Heilung nach 12 Wochen (42 %) gezeigt werden, vergleichbare Ergebnisse lieferte eine retrospektive Studie (23). Es gibt jedoch Studien mit Heilungsraten zwischen nur 33 % (30) und 88 % (22).

Bei einer Beobachtung über 4 Wochen konnten in Metaanalysen Heilungsraten von 66 % beobachtet werden. Diese Werte blieben auch über 3 Monate stabil. Eine über 5 Jahre andauernde Studie zeigte Heilungsraten von 50 % nach Behandlung mit Metronidazol (5). Nach Behandlung mit Metronidazol wie auch mit Clindamycin ist eine gleich hohe Rezidivneigung zu verzeichnen. Die Behandlung der BV während der Schwangerschaft mit Antibiotika führte je nach Studie sogar zu einer Erhöhung der Frühgeburtenrate (32).

Wenn die BV 4-mal oder öfter im Jahr auftritt, spricht man von chronisch rezidivierender BV. Es handelt sich hierbei wahrscheinlich eher um eine Reaktivierung nach unvollständiger Ausheilung als um eine Neuinfektion (54). Am häufigsten kommt es im ersten Jahr nach Erstinfektion zu erneuten Rezidiven. Kann die BV im ersten Jahr nach dem Erstausbruch geheilt werden, bleibt dieser Zustand höchst wahrscheinlich stabil.

Metronidazol (400-500 mg / 2mal täglich, für 7 Tage) ist seit 1978 Mittel der Wahl (45). In zu dieser Medikation veröffentlichten Studien wird von einem Behandlungserfolg von etwa 82% gesprochen (33). In den skandinavischen Ländern wird 2 g am ersten und dritten Tag oral verabreicht mit einem Behandlungserfolg von 93%, mit der gleichen Dosis gegeben an den Tagen 1 und 2 liegt der Erfolg bei 89% (28).

In zwei weiteren Studien wurde der Behandlungserfolg mit Metronidazol gegen einen

Plazebo verglichen und lag hier bei 66% (4, 31). Die Therapie mit Metronidazol zeigte auch in 6 weiteren Studien Heilungsraten von 36-83%.

Eine weitere Möglichkeit ist die lokale Behandlung mit Clindamycin-Creme. Die Behandlung mit Suppositorien zeigte in 54 % der Fälle einen Behandlungserfolg. Die perorale Gabe von Clindamycin konnte in einer Studie einen Behandlungserfolg von 90 % nach 2 Wochen Behandlung und 85 % nach 4 Wochen Behandlung aufzeigen (22).

Im direkten Vergleich bei Kontrollen nach 35-45 Tagen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Behandlungserfolg zwischen Clindamycin, Metronidazol und Nifuratel (38). Allerdings sind nach allen Standardtherapien nach 3 Monaten Rezidive in zwei Drittel der Fälle zu beobachten (15), so dass die BV meist eine chronisch rezidivierende Erkrankung ist!

Weitere Studien zeigten, dass die Mitbehandlung des Sexualpartners keine Verbesserung der Heilungsraten von Frauen mit BV erbrachte (46).

Die Therapie mit Laktobazillen in einer doppelblinden Studie zeigte einen Behandlungserfolg von 57 % nach einer Woche, aber von nur noch 18 % nach 4 Wochen. In anderen Plazebo-kontrollierten Studien, in denen die Frauen oral *L. rhamnosus* und *L. fermentum* über 60 Tage erhielten, zeigte sich ein Heilungserfolg von 57 % nach einer Woche Behandlung.

Larsson und Forsum (2005) weisen aber darauf hin, dass von Therapieerfolgen nur ehrlich gesprochen werden kann, wenn nicht nach 1-2 Wochen, sondern nach ca. 6-12 Wochen kontrolliert wird (15, 33).

2 Ziele

Die folgende prospektive Studie hatte das Ziel, schwangere Frauen auf folgende Gesichtspunkte hin zu untersuchen:

1. Quantitative und qualitative Bestimmung der bakteriellen Vaginalflora von schwangeren Frauen.
2. Bei Frauen sowie den jeweiligen Partnern eine Gram-gestützte Diagnostik hinsichtlich der Bakteriellen Vaginose (Nugent Score) und des bakteriellen Biofilms mit Fluoreszenz- in situ -Hybridisierung (FISH) im Urin.
3. Untersuchung der physiologischen Darmflora im Stuhl mit besonderem Augenmerk auf Laktobazillen.
4. Verlaufskontrollen nach 4 Wochen.

Die Untersuchungen wurden im Rahmen der Vorsorge in der Allgemeinarzt- und Hebammenpraxis der Verfasserin durchgeführt.

3 Hypothesen

Folgende Hypothesen wurden formuliert:

1. Es bestehen auch ohne Auftreten von typischen Symptomen einer BV messbare signifikante Veränderungen der Vaginalflora.
2. Die BV kann auch im Urin mit der Fluoreszenz - in situ - Hybridisierung (FISH) diagnostiziert werden.
3. Die BV kann auch bei den Partnern der jeweiligen Untersuchungspersonen im Urin diagnostiziert werden.
4. Es gibt einen Zusammenhang zwischen dem Nachweis von Laktobazillen in der vaginalen Flora und im Stuhl.

4 Material und Methoden

4.1 Studiendesign

Die Studie wurde als prospektive Studie angelegt. Die Studienteilnehmerinnen waren schwangere Frauen unabhängig vom Gestationsalter, die zwischen dem 05.09.2007 und dem 27.03.2008 zur Vorsorgeuntersuchung in die Hebammen- und Allgemeinarztpraxis der Verfasserin kamen. Sie wurden nach schriftlicher Aufklärung und Einverständniserklärung zur Teilnahme in die Studie aufgenommen. Es lag eine Zustimmung der Ethikkommission der Charité vor. Das Ziel war, von ihnen die nachfolgend beschriebenen Parameter zu bestimmen sowie eine Wiederholung der Untersuchung nach 4 Wochen durchzuführen.

4.2 Datenerhebung:

Es wurde zu jeder der Patientinnen ein für diese Studie entworfener Untersuchungsbogen ausgefüllt. Enthalten waren sowohl subjektive Befindlichkeitsstörungen wie auch alle digitalisierten Ergebnisse, die bei zwei im Abstand von 4 Wochen erfolgten Untersuchungen erhoben worden waren.

4.3 Material

Es wurde von allen o.g. Patientinnen Vaginalabstriche und Spontanurin an beiden Untersuchungsterminen sowie eine Stuhlprobe am ersten Untersuchungstermin abgenommen. Von den jeweiligen Partnern wurde zu den gleichen Zeitpunkten ebenfalls Urin untersucht, der durch Miktion in ein steriles Gefäß gewonnen wurde.

4.4 Methoden

4.4.1 pH-Wert

Der pH-Wert wurde mit Lackmuspapier (Fa. Merck) aus dem mittleren Scheidendrittel entnommen und dokumentiert

4.4.2 Vaginalstatus

Der mit vorgewogenen Wattestäbchen entnommene vaginale Abstrich wurde in einem vom Institut für Mikroökologie (IFM) Herborn (Leiter: Dr. rer. nat. Andreas Schwiertz) standardisierten Set für Entnahme und Versendung vaginaler Abstriche (Vaginal-Status, IFM, Herborn, Deutschland) an das genannte Labor gesendet. Das Wattestäbchen wurde in einem Portagerm-Amies-Agar enthaltenden Transport-behälter (BioMérieux) gelagert.

Der vaginale Abstrich wurde verwendet, um aerobe und anaerobe Bakterien zu kultivieren (52). Das Wattestäbchen wurde im Labor aus dem Transportmedium entnommen und in 1 ml PBS-Puffer (Phosphat-gepufferte Kochsalzlösungen; pH 7.2) überführt, 5 Sekunden gevortext und eine Verdünnungsreihe hergestellt. 1 ml jeder Verdünnung wurde verwendet, um Kulturen auf Selektions- oder Anreicherungsagar anzusetzen.

Von folgenden Mikroorganismen wurden Kulturen angelegt: Laktobazillen, H_2O_2-produzierende Laktobazillen, B-Streptokokken, Anaerobier, *Gardnerella vaginalis*, *Atobium vaginae* und *Candida*.

Die Vaginalabstriche wurden unter aeroben bzw. anaeroben Bedingungen bei 37°C für 2 Tage kultiviert. Die entstandenen Bakterienkulturen wurden auf ihre Morphologie hin untersucht und dokumentiert, sowie anschließend auf Objektträger aufgetragen und mit der Gram-Färbung angefärbt. Abschließend wurden die

Bakterienkulturen mit Hilfe der halbautomatischen- bzw. automatischen Differenzierungssysteme API® - und VITEK®-Systeme (bioMérieux) identifiziert. Alle Daten wurden als $\log^{10}$ der Kolonie-formenden Einheiten (*colony-forming-units,* CFU) je ml Probe dargestellt.

Die Produktion von H_2O_2 durch H_2O_2-produzierende Laktobazillen wurde nach einem vorhandenen Protokoll durchgeführt (12).

Allen Frauen mit einer bakteriellen Vaginose oder einem anderen klinischen Vaginalbefund wurde die Empfehlung zu einer fachärztlichen gynäkologischen Therapie gegeben.

4.4.3 Nugent-Score

Um einen möglichst objektiven Befund der Vaginalflora zu erhalten, wurde nicht der praxisübliche Amsel-Score (1) bewertet, sondern der Nugent-Score (siehe Tabelle 5) anonymisiert durchgeführt (Prof. Werner Mendling, Vivantes - Klinikum Am Urban). Dazu wurde Vaginalsekret mit einem Wattestäbchen aus der Vagina entnommen und auf einen Objektträger aufgebracht, ca. 5 Minuten luftgetrocknet und nach Übersendung ins Klinikum Am Urban nach Gram-Methode (5) in 4 Schritten gefärbt:

1. Gentianaviolett wird auf das Präparat gegeben und nach ca. 1 Minute Einwirkzeit mit Wasser abgespült.
2. Lugol‘sche Lösung wird auf das Präparat gegeben und nach ca. 1 Minute Einwirkzeit abgespült.
3. Entfärbung des Präparates mit 96%igem Alkohol, bis deutlich keine Entfärbung mehr stattfindet.
4. Gegenfärbung des Präparates durch kurze Beschichtung mit Fuchsin, anschließend wird noch einmal mit Wasser abgespült und getrocknet.

Anschließend wurden die Mikroorganismen mit Ölimmersion bei 1000-facher Vergrößerung nach dem Nugent-Score eingruppiert (44).

4.4.4 Urinentnahme und Fixierung

Der Urin der Patientin wurde hierfür in der Praxis gewonnen. 1500 µl Urin wurden bei 6000 g für 6 Minuten zentrifugiert (Eppendorf-Zentrifuge) und der Überstand abgegossen. Das Sediment wurde mit 1000 µl Carnoy-Lösung (6 Teile Ethanol 95-100 %; 6 Teile konzentrierte Essigsäure; 1 Teil Chloroform) bedeckt und bis zur Untersuchung im Labor dunkel und bei Raumtemperatur gelagert. Der Urin des Partners wurde von der Patientin zum Untersuchungstermin frisch in einem vorhergehend mitgegebenen Urinbehälter mitgebracht und mit o.g. Verfahren fixiert.

