

# Kurzzusammenfassung Mikrobiologie (Werchau)

Patrick Koehne  
Irisweg 9  
59439 Holzwickede  
e-mail: patrick@koehne-net.de

20. Oktober 1999

## Zusammenfassung

Dieses Dokument ist meiner Prüfung am 29.05.1995 gewidmet.  
Egal wer diese Seiten lesen sollte. Er kommt nicht drumherum die entsprechenden Kapitel in einem Lehrbuch durchzulesen, um einige Ausführungen verstehen zu können. Diese Zusammenfassung ist nur zum nachträglichen Eintrichtern der wichtigsten Dinge gedacht.  
Es ist darauf zu achten, daß zu möglichst allen Situationen Beispiele vorhanden sind. Frei nach dem Motto: Nennen Sie mir mal ein paar DNA-Viren!  
Ich übernehme keinerlei Garantie für die Richtigkeit der Zusammenfassung!  
Viel Glück bei Euren Prüfungen.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Morphologie</b>	<b>7</b>
1.1 Definitionen . . . . .	7
1.1.1 Unterschiede zwischen Prokaryonten und Eukaryonten . . . . .	7
1.2 Größe und Form der Bakterienzellen . . . . .	7
1.2.1 Kokken . . . . .	7
1.2.2 Stäbchen . . . . .	7
1.2.3 Schraubenförmige Bakterien . . . . .	8
1.2.4 Gestaltänderung durch äußere Einflüsse . . . . .	8
1.3 Struktur und Funktionen der Bakterienzelle . . . . .	8

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	2
1.3.1 Das Bakterienchromosom . . . . .	8
1.3.2 Zytoplasma . . . . .	8
1.3.3 Ribosomen . . . . .	8
1.3.4 Zytoplasmamembran . . . . .	8
1.3.5 Zellwand der Bakterien . . . . .	9
1.3.6 Medizinische Bedeutung der Zellwand . . . . .	9
1.3.7 Bakteriensporen . . . . .	9
1.3.8 Geißeln und Pili . . . . .	10
<b>2 Genetik</b>	<b>11</b>
2.1 Struktur des Bakterienchromosoms . . . . .	11
2.2 Verdopplung des bakteriellen Chromosoms . . . . .	11
2.3 Genetische Kode und Proteinsynthese . . . . .	11
2.4 Mutationen . . . . .	12
2.4.1 Mutationsarten . . . . .	12
2.4.2 Spontane Mutation . . . . .	12
2.4.3 Induzierte Mutationen . . . . .	12
2.5 Genetische Rekombination und Merkmalsübertragung . . . . .	13
2.5.1 Transformation . . . . .	13
2.5.2 Konjugation . . . . .	13
2.5.3 Insertion und Transposition . . . . .	14
2.5.4 Transduktion . . . . .	15
<b>3 Normale Flora</b>	<b>16</b>
3.1 Definitionen und Grundlagen . . . . .	16
3.2 Etablierung der Flora und Adhärenz . . . . .	16
3.3 Substratangebot und Ernährung . . . . .	16
3.4 Physikochemische Faktoren . . . . .	17
3.4.1 Feuchtigkeit . . . . .	17
3.4.2 Sauerstoff und Redoxpotential . . . . .	17
3.4.3 pH-Wert . . . . .	17
3.4.4 Spüleffekte . . . . .	17
3.5 Antagonismen und Synergismen . . . . .	17
3.5.1 Antagonistische Beziehung . . . . .	17
3.5.2 Synergetische Beziehungen . . . . .	18

3.6	Auswirkungen metabolistischer Fähigkeiten der Flora . . . . .	18
3.6.1	Metabolismus von Nahrungsadditiven und Chemotherapeutika . . .	18
3.6.2	Mikrobielle Gasproduktion . . . . .	18
3.7	Beschreibung der normalen Flora in den einzelnen Biotopen . . . . .	18
3.7.1	Haut . . . . .	18
3.7.2	Mundhöhle und Respirationstrakt . . . . .	19
3.7.3	Gastrointestinaltrakt . . . . .	19
3.7.4	Urogenitaltrakt . . . . .	20
<b>4</b>	<b>Pathogenese und Infektabwehr</b>	<b>21</b>
4.1	Infektion und Infektionskrankheit . . . . .	21
4.1.1	Erreger von Infektionskrankheiten . . . . .	21
4.1.2	Eindringen von Krankheitserregern in den Körper . . . . .	21
4.1.3	Ausbreitung der Erreger im Wirt . . . . .	22
4.1.4	Tropismus und Inkubationszeit . . . . .	22
4.2	Pathogenitäts- und Virulenzfaktor . . . . .	22
4.2.1	Toxine . . . . .	22
4.2.2	Adhäsion (Adhärenz) . . . . .	23
4.2.3	Siderophorbildung . . . . .	23
4.2.4	Kapselbildung (Phagozytoseschutz) . . . . .	23
4.2.5	Resistenz . . . . .	23
4.2.6	Genetik der Pathogenitäts- und Virulenzfaktoren . . . . .	24
4.3	Infektabwehr des Makroorganismus . . . . .	24
4.3.1	Immunität und Resistenz . . . . .	24
4.3.2	Barrieren und Selbstreinigungsmechanismen . . . . .	24
4.3.3	Körpereigene antimikrobielle Resistenzfaktoren . . . . .	24
4.3.4	Phagozytose . . . . .	25
4.3.5	Erregerabtötung . . . . .	25
4.3.6	Komplementsystem . . . . .	25
4.3.7	Spezifische Immunität und Infektabwehr . . . . .	26

<b>5</b>	<b>Epidemiologie der Infektionskrankheiten</b>	<b>27</b>
5.1	Erregerreservoir . . . . .	27
5.2	Infektionsquellen und Übertragungswege . . . . .	27
5.3	Infektionsketten . . . . .	28
5.4	Morbidität – Mortalität – Letalität . . . . .	28
5.5	Endemie – Epidemie – Tardivepidemie – Pandemie . . . . .	28
5.6	Krankenhausepidemien – infektiöser Hospitalismus . . . . .	28
5.7	Erfassung übertragbarer Krankheiten . . . . .	29
<b>6</b>	<b>Direkte Krankheitsdiagnose durch Bakteriennachweis</b>	<b>30</b>
6.1	Vorbemerkung . . . . .	30
6.2	Entnahme und Transport von Untersuchungsmaterial . . . . .	30
6.2.1	Operations– und Biopsiematerial . . . . .	30
6.2.2	Sektionsmaterial . . . . .	30
6.2.3	Blutkulturen . . . . .	30
6.2.4	Eiter . . . . .	31
6.2.5	Liquor . . . . .	31
6.2.6	Eiter und Sekrete aus Kopfbereich . . . . .	31
6.2.7	Stuhl . . . . .	31
6.2.8	Harn . . . . .	31
6.3	Mikroskopischer Erregernachweis . . . . .	32
6.4	Kulturelle Verfahren zum Nachweis bakterieller Erreger . . . . .	32
6.5	DNA–Sonden für den spezifischen und schnellen Erregernachweis . . . . .	32
<b>7</b>	<b>Indirekte Krankheitsdiagnose durch Antikörpernachweis – Serologische Techniken</b>	<b>33</b>
7.1	Einsatz serologischer Methoden zum Antigennachweis . . . . .	33
7.2	Komplementbindungsreaktion (KBR) . . . . .	33
7.3	Präzipitation . . . . .	33
7.4	Agglutination . . . . .	34
7.5	Fluoreszenzserologie . . . . .	34
7.6	Enzyme–Linked Immunosorbent Assay (ELISA) . . . . .	34
7.7	Weitere Methoden . . . . .	35

<b>8</b>	<b>Virologie, allgemeiner Teil</b>	<b>36</b>
8.1	Viruseigenschaften . . . . .	36
8.1.1	Chemische Zusammensetzung von Viren . . . . .	36
8.1.2	Virusstruktur . . . . .	36
8.2	Virusklassifikation . . . . .	37
8.2.1	DNA–Viren . . . . .	37
8.2.2	RNA–Viren . . . . .	37
8.3	Virusvermehrung . . . . .	38
8.3.1	Infektion einer Wirtszelle . . . . .	38
8.3.2	Expression und Replikation des viralen Genoms . . . . .	38
8.3.3	Zusammenbau und Freisetzung von Viren . . . . .	39
8.3.4	Bakteriophagen . . . . .	39
8.4	Virusgenetik . . . . .	40
8.4.1	Genetische Mechanismen . . . . .	40
8.4.2	Nichtgenetische Mechanismen . . . . .	40
8.4.3	Defekte Viren . . . . .	40
8.5	Virale Pathogenese . . . . .	40
8.5.1	Virusübertragung . . . . .	40
8.5.2	Virusausbreitung im Wirtsorganismus . . . . .	41
8.5.3	Zell– und Gewebetropismus und Zellrezeptoren . . . . .	41
8.5.4	Immunantwort und andere Abwehrmaßnahmen des Wirtsorganismus	41
8.5.5	Virus–Persistenz, Virus–Latenz und Slow–Virus–Erkrankungen . .	41
8.6	Prophylaxe und Therapie von Virusinfektionen . . . . .	42
8.6.1	Schutzimpfungen . . . . .	42
8.6.2	Antivirale Chemotherapie . . . . .	43
8.7	Diagnostik viraler Erkrankungen . . . . .	43
8.7.1	Virusanzucht . . . . .	43
8.7.2	Nachweismethoden zur Identifizierung von Viren in Zellkulturen . .	43
8.7.3	Antigennachweis aus Patientenmaterial – infizierten Zellkulturen . .	44
8.7.4	Nukleinsäurenachweis . . . . .	45
8.7.5	Nachweis spezifischer Antikörper . . . . .	45
<b>9</b>	<b>Hepadnaviridae</b>	<b>46</b>
9.1	Hepatitis–B–Virus (HBV) . . . . .	46
9.2	Hepatitis–D–Virus . . . . .	47

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	6
<b>10 Retroviridae</b>	<b>48</b>
10.1 Human Immunodeficiency Virus (HIV) . . . . .	48
<b>11 Hepatitis Non-A, Non-B (HNANB)</b>	<b>50</b>
11.1 Hepatitis-C-Virus . . . . .	50
11.2 Hepatitis-E-Virus . . . . .	50
<b>12 Schutzimpfungen</b>	<b>51</b>
12.1 Passive Impfung . . . . .	51
12.2 Aktive Impfung . . . . .	51
12.2.1 Totimpfstoffe . . . . .	52
12.2.2 Lebendimpfstoffe . . . . .	52
12.2.3 Toxoidimpfstoffe . . . . .	53

# BAKTERIOLOGIE, allgemeiner Teil

## 1 Morphologie

### 1.1 Definitionen

Mikroorganismen = Protisten

Einzelindividuum nur mikroskopisch sichtbar.