4.4.5 Urinuntersuchung mit der Fluoreszenz- *In situ* -Hybridisierung (FISH)

Der Urin der Patientin und des Lebenspartners wurden im Labor für Molekulare Genetik, Polymikrobielle Infektionen und bakterielle Biofilme der Humboldt Universität Berlin, Charité, Campus Mitte (Leitung: Dr. med. Alexander Swidsinski) untersucht. Ein Aliquot Urin je Untersuchungsperson wurde im Labor mit Hilfe der Fluoreszenz - *in - situ* - Hybridisierung (FISH) untersucht (16, 53-55).

Mit der FISH können spezifische Nukleinsäuren bekannter Sequenzen, von in diesem Fall Mikroorganismen in Gewebeproben, sichtbar gemacht werden. Hierfür binden generierte Sonden mit einer der gesuchten Nukleinsäuresequenz gegenläufiger Sequenz an ihre Zielsequenz. Die Fluoreszenz der gebunden Sonden nach Entfernen der nicht-gebundenen Sonden kann anschließend mit einem Fluoreszenzmikroskop quantifiziert werden. So lassen sich je nach Sonde Gattungen und Arten verschiedener Bakterien identifizieren und können in ihrer räumlichen Zuordnung an Zellen (im vorliegenden Fall des Urins) oder an Gewebeproben

sichtbar gemacht werden.

Die Proben für die FISH-Untersuchung wurden innerhalb von 1-3 Wochen nach Entnahme in der Praxis im Labor untersucht. Hierfür wurde ein Teil des Materials auf einen Objektträgers aufgebracht. Die Proben wurden 30 Minuten bei 50°C getrocknet, 20 µl 1%-ige Lysozymlösung für 15 Minuten aufgebracht und anschließend hybridisiert (53).

Für die Bestimmung des Biofilms wurde die Konzentration der Epithelzellen je ml Urin evaluiert. Die Zahl adhärenter Bakterien je Epithelzelle wurde festgestellt und anschließend auf die Gesamtmilliliter der Urinprobe hochgerechnet (53%).

4.4.6 Stuhlstatus

Der Stuhlbefund wird vom IFM „Kyberstatus“ genannt. Für den Stuhlstatus haben die Untersuchungspersonen nach dem ersten Untersuchungstermin eine Stuhlprobe mit einem standardisierten Set des Institutes für Mikroökologie-Herborn genommen und an das genannte Labor eingeschickt.

Von folgenden Mikroorganismen wurden Kulturen aus den Stuhlproben angelegt: *Escherichia coli*, *Enteroccus, Bifidobakterien*, *Lactobazillus spp*., H_2O_2-produzierende Laktobazillen, *Bacteroides*, der proteolytischen Flora*: E. coli biovare*, *Proteus sp., Klebsiella sp., Pseudomonas sp., Enterobacter sp., Citrobacter sp*.

Außerdem wurde der pH-Wert des Stuhls bestimmt.

4.4.7 Polymerase-Chain-Reaction (PCR) im Stuhl

Falls ein positiver Befund von *Gardnerella vaginalis* oder *Atopobium vaginalis* im Vaginalabstrich vorlag, wurde das Vorhandensein dieser Erreger im Stuhl der Patientin mit PCR geprüft. Hierfür wurde die DNA mit dem Easy Mag DNA Isolations

System (BioMérieux, s.o.) nachgewiesen.

Die DNA-Amplifikation wurde mit einem Primer- und Fluoreszenz - markierten Sondensystem durchgeführt. Die Primer und Sonden binden an die zu detektierende DNA - Sequenz. Die DNA - Sequenz wird amplifiziert und das während der Amplifikation freiwerdende Fluoreszenzsignal wird detektiert. DNA - Amplifikation und Detektion der Fluoreszenz wurden mit dem ABI PRISM 7900HT Sequenz Detektionssystem (Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Jedes Well der 96-er Reaktionsplatte enthielt 25 µl eines Mixes aus Probenmaterial, Quantitect SYBR Green PCR Master Mix und dementsprechenden Primerpaar sowie der Sonde. Aus einem Referenzbakterium wurde das Material für eine Standardkurve für die Quantifizierung der entsprechenden Bakterienmenge in der Probe hergestellt. Die Daten wurden mit der ABI PRISM Software analysiert.

4.5 Ein- und Ausschlusskriterien:

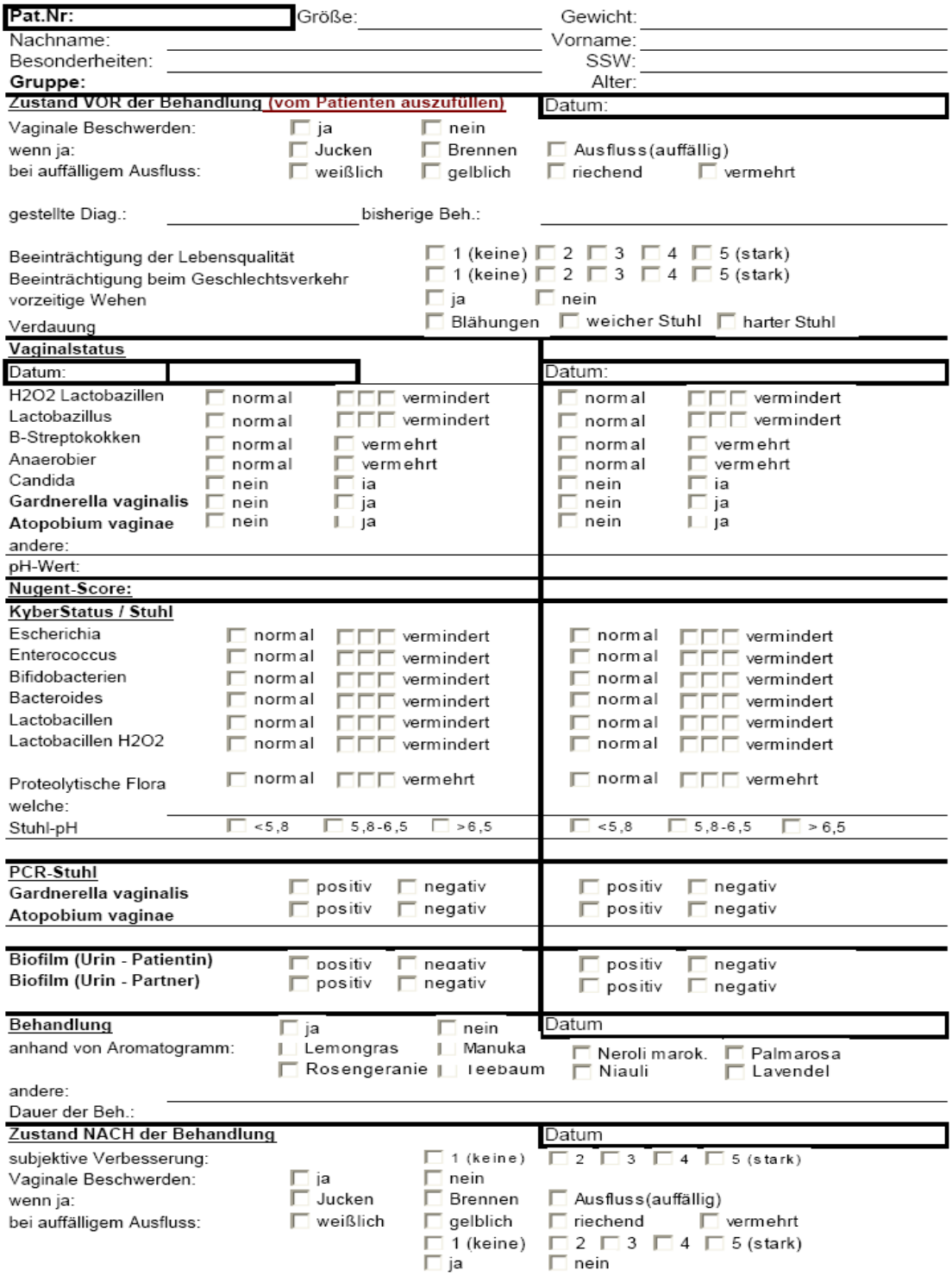
Es wurde keine Schwangere ausgeschlossen. Es wurden Gesunde wie auch solche mit zum Zeitpunkt der Studie bekannten vaginalen Infekten aufgenommen.

4.6 Statistik

Die Verarbeitung der Rohdaten erfolgte mit Microsoft-EXCEL (Microsoft. Corp.) und die anschließende Statistik mit SPSS (SPSS Inc. Headquarters, 233 S. Wacker Drive, Chicago, Illinois). Für die Statistik wurde der Wilkoxon-Test oder Friedman-Test für verbundene Stichproben angewendet.

Signifikanzen wurden wie folgt angegeben: $p \leq 0{,}05$; $p \leq 0{,}01$; $p \leq 0{,}001$.

4.7 Fragenbogendesign



Pat.Nr: Größe: Gewicht:
Nachname: Vorname:
Besonderheiten: SSW:
Gruppe: Alter:

Zustand VOR der Behandlung (vom Patienten auszufüllen) Datum:

Vaginale Beschwerden: ja nein
wenn ja: Jucken Brennen Ausfluss (auffällig)
bei auffälligem Ausfluss: weißlich gelblich riechend vermehrt

gestellte Diag.: bisherige Beh.:

Beeinträchtigung der Lebensqualität 1 (keine) 2 3 4 5 (stark)
Beeinträchtigung beim Geschlechtsverkehr 1 (keine) 2 3 4 5 (stark)
vorzeitige Wehen ja nein
Verdauung Blähungen weicher Stuhl harter Stuhl

Vaginalstatus

Datum:		Datum:	
H2O2 Lactobazillen	normal / vermindert		normal / vermindert
Lactobazillus	normal / vermindert		normal / vermindert
B-Streptokokken	normal / vermehrt		normal / vermehrt
Anaerobier	normal / vermehrt		normal / vermehrt
Candida	nein / ja		nein / ja
Gardnerella vaginalis	nein / ja		nein / ja
Atopobium vaginae	nein / ja		nein / ja

andere:
pH-Wert:
Nugent-Score:

KyberStatus / Stuhl

Escherichia	normal	vermindert	normal	vermindert
Enterococcus	normal	vermindert	normal	vermindert
Bifidobacterien	normal	vermindert	normal	vermindert
Bacteroides	normal	vermindert	normal	vermindert
Lactobacillen	normal	vermindert	normal	vermindert
Lactobacillen H2O2	normal	vermindert	normal	vermindert
Proteolytische Flora	normal	vermehrt	normal	vermehrt
welche:				
Stuhl-pH	<5,8 / 5,8-6,5 / >6,5		<5,8 / 5,8-6,5 / >6,5	

PCR-Stuhl

Gardnerella vaginalis	positiv	negativ	positiv	negativ
Atopobium vaginae	positiv	negativ	positiv	negativ

Biofilm (Urin - Patientin) positiv negativ positiv negativ
Biofilm (Urin - Partner) positiv negativ positiv negativ

Behandlung ja nein Datum
anhand von Aromatogramm: Lemongras Manuka Neroli marok. Palmarosa
Rosengeranie Teebaum Niauli Lavendel
andere:
Dauer der Beh.:

Zustand NACH der Behandlung Datum
subjektive Verbesserung: 1 (keine) 2 3 4 5 (stark)
Vaginale Beschwerden: ja nein
wenn ja: Jucken Brennen Ausfluss (auffällig)
bei auffälligem Ausfluss: weißlich gelblich riechend vermehrt
1 (keine) 2 3 4 5 (stark)
ja nein

5 Ergebnisse

Von 73 der 80 untersuchten Frauen und von 68 Partnern konnten vollständige Datensätze verarbeitet werden. Ein Drittel der Frauen war älter als 33 Jahre (

Tabelle 9), 43% waren noch vor der 28. Schwangerschaftswoche (Tabelle 10).

5.1 Alter / Schwangerschaftswoche

Tabelle 9: Altersverteilung der Frauen.

	Gesamtzahl der untersuchten Frauen	jünger als 35 J.	35 J. und älter
N	73	49	24
%	100	67	33

Tabelle 10: Schwangerschaftswochen zu Beginn der Untersuchung.

	Gesamtzahl der untersuchten Frauen	Schwangerschaftswoche		
		unter 28	zwischen 28-36	über 36
N	73	31	36	6
%	100	43	49	8

5.2 Vaginale Beschwerden und Art der Beschwerden

Zwei Drittel der Frauen gaben keine vaginalen Beschwerden an (Abbildung 1), ein Drittel klagte über Jucken oder Brennen im Introitus oder Ausfluss (Tabelle 11).

Abbildung 1: Vaginale Beschwerden am 1. Untersuchungstermin.

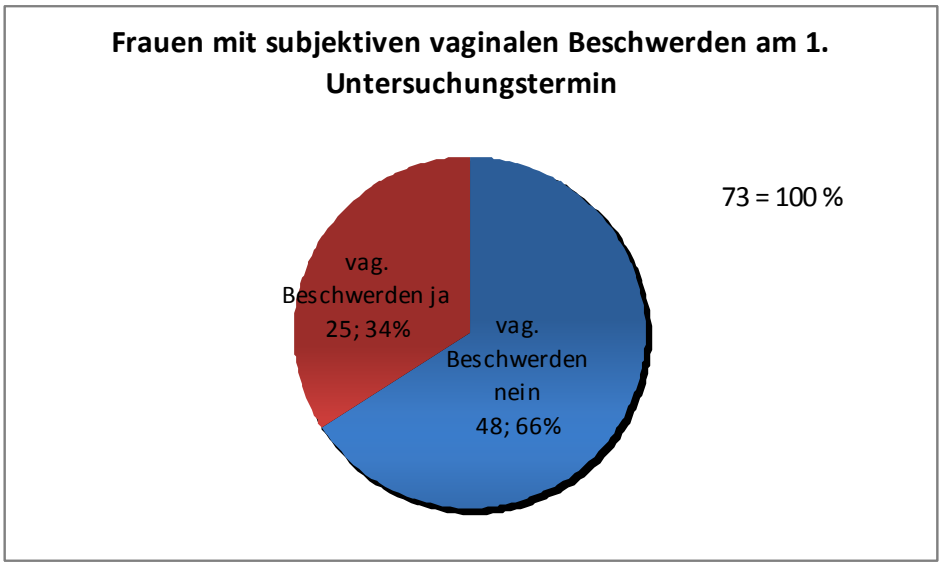


Tabelle 11: Art und Verteilung der vaginalen Beschwerden.

Vulvovaginale Beschwerden hatten 25 (34 %) der 73 Frauen		
25 = 100%	von 25 (n)	von 25 (%)
Jucken	10	40
Brennen	5	20
Jucken und Brennen	5	20
Ausfluss = vermehrt	9	36
Ausfluss = riechend	7	35

Über die Hälfte der Frauen gaben Verdauungsprobleme an. Davon hatten 87% im Kyberstatus eine auffällige Darmflora (siehe Tabelle 12). Es fiel aber auch auf, dass von 25 Frauen mit vaginalen Beschwerden 17 gleichzeitig auch Verdauungsbeschwerden angegeben hatten, und dass 15 dieser 17 (88%) eine auffällige Darmflora aufwiesen (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Kombination der Verdauungsprobleme mit vaginalen Beschwerden und

auffälliger Darmflora (als auffällige Darmflora wurde eine Abweichung von den Normwerten bei folgenden Mikroorgansimen in den Kulturen aus den Stuhlproben – siehe Fragebogendesign 4.7- bezeichnet: *Escherichia coli*, *Enteroccus, Bifidobakterien*, *Lactobazillus spp*., H_2O_2-produzierende Laktobazillen, *Bacteroides*, der proteolytischen Flora*: E. coli biovare*, *Proteus sp., Klebsiella sp., Pseudomonas sp., Enterobacter sp., Citrobacter sp*. Die Normwerte für diese Mikroorgansimen finden sich als Synopsis zusammengefasst in „*Microbial Inhabitants of Humans Their Ecology and Role in Health and Disease".* Michael Wilson, University College London (42)).

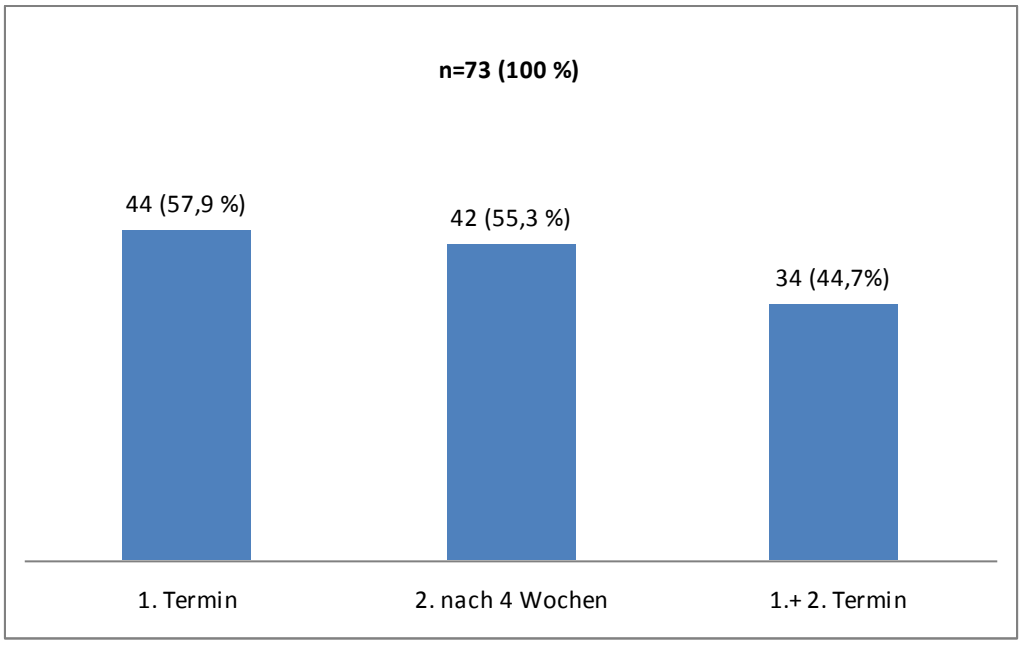
	n	%	Davon mit auffälliger Darmflora
Gesamtzahl der untersuchten Frauen	73	100%	
Frauen mit vaginalen Beschwerden	25	34%	
Frauen mit Verdauungsproblemen	39	53%	34 (87%)
Frauen nur mit Verdauungsproblemen ohne vaginale Beschwerden	22	30%	19 (86%)
Frauen mit vaginalen Beschwerden und Verdauungsproblemen	17	23%	15 (88%)

5.3 Vaginaler Status

Mehr als die Hälfte der Schwangeren hatte einen auffälligen vaginalen Status beim ersten oder zweiten Termin. Bei 44,7% der Fälle war dieser Status zu beiden Terminen nicht normal (Abbildung 2).

Abbildung 2: Zahl der untersuchten Frauen und Zahl der Frauen, die hiervon einen auffälligen 1. vaginalen Status, einen auffälligen 2. vaginalen Status und einen auffälligen 1. und 2. vaginalen Status hatten.

Auffälliger vaginaler Status: pH-Wert ≥ 4,5 und/oder verminderte Zahl von Laktobazillen und/oder vermehrte B - Streptokokken oder/und vermehrte Anaerobier und/ oder Nachweis von Candida und/ oder Gardnerella vaginalis und/ oder Atopobium vaginae.



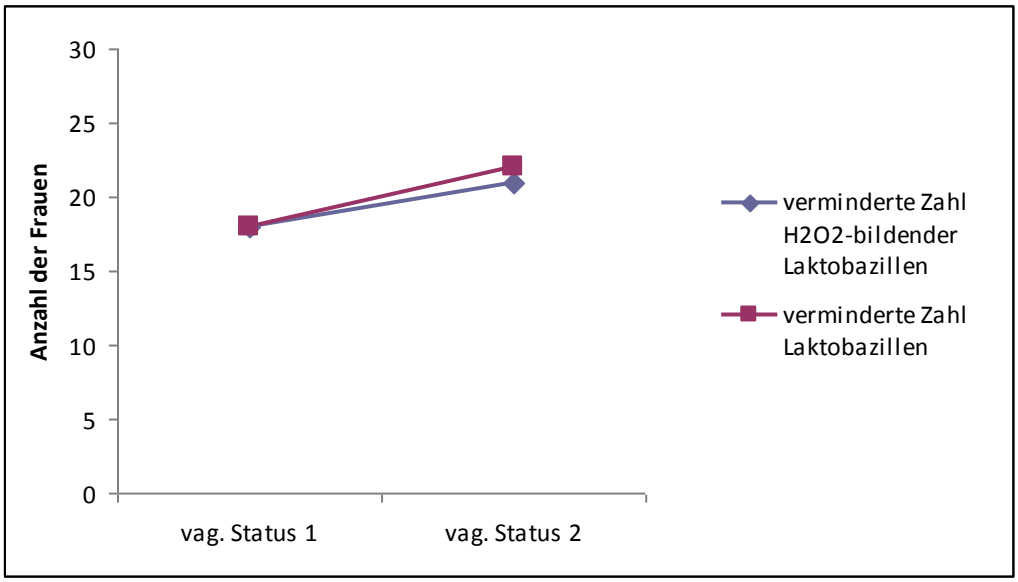
Wenn der Vaginalstatus auffällig war (n = 44), waren die H_2O_2 - bildenden Laktobazillen aber nur in 16 Fällen vermindert und nur 4 der 44 Frauen klagten über Beschwerden (Tabelle 13).

Tabelle 13: Frauen mit einem auffälligen 1. vaginalen Status und gleichzeitig verminderter Zahl von H_2O_2-bildenden Laktobazillen *UND* Laktobazillen (Schnittmenge) sowie gleichzeitig vaginalen Beschwerden vor dem 1. Termin.

Zahl der untersuchten Frauen	auffälliger 1. vag. Status	und davon verminderte H_2O_2-bildende Laktobazillen ***UND*** Laktobazillen	und davon vaginale Beschwerden
73	44	16	4

Die Verminderung der H2O2-bildenden Laktobazillen persistierte bzw. erhöhte sich sogar von Visite 1 auf Visite 2 (Abbildung 3).

Abbildung 3: Frauen mit einer verminderten Anzahl von H_2O_2-bildenden Laktobazillen und einer verminderten Anzahl von Laktobazillen im vaginalen Abstrich bei Visite 1 und 2.