Protisten: Bakterien, mikroskopisch kleine Pilze und Algen

höhere Protisten = Eukaryonten

niedere Protisten = Prokaryonten : Bakterien

#### 1.1.1 Unterschiede zwischen Prokaryonten und Eukaryonten

Das genetische Material der Eukaryonten ist in Chromosomen organisiert, welche aus DNA und Histonen bestehen. Sie liegen in einem membranumhüllten Zellkern.

Das sogenannte *Bakterienchromosom* ist dagegen ein ringförmiges DNA ohne Membranhüllung und liegt somit frei im Zytoplasma.

Eine Sonderstellung nehmen Viren ein. Sie haben keinen eigenen Stoffwechsel und keine zelluläre Struktur. Sie sind also als tote Makromoleküle zu bezeichnen.

### 1.2 Größe und Form der Bakterienzellen

- Stäbchen (Zylinderform) ca.  $1\mu m$  breit, ca.  $5-10\mu m$  lang
- Kokken (Kugelbakterien) ca.  $0,5\mu m$  Durchmesser
- Spirochäten (Schraubnbakterien) ca.  $0,1\mu m$  breit, ca.  $20\mu m$  lang
- Fadenförmige Bakterien (*Streptomyces*) sind z.T. wesentlich länger als  $20\mu m$

#### 1.2.1 Kokken

Nach der Zellteilung bleiben die Zellen meist in charakteristischer Form aneinander hängen. Es gibt verschiedene Anordnungen: kettenartig (*Streptococcus*), traubenartig (*Staphylococcus*), paarweise (*Neisserien*) oder auch regelmäßig mehrpaarig.

#### 1.2.2 Stäbchen

Es gibt gerade, regelmäßige (*Bacillus*, *E.coli*), zugespitzte Zellenden (*Fusobakterium*), Stäbchen mit Endosporen (*Bacillus*) und gebogene Stäbchen (*Vibrio*)

### 1.2.3 Schraubenförmige Bakterien

Sie leiten sich aus der zylindrischen Version ab, sind nur mehrfach gebogen. Es gibt Spirillen, die starr sind und Spirochäten, die flexibel sind.

### 1.2.4 Gestaltänderung durch äußere Einflüsse

Die Zellform ist genetisch weitgehend vorbestimmt. Jedoch kann sich diese, z.B. durch Einwirkung von Antibiotika ändern. Dann entsteht z.B. die sog. L-Form welche keine Zellwand mehr aufweist.

## 1.3 Struktur und Funktionen der Bakterienzelle

Die Bakterienzelle besteht von außen nach innen aus folgenden Teilen:

- Zellwand
- Zytoplasmamembran
- Zytoplasma mit Ribosomen
- Bakterienchromosom

### 1.3.1 Das Bakterienchromosom

Das Bakterienchromosom ist nicht von einer Membran umhüllt und besteht aus DNA. Es ist ein ca. 1mm langer, an den Enden geschlossener Faden. Es gibt noch zusätzlich kleinere DNA-Moleküle, die sog. Plasmide

### 1.3.2 Zytoplasma

Es enthält Proteine, lösliche RNA, Salze, Stoffwechselprodukte und Wasser

### 1.3.3 Ribosomen

Die Ribosomen sind die Orte der Proteinsynthese.

### 1.3.4 Zytoplasmamembran

Sie stellt die physiologische Barriere dar und kontrolliert den Stoffein- und austritt. Sie besteht aus Lipiden (Matrix) und Proteinen (Enzym- und Transportfunktion).

Bei grampositiven Bakterien gibt es nur die Zytoplasmamembran unterhalb der Zellwand. Gramnegative besitzen dagegen noch eine Außenmembran außerhalb der Zellwand.

### 1.3.5 Zellwand der Bakterien

Sie besteht aus Murein und ist elastisch. Gegenüber niedermolekularen (Salze, Zucker, Wasser) Stoffen ist sie durchlässig. Die Heteropolysaccharidstruktur des Mureins kommt nur bei Bakterien, nicht aber bei Mensch, Tieren und Pflanzen vor und ist daher ein hochselektiver Angriffspunkt für zellwandwirksame Antibiotika, z.B. Penizilline! Primäre Nebenwirkungen sind somit ausgeschlossen.

Die Zellwand von grampositiven Bakterien ist ein dichtes, mehrschichtiges Peptidglykan. Die der gramnegativen Bakterien ist dagegen dünn und meist einschichtig und ist mit der Außenmembran verbunden.

Die Außenmembran der gramnegativen Bakterien ähnelt der Zytoplasmamembran enthält jedoch zusätzlich Lipopolysaccharide (LPS), die nach außen aus ihr hervorragen. Ihr Lipidanteil hat toxische Eigenschaften, der jedoch erst bei der Lysis der Zelle aktiv wird und somit als Endotoxin bezeichnet wird.

### 1.3.6 Medizinische Bedeutung der Zellwand

1. Die Zellwand ist der Teil der Bakterienzelle, der mit der Außenwelt, also auch mit dem Immunsystem des Makroorganismus, in Kontakt tritt. Die als antigene Determinante fungierende Oberflächenstruktur rufen die Bildung von Antikörpern hervor, die zur Agglutination bzw. bei Gegenwart von Komplement und Phagozyten zur Phagozytose oder Zellabtötung führen.
2. Die Lipopolysaccharide gramnegativer Bakterien stellen Endotoxine dar.
3. Die Zellwand ist der Angriffspunkt für Lysozym, das in der Tränenflüssigkeit und anderen Sekreten enthalten ist.
4. Beta-Laktamantibiotika (Penizilline) inhibieren die Neusynthese des Peptidglykans. Sie wirken deshalb nur auf Bakterien, die in der Teilung begriffen sind.

### 1.3.7 Bakteriensporen

Die Zahl der sporenbildenden Bacteriengattungen ist, insgesamt gesehen, gering. Es wird zwischen Endosporen, welche innerhalb der Zelle gebildet werden, und Konidiosporen, die am Ende entstehen, unterschieden. Unter den medizinisch wichtigen Bakterien findet man die Fähigkeit zur Endosporenbildung in den Gattungen *Bacillus* und *Clostridium*. Beides sind grampositive Stäbchen. Sie sind resistent gegen: Kochen, Trockenheit, Desinfektionsmittel. Endosporen lassen sich erst durch eine Behandlung bei 121 Grad Celsius in gespanntem Dampf mit einer Einwirkungszeit von 15–20min abtöten. Die Widerstandsfähigkeit läßt sich durch die mehrschichtige Zellwand und dem geringen Wassergehalt erklären. Pro Zelle gibt es nur eine Spore. Sie dient also nicht der Vermehrung, sondern nur dem Überdauern widriger Lebensumstände.

### **1.3.8 Geißeln und Pili**

Die Geißeln (Flagellen) dienen der Fortbewegung. Sie bestehen aus Flagellin und ihre Anordnung an der Zelle ist meist charakteristisch. Durch ihren hohen Gehalt an Protein sind sie gute Antigene.

Neben den Geißeln findet man bei manchen Bakterienarten kürzere Anhängsel, die als Fimbrien oder Pili bezeichnet werden. Sie dienen der Anheftung der Bakterie. Sie bestehen ebenfalls aus Protein (Pilin).

## 2 Genetik

Die Genetik befaßt sich mit der Weitergabe, Konstanz und Veränderbarkeit der Erbanlagen. Die Gene sind in der Desoxyribonukleinsäure (DNA) lokalisiert.

### 2.1 Struktur des Bakterienchromosoms

Wie schon im Abschnitt Morphologie erwähnt, liegt bei Bakterien die DNA als ringförmiger Doppelstrang (= Bakterienchromosom, Nukleid) vor. Beide Einzelstränge sind spiralförmig umeinander gewunden. Die beiden Stränge setzen sich aus einer langen Kette von Nukleotiden zusammen, die über Phosphodiesterbrücken verknüpft sind. Jedes Nukleotid besteht aus einem Phosphatrest, einem Zucker (Desoxyribose) und einer Purinbase (entweder Adenin oder Guanin) oder einer Pyrimidinbase (entweder Cytosin oder Thymin). Jeder Purinbase auf einem Strang steht eine Pyrimidinbase auf dem gegenläufigen Strang gegenüber; beide Stränge werden durch lockere Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basen zusammengehalten. Die Basensequenz eines Stranges ist komplementär zur Sequenz des anderen Stranges. Dabei steht Adenin immer Thymin gegenüber und Guanin immer Cytosin.

### 2.2 Verdopplung des bakteriellen Chromosoms

Bei der Zellteilung wird die DNA verdoppelt, also identisch repliziert. Diese Verdopplung erfolgt nach einem semikonservativem Mechanismus: Bei der Replikation weichen die umeinandergewundenen Doppelstränge auseinander (Entspiralisierung). An jedem Einzelstrang erfolgt die Neusynthese eines Komplementärstranges. Dabei sind die DNA-Polymerasen beteiligt. Diese verknüpfen die zum Elternstrang komplementären Nukleotide miteinander und synthetisieren einen neuen Polynukleotidstrang. Jeder Elternstrang dient somit also als Matrize für einen Tochterstrang. An der Trennung der beiden Stränge sind die bakterielle Gyrase sowie Initiationsproteine beteiligt.

### 2.3 Genetische Kode und Proteinsynthese

Die in den Genen (= DNA) vorliegende Information muß in die Sequenz der in den Proteinen vorliegenden Aminosäuren übersetzt werden. Die DNA ist dabei nicht selbst die Matrize für die Proteinsynthese. Dazu dient die Messenger-Ribonukleinsäure (m-RNA). Sie ist einsträngig und enthält statt Thymin Urazil und statt Desoxyribose Ribose. Die Umkopierung von DNA in die m-RNA wird als Transkription bezeichnet. Das beteiligte Enzym ist die DNA-abhängige RNA-Polymerase. Die Basensequenz der m-RNA ist der der DNA komplementär.