Der auffällige Vaginalstatus korrelierte nicht mit vaginalen Beschwerden, wohl aber die erhöhte Konzentration von Gardnerella vaginalis (Tabelle 14)

Tabelle 14: Frauen mit einem auffälligen 1. vaginalen Status, einem positiven Befund (>10^5/ml) auf Gardnerella sowie gleichzeitig vaginalen Beschwerden.

Zahl der untersuchten Frauen	auffälliger 1. vag. Status	und davon vorhandene Gardnerella (>10^5/ml Vaginal-flüssigkeit)	und davon vaginale Beschwerden
73	44	15	12

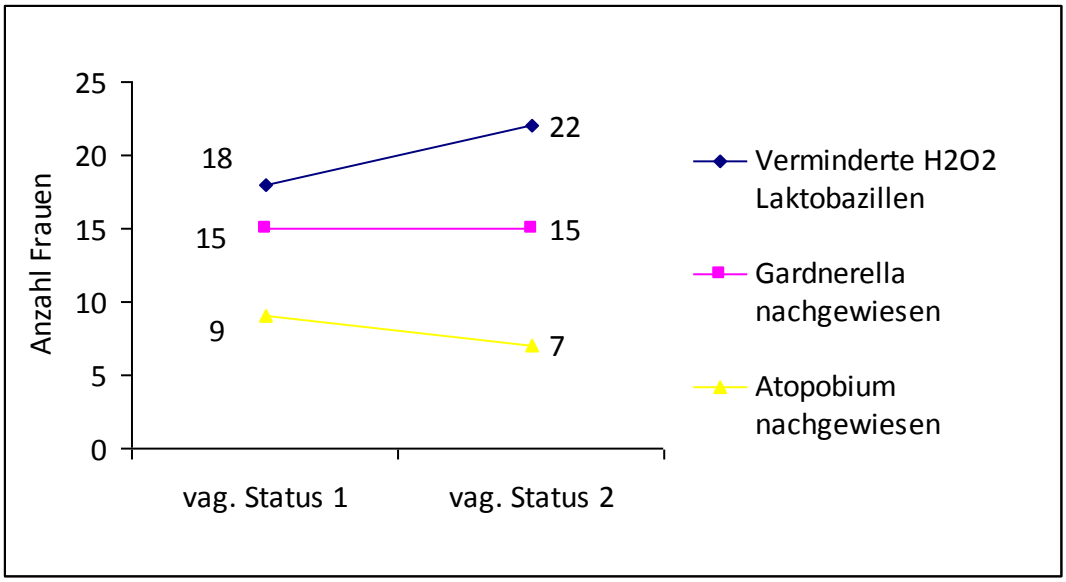
Der Nachweis von Atopobium vaginae war bei 5 von 9 Frauen mit vaginalen Beschwerden verbunden (Tabelle 15).

Tabelle 15: Frauen mit einem auffälligen 1. vaginalen Status und gleichzeitig einem positiven

Befund auf Atopobium, sowie vaginale Beschwerden vor dem 1. Termin.

Zahl der untersuchten Frauen	auffälliger 1. vag. Status	davon mit Atopobium	davon mit vaginalen Beschwerden
73	44	9	5

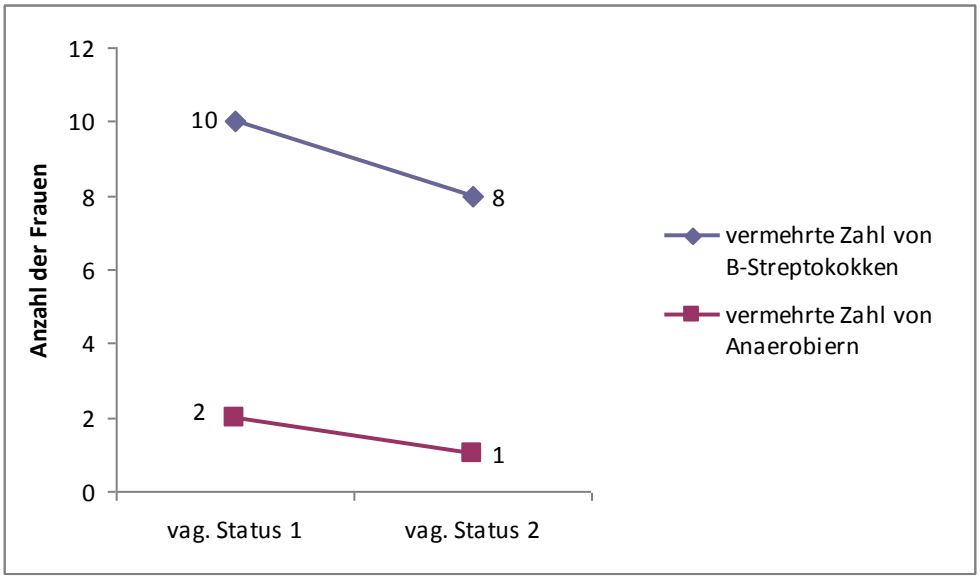
Abbildung 4: Frauen mit Nachweis von Gardnerella und Atopobium im vaginalen Status.



Der Nachweis von Gardnerella vaginalis und Atopobium vaginae korrelierte nicht mit dem von H_2O_2 bildenden Laktobazillen. Zwei Patientinnen, bei denen beim 2. Termin kein Atopobium mehr nachgewiesen werden konnte, hatten noch verminderte Laktobazillen, aber nicht mehr so stark vermindert wie am 1. Termin. Eine Patientin, bei der beim 1. und 2. Termin Atopobium vaginae nachgewiesen wurde, hatte lediglich beim 2. Termin verminderte Laktobazillen. Bei den restlichen Patientinnen, die nur beim 2. Termin verminderte Laktobazillen aufwiesen, wurden weder Gardnerella noch Atopobium nachgewiesen (Abbildung 4: Frauen mit Nachweis von Gardnerella und Atopobium im vaginalen Status. Abbildung 4).

Die Anzahl der Frauen mit Streptococcus agalactiae (B-Streptokokken) im Vaginalsekret betrug 14% bei der ersten und 11% bei der zweiten Visite (Abbildung 5).

Abbildung 5: Frauen mit einer vermehrten Anzahl von B-Streptokokken und einer vermehrten Anzahl von Anaerobiern im vaginalen Abstrich



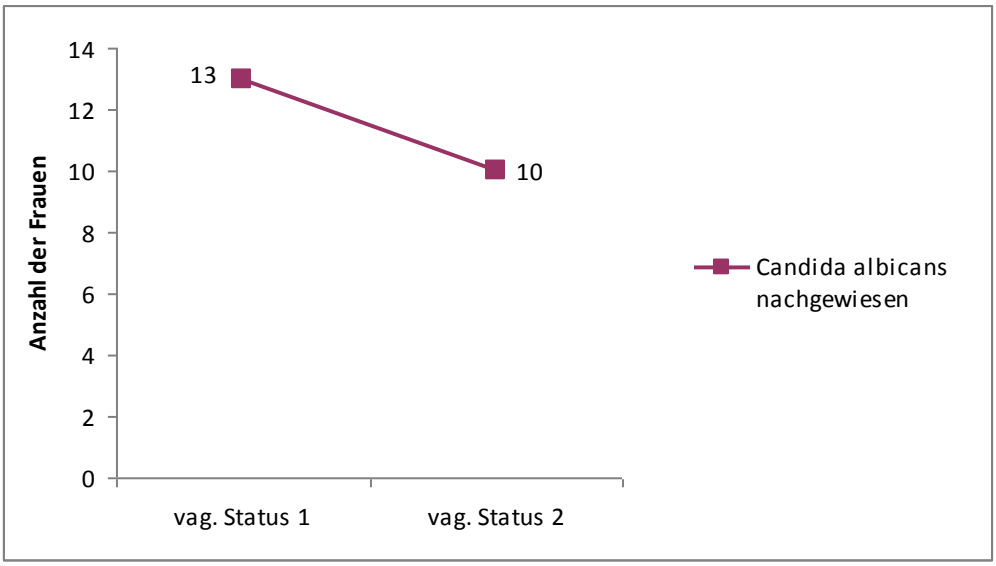
Der Nachweis von Candida korreliert nicht mit dem Symptom Juckreiz

Tabelle 16: Frauen mit einem positiven Befund auf Candida am 1. Untersuchungstermin und Juckreiz als Symptom.

	N	%
Gesamtzahl der untersuchten Frauen	73	100
davon mit Candida	13	18
davon mit Juckreiz	3	4

Bei Visite 1 wurden bei 13 (18%) und bei Visite 2 bei 10 (14%) der Frauen Candida in der Vagina gefunden (Abb.6).

Abbildung 6: Frauen mit einem positiven Nachweis von Candida albicans im vaginalen Abstrich



5.4 pH-Wert und veränderte vaginale Flora

Ein pH-Wert über 4,4 kam bei einem Drittel der Frauen vor, jedoch nur bei 19% zum 1. und 2. Termin gemeinsam. Der gleichzeitige Nachweis von B-Streptokokken, Anaerobiern, Gardnerella, Atopobium oder Candida fiel ohne erkennbare Systematik

unterschiedlich hoch aus (Tabelle 17).

Tabelle 17: Frauen mit erhöhtem pH-Wert (über 4,4) und einhergehender Veränderung in der vaginalen Flora am 1. Termin, am 2. Termin sowie am 1. und 2. Termin.

Gesamtzahl der untersuchten Frauen: 73 (= 100 %)	am 1. Termin	am 2. Termin	am 1. und 2. Termin
pH ≥ 4,5	23 (32%)	23 (32 %)	14 (19 %)
pH ≥ 4,5 und	23 =100 %	23 = 100 %	14 = 100 %
H_2O_2-bildende Laktobazillen vermindert	6 (26 %)	14 (61 %)	4 (29 %)
B-Streptokokken vermehrt	7 (30 %)	5 (22 %)	2 (14 %)
Anaerobier vermehrt	1 (4 %)	-	-
Candida vorhanden	4 (17 %)	7 (30 %)	1 (7 %)
Gardnerella vorhanden	11 (48 %)	4 (17 %)	3 (21 %)
Atopobium vorhanden	5 (22 %)	3 (13 %)	2 (14 %)

Trotz normalen pH-Wertes konnten auch bei 18-20% der Frauen H_2O_2-bildende Laktobazillen in verminderter Zahl nachgewiesen werden (Tabelle 18).

Tabelle 18: Frauen mit normalem pH-Wert (bis 4,4) und Veränderung in der vaginalen Flora am 1. Termin, am 2. Termin sowie am 1. und 2. Termin.

Gesamtzahl der untersuchten Frauen: 73 (= 100 %)	am 1. Termin	am 2. Termin	am 1. und 2. Termin
pH ≤ 4,5	50 (68%)	50 (68 %)	40 (56 %)
pH ≤ 4,5 und	Wenn 50=100 %	Wenn 50=100 %	Wenn 40=100 %
H_2O_2-bildende Laktobazillen vermindert	10 (20 %)	9 (18 %)	6 (15 %)

FISH aus Urin

Von 72 Frauen und 68 ihrer Partner konnte Urin auf durch Gardnerella besiedelte Epithelzellen mit FISH untersucht werden. Der Nachweis von kohäsiven, d.h. in dichten Rasen auf der Oberfläche der Zellen vorhandenen Gardnerellen gelang bei 17% der Frauen und 8% der Partner. Die geringe Zellkonzentration im Urin der Partner führte oft zu nicht auswertbaren Analysen. Die mittlere Zellkonzentration im Urin und die Dichte der Bakterienrasen auf einer Epithelzelle war bei den Frauen höher als bei den Männern (Tabelle 19)

Tabelle 19: Epithelzellen und Gardnerella vaginalis im Urin.

n	Konzentration von Epithelzellen / ml x 10^4 (Mittelwert ± Standard-abweichung)	Kohäsive Gardnerella	Maximale/ durchschnittliche Zahl von Bakterien pro Epithelzelle (Mittelwert ± Standard-abweichung)	Konzentration/ml (10^6 Bakterien/ml)	Disperte Gardnerella	Maximale/ durchschnittliche Zahl von Bakterien pro Epithelzelle (Mittelwert ± Standard-abweichung)	Konzentration/ml (10^6 Bakterien/ml)	Nicht analysierbar
72 Schwangere	0,5 ± 0,9	12 (17%)	200 ± 202 18 ± 21	0,5 ± 1,0	14%	5 ± 5 0,10 ± 0,08	0,0006 ± 0,0006	3%
68 Partner	0,1 ± 0,2	8 (11%)	68 ± 54 34 ± 32	0,14 ± 0,31	3%	1 - 2	0,0005 ± 0,0007	7%

Der Nachweis kohäsiver Gardnerella vaginalis bei 12 (77%) der Frauen, von denen 10 nach Nugent-Score eine bakterielle Vaginose hatten, gelang auch bei 8 (11%) derer Partner (Tabelle 20).

Tabelle 20: Nugent Score und kohäsive Gardnerellen (FISH).

Urin	72 Schwangere	68 Partner
Kohäsive Gardnerella	12 (17%)	8 (11%)
Davon		
Nugent-Score > 6	10	
BV-Beschwerden	7	
asymptomatisch	5	
Disperte Gardnerella	10 (14%)	
Davon		
Nugent-Score 0-3	10	
Ohne Gardnerella	53 (74%)	
Davon		
Nugent-Score >6	2	
Nugent-Score 4-6	3	
Nugent-Score 0-3	48	

5.5 Nugent-Score und Entbindung

Von den 4 Frauen mit Nugent-Score 4 - 6 hatte eine Frühgeburt in der 37. SSW (Pat. 3) und von den 4 Frauen mit Nugent-Score 7 - 10 hatte keine eine Frühgeburt (Tabelle 21). Alle Frauen mit Nugent-Score 0 - 3 wurden in Terminnähe entbunden.

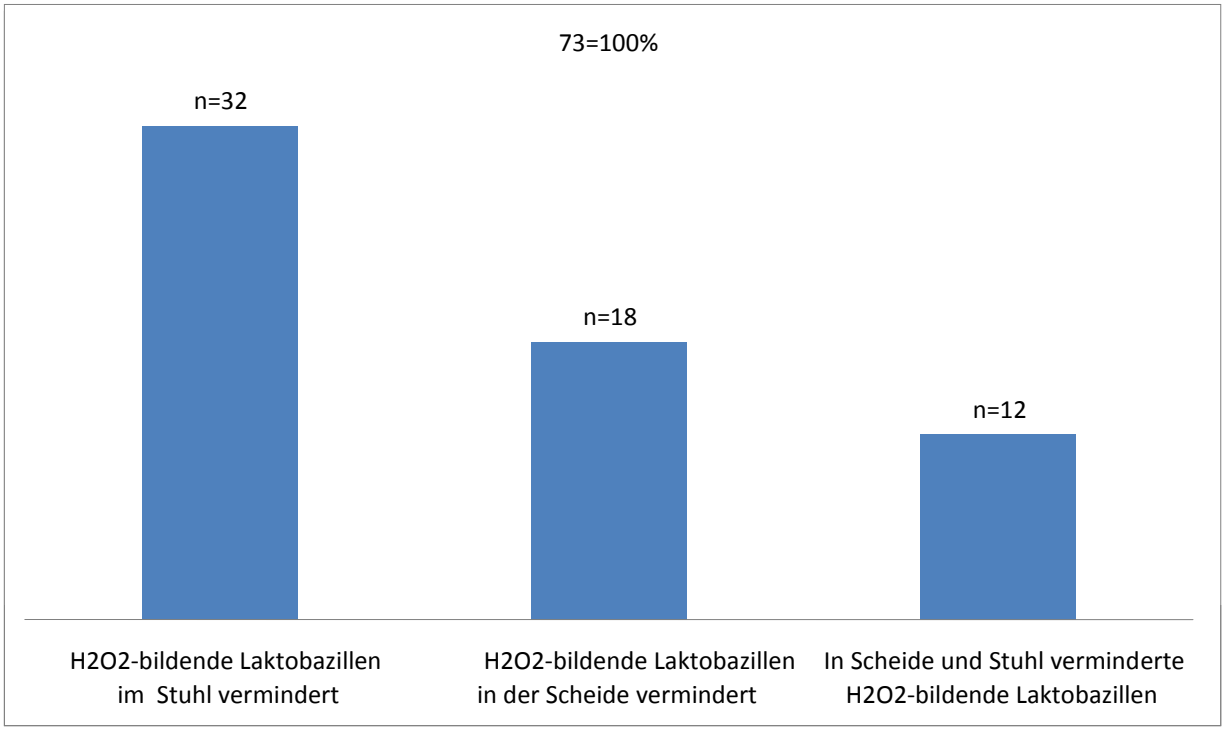
Tabelle 21: Nugent Score und Entbindung.

Patientin	Nugent-Score	In SSW entbunden
1	4-6	40
2	4-6	41
3	4-6	37
4	4-6	42
5	7-10	39
6	7-10	39
7	7-10	39

5.6 Korrelation von vaginalen und im Stuhl befindlichen H_2O_2-bildenden Laktobazillen

Bei 32 der 73 Frauen waren im Stuhl die H_2O_2 - bildenden Laktobazillen vermindert und bei 18 der 73 Frauen nur in der Scheide, während das aber bei 12 dieser 18 Frauen gleichzeitig der Fall war.

Abbildung 7: Grafische Darstellung von vaginalen und im Stuhl befindlichen H_2O_2-bildenden Laktobazillen.



5.7 Korrelation von Gardnerella vaginalis in Vagina und Stuhl

Falls in der Vagina Gardnerella vaginalis gefunden worden war, wurde auch im Stuhl mit PCR danach gesucht. In keinem Fall war dieser Befund aber positiv.

6 Diskussion

Seit Jahrzehnten schon ist bekannt, dass zervikale Infektionen zu Frühgeburten führen können. Mit Infektionen meinte man in diesem Zusammenhang früher Infektionskrankheiten wie die Gonorrhoe, die Lues oder die Listeriose.

Vor nunmehr 56 Jahren entdeckten Gardner und Dukes (1954) einen ihrer Meinung nach weiteren Erreger einer sexuell übertragbaren Krankheit: Haemophilus vaginalis (18). Die Krankheit wurde von ihnen als Hämophilus vaginalis - Vaginitis bezeichnet.

Auch 25 Jahre nach der Erstbeschreibung ging Gardner davon aus, dass diese Krankheit sexuell übertragbar sei (17). Gegen diese Feststellung steht bis heute der wissenschaftliche Konsens der Experten, spätestens seit der 1. Internationalen Konferenz zur Bakteriellen Vaginose 1982 in Kristiansand, Norwegen, dass es sich dabei um ein Problem handelt, dessen Ursache nicht ein Erreger ist, sondern das (nur) durch eine Störung der Scheidenflora hervorgerufen wird. Demnach ist die Bakterielle Vaginose (BV) ein “replacement of the lactobacilli of the vagina by characteristic groups of bacteria accompanied by changed properties of the vaginal fluid” (37).

Mitte der achtziger Jahre ergaben erste Studien Hinweise auf signifikante Zusammenhänge zwischen BV, vorzeitigen Wehen, vorzeitigem Blasensprung und Frühgeburtlichkeit (13, 14, 32, 36, 39, 50). Schließlich wurde auch die Ursache erkannt, nämlich dass Stoffwechselprodukte der Keime, wie sie typischerweise bei einer BV vorkommen, nach einer choriodezidualen bakteriellen Kolonisation eine vermehrte Prostaglandinsynthese nach sich ziehen und diese wiederum zu vorzeitigem Wehen und Blasensprung führen können (19).

Martius et. al. (1988) konnten erstmals den Zusammenhang zwischen bakterieller Vaginose, Amnionitis und Frühgeburtlichkeit beweisen. Daraufhin wurde 1993 eine

Studie, an der fast 14.000 schwangere Frauen teilnahmen, begonnen, um diesen Zusammenhang näher zu untersuchen und gegebenenfalls durch eine Therapie der BV das Risiko der Frühgeburtlichkeit zu verringern (7). Aus dieser Studie ergaben sich erstaunlicherweise gewisse Subgruppen mit divergierenden Resultaten (34).

Es zeigte sich, dass manchmal nach Therapie der BV die Frühgeburtlichkeit nicht abnahm, sondern die Zahl der Frühgeburten zunahm. Man erkannte, dass die Behandlung einer BV während der Schwangerschaft das Risiko einer Frühgeburtlichkeit signifikant senkt, wenn es sich um Schwangerschaften mit niedrigem Risiko handelt und die Therapie im ersten Trimester begonnen hatte (56). Bei Schwangeren mit hohem Risiko - vorausgegangenen Frühgeburten, erhöhten Fibronektinwerten oder Trichomoniasis - konnte das Risiko der Frühgeburtlichkeit durch eine Therapie der BV nicht gesenkt werden. Des weiteren wurde festgestellt, dass eine Behandlung der BV mit Metronidazol oder Clindamycin vor der 32. SSW auch dann mit einer Frühgeburtlichkeit verbunden war, wenn es unter der Therapie zu einer Veränderung der Vaginalflora mit starkem Wachstum von Escherichia coli oder Klebsiella pneumoniae gekommen war (6).

Die Einteilung des Nugent-Score in drei Gruppen (0-3 = normal, 4-6 = intermediär, 7-10 = BV) führte bislang zu einer zu starren Schematisierung in der Beurteilung der Scheidenflora, zumal wissenschaftliche Untersuchungen zur Bedeutung der „intermediate“ Flora (nach Nugent-Score) und der Pathogenese der BV kaum existieren.

Praktisch tätige Gynäkologen wissen, dass es zahlreiche als Mischflora bezeichnete Zustände der Vaginalflora gibt, die weder der normalen Flora noch der BV zuzuordnen sind. Donders hat 2008 festgestellt, dass auch einem Nugent-Score von 4-6 ein hohes Risiko an Frühgeburtlichkeit zugeordnet werden kann (11). Verstraelen et al. (2004) stellten ein modifiziertes Schema zur Beurteilung der Vaginalflora vor, welches differenzierter als der Nugent-Score auf diese Problematik eingeht.

Untersuchungen von de Bakker et al. (2007) mit modernen molekularbiologischen Techniken (PCR) zeigten außerdem, dass bei der BV selbst Laktobazillus-Stämme vermehrt vorkommen können, nämlich Laktobacillus iners, der eigentlich mit L. crispatus, L. gasseri und L. jensenii zur Normalflora gehört (2). Ein hohes Vorkommen von Laktobazillen ist auch im bakteriellem Biofilm bei BV aufgefallen (46).

Daraus geht zusammenfassend hervor, dass eine schematische Einteilung der Vaginalflora nur in „Gut und Böse“ nicht möglich ist und dass die BV nicht die einzige Störung ist, die zu Frühgeburten führt.