Die Information der DNA wird durch die lineare Reihenfolge der Basen im DNA-Strang determiniert. Die *Kodebuchstaben* entsprechen den einzelnen Basen der DNA. Je 3 Kodebuchstaben ergeben ein Kodewort, kodieren also für eine Aminosäure. Diese Basentriplets werden linear durch Ablesen von Anfang der m-RNA gelesen; es gibt keine *Pausen* im Kode. Die Umsetzung der Information der m-RNA in die Proteine erfolgt am Ribosom und wird als

Translation bezeichnet. Die Proteinsynthese ist ein energieverbrauchender Prozeß. Es werden dazu Aminosäuren aktiviert und an eine ihr entsprechende Transfer-Ribonukleinsäure (t-RNA) angehängt. Die so beladenen t-RNAs treffen sich am Ribosom mit der m-RNA. Dort erfolgt die Verknüpfung der Aminosäuren gemäß der in der m-RNA enthaltenen Information.

Die Art der Informationsübertragung von der DNA auf die m-RNA und von dort durch Translation auf die Proteine wird als *zentrales Dogma der Molekularbiologie* bezeichnet. Es gilt für alle Prokaryonten, Enkaryonten und DNA-haltige Viren.

## 2.4 Mutationen

Unter Mutationen versteht man eine sprunghafte, ungerichtete und weitervererbare Veränderung eines Genes.

### 2.4.1 Mutationsarten

- **Punktmutation:** Austausch einer Base gegen andere Base. Transition, falls gleichartige Basen vertauscht werden (z.B. Purinbase ↔ Purinbase) und Transversion, wenn eine Purin- gegen eine Pyrimidinbase (oder umgekehrt) ausgetauscht wird.
- **Insertion oder Deletion:** Einschub oder Verlust eines Basenpaares führt zur Verschiebung des Leserahmens (frame-shift) der Basentriplets.

### 2.4.2 Spontane Mutation

Die spontane, d.h. nicht induzierte Mutation kommt mit einer Häufigkeit von etwa  $10^{-6}$  bis  $10^{-13}$  vor. Solche Mutationen können jedoch durch die Stempeltechnik nach Lederberg indirekt selektiert werden.

### 2.4.3 Induzierte Mutationen

Diese werden erzeugt durch Einwirkung chemischer Mutagene (z.B. salpetrige Säure, polyzyklische Kohlenwasserstoffe) oder energiereiche Strahlung ( $\gamma$ -Strahlen, UV). Grundsätzlich unterscheiden sich durch Induktion gewonnene Mutationen nicht von den spontanen, jedoch wird die Rate durch Mutagene um bis zu 1000 mal erhöht!!

Wirkungsweise einiger Mutagene:

- Basenanaloga werden anstatt von Basen in die DNA eingebaut
- salpetrige Säure, alkylierende Agenzien führen zu chem. Veränderungen der Basen
- Akridinfarbstoffe: Einschub zwischen Basen, führt zu frame-shift
- energiereiche Strahlung: UV führt zur Bildung von Tymindimeren (Folge: Ablesefehler)

## 2.5 Genetische Rekombination und Merkmalsübertragung

Hierunter versteht man den Austausch von genetischem Material bei Bakterien vom Spender (= Donor) zum Empfänger (= Akzeptor).

Dieser Vorgang wird als Rekombination bezeichnet. Das Empfängerchromosom erhält ein DNA-Segment und bei der nächsten Zellteilung wird dieses eingebaut, sodaß einer der Nachkommen das rekombinierte Chromosom enthält.

Diese Integration von DNA kann auf verschiedene Arten erfolgen:

- allgemeine, homologe Rekombination: die DNA-Partner müssen die gleiche Basensequenz haben, also über ein Maximum an Homologie verfügen
- ortsspezifische Rekombination: Spender-DNA wird an definierter Stelle ins Empfängerchromosom eingebaut
- nicht homologe Rekombination: Eingliederung an verschiedenen Stellen des Chromosoms möglich

Da die Übertragung von Merkmalen bei Bakterien nicht mit einer Rekombination gleichzusetzen ist, sind noch mehrere Übertragungsmechanismen bekannt: Die Transformation, die Konjugation, die Insertion und die Transposition sowie die Transduktion.

### 2.5.1 Transformation

Isolierte, lösliche DNA wird von Empfängerzelle aufgenommen und führt zur Rekombination. Nur kompetente Zellen (müssen in der Lage sein hochmolekulare, intakte DNA aufzunehmen und müssen sich in einer bestimmten Wachstumsphase befinden) sind dazu in der Lage. Transformation ist nur zwischen eng verwandten Bacterienspezies oder Stämmen einer Art möglich.

### 2.5.2 Konjugation

Während des physikalischen Kontakts von Spender- und Empfängerzelle erfolgt die unilaterale Übertragung genetischen Materials. Die Rekombination findet im Akzeptor-Stamm statt.

**F-Faktor und Konjugation:** Der F-Faktor ist ein kleines, autonom replizierendes DNA-Element, das die Trägerzelle zur Konjugation mit geeigneten Empfängerzellen befähigt. Dieses wird über eine Plasmabrücke in die andere Zelle geschleust. Vor Ausbildung dieser Brücke wird über die sog. Sex-Pili Kontakt aufgenommen. Diesen Vorgang nennt man Konjugation.

**HFr-Zustand des F-Faktors:** Bei HFr-Zellen ist der F-Faktor in das Bakterienchromosom integriert worden. Sie sind in der Lage chromosomale Gene auf die Empfängerzelle zu Übertragen (HFr=high frequency of recombination)

Zur Übertragung wird das Chromosom inmitten des integrierten F–Faktors geöffnet und entspiralisiert; ein Strang wandert in die Empfängerzelle, der andere verbleibt in der Spenderzelle. In beiden Zellen erfolgt dann eine Neusynthese der komplementären Stränge.

**F'–Zustand des F–Faktors:** Durch Ausgliederung des F–Faktors aus dem Chromosom wird eine HFr–Zelle wieder zur F<sup>+</sup>–Zelle. Bei einer ungenauen Ausgliederung erfolgt die Mitnahme benachbarter chromosomaler Gene. Dieser F–Faktor mit kleinem chromosomalem Genabschnitt wird F'–Faktor genannt.

**Plasmide:** Plasmide sind extrachromosomale, zirkuläre, doppelstrangige DNA–Moleküle, die sich unabhängig vom Bakterienchromosom replizieren können. Die meisten Plasmide befähigen die Trägerzelle zur Konjugation und Übertragung der Plasmidgene. Plasmidübertragungen können über Speziesgrenzen hinaus stattfinden. Plasmide sind für den Träger entbehrlich; Besitz von Plasmid(en) ist jedoch für den Träger vorteilhaft.

Plasmide kodieren für sehr verschiedenartige Eigenschaften; medizinisch wichtig sind:

- multiple Antibiotikaresistenz durch Resistenzplasmide. Sie tragen gleichzeitig Resistenzgene gegen mehrere Antibiotika und die zur Konjugation nötigen Gene.
- Toxinbildung: Viele bakterielle Toxine werden nur gebildet, wenn der entsprechende Stamm ein bestimmtes Plasmid trägt, das die Toxigene enthält, z.B. Tetanustoxin, Enterotoxine.
- Resistenz gegen Desinfektionsmittel und Schwermetalle.
- Abbau von Aromaten (Einsatz in Kläranlagen)
- Antibiotikaproduktion (Herstellen med. wichtiger Stoffwechselprodukte)
- Bakteriozinbildung (Proteine, gegen die der eigene Stamm resistent ist, die aber andere Stämme abtöten oder hemmen)

### 2.5.3 Insertion und Transposition

Insertionssequenzen (IS–Element) sind relativ kleine DNA–Abschnitte, die sowohl im Bakterienchromosom als auch auf Plasmiden vorkommen. Ihr Einbau (Insertion) erfolgt daher nach der nichthomologen Rekombination (s. oben). Sie können zu Mutationen und Ablesefehlern in den nachfolgenden DNA–Abschnitten führen.

Transposons sind sog. springende Gene. Sie ähneln den IS–Elementen, tragen aber zusätzlich Gene für phänotypische Merkmale, z.B. Antibiotikaresistenz. Sie können sich nicht selbst replizieren oder eine Konjugation einleiten. Dagegen sind sie bezgl. der Integration in andere genetische Elemente, v.a. Plasmide, sehr flexibel. Die Transposition unterliegt keinerlei Steuerung durch die Zelle. Viele Resistenzplasmide bestehen aus hintereinandergeschalteten Transposons.

#### 2.5.4 Transduktion

Hierbei wird das genetische Material mittels eines temperenten Bakteriophagen übertragen. Dieser kann entweder zusätzlich zu seinem Genom oder anstatt seines Genoms, kurze Abschnitte des Bakteriengenoms übertragen.

Es ist also auch möglich, daß Antibiotikaresistenz auf diese Weise übertragen wird.

In Abhängigkeit von der Art des Phagen unterscheidet man 2 Klassen der Transduktion: die unspezifische und die spezifische. Bei der unspezifischen Transduktion nehmen einige Phagenpartikel statt Phagen-DNA ein der Größe ihrer DNA-entsprechendes Stück Bakterien-DNA auf. Zur spezifischen Transduktion befähigte Phagen gliedern sich an einer definierten Stelle ins Genom. Beim Heraustrennen dieses Phagen-DNA werden benachbarte Stücke mit herausgetrennt. Somit ist jedoch der Phage selbst für seine Vermehrung defekt.

## 3 Normale Flora

### 3.1 Definitionen und Grundlagen

Unter normaler Flora versteht man die Gesamtheit der Mikroorganismen, die regelmäßig an den normalerweise besiedelten Körperpartien anzutreffen ist und die vom menschlichen Organismus ohne Krankheitserscheinungen toleriert wird. Sie besteht aus Bakterien, Pilzen und Protozoen (Urtierchen, tierische Einzeller).