Es ist bisher unbekannt, welche bakteriellen oder anderen Veränderungen schließlich dazu führen, dass sich ein bakterieller Biofilm etabliert, der letztlich die BV ausmacht (49). Auch der Einfluss des Sexualpartners ist bislang unbekannt. Und dennoch glauben viele Gynäkologen, aus der Praxis Hinweise dafür zu haben, dass der Sexualverkehr Einfluss auf die Entstehung oder Therapierbarkeit der BV habe.

Auch Keime der Darmflora kommen immer in gewissem Grade in der Vaginalflora vor, z.B. tauchen in der Scheidenflora in wechselnder Häufigkeit E. coli oder andere Keime auf, ohne dass dieses behandlungsbedürftig wäre. Auch oral zugeführte Probiotika können schon 2 bis 3 Wochen später in der Vaginalflora nachgewiesen werden (24). In einer Longitudinal-Studie über ein Jahr zeigte sich, dass sich z.B. Candida albicans oder andere Keime der Vaginalflora zwar bei den meisten Frauen im Laufe eines Jahres einmal nachweisen lassen, keineswegs aber bei jeder einzelnen Untersuchung (3).

Mit der vorliegenden Arbeit sollte daher versucht werden, die Vaginalflora von schwangeren Frauen an zwei etwa vier Wochen auseinander liegenden Terminen mit verschiedenen Techniken zu untersuchen. Einerseits wurden der in der Wissenschaft übliche Nugent-Score, andererseits eine von einem kommerziellen

Institut angebotene Technik zur Differenzierung der Vaginal- bzw. Stuhlflora eingesetzt, um diesen Status der Vaginal- und Stuhlflora bei den Frauen unter anderen Gesichtspunkten als den Nugent-Score festzustellen. Zusätzlich wurde versucht, einen ersten Eindruck über die Frage zu bekommen, ob der erst kürzlich entdeckte bakterielle Biofilm der BV im Urin der betroffenen Frauen und ihrer Sexualpartner nachgewiesen werden könnte. Mit einem pH-Wert über 4,5 bei 19% der Frauen am Termin 1 und 2 und einem Nachweis von Gardnerella bei 21% am Termin 1 und 2 entspricht diese Frequenz den Erwartungen großer Studien (25), allerdings wiesen nur 3 der 73 untersuchten Frauen einen Nugent-Score von 7-10 auf, während mit der FISH bei 10 Frauen ein kohäsiver Gardnerellen-Biofilm im Urin gefunden wurde. Solche Diskrepanzen sind aber auch zwischen Amsel-Kriterien und Nugent-Score bekannt.

Mehr als ein Drittel der schwangeren Frauen klagten über vaginale Beschwerden, meist Jucken. Dieses Phänomen ist bekannt und kam auch bei einem ähnlich hohem Anteil gesunder schwangerer Frauen vor, die in Berlin auf eine Candida-Besiedlung der Vagina untersucht worden und pilzfrei waren (43). Das zeigt auch, dass solche subjektiven Symptome insbesondere bei Schwangeren nicht aussagekräftig sind.

Auch die Angabe von nur sieben Frauen, dass ihr Ausfluss unangenehm rieche (Tabelle 11), aber bei zehn Frauen eine BV nachgewiesen worden ist (Tabelle 20), ist typisch: aus der Literatur ist bekannt, das nur die Hälfte der Frauen mit BV Beschwerden angeben (37).

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass sich oral zugeführte Laktobazillen spätestens zwei Wochen nach Beginn der Einnahme sich in der Vagina ansiedeln (24). Das ist nicht neu und normal, denn in der gesunden Scheide werden beispielsweise mehr oder wenige häufig auch Coli- Bakterien nachgewiesen.

Deshalb ist es für uns interessant gewesen festzustellen, in wieweit sich eine

gestörte Darmflora (von dem ausführenden Institut Kyberstatus genannt) auch in einer gestörten Vaginalflora (vom ausführenden Institut Vaginalstatus genannt) wieder findet.

Es klagten nur 4 von 18 Frauen mit verminderten H_2O_2-bildenden Laktobazillen über vaginale Beschwerden. Das zeigt, dass die messbaren Veränderungen der Vaginaflora subklinisch sind und möglicherweise deutlich geklagten Beschwerden voraus gehen. Wie aus Abbildung 3 hervorgeht, sind bei der zweiten Visite nach 4 Wochen sogar noch mehr Frauen von solch subklinischen Veränderungen betroffen gewesen. Da keine der untersuchten Frauen eine Frühgeburt hatte (Tabelle 21), sind diese Veränderungen wahrscheinlich klinisch noch nicht sehr bedeutend gewesen. Andererseits ist die Zahl der in unsere Studie untersuchten Frauen für solche Rückschlüsse zu klein. Jedenfalls hatte Donders Hinweise dafür gefunden, dass die anscheinend nur schwach gestörte „intermediate“ Flora des Nugent-Score 4-6 stark mit Frühgeburtlichkeit verbunden ist, möglicherweise mehr als die BV (11). Das könnte zum Teil auch die gegensätzlichen Ergebnisse der Studien zur Vermeidung von Frühgeburten nach Therapie der BV erklären (34).

Nur wenige Frauen, die hohe Zahlen von Gardnerella vaginalis in der Scheide hatten, hatten auch eine BV. Ähnlich, aber nicht so deutlich, ist der Befund hinsichtlich Atopobium vaginae. Dieses hier gefundene Verhältnis zwischen Gardnerella und Atopobium entspricht auch dem Verhältnis des Nachweises dieser beiden Keime im bakteriellen Biofilm der BV: so haben Swidzinski et al. (49) etwa halb so oft Atopobium wie Gardnerella in diesem Biofilm nachgewiesen. Weiterhin deutet sich aus Abbildung 5 an, dass die Verminderung von H_2O_2- bildenden Laktobazillen nicht automatisch mit einer Vermehrung von Gardnerella oder Atopobium einhergeht. Offensichtlich besitzt die Scheide noch andere Kompensationsmechanismen als die H2O2-bildenden Laktobazillen.

Der Nachweis B-Streptokokken bei 10 von 73 (13,7%) Frauen entspricht in etwa den

Literaturangaben (35, 36).

Bei 13 der 73 (17,8 %) Frauen wurde Candida nachgewiesen. Niemann fand bei prämenopausalen Frauen und bei Schwangeren jeweils in etwa 30% der Fälle Candida in der Scheide (43). Allerdings liegt die Nachweisrate von 18% durchaus in den üblichen Grenzen der Literatur, und das hier könnte wiederum die kleine Zahl der Patientinnen eine Rolle spielen.

Einerseits wird nämlich angegeben, dass von Trimenon zu Trimenon die Häufigkeit der vaginalen Kolonisation der Schwangeren um etwa 10% ansteigt (37). Andererseits gibt es Untersuchungen, in denen festgestellt worden ist, dass die vaginale Candida -Kolonisation von Schwangeren bei longitudinalen Untersuchungen wechselnd ist (3). Insofern passt der Nachweis von Candida bei nur 10 von 73 Frauen (13,7 %) bei der zweiten Visite und nach 4 Wochen zu dieser Literaturangabe.

In der Frühgeburten-Vermeidungsaktion in Thüringen wurde in 20 % der Fälle eine BV diagnostiziert (25). Aus Beobachtungen von Frauen mit unbehandelter BV über längere Zeit weiß man, dass über 20 % von ihnen ohne ärztliche Maßnahme zu einer normalen Flora zurückkehren können (29). Insofern sind in dieser Arbeit gefundenen Unterschiede des pH-Wertes zwischen dem ersten und zweiten Termin ebenfalls erklärbar.

Swidsinski und Mendling hatten Überlegungen angestellt, ob der bakterielle Biofilm aus Gewebeproben der Vagina (Knipsbiopsie) nicht auch für die Frauen atraumatisch aus Zellen aus dem Urin nachgewiesen werden könne (Mendling, persönliche Mitteilung 2009). Deshalb wurden hier die Urinproben der Frauen zu FISH Untersuchungen eingesetzt (neben zahlreichen weiteren Untersuchungen, die gesondert publiziert werden). Außerdem sollte auch Urin der männlichen Partner in gleicher Weise untersucht werden, um der Frage der sexuellen Übertragbarkeit der

BV näher zukommen.

Bei diesen Untersuchungen wurden auf Epithelzellen im Urin der Frauen, jeweils markiert durch FISH, Gardnerella vaginalis, Atopobium vaginae und andere Bakterien in einer Verteilung gefunden, wie sie im Biofilm des Vaginalepithels bekannt ist (49). Hier soll nur der Nachweis von Gardnerella vaginalis diskutiert werden. Gardnerella wurde entweder vereinzelt vorkommend („dispers“) oder dicht gelagert wie eine Mauer aus Ziegelsteinen („kohäsiv“) vorgefunden. 12 der 73 Schwangeren (17%) hatten kohäsive Gardnerella im Urin. Von ihnen hatten 10 einen Nugent-Score zwischen 7 und 10, das heißt eine BV. Sieben der zehn klagten auch über die typischen Beschwerden (Tabelle 20).

Bei 10 (14%) der Urinproben konnten nur vereinzelt Gardnerellen nachgewiesen werden. Diese Frauen hatten einen Nugent-Score von 0-3. Von den restlichen 53 Frauen ohne Nachweis von Gardnerella vaginalis hatten nur 2 einen Nugent-Score zwischen 7 und 10, während er bei 48 zwischen 0 und 3 lag.

Die Anzahl der nachgewiesenen Epithelzellen im Urin und die Anzahl der Bakterien auf der Oberfläche der Epithelzellen wurden semiquantitativ geschätzt. Demnach wurden bei den Schwangeren im Mittel 5000 Epithelzellen pro ml Urin gezählt. Auf jeder Zelle befanden sich im Fall kohäsiver Gardnerella 200 Bakterien auf deren Oberfläche (Tabelle 20).

Somit ist es dadurch möglich, dass die bakterielle Vaginose anhand des Gardnerella-Biofilms an Epithelzellen im Urin genauso verlässlich zu diagnostizieren ist wie in einer vaginalen Biopsie oder mit dem Nativpräparat.

Doch auch im Urin der Partner gelang der Nachweis kohäsiver Gardnerella auf Epithelien in 11% der Fälle. Das war immer nur bei den Männern der Fall, deren

Frauen eine BV hatten! Alle 53 Partner der Frauen, die ohne jeden Nachweis von Gardnerella im Urin waren, waren ebenfalls frei davon!

Die Konzentration der Epithelzellen im Urin der Männer lag mit einem Mittelwert von 1000 /5mal niedriger als bei den Frauen. Auch die Anzahl der kohäsiven Bakterien pro Epithelzelle lag mit etwa 68 Bakterien deutlich niedriger als bei den Partnerinnen, war aber signifikant von dem Erscheinungsbild und der Anzahl der Bakterien im Fall des vereinzelten Nachweises von Gardnerella verschieden (Tabelle 20, Bild 1).

Obwohl Anzahl und Konzentration der kohäsiven Gardnerella bei den Frauen höher als bei deren Partnern waren, ist die sexuelle Übertragung offensichtlich. Gelegentlich befanden sich im Urin der Männer zu wenige Zellen für eine Analyse. Anscheinend spielt es eine Rolle, ob die Vorhaut des Mannes bei der Abgabe der Probe vor- oder zurückgezogen ist. Bei zurückgezogener Vorhaut konnten nämlich niemals Epithelzellen mit kohäsiven Gardnerella gefunden werden (Swidsinski und Mendling, persönliche Mitteilung 2009).