Viele Spezies der Normalflora können bei einer Schwächung der natürlichen Abwehrlage des Wirtes endogene Infektionen hervorrufen. Beim Gesunden stets besiedelt sind die Haut sowie nach außen offene Körperhöhlen, also der Oropharynx und der Nasopharynx bis zum Kehlkopf, der Intestinaltrakt und der Urogenitaltrakt. Alle übrigen Organe sind im Normalzustand steril.

### 3.2 Etablierung der Flora und Adhärenz

Eine dauerhafte Besiedlung geschieht durch Anheftung (= Adhärenz) der Mikroorganismen an Epithel und anderen Oberflächen.

Ständig vorhandene Flora: residente Flora

Vorübergehend vorhandene Mikroorganismen: transiente Flora

Haftungsstrukturen der Bakterien:

- Schleime, Kapseln (= meist unspezifisch)
- Proteine, Glykoproteine, Oligo- und Polysaccharide der Außenmembran und Lipoteichonsäuren der Zellwand (= meist hochspezifisch)
- Haftorganellen (z.B. Pili)

Durch die strukturellen Unterschiede zwischen den Epithelien kommt es zu einer biotopspezifischen Verteilung der Mikroorganismen.

### 3.3 Substratangebot und Ernährung

Neben der Fähigkeit zur Adhärenz kontrollieren und beeinflussen andere Faktoren die Flora. Einer der wichtigsten Regulatoren ist das Nährstoffangebot. Die Nahrungszusammensetzung des Wirtes beeinflusst ebenfalls die Florazusammensetzung.

Man unterscheidet drei Formen der Ernährung:

**Exogene Ernährung:** Flora partizipiert an Nahrung des Wirtes

**Endogene Ernährung:** Produkte des Wirtes (z.B. Schleime, Sekrete, Zelldetritus) ernähren die Flora

**Intermikrobielle Ernährung:** Produkte von Mikroorganismen dienen Anderen als Nahrung

## 3.4 Physikochemische Faktoren

### 3.4.1 Feuchtigkeit

Die Feuchtigkeit stellt einen limitierenden Faktor für die Hautflora dar.

### 3.4.2 Sauerstoff und Redoxpotential

Diese beiden Faktoren sind für strikte aerobe und strikte anaerobe Bakterien limitierend. Sauerstoffverbrauchende Bakterien erleichtern hier strikt anaeroben Bakterien die Existenz.

- Hautflora: enthält wegen starker Sauerstoffexposition überwiegend aerobe Bakterien
- Mundhöhle: Zahnfleischfurchen und Zahnbelag: niedrige O<sub>2</sub>-Konzentration, niedriges Redoxpotential, zahlreiche strikte Anaerobier
- Gastrointestinaltrakt: Die strikten Anaerobier nehmen von oben nach unten zu.

### 3.4.3 pH-Wert

Ein niedriger pH-Wert engt das Spektrum der Mikroorganismen auf azidophile (säureliebende) und azidotolerante Arten ein.

### 3.4.4 Spüleffekte

Körperflüssigkeiten, Sekrete, Nahrungs- und Kotbrei spülen alle nicht haftenden Bakterien fort. Fäzes des Menschen bestehen zu 30% aus Mikroorganismenmasse.

## 3.5 Antagonismen und Synergismen

Wirt und Flora, aber auch Mikroorganismen untereinander, beeinflussen sich wechselseitig, so daß sich normalerweise ein Gleichgewicht einstellt.

### 3.5.1 Antagonistische Beziehung

- zwischen den Mikroorganismen durch Substratkonzentration, Hemmstoffe
- zwischen Makroorganismus und Mikroorganismen durch: Lysozym, Gallensäure, lokale Immunität

### 3.5.2 Synergetische Beziehungen

Die Flora verleiht dem Wirt die sog. Kolonisationsresistenz; das Eindringen florafremder Organismen wird durch die Flora verhindert. Eine Hemmung oder Abtötung kann somit zu Überwachsen durch eingedrungene Mikroorganismen aus der Flora führen. Die Ausscheidung mikrobieller Enzyme und Produkte trägt, allerdings insgesamt gesehen nur in geringem Maße, zur menschlichen Ernährung bei. Hier sei das Spalten von Faser- und Ballaststoffen im Dünndarm und die von der Mikroflora produzierten Vitamine K, Thiamin, B12, Folsäure und Biotin genannt.

## 3.6 Auswirkungen metabolistischer Fähigkeiten der Flora

### 3.6.1 Metabolismus von Nahrungsadditiven und Chemotherapeutika

Es gibt eine Vielzahl von Stoffen, die durch Mikroorganismen verändert werden.

- Nitratreduktion zu Nitrit
- Reduktion von Azoverbindungen zu aromatischen Aminen
- Inaktivierung von Beta-Laktamantibiotika
- Inaktivierung von Chloramphenicol und Nitroimidazolen
- Aktivierung von Digoxin zu Digoxigenin
- zahlreiche Transformationen von Gallensäuren unter anderen Steroiden

### 3.6.2 Mikrobielle Gasproduktion

Die Darmgase sind zum großen Teil auf mikrobielle Aktivität zurückzuführen. Dadurch entsteht z.B. Kohlendioxid, Wasserstoff, Methan, Schwefelwasserstoff, Ammoniak, Indol, Skatol, flüchtige Amine, Methanthid und kurzkettige Fettsäuren.

## 3.7 Beschreibung der normalen Flora in den einzelnen Biotopen

Die normale Flora des Menschen weist eine enorme Artenvielfalt auf. Etwa 500 verschiedene Spezies können vom Menschen isoliert werden.

### 3.7.1 Haut

Hier herrscht eine vergleichsweise dürftige Flora, besonders in trockenen Bereichen. Typische Bereiche mit höherer Flora sind Schweißdrüsen der Achseln, auf dem Brustbein und entlang der Wirbelsäule sowie auf den Fußsohlen. Auch die Kopfhaut und die fett- und

talgdrüsenreichen Regionen der Stirn und zu beiden Seiten der Nasenflügel sind recht reichhaltig besiedelt.

Die häufigsten Gattungen:

- Mikrooccus
- Staphylococcus
- Corynebacterium
- Propionibacterium

Der Staphylococcus ist bei etwa 40% der gesunden Erwachsenen in der Hautflora nachweisbar. Er stellt einen Risikofaktor für Infektionen dar und ist von Bedeutung für Krankenpflegepersonal (potentieller Keimträger, Hospitalismus).

### 3.7.2 Mundhöhle und Respirationstrakt

**Die Mundhöhle un der obere Respirationstrakt (bis Kehlkopf)** weist ein großes Spektrum aerober und anaerober Mikroorganismen auf.

Besonders dicht besiedelt sind die Schleimhäute der Tonsillen und der Rachenhinterwand sowie Zähne und das Zahnfleisch. Insgesamt herrschen hohe Keimzahlen in der Mundflora. Diese ist auch abhängig von der Art der Ernährung und richtige Mundhygiene.

**Der untere Respirationstrakt und der Sinus** sind beim Gesunden steril. Dafür sorgen das Flimmerepithel und Alveolarmakrophagen.

### 3.7.3 Gastrointestinaltrakt

Der Ösophagus und der Magen weisen beim Gesunden keine residente Flora auf. Vereinzelt können aus der Mundflora heruntergeschluckte, säuretolerierende Mikroorganismen nachgewiesen werden. Daran ist vor allem die Azidität, die aktive Perestaltik und das hohe Redoxpotential Schuld.

Im Dünndarm findet eine Alkalisierung des Mageninhaltes statt und das Redoxpotential sinkt. Somit steigt die Zahl der nachweisbaren, ständigen Flora.

Das Kolon schließlich enthält die größte Anzahl an Mikroorganismen. Es sind zwischen  $10^{10}$  und  $10^{12}$  Keime pro g Darminhalt nachweisbar. Mehr als 400 verschiedene Arten sind hier nachweisbar.

Bei der Geburt ist der Intestinaltrakt steril; schon kurz danach findet eine Besiedlung durch von der Mutter und aus der Umwelt erworbene Bakterien statt. Die hohe Keimzahl von E.coli und Streptokokken gehen beim brustmilchernährten Kind innerhalb weniger Tage zurück und Bifidobakterien und Laktobazillen dominieren dann. Etwa mit dem 3. Lebensjahr gleicht die Flora des Kindes weitgehend der des Erwachsenen.

### 3.7.4 Urogenitaltrakt

Die Harnröhre sind mit Ausnahme der distalen Urethra steril. Beim Gesunden sind im Urin keine Mikroorganismen nachweisbar. Im unteren Bereich der Urethra, besonders an den Orifizen, wird die normale Urethraflora von der Intestinalflora mit aeroben gramnegativen Stäbchen (*E.coli*) und Enterokokken sowie der Hautflora überlagert.

Die Vagina der geschlechtsreifen Frau stellt ein ganz anderes Biotop dar. Der überwiegende Anteil der Vaginalflora besteht aus Laktobazillen und Streptokokken. Gerade die Laktobazillen sorgen für einen niedrigen pH-Wert, der weitgehend das Eindringen nicht azidotoleranter Mikroorganismen verhindert. Intestinale *Bacteroides*-Arten sind kein Bestandteil der residenten Vaginalflora.

## 4 Pathogenese und Infektabwehr

### 4.1 Infektion und Infektionskrankheit

Durch die Normalflora wird der Wirt nachweislich nicht geschädigt.

**Infektion:** Falls Mikroorganismen an einem zuvor von ihnen nicht befallenen Wirt haften, ins Gewebe eindringen, sich dort vermehren und immunologische Reaktionen sowie Gewebeschädigung bzw. Entzündungen verursachen, so spricht man von einer Infektion.

**Infektionskrankheit:** Eine Infektion führt nicht immer zu einer Krankheit. Außer in einer asymptomatischen Infektion ohne äußere Symptome kann der Verlauf in einer subklinischen Form bis zu dem voll ausgeprägten typischen Krankheitsbild und ggf. Tod des Patienten führen.

Eine pathologische Kolonisation ist häufig Vorstufe der Infektionskrankheit.

#### 4.1.1 Erreger von Infektionskrankheiten

- exogene Erreger: Erreger kommen von außen
  - Erreger–Ausscheider: nach Überstehen einer Krankheit
  - Keimträger: ohne klinische Erkrankung
- endogene Erreger: Infektionsbahnung durch Schwächung der natürlichen Resistenzlage

#### 4.1.2 Eindringen von Krankheitserregern in den Körper

Dies ist möglich durch:

- Mikrotraumen
- aktive Durchwanderung der Haut
- Haftung an Schleimhäuten
- Vektoren (Arthropoden (= Gliederfüßer))

Häufig – und deshalb klinisch besonders wichtig – sind die Infektionen, deren Eintrittspforte an Schleimhäuten liegt. Durch primäre Infektion mit nachfolgender Epithelschädigung wird häufig der Superinfektion der Boden bereitet.

### 4.1.3 Ausbreitung der Erreger im Wirt

#### Lokalinfektion

**Allgemeininfektion:** Der Erreger gelangt ins lymphatische Gewebe. Nach der Inkubationszeit kommt es zur hämatogenen Streuung (Übergang in Blutbahn) und sie gelangen so in die Organe (z.B. Tuberkulose, Syphilis, Typhus, Röteln, Masern).

**Sepsis:** Hierbei durchbricht ein Erreger einer ursprünglich lokalen Infektion die Abwehrbarriere. Dies birgt die Möglichkeit von metastatischen Sekundärinfektionen. Fieber ist für eine Sepsis charakteristisch.

### 4.1.4 Tropismus und Inkubationszeit

**Tropismus:** Prädikationsstellen der Krankheitsmanifestation (bevorzugte Stelle): Welches Körperteil bzw. welches Organ befallen wird, ist häufig durch die Eintrittspforte determiniert.

**Inkubationszeit:** Intervall zwischen Aufnahme/Eindringen des Erregers und Krankheitsbeginn:

- bei exogenen Infektionskrankheiten relativ gut bekannt
- bei latent verlaufenden oder endogen entstehenden Infektionskrankheiten kaum zu definieren.

## 4.2 Pathogenitäts- und Virulenzfaktor

Krankmachende Eigenschaften eines Erregers in ihrer Gesamtheit werden als Pathogenität bezeichnet. Nur wenige Infektionskrankheiten lassen sich auf einen einzelnen Pathogenitätsfaktor (Toxin) zurückführen. Virulenz bedeutet den Grad der Pathogenität einzelner Stämme einer Spezies.

### 4.2.1 Toxine

**Exotoxine** = extrazellulär abgegebene Proteine mit hoher Toxizität und guter Antigenität (Fremdkörpererkennbarkeit)

**Endotoxine:**

- Lipopolysaccharid-Komplex
- Lipid-A
- wichtiger Pathomechanismus bei Sepsis u.a.
- Pyrogenität (fieberauslösend), Komplementauslösung

Unterscheidung nach Wirkungsweise:

- membranschädigende Toxine (Alpha-Toxin von *Staphylococcus aureus*)
- aus Untereinheiten bestehende Toxine
  - Fragment B: Bindung an Effektorzelle
  - Fragment A: intrazelluläre Toxinwirkung (Diphtherie-Toxin, Cholera-Toxin)

#### 4.2.2 Adhäsion (Adhärenz)

Die bakterielle Adhäsion an Mukosaepithelzellen führt dazu, daß der normalerweise keimfremdend wirkende Sekretstrom in Mundhöhle, Darmkanal und Urogenitaltrakt nicht zur Eliminierung führt. Nach der Vermehrung der Zellen wird eine Invasion ins Gewebe erleichtert. Adhärenz ist auch Voraussetzung für das Wirksamwerden von Choleratoxin und Enterotoxin.

Die adhärenzvermittelnden Bestandteile von Bakterien heißen Adhäsine. Besondere Bedeutung haben dabei Fimbrien (Pili) gefunden. Andere Bakterien bewirken Adhärenz durch Bindung an Glykolipiden und Glykoproteinen von Epithelzellen. Eine besondere Rolle kommt den Lektinen (Proteine/Glykoproteine) zu, die mit bestimmten Kohlenhydraten in spezifischer Weise reagieren.

Die Adhärenz bildet die Grundlage für die Penetration!!

#### 4.2.3 Siderophorbildung

Pathogene Bakterien sichern ihren Eisenbedarf durch spezielle Eisenbindungs- und transportsysteme. Siderophore (Eisenkomplexbildner) werden ausgeschieden und nach Komplexbildung wieder in die Bakterie zurücktransportiert (Enterochelin, Ferrichrom, Pyochelin).

#### 4.2.4 Kapselbildung (Phagozytoseschutz)

Außerhalb der Zellwand, besitzen viele bakterielle Erreger eine zusätzliche Hülle, meist aus Polysacchariden: die Kapsel

Bekapselte Bakterien werden nur schwer phagozytiert.

#### 4.2.5 Resistenz

**Resistenz gegen intrazelluläre Abtötung:** Zahlreiche Bakterien vermögen innerhalb von Phagozyten zu überleben und sich sogar zu vermehren (= fakultativ intrazelluläre Bakterien)

**Serumresistenz:** Frisches Serum kann auf manche gramnegative Bakterien abtötend wirken. Es gibt unspezifische Serumbakterizidie und eine Serumresistenz durch bakterielle Oberflächenproteine, die Komplementaktivierung hemmen.

#### 4.2.6 Genetik der Pathogenitäts- und Virulenzfaktoren

Die meisten Pathogenitätsfaktoren sind chromosomal kodiert; manche sehr wichtige werden von Plasmiden reguliert.

### 4.3 Infektabwehr des Makroorganismus

#### 4.3.1 Immunität und Resistenz

Die Abwehrleistung des Makroorganismus gegen Infektionen wird durch natürliche Resistenz und erworbene Immunität gewährleistet. Hierbei bedeutet Resistenz die Summe der unspezifischen Abwehreinrichtungen, die bei einer Infektion sofort wirksam werden können, bevor im Rahmen der Immunantwort spezifische Abwehrfaktoren gebildet werden.

Resistenz ist angeboren und auf Grund ihrer Unspezifität breit wirksam. Absolute Resistenz bedeutet, daß der Mensch gegen bestimmte Krankheitserreger nicht empfänglich ist. Die absolute Resistenz ist genetisch festgelegt. Immunität ist eine Abwehrleistung durch antigenspezifische Antikörper und spezifisch reagile T-Lymphozyten.

Das Entstehen der Immunität setzt also entweder einen Kontakt mit dem Antigen (= aktive Immunität) voraus oder sie kommt durch Übernahme spezifischer Immunprodukte zustande (= passive Immunität).

#### 4.3.2 Barrieren und Selbstreinigungsmechanismen

- intakte Haut
- Schleimhäute
- Speichelfluß, Darmperistaltik, Tränenfluß
- Gallensäure
- klebriger Schleim im unteren Respirationstrakt fängt Erreger ein
- mukoziliare Schutzschicht in Nasenhöhlen und oberen Respirationstrakt
- Erreger-Phagozytose durch Alveolarmakrophagen

#### 4.3.3 Körpereigene antimikrobielle Resistenzfaktoren

- Säuremantel der Haut
- niedriger pH-Wert im Magensaft, Vaginalsekret
- Bakterizidie und Fungizidie durch ungesättigte Fettsäuren der Haut
- Lysozym: gebildet in Lysosomen, wirkt durch Muramidase (zerstört Membran gram-positiver Bakterien), ist wirksam in Tränen, Speichel, Darmsaft

- kationische Produkte (Spermin im Ejakulat)
- Normalflora verhütet Infektionen
- Kolonisationsresistenz

#### 4.3.4 Phagozytose

Phagozytose ist Leistung von polymorphkernigen Granulozyten und mononuklearen Zellen.

**polymorphkernige Granulozyten:** zirkulieren im Blut, an den Gefäßwänden haftend, Endzellen mit wenigen Stunden Lebenszeit

**Monozyten/Makrophagen:** nach 2 Tagen in der Blutbahn Einwanderung ins Gewebe, dort Differenzierung in Histozyten, Alveolarmakrophagen u.a.

Die Chemotaxis bewirkt die Einwanderung phagozytischer Zellen aus der Blutbahn bzw. aus der Umgebung in den Ort der Infektion. Die Chemotaxis geht aus von: Erregerbestandteilen, Komplement, Lymphokinen u.a.

Die Opsonierung ist der Vorgang der Kontaktaufnahme zwischen Phagozytenzellmembran und Infektionserreger. Dies geschieht über Rezeptoren, die man in unspezifisch und spezifisch gliedert. Immunglobulin- bzw. C3b-beladene Erreger sind opsoniert („zubereitet“). Aufnahme ins Zellinnere (Phagozytose): Bildung von Phagosom (= phagozytäre Vakuole), Vereinigung mit Lysosomen (= Phagolysosom).

#### 4.3.5 Erregerabtötung

**in polymorphkernigen Granulozyten**

- sauerstoffabhängige Abtötungsmechanismen:
  - $H_2O_2$ -Myeloperoxidase-Halogen System
  - Superoxid-Anion u.a.
- sauerstoffunabhängige Abtötungsmechanismen:
  - Lysozym, Laktoferrin, kationische bakterielle Proteine

**in Makrophagen:** Mikrobizidie durch Katalase, lysosomale Hydrolase, Wasserstoffperoxid u.a.

#### 4.3.6 Komplementsystem

Komplement, ein wichtiges humorales Abwehrsystem, wirkt als unspezifisches Amplifikationssystem spezifischer Immunreaktionen und unspezifischer Entzündungsprozesse. Die Aktivierung geschieht entweder antikörperabhängig oder durch Bakterien, Viren und Pilze selbst.

### 4.3.7 Spezifische Immunität und Infektabwehr

Das spezifische Immunsystem ist mit seinem humoralen Schenkel (Antikörper) und dem zellulären Schenkel (spezifisch reagiblen T-Lymphozyten) an der antimikrobiellen Abwehr beteiligt.

Die Toxinneutralisation bei Diphtherie, Tetanus, Botulismus bildet u.a. die Grundlage für das Überleben des Patienten und den Aufbau einer langdauernden antitoxischen Immunität.

Sog. extrazelluläre Bakterien werden in Phagozyten intrazellulär abgebaut.