Die BV wird bekanntlich nicht aufgrund des alleinigen Nachweises von Gardnerella vaginalis diagnostiziert, sondern bisher nach klinischen Kriterien (1). Nach der Entdeckung eines adhärenten Biofilms am Vaginalepithel bei BV, der zu etwa 90% aus Gardnerella vaginalis besteht, und sich trotz einer leitliniengerechten Therapie nicht komplett auflöst, sind die hohen Rezidivraten verständlich geworden. Der parallele Nachweis solcher „Schlüsselzellen“ auch im Urin von Partnern unterstützt sehr stark die schon länger in der Praxis gemachte Beobachtung der sexuellen Übertragung dieser Erkrankung. So könnte auch erklärt werden, warum Gardner früher keine BV durch Übertragung von Gardnerella vaginalis erzeugen konnte, wohl aber durch Übertragung von Fluor von BV-Patientinnen (siehe Tabelle 2!)

Es ist unbekannt, warum Gardnerella vaginalis in manchen Fällen zusammen mit anderen Bakterien, insbesondere Atopobium vagine, Biofilme bildet. Die

prädisponierenden Wirtsfaktoren sind unbekannt und ebenso unbekannt sind die Eigenschaften der Bakterien, die dazu führen.

Auch der Zusammenhang zwischen Vaginal- und Stuhlflora erscheint trotz der geringen Fallzahl in vielen Fällen möglich, es gelang aber nicht, ihn signifikant nachzuweisen: so konnte in 12 von 32 Fällen gleichzeitig eine Verminderung von H_2O_2 - bildenden Laktobazillen sowohl vaginal als auch im Stuhl der Betroffenen gefunden werden. Es fand sich aber zu keinem Zeitpunkt ein molekularbiologischer (PCR) Nachweis von Gardnerella vaginalis im Stuhl. Jedenfalls wird eine gesunde Darmflora als Grundlage für eine gesunde Vaginalflora allgemein angenommen. Die ersten guten Therapieergebnisse mit oral zugeführten Probiotika und anschließender Verbesserung der gestörten Vaginalflora lassen das jedenfalls vermuten (48).

Es fiel auf, dass eine Verminderung von Laktobazillen meist zum zweiten Termin persistierte und darüber hinaus noch einige Frauen mehr einen solchen Befund am zweiten Termin seit dem ersten Termin entwickelt hatten, obwohl offensichtlich nach dem Nugent-Score noch keine BV vorlag. Parallel hierzu war nur bei einer Frau die Zahl von Anaerobiern vermehrt. Das deckt sich mit dem insgesamt geringen Nachweis BV.

Daraus kann man schließen, dass die eingangs kritisierte allzu starre Einteilung der BV nach Nugent in Normal-, intermediate- Flora oder BV nicht in der Realität standhält (siehe auch 11), und dass es vielmehr möglich ist, über den Nachweis der Verminderung von essentiellen H_2O_2 - bildenden Laktobazillen Veränderungen der Vaginalflora früh zu bemerken . Möglicherweise ist also die BV hier nur die Spitze des Eisberges einer pathologischen Vaginalflora, die ihren Endpunkt in der Bildung eines sexuell übertragbaren Biofilms mit Gardnerella vaginalis als Hauptzeichen hat.

Die vorliegende Arbeit unterstützt somit die eingangs gestellten Hypothesen:

1. Schon vor Auftreten einer bakteriellen Vaginose (BV) bestehen teilweise erhebliche Störungen der Vaginalflora, die bisher im Nugent-Score mit „intermediate“ nur unscharf erfasst sind.
2. Die BV kann mit der FISH-Technik auch an Epithelzellen im Urin der Patientinnen durch Nachweis des Gardnerella-Biofilms diagnostiziert werden.
3. Auch beim Sexualpartner einer Frau mit BV können im Urin mit FISH solche Zellen gefunden werden. Wahrscheinlich ist also die BV doch, wie Gardner es schon glaubte, eine sexuell übertragbare Erkrankung.
4. Der Zusammenhang zwischen der Darmflora und der Vaginalflora konnte nur bei einzelnen Parametern gesehen werden.

7 Zusammenfassung

Material und Methoden:

Es wurde bei 73 schwangeren Frauen, die zwischen dem 05.09.2007 und dem 27.03.2008 zur Vorsorgeuntersuchung in die Hebammen- und Allgemeinarztpraxis der Verfasserin kamen, unabhängig vom Gestationsalter im Abstand von 4 Wochen zweimal folgende Untersuchungen durchgeführt: eine Gram-gestützte Diagnostik hinsichtlich der Bakteriellen Vaginose (BV) (Nugent Score) und des bakteriellen Biofilms mit Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH) im Urin (diese Untersuchung auch beim Partner der Patientin), klinische Parameter, Art der vaginalen Beschwerden (falls vorhanden), vaginaler pH-Wert, qualitative und quantitative kulturelle Untersuchungen des Scheideninhaltes, Untersuchungen der physiologischen Darmflora im Stuhl mit besonderem Augenmerk auf Laktobazillen und Polymerase-Chain-Reaction (PCR) im Stuhl auf Gardnerella vaginalis, falls dieser kulturell in der Scheide gefunden worden war.

Ergebnisse:

Bei 10 der 73 Frauen (13,6%) wurde bei der 1. Visite eine BV aufgrund des Nugent – Scores nachgewiesen.

Nur wenige Frauen, die hohe Zahlen von Gardnerella vaginalis in der Scheide aufwiesen, hatten auch eine BV. Ähnlich, aber nicht so deutlich, war der Befund hinsichtlich Atopobium vaginae. Schon vor den Zeichen einer BV bestanden teilweise erhebliche Störungen der Vaginalflora, die bisher mit dem Nugent-Score 4-6 („intermediate“) nur unscharf erfasst sind.

Die Verminderung von H_2O_2- bildenden Laktobazillen ging nicht automatisch mit einer Vermehrung von Gardnerella oder Atopobium einher.

12 der 73 Schwangeren (17%) hatten “kohäsive“ Gardnerella vaginalis an Epithelzellen im Urin. Von ihnen hatten 10 einen Nugent-Score zwischen 7 und 10,

das heißt eine BV. Sieben der zehn klagten auch über die typischen Beschwerden.

Somit scheint es möglich zu sein, die BV anhand des Gardnerella vaginalis - Biofilms an Epithelzellen im Urin genauso verlässlich zu diagnostizieren wie mit einer vaginalen Biopsie oder mit dem Nativpräparat.

Im Urin der Partner gelang der Nachweis kohäsiver Gardnerella auf Epithelien in 11% der Fälle. Das war immer nur bei den Männern der Fall, deren Frauen einen solchen Befund hatten!

Obwohl Anzahl und Konzentration der kohäsiven Gardnerella bei den Frauen im Urin höher als bei deren Partnern waren, ist die sexuelle Übertragung offensichtlich.

Mehr als ein Drittel der schwangeren Frauen klagten über vaginale Beschwerden, meist Jucken. Das korreliert nicht mit aus vaginalen Abstrichen gewonnenen positiven Pilzkulturen. Das zeigt auch, dass solche subjektiven Symptome insbesondere bei Schwangeren nicht aussagekräftig sind.

Von 18 Frauen mit verminderten H_2O_2-bildenden Laktobazillen klagten nur 4 Frauen über vaginale Beschwerden.

Der Nachweis von B-Streptokokken in der Scheide bei 10 von 73 (13,7%) Frauen entspricht in etwa den Literaturangaben.

Es konnte in 12 von 32 Fällen gleichzeitig eine Verminderung von H_2O_2 - bildenden Laktobazillen sowohl vaginal als auch im Stuhl der Betroffenen gefunden werden. Es fand sich aber zu keinem Zeitpunkt ein molekularbiologischer (PCR) Nachweis von Gardnerella vaginalis im Stuhl.

Die bakteriologischen Störungen der vaginalen Flora waren bei der zweiten Untersuchung nach 4 Wochen nicht immer gleichartig nachweisbar.

Es trat nur eine Frühgeburt in der 37. Schwangerschaftswoche bei einer Frau mit Nugent-Score 4-6 auf.

Schlussfolgerungen:

Neben der klinischen Diagnose BV gibt es nicht selten bakterielle subklinische

Veränderungen der Scheidenflora, insbesondere eine Verminderung der H2O2-bildenden Laktobazillen in der Scheide, aber auch im Darm.

Die BV ist auch mit FISH durch Nachweis kohäsiver Garderellen an Epithelzellen im Urin solcher Frauen gut diagnostizierbar.

Auch bei den Partnern von Frauen mit BV lassen sich solche Phänomene darstellen,

so dass von einer sexuellen Übertragung der BV auszugehen ist.

8 Literaturverzeichnis

1. **Amsel, R., P. A. Totten, C. A. Spiegel, K. C. Chen, D. Eschenbach, and K. K. Holmes.** 1983. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. Am J Med **74:**14-22.
2. **Backer de, E., R. Verhelst, H. Verstraelen, M. A. Alqumber, J. P. Burton, J. R. Tagg, M. Temmerman, and M. Vaneechoutte.** 2007. Quantitative determination by real-time PCR of four vaginal Lactobacillus species, Gardnerella vaginalis and Atopobium vaginae indicates an inverse relationship between L. gasseri and L. iners. BMC Microbiol **7:**115.
3. **Beigi, R. H., L. A. Meyn, D. M. Moore, M. A. Krohn, and S. L. Hillier.** 2004. Vaginal yeast colonization in nonpregnant women: a longitudinal study. Obstet Gynecol **104:**926-30.
4. **Blackwell, A. L., A. R. Fox, I. Phillips, and D. Barlow.** 1983. Anaerobic vaginosis (non-specific vaginitis): clinical, microbiological, and therapeutic findings. Lancet **2:**1379-82.
5. **Boris, J., C. Pahlson, and P. G. Larsson.** 1997. Six years observation after successful treatment of bacterial vaginosis. Infect Dis Obstet Gynecol **5:**297-302.
6. **Carey, J. C., and M. A. Klebanoff.** 2005. Is a change in the vaginal flora associated with an increased risk of preterm birth? Am J Obstet Gynecol **192:**1341-6; discussion 1346-7.
7. **Carey, J. C., S. J. Yaffe, and C. Catz.** 1993. The Vaginal Infections and Prematurity Study: an overview. Clin Obstet Gynecol **36:**809-20.
8. **Chen, K. C. S. F., P.; Buchanan, T.M.; Holmes, KK.** 1979. Amin content of vaginal fluid from untreated an treated patients with nonspecific vaginitis. . J Clin Invest **63:** 828-835.
9. **Chow, A. W. P.-S., R.; Bartlett, K.H.; Goldring, A.M.; Morrison.** 1986. Vaginal colonization with Escherichia coli in healthy women. Determination of relative risks by quantitative culture and multivariate statistical analysis. BJ. Am J Obstet Gynecol **154:**120-126.
10. **Donders, G. G. V., A.; Bosmans, E.; Dekeersmaeker, A.; Salambier, G.; Spitz, B.** 2002. Definition of a type of abnormal vaginal flora that is different from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. BJOG **109:**34-43.
11. **Donders, G. G.; van Calsteren, C.; Bellen, G.; Reybrouck, R.; van den Bosch, T.; Riphagen, I.; van Lierde, S.** 2008. Predictive Value for Pretermm Birth of Abnormal Vaginal Flora, Bacterial Vaginosis and Aerobic Vaginitis During the First Trimester of Pregnancy or Why Metronidazole is not a Good Option in Pregnancy., 6th Eur Conf Inf Dis Obstet Gynecol, Leuven/Belgium.
12. **Eschenbach, D. A., P. R. Davick, B. L. Williams, S. J. Klebanoff, K. Young-Smith, C. M. Critchlow, and K. K. Holmes.** 1989. Prevalence of hydrogen peroxide-producing Lactobacillus species in normal women and women with bacterial vaginosis. J Clin Microbiol **27:**251-6.
13. **Eschenbach, D. A., M. G. Gravett, K. C. Chen, U. B. Hoyme, and K. K. Holmes.** 1984. Bacterial vaginosis during pregnancy. An association with prematurity and postpartum complications. Scand J Urol Nephrol Suppl **86:**213-22.
14. **Fischbach, F., M. Kolben, R. Thurmayr, R. Hafter, E. Sedlaczek, M. Zieglmeier, G. Preisl, J. Weindler, and H. Graeff.** 1988. [Genital infections and the course of pregnancy: a prospective study]. Geburtshilfe Frauenheilkd **48:**469-78.

15. **Forsum, U., A. Hallen, and P. G. Larsson.** 2005. Bacterial vaginosis--a laboratory and clinical diagnostics enigma. Apmis **113:**153-61.
16. **Fredricks, D. N., T. L. Fiedler, and J. M. Marrazzo.** 2005. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. N Engl J Med **353:**1899-911.
17. **Gardner, H. L.** 1980. Haemophilus vaginalis vaginitis after twenty-five years. Am J Obstet Gynecol **137:**385-91.
18. **Gardner, H. L., and C. D. Dukes.** 1955. Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified non-specific vaginitis. Am J Obstet Gynecol **69:**962-76.
19. **Goldenberg, R. L. H., J.C.; Andrews, W.W.** 2000. Intrauterine infection and preterm birth. N Engl J Med **342:**1500–1507.
20. **Gonzalez Pedraza Aviles, A., M. C. Ortiz Zaragoza, and A. Irigoyen Coria.** 1999. Bacterial vaginosis a "broad overview". Rev Latinoam Microbiol **41:**25-34.
21. **Gräfenberg, E.** 1912. Die zyklischen Schwankungen des Säuretiters im Scheidensekret. Arch Gynäkol **108:**628.
22. **Greaves, W. L., J. Chungafung, B. Morris, A. Haile, and J. L. Townsend.** 1988. Clindamycin versus metronidazole in the treatment of bacterial vaginosis. Obstet Gynecol **72:**799-802.
23. **Hay, P. E., D. J. Morgan, C. A. Ison, S. A. Bhide, M. Romney, P. McKenzie, J. Pearson, R. F. Lamont, and D. Taylor-Robinson.** 1994. A longitudinal study of bacterial vaginosis during pregnancy. Br J Obstet Gynaecol **101:**1048-53.
24. **Heczko, P. B. S., M.; Kochau, P.; Chelmicki, Z.; Chelmicki, A.; Goziewski, T.;Paluchat, A.** 2008. Colonization of rectal and vaginal epithelium by three different Lactobacillus strains administered orally, 6th Eur Conf Eur Soc Inf Dis Obstrec Gynecol (ESIDOG), Leuven, Belgium.
25. **Hoyme, U. B. M., U.; Saling, E.** 2002. Ergebnisse und mögliche Konsequenzen der Thüringer Frühgeburtenvermeidungsaktion. Geburtsh Frauenheilk **62:**257–263.
26. **Hoyme, U. B. v. d. M., W.** 1995. Bakterielle Vaginose. Socio-medico Verlag (SMV), Gräfeling.
27. **Jaschke, R. T.** 1925. Der Fluor genitalis. Arch Gynäkol **125:**223.
28. **Jerve, F., T. B. Berdal, P. Bohman, C. C. Smith, O. K. Evjen, H. Gjonnaess, M. Gaasemyr, L. Hausken, K. Hesla, E. Hoftvedt, and et al.** 1984. Metronidazole in the treatment of non-specific vaginitis (NSV). Br J Vener Dis **60:**171-4.
29. **Klebanoff, M. A., J. C. Hauth, C. A. MacPherson, J. C. Carey, R. P. Heine, R. J. Wapner, J. D. Iams, A. Moawad, M. Miodovnik, B. M. Sibai, J. P. vanDorsten, and M. P. Dombrowski.** 2004. Time course of the regression of asymptomatic bacterial vaginosis in pregnancy with and without treatment. Am J Obstet Gynecol **190:**363-70.
30. **Kurkinen-Raty, M., S. Vuopala, M. Koskela, M. Kekki, T. Kurki, J. Paavonen, and P. Jouppila.** 2000. A randomised controlled trial of vaginal clindamycin for early pregnancy bacterial vaginosis. Bjog **107:**1427-32.
31. **Larsson, P. G., B. Bergman, U. Forsum, and C. Pahlson.** 1990. Treatment of bacterial vaginosis in women with vaginal bleeding complications or discharge and harboring Mobiluncus. Gynecol Obstet Invest **29:**296-300.
32. **Larsson, P. G., M. Bergstrom, U. Forsum, B. Jacobsson, A. Strand, and P. Wolner-Hanssen.** 2005. Bacterial vaginosis. Transmission, role in genital tract infection and pregnancy outcome: an enigma. Apmis **113:**233-45.
33. **Larsson, P. G., and U. Forsum.** 2005. Bacterial vaginosis--a disturbed bacterial flora and treatment enigma. Apmis **113:**305-16.
34. **Leitich, H., M. Brunbauer, B. Bodner-Adler, A. Kaider, C. Egarter, and P. Husslein.** 2003. Antibiotic treatment of bacterial vaginosis in pregnancy: a meta-analysis. Am J Obstet Gynecol **188:**752-8.

35. **Martius, J., U. B. Hoyme, and W. Mendling.** 2008. Bakterielle Vaginose in Gynäkologie und Geburtshilfe. . *In* AWMF (ed.), Leitlinienregister, vol. 015/028.
36. **Martius, J., M. A. Krohn, S. L. Hillier, W. E. Stamm, K. K. Holmes, and D. A. Eschenbach.** 1988. Relationships of vaginal Lactobacillus species, cervical Chlamydia trachomatis, and bacterial vaginosis to preterm birth. Obstet Gynecol **71:**89-95.
37. **Mendling, W.** 2006. Vaginose, Vaginitis, Zervitis und Salpingitis. . Springer Verlag, Heidelberg.
38. **Mendling, W., and F. Mailland.** 2002. Microbiological and pharmaco-toxicological profile of nifuratel and its favourable risk/benefit ratio for the treatment of vulvo-vaginal infections. A review. Arzneimittelforschung **52:**8-13.
39. **Mendling, W. K., C.** 1988. Verursacht die Bakterielle Vaginose Frühgeburten?, Kongr Dtsch Ges Gyn Geburtsh 6.-10.9. , München.
40. **Mendling, W. K. C.** 1985. »Unspecific vaginitis« – Bacteriological findings in patients and male partners. Therapeutic results with oral metronidazole., 2nd Eur Congr Clin Microbiol 1.5.9.1985 Brighton, England.
41. **Mendling, W. S., A.; Swidsinski, S.** 2006. [Adhärenter Biofilm bei bakterieller Vaginose: Hatte Gardner doch Recht?]. Frauenarzt **47:**308-313.
42. **Michael, W.** 2004. Microbial Inhabitants of Humans Their Ecology and Role in Health and Disease. Cambridge University Press, Cambrige.
43. **Niemann, D.** 2005. Die vaginale Kolonisation von Candida-Arten unter besonderer Berücksichtigung von Candida dubliniensis. Eine prospektive Studie. Dissertation. Universitätsmedizin Charité Berlin.
44. **Nugent, R. P., M. A. Krohn, and S. L. Hillier.** 1991. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. J Clin Microbiol **29:**297-301.
45. **Pheiffer, T. A. F. D. e. a.** 1978. Nonspecific vaginitis: Role of Haemophilus vaginalis and treatment with metronidazole. N Engl J Med **98:**1429-31.
46. **Potter, J.** 1999. Should sexual partners of women with bacterial vaginosis receive treatment? Br J Gen Pract **49:**913-8.
47. **Reid, G.** 2001. Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. Am J Clin Nutr **73:**437S-443S.
48. **Reid, G.** 2008. Probiotic Lactobacilli for urogenital health in women. J Clin Gastroenterol **42 Suppl 3 Pt 2:**S234-6.
49. **Rezeberga, D. L., G.; Kroika, J.; Sokolova, L.; Donders, G., and** 2005. Reproductive tract infections in low risk pregnant women in Latvia., 9th World Congr Inf Immunol Dis Obstet Gynecol Urol Dermatol, Macaió (Brazil).
50. **Romero, R. G., Th.** 2008. Twenty percent of very preterm neonates (23-32 weeks of gestation) are born with bacteriemia caused by genital Mykoplasmas. Am J Obstet Gynecol **198:**1-3.
51. **Schröder, R.** 1921. Zur Pathogenese und Klinik des vaginales Fluors. Zentralblatt Gynäkol **38:**1350-1361.
52. **Schwiertz, A., D. Taras, K. Rusch, and V. Rusch.** 2006. Throwing the dice for the diagnosis of vaginal complaints? Ann Clin Microbiol Antimicrob **5:**4.
53. **Swidsinski, A., V. Loening-Baucke, S. Bengmark, J. Scholze, and Y. Doerffel.** 2008. Bacterial biofilm suppression with antibiotics for ulcerative and indeterminate colitis: consequences of aggressive treatment. Arch Med Res **39:**198-204.
54. **Swidsinski, A., W. Mendling, V. Loening-Baucke, A. Ladhoff, S. Swidsinski, L. P. Hale, and H. Lochs.** 2005. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. Obstet Gynecol **106:**1013-23.

55. **Swidsinski, A., W. Mendling, V. Loening-Baucke, S. Swidsinski, Y. Dorffel, J. Scholze, H. Lochs, and H. Verstraelen.** 2008. An adherent Gardnerella vaginalis biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. Am J Obstet Gynecol **198:**97 e1-6.
56. **Varma, R., and J. K. Gupta.** 2006. Antibiotic treatment of bacterial vaginosis in pregnancy: multiple meta-analyses and dilemmas in interpretation. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol **124:**10-4.
57. **Verstraelen, H., R. Verhelst, G. Claeys, M. Temmerman, and M. Vaneechoutte.** 2004. Culture-independent analysis of vaginal microflora: the unrecognized association of Atopobium vaginae with bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol **191:**1130-2.
58. **Witt, A.** 2005. Intrauterine infection with Ureaplasma urealyticum and preterm delivery., 9th World Congr Inf Immunol Dis Obstet Gynecol Urol Dermatol, Macaió (Brazil).

9 Lebenslauf Vesna Lemm

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

10 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Vesna Lemm, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: "Untersuchungen zur vaginalen und kolorektalen Flora und zur bakteriellen Vaginose in der Schwangerschaft bei Frauen und ihren Partnern" selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum Unterschrift

06.05.2010