Fakultativ intrazelluläre Erreger überleben bzw. vermehren sich intrazellulär. Ihre Abwehr beruht auf Makrophagenbildung und Granulombildung. Dies ist ein Zusammenspiel von T-Lymphozyten und Makrophagen. Die T-Lymphozyten setzen nach Stimmulierung Lymphokine frei. Diese besitzen einen chemotaxisbewirkenden Faktor und locken Monozyten an. Der Makrophageninhibitionsfaktor hält die Phagozyten vor Ort und der Makrophagenaktivierungsfaktor stimuliert sie zu erhöhter Leistung.

Das Ergebnis ist ein Granulom, welches aus zentraler Nekrose mit Erreger, Makrophagen und Lymphozyten, Riesenzellen und Epitheloidzellen besteht. Im Innern eines solchen Granuloms ist die Makrophagenaktivierung am stärksten und die aktivierten Makrophagen besitzen gesteigerte Mikrobizidie. Die meisten Infektionen durch fakultativ intrazelluläre Erreger gehen mit einer allergischen Reaktion vom verzögerten Typ einher (Tuberkulin-, Lepromin- und Histoplasmin-Reaktion).

## 5 Epidemiologie der Infektionskrankheiten

Die Epidemiologie ist die Lehre von dem Auftreten und den Ursachen von Volkskrankheiten. Die Epidemiologie der Infektionskrankheiten wird durch die biologische Verflechtung Erreger–Wirt–Umwelt bestimmt.

### 5.1 Erregerreservoir

- **endogene Erreger:** sie sind klinisch wichtig, weil sie Erreger häufiger Infektionskrankheiten sind. Aber weil sie als nicht übertragbar gelten, sind sie nicht meldepflichtig (Sepsis, Entereokokken u.a.)
- **exogene Erreger:** sie existieren in der unbelebten Umwelt des Menschen.
- **Anthroponosen** sind Infektionskrankheiten, deren einziger natürlicher Wirt der Mensch ist. Eine Erregerquelle ist somit nur der kranke Mensch (Syphilis, Diphtherie, Keuchhusten, AIDS u.a.). Das Überstehen solcher Krankheiten hinterläßt in unterschiedlichem Maße Immunität:
  - Gonorrhoe hinterläßt fast keine Immunität
  - Lues und Tuberkulose erzeugen Infektionsimmunität
  - langdauernde bzw. lebenslange Immunität ist selten (Diphtherie, Masern)

Da immune Individuen nicht als Erregerquelle in Betracht kommen, besitzen sie eine wichtige Rolle bei der Eindämmung von Seuchen.

- **Zoonosen** sind Infektionskrankheiten, die zwischen Wirbeltier und Mensch übertragen werden (Milzbrand, Tollwut)
- durch **Vektoren** verbreitete Infektionskrankheiten sind z.B. Gelbfieber, Fleckfieber, Malaria

### 5.2 Infektionsquellen und Übertragungswege

- Übertragung von Mensch zu Mensch:
  - direkte Übertragung (Kontakt-, Tröpfcheninfektion)
  - indirekte Übertragung (über Lebensmittel)
  - vertikale Übertragung (diaplazentar)
- Ansteckung des Menschen durch Tiere und deren Ausscheidungen = Zoonosen
- sekundäre Infektionsquellen: Lebensmittel, Trinkwasser

### 5.3 Infektionsketten

- homogen–homonome Infektionskette bei Anthroponosen
- diaplazentare Übertragung z.B. bei Syphilis und Röteln
- Zoonosen haben meist komplizierte Infektionsketten (direkt durch Tierbiß, indirekt)
- durch Vektoren verbreitete Krankheiten: der Mensch ist meistens Endwirt

### 5.4 Morbidität – Mortalität – Letalität

**Morbidität** =  $n$  Krankheitsfälle auf 100.000 E/jahr

**Mortalität** =  $n$  Todesfälle auf 100.000 E/jahr

**Letalität** =  $n$  Todesfälle unter 100 Kranken (in %)

**Inzidenz** =  $n$  Neuerkrankungen innerhalb eines Jahres

**Prävalenz** =  $n$  Neuerkrankungen an einem Stichtag

### 5.5 Endemie – Epidemie – Tardivepidemie – Pandemie

**Endemie:** eine übertragbare Krankheit kommt ständig in einer Region vor und unterliegt saisonalen Schwankungen und säkularer Rhythmik

**sporadische Fälle:** im engeren Sinne = eingeschleppte Fälle

**Epidemie:** gehäuftes Auftreten einer übertragbaren Krankheit in örtlicher und zeitlicher Begrenzung

**Tardivepidemie:** Kontaktketten und Inkubationszeit wirken bremsend. Ein eingreifen der Gesundheitsbehörden erleichtert bei rechtzeitiger Erkennung das Eindämmen

**Explosivepidemie:** größere Personenzahlen werden plötzlich erfaßt

**Pandemie:** Ausbreitung von Krankheiten über bestimmte Zeiträume ohne örtliche Begrenzung

### 5.6 Krankenhausepidemien – infektiöser Hospitalismus

- Gruppenerkrankungen in Krankenhäusern durch hochresidente Erreger
- Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes

## **5.7 Erfassung übertragbarer Krankheiten**

Die Grundlage für die Ermittlungstätigkeiten legt:

- Bundesseuchengesetz
- Gesetz zur Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten
- es besteht Meldepflicht

Bekämpfung übertragbarer Krankheiten:

- Isolierung der Kranken
- Desinfektion von Kleidung, Wohnung, Ausscheidung
- erregerspezifische Therapie
- Schutzimpfungen

## 6 Direkte Krankheitsdiagnose durch Bakteriennachweis

### 6.1 Vorbemerkung

#### Ätiologische Diagnose:

- direkt (z.B. durch Erreger- oder Toxinnachweis)
- indirekt (z.B. durch Antikörpernachweis)

Signifikantes Untersuchungsmaterial stammt vom Ort der Infektion und ist unter strikter Vermeidung akzidenteller oder florabedingter Kontamination zu entnehmen.

Bei nichtzüchtbaren Erregern ist der mikroskopische Nachweis die einzige Möglichkeit der Diagnose. Dagegen steht die geringe Empfindlichkeit des mikroskopischen Nachweises und meist ist auch die mikroskopische Morphologie uncharakteristisch.

Das Arbeiten mit diesen Proben gefährdet das Laborpersonal und es gelten spezielle Unfallverhütungsvorschriften; man benötigt eine Erlaubnis für das Arbeiten mit Krankheitserregern und es findet eine Einteilung in Risikogruppen 1–4 statt.

### 6.2 Entnahme und Transport von Untersuchungsmaterial

Die Entnahme ist immer eine ärztliche Tätigkeit.

#### 6.2.1 Operations- und Biopsiematerial

Die Entnahme von Organen, Organteilen oder Gewebeproben findet unter aseptischen Bedingungen statt und wird unverzüglich in sterile Gefäße ohne Zusätze gebracht.

#### 6.2.2 Sektionsmaterial

Eine Entnahme ist unmittelbar postmortal und unter sterilen Bedingungen durchzuführen.

#### 6.2.3 Blutkulturen

Indikationen sind Sepsisverdacht, Endokarditis u.a.. Der günstigste Zeitpunkt ist bei Fieberbeginn. Ein Absterben der Erreger durch Antibiotikanachwirkungen oder Blutbakterizidie wird durch den Zusatz von Komplementhemmern verhindert. Ein Transport sollte möglichst schnell erfolgen.

#### 6.2.4 Eiter

Material aus Abszessen und Empyemen sollte durch Punktion unter aseptischen Bedingungen erfolgen. Übliche Eitererreger überstehen meist auch längere Transportzeiten relativ gut. Anaerobier sind vor allem bei Eiterungen zu erwarten, die vom Verdauungskanal und vom weiblichen Genitale ausgehen (sauerstofffreies Transportmedium). Eiter aus offenen Prozessen wird mit Abstrichtupfer vom Wundrand aufgenommen oder aus tiefen Wunden mit Venenkatheter aufgesaugt. Ein schneller Probentransport ist angebracht.

#### 6.2.5 Liquor

Liquor wird durch Lumbal- oder Subokzipitalpunktion unter sterilen Bedingungen entnommen. Liquor bei eitriger Meningitis gehört zu den wenigen Untersuchungsmaterialien, aus denen durch Mikroskopie eine Schnelldiagnose erstellt werden kann. Liquor ist stets eiliges Untersuchungsmaterial.

#### 6.2.6 Eiter und Sekrete aus Kopfbereich

- Bindehautsekret
- Gehörgangs- und Mittelohrsekrete
- Material aus Mund, Rachen, Nase

Schneller Transport wegen Hinfälligkeit der Erreger.

#### 6.2.7 Stuhl

Stuhl für den Nachweis von Salmonellen, Shigellen und anderen Darmpathogenen wird in ein sauberes Gefäß ohne Urinbeimengung abgesetzt.

#### 6.2.8 Harn

Der Harn ist so zu entnehmen, daß die Harnbeladung mit den in der vorderen Urethra angesiedelten Keimen ausgeschlossen wird:

- Mittelstrahlurin
- Katheterurin
- suprapubische Blasenpunktion

### 6.3 Mikroskopischer Erregernachweis

Es gibt die diversesten Nachweismöglichkeiten, von denen hier nur einige erwähnt sein sollen:

- an Nativpräparaten
  - Technik des hängenden Tropfen
  - Tuschepräparat = Negativdarstellung
  - Kapseldarstellung
- monochromatische Färbungen
- dichromatische Färbungen (Gramfärbung)
- Spezialfärbungen für Geißeln, Kapseln, Sporen
- Fluoreszenzmikroskopie
- Elektronenmikroskopie

### 6.4 Kulturelle Verfahren zum Nachweis bakterieller Erreger

Bakterien sind auf agarhaltigen Nährböden und in Flüssigmedien züchtbar. Eine Züchtung ist eine kulturelle Vermehrung aus ursprünglich einer vitalen Bacterienzelle und stellt die empfindlichste Nachweismethode überhaupt dar.

Bakteriologische Nährmedien können bestehen aus: Peptonen, Fleischextrakten, Spurenelementen, Vitaminen, verschiedenen Salzen und Glukosezusätzen. Eine Identifizierung der Erreger kann mit fortschreitender Zeit immer genauer ausfallen. Dazu werden dann je nach Vermutung verschiedenste Nährböden benutzt.

### 6.5 DNA–Sonden für den spezifischen und schnellen Erregernachweis

In allen lebenden Zellen finden sich Gene oder DNA–Sequenzen sowie deren direkte Produkte, nämlich RNA–Sequenzen. Falls ein mikrobieller Erreger im Material vorhanden ist, müssen sich auch seine DNA–Sequenzen finden lassen. Mit Hilfe einer erregerspezifischen Sonde kann daher der Mikroorganismus durch den Vorgang der DNA–Hybridisierung nachgewiesen werden.

## 7 Indirekte Krankheitsdiagnose durch Antikörpernachweis – Serologische Techniken

Eine indirekte Diagnose über den Nachweis von Antikörpern im Serum kann bei bestimmten Infektionskrankheiten notwendig werden. Häufig handelt es sich dabei um Infektionen durch schwer oder nicht anzüchtbare Erreger wie Rickettsien, Mykoplasmen. Die Grundlage der serologischen Methode sind die Antigen–Antikörper–Reaktion.

Zwei wesentliche Parameter sind für die Qualität einer serologischen Methode wichtig, nämlich **Sensivität** und **Spezifität**. Die Sensitivität eines Testes gibt an, wieviel Prozent der an einer Infektion erkrankten Personen mit diesem Test erfaßt werden. Die Spezifität ist der Prozentsatz von untersuchten Personen ohne Erkrankung bei denen die Untersuchung auch negativ ausfällt. Methoden mit 100% Sensivität und 100% Spezifität gibt es nicht.

Da bei Erstinfektion bis zum Zeitpunkt einer Antikörperproduktion wenigstens eine Woche verstreicht, ist nach 10 bis 14 Tagen ein zweites Serum (und auch ein drittes) zu untersuchen. Ein vierfacher Titeranstieg im Vergleich zum Erstserum kann dann als starker Hinweis auf eine infektiöse Genese dienen.

### 7.1 Einsatz serologischer Methoden zum Antigennachweis

Eine Detektion von einem Antigen ist durch Einsatz von Antikörpern mit bekannter Spezifität möglich.

### 7.2 Komplementbindungsreaktion (KBR)

Bei der KBR wird die in einem ersten System eingetretene Antigen–Antikörperreaktion über die Nachschaltung eines zweiten, hämolytischen Systems sichtbar gemacht.

Prinzip: Das Komplement im Serum wird durch Hitze inaktiviert und anschließend eine Verdünnungsreihe erstellt. Im Hauptsystem wird eine definierte Menge Komplement zugegeben und im Indikatorsystem wird eine definierte Menge aus Erythrozyten und ihren Antikörpern zugegeben. Eine negative Reaktion im Hauptsystem läßt Komplement für Indikatorsystem übrig; Hämolyse der Testerythrozyten = negativer Ausfall. Verbrauch von Komplement im Hauptsystem: Hämolyse der Testerythrozyten bleibt aus = positive KBR.

### 7.3 Präzipitation

Reagiert ein Antikörper mit einem gelösten Antigen in Flüssigkeit oder einem halbfesten Medium, können Antigen–Antikörperpräzipitate entstehen, d.h. die eingesetzten löslichen Antigene werden durch präzipitierende Antikörper im Bereich der optimalen Konzentrationen ausgefällt.

Es gibt neben dem klassischen Präzipitationstest und Ringtest noch weitere Testmethoden:

- Doppeldiffusion nach Ouchterlony

- Radiale Immundiffusion
- Immunelektrophorese
- Gegenstromimmunelektrophorese
- Immunoblot-Techniken

## **7.4 Agglutination**

Agglutinierende Antikörper bilden zusammen mit korpuskulären Antigenen makroskopisch sichtbare Agglutinate. Grundsätzlich können mittels Agglutination entweder Antikörper oder Antigene nachgewiesen werden. Auch hier gibt es verschiedenste Methoden:

- Widal-Reaktion
- Weil-Felix-Reaktion
- Gruber-Reaktion
- Hämagglutination
- Latextest
- Koagglutination

## **7.5 Fluoreszenzserologie**

Antigene können in Ausstrichen oder Gefrierschnitten durch Fluorescein-Isothiocyant-gekoppelter Antikörper nachgewiesen werden. Es gibt die direkte und indirekte Immunfluoreszenz.

Anwendung: Antigenidentifizierung, Antikörpernachweis (durch indirekte)

## **7.6 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

Wie beim fluoreszenzoptischen Nachweis von Antikörpern oder Antigenen besteht das Detektionssystem dieser Antigen-Antikörperreaktion im Einsatz eines markierten Antikörpers. Beim ELISA wird als Marker häufig das Enzym Peroxidase eingesetzt. Die Reaktion findet in Mikrotiterplatten statt und der entstehende Farbumschlag wird mit dem bloßen Auge oder einem Photometer abgelesen.

## **7.7 Weitere Methoden**

Darüber hinaus gibt es noch die Möglichkeit Antikörper mit radioaktiven Isotopen zu markieren. Der Sabin–Feldmann–Test basiert auf einer speziellen Farbreaktion, bei der spezifische Antikörper verhindern, daß sich Toxoplasmen mit Methylenblau färben.

Es ist auch möglich die Infektiosität von Mikroorganismen durch spezifische Antikörper aufzuheben (Neutralisationsteste). Anwendung: Nachweis von Tetanustoxin, Nachweis von Botulismustoxin.

## VIROLOGIE, allgemeiner Teil

### 8 Virologie, allgemeiner Teil

Viren sind für eine Vielzahl von Erkrankungen verantwortlich. Sie sind bei ihrer Vermehrung von lebenden Zellen abhängig und unterscheiden sich von anderen Mikroorganismen wesentlich.

#### 8.1 Viruseigenschaften

- Viren sind nur elektronenmikroskopisch darstellbar
- die Größe von Viren beträgt ca. 15–450 *nm*
- die genetischen Information ist DNA oder RNA
- ihnen fehlen zelluläre Strukturen (z.B. Zellorganellen, Mitochondrien, Ribosome, usw.) und sind daher bei der Vermehrung auf lebende Zellen angewiesen

**Viroide** sind hüllenfreie, sehr kleine einzelsträngige RNA-Moleküle, die als Krankheitserreger bei Pflanzen bekannt geworden sind.

**Prione** sind sehr kleine hydrophobe Proteine, die wahrscheinlich keine Nukleinsäure enthalten. Es sind Stoffe, die mit dem Auftreten einer Infektion assoziiert sind.

##### 8.1.1 Chemische Zusammensetzung von Viren

- Nukleinsäuren speichern die genetische Information von Viren (DNA oder RNA, Einzel- oder Doppelstrang)
- Virusproteine stellen entweder Strukturproteine dar oder sind Enzyme
- Lipide können zusätzlich Bestandteil der äußeren Virushülle sein

##### 8.1.2 Virusstruktur

Viele gleichartige Proteinuntereinheiten (Kapsomere) umgeben die Virusnukleinsäure. Sie sind symmetrisch angeordnet und bilden einen typischen Proteinmantel, der Kapsid genannt wird und zusammen mit der Nukleinsäure das Nukleokapsid. Entsprechend der symmetrischen Anordnung wird zwischen kubischer Symmetrie (z.B. Herpesviren) und helikaler Symmetrie (z.B. Rhabdoviren) unterschieden. Viren, die weder helikale noch ikosaedrische Symmetrie aufweisen, werden als komplexe Viren bezeichnet (Poxviridae).

## 8.2 Virusklassifikation

In der heutigen Zeit werden Viren meist nach ihren physikalisch–chemischen Kriterien eingeteilt. Die taxonomische Einordnung erfolgt nach deren Nukleinsäuretyp, dem Molekulargewicht, der Art des Genoms, dem Virionendurchmesser, der Kapsidsymmetrie, der Anzahl der Kapsomeren, dem Vorhandensein oder der Abwesenheit einer Virushülle, dem Replikationsort (im Zellkern oder Zytoplasma).

### 8.2.1 DNA–Viren

- Poxviridae (Variola–, Affenpocken– und Kuhpockenvirus)
- Herpesviridae
- Adenoviridae
- Papovaviridae (Papilloma– und Polyomaviren)
- Parvoviridae (Parvovirus B19, während der Schwangerschaft zum Absterben oder Schädigung führend)
- Hepadnaviridae (Hepatitis–B–Virus (HBV))

### 8.2.2 RNA–Viren

- Picornaviridae (Enteroviren, Rhinoviren)
- Reoviridae (Rotaviren)
- Orthomyxoviridae (Influenza A-, B- und C- Viren)
- Paramyxoviridae (Parainfluenza–, Masern–, Mumpsviren)
- Rhabdoviridae (Tollwutvirus)
- Togaviridae (Rötelnvirus)
- Flaviridae (Frühsommer–Meningoenzephalitis–Virus (FSME-Virus))
- Retroviridae (HIV)

### 8.3 Virusvermehrung

Eine Virusvermehrung kann nur in der lebenden Zelle stattfinden. Das Wirtsspektrum kann beträchtlich variieren. Unter **Suszeptibilität** versteht man die Eigenschaft infiziert werden zu können. Eine produktive Infektion ist nur in permissiven Zellen möglich. Permissiv können jedoch auch nicht suszeptible Zellen sein. Suszeptible Zellen können auch nichtpermissiv sein.

Für ihre Vermehrung bringen Viren ihr Genom in eine suszeptible Zelle ein. Viele Viren bringen außerdem virusspezifische Enzyme mit, welche sie für ihre Vermehrung benötigen. Stadien des Infektionsprozesses:

- Adsorption
- Penetration
- Uncoating
- Synthesephase
- Zusammenbau der Viruspartikel
- Virusausschleusung

#### 8.3.1 Infektion einer Wirtszelle

Durch die Adsorption (mittels Rezeptoren) bindet sich ein Virus an seine Wirtszelle an. Danach gelangen die Viren durch einen energieabhängigen Prozeß, die Penetration, in die Wirtszelle. Durch Pinozytose können Viruspartikel in zytoplasmische Vakuolen aufgenommen werden. Durch Fusion der Plasmamembran der Wirtszelle mit der Virushülle verschmelzen beide und die Virushülle gelangt nicht in die Zelle. Durch Uncoating wird die Virusnukleinsäure in der Wirtszelle freigelegt. Die Virusvermehrung ist von der Struktur des viralen Genoms abhängig (DNA oder RNA, einzel- oder doppelsträngig, segmentiert oder nichtsegmentiert, Polarität bei einzelsträngigen RNA-Viren).

#### 8.3.2 Expression und Replikation des viralen Genoms

**DNA-Viren:** Bei den meisten DNA-Viren wird das Virusgenom im Zellkern repliziert und kann daher wirtseigene Enzyme nutzen. An der viralen **dsDNA** als **MA**trize erfolgt die Replikation der Virus-DNA und die Transkription in virale **m-RNA**. An der m-RNA werden verschiedene Polypeptide synthetisiert. Virale Strukturproteine werden mit neusynthetisierter Virus-DNA zu Nukleotidkapseln zusammengesetzt. Von der **ss-DNA** muß zunächst eine komplementäre DNA synthetisiert werden, wobei eine doppelsträngige DNA entsteht. bei **ss/ds-DNA-Viren** muß zunächst die partiell einzelsträngige DNA durch eine viruseigene DNA-Polymerase in einen Doppelstrang und ein *supercoiled*-Molekül überführt werden. Anschließend werden zwei verschiedene RNA-Klassen transkribiert: eine m-RNA und eine

virale RNA, die als Matrize für die Transkription viraler DNA durch eine reverse Transkriptase dient.

**RNA-Viren:** Einzelsträngige RNA-Viren können in drei Gruppen eingeteilt werden: Viren, bei denen die Virus-RNA direkt als m-RNA fungiert, werden als **Plus-Strang-RNA-Viren** bezeichnet. Bei den **Minus-Strang-RNA-Viren** muß zunächst eine Plus-Strang-RNA transkribiert werden. Das notwendige Enzym bringt der Virus mit. Es entsteht komplementäre m-RNA, an welcher virusspezifische Polypeptide synthetisiert werden, und eine weitere Plus-Strang-RNA als Matrize für die Synthese virale (Minus-Strang) RNA.

Bei den **Retroviren** (z.B. HIV) besteht das Genom aus zwei identischen Strängen viraler Plus-Strang-RNA, welche miteinander verbunden sind. Einzige Funktion der viralen RNA ist, als Matrize für die Synthese viraler DNA zu dienen. Dafür müssen die Viren die Reverse Transkriptase mitbringen. Sie synthetisiert komplementäre DNA. Die virale RNA wird durch Ribonuclease abgebaut, so daß an der verbleibenden einzelsträngigen DNA ein komplementärer DNA-Strang synthetisiert werden kann.

Bei den **doppelsträngigen RNA Viren** wird das Genom durch eine viruseigene Polymerase transkribiert. Es entstehen verschiedene m-RNAs (Plus-Strang-RNA), an denen einerseits virale Polypeptide, andererseits auch einzelsträngige komplementäre RNA, aus welcher dsRNA gebildet wird, synthetisiert werden.

### 8.3.3 Zusammenbau und Freisetzung von Viren

- die Freisetzung von nichtumhüllten Viren erfolgt durch Zellzerstörung
- die Freisetzung von umhüllten Viren erfolgt durch Knospung. Durch den Einbau viraler Glykoproteine in die Wirtszellmembran erhält diese neue antigene Spezifität, wodurch diese Zellen ein Angriffsziel für die Immunabwehr werden können.

### 8.3.4 Bakteriophagen

Bakteriophagen sind Viren, die nur Bakterien infizieren können.

- wegen ihres engen Wirtsspektrums werden sie bei der Typisierung bestimmter Bakterien eingesetzt
- **Lytische Infektion:** das Genom wird in das Bakterium injiziert und neue Phagen werden durch Zellzerstörung freigesetzt
- **lysogene Infektion:** führt zu keiner Zellzerstörung, sondern zu einer Integration des Phagengenoms ins Bakteriengenom. Pathogenetische Bedeutung für den Menschen besitzen integrierte Phagen, die zur Bildung von Diphtherie- oder erythrogenem Toxin (Scharlach) führen können. Eine lysogene Infektion kann in eine lytische Infektion übergehen.

## 8.4 Virusgenetik

Die genetische Information von Viren kann durch Mutation oder Rekombination modifiziert werden, wobei Mutationen für das Virus letal sein können.

### 8.4.1 Genetische Mechanismen

Bei den Mutationen unterscheidet man zwischen der spontanen und der induzierten Mutation. Unter einer **Rekombination** versteht man eine physikalische Interaktion viraler Genome in einer mischinfizierten Zelle. Die gentechnische Rekombination findet Anwendung bei der Produktion gentechnologisch hergestellter Impfstoffe.

### 8.4.2 Nichtgenetische Mechanismen

**Interferenz:** Ein Virus, welches eine Zelle infiziert, kann diese derart beeinflussen, daß sich ein zweites Virus nicht vermehren kann. Auch ist es möglich, daß ein Virus mit seiner eigenen Vermehrung interferiert. Bei der **phänotypischen Mischung** können durch Doppelinfektion mit verschiedenen Viren Viruspartikel entstehen, deren äußere Struktur nicht der eingeschlossenen genetischen Information entspricht. Im Verlauf der Virusvermehrung entstehen aber wieder Viren, die der eingeschlossenen Information entsprechen.

### 8.4.3 Defekte Viren

Unter defekten Viren werden inkomplette, nicht vermehrungsfähige Viren verstanden, deren Genom eine oder mehrere für die Vermehrung benötigten genetischen Informationen fehlen. Bei einer Infektion werden nur Teile des Virus gebildet, so daß keine infektiösen Viren entstehen (abortive Infektion). Die fehlenden Informationen können jedoch durch sog. Helferviren zur Verfügung gestellt werden. **Satellitenviren** nutzen Genprodukte, welche von anderen nichtvermehrungsfähigen Viren produziert werden (Hepatitis–D nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Hepatitis–B).

## 8.5 Virale Pathogenese

### 8.5.1 Virusübertragung

Folgende Übertragungswege sind bekannt:

- Viele Viren werden aerogen (z.B. Tröpfcheninfektion) übertragen. Hierzu zählen u.a. Viren, die sich im Respirationstrakt vermehren können.
- Fäkal–oral werden u.a. Viren übertragen, die den Gastrointestinaltrakt infizieren und mit dem Stuhl ausgeschieden werden.

- Durch sexuelle Kontakte kann es zur Übertragung über die Schleimhäute des Genitaltraktes kommen.
- Zur perkutanen Übertragung sind Verletzungen der Haut notwendig. Dies können kleine, nicht sichtbare Risse der Haut oder der Schleimhaut sein. Auch durch Injektion von Viren in die Blutbahn.
- Die intrauterine Übertragung von der Mutter auf das ungeborene Kind,
- sowie eine Virusübertragung durch Organtransplantation.

### 8.5.2 Virusausbreitung im Wirtsorganismus

Bei **lokalen Infektionen** gelangen die Viren meist über die Schleimhautoberflächen des Respiration– und Gastrointestinaltraktes in den Wirtsorganismus. So führen z.B. Influenzaviren im Respirationstrakt und Retroviren im Gastrointestinaltrakt zu einer lokalen Infektion. Bei **generalisierten Infektionen** werden viele Viren über den Lymph– oder Blutweg entweder über infizierte Blutzellen oder frei im Plasma ausgebreitet. Daher treten Symptome auf, die weit vom Inokulationsort entfernt liegen.

Die Virusausbreitung kann auch über die Nervenbahnen (**neuronal**) erfolgen.

### 8.5.3 Zell– und Gewebetropismus und Zellrezeptoren

Am Zielorgan angelangt, müssen sich die Viren an eine Wirtszelle anheften, da ohne Adsorption eine Aufnahme in die Zelle nicht möglich ist. Hierbei weisen die Viren einen spezifischen Zell– bzw. Gewebetropismus (–affinität) auf, der auf spezifische Rezeptoren der Wirtsoberfläche und besonderen Oberflächenstrukturen der Viren beruht. Diese Oberflächenstrukturen (Proteine) auf dem Virus werden Virulenzfaktoren genannt. Die Infektion findet dann wie im Kapitel Virusvermehrung (Kap. 8.3) statt.

### 8.5.4 Immunantwort und andere Abwehrmaßnahmen des Wirtsorganismus

Der Organismus antwortet spontan mit den unspezifischen Abwehrmaßnahmen. Die spezifische Immunantwort dagegen wird erst durch den Antigenreiz induziert.

Interferone sind biologisch sehr aktive Proteine, die eine hohe Wirts–, jedoch keine Virusspezifität aufweisen. Sie wirken direkt auf virusbefallene Zellen und hemmen dadurch die Virusvermehrung. Eine Steigerung der Pathogenität von Viren ist durch vorhandene spezifische Antikörper steigerbar. Eine Virusinfektion kann auch zur Produktion von **Autoantikörpern**, die gegen nichtinfizierte Gewebe gerichtet sind, führen.

### 8.5.5 Virus–Persistenz, Virus–Latenz und Slow–Virus–Erkrankungen

**persistierende Infektion:** infektiöse Viren sind nach akuter Infektion noch nachweisbar.

**latente Infektion:** infektiöse Viren sind nicht nachweisbar, jedoch deren Nukleinsäure (Reaktivierung möglich).

**Slow-Virus-Erkrankung:** monate-, häufig jahrelange Inkubationszeit ohne Krankheitsercheinungen.

## 8.6 Prophylaxe und Therapie von Virusinfektionen

### 8.6.1 Schutzimpfungen

Schutzimpfungen ermöglichen es virale Infektionskrankheiten auszurotten oder zumindest einzudämmen.

**Passive Immunisierung:** Durch die Übertragung virusspezifischer Antikörper (Immunglobuline) kann eine nichtimmune Person prophylaktisch für wenige Wochen bis Monate geschützt werden.

- Immunglobulin-Präparate vom Menschen werden aus einem Spenderpool hergestellt und enthalten somit alle Antikörper der Spenderpopulation (Hepatitis-A-, Poliomyelitis-, Masern-Prophylaxe).
- Hyperimmunglobuline stammen aus ausgesuchten Spenderkollektiven und enthalten virusspezifische Antikörper in besonders hoher Konzentration (prophylaxe von Hepatitis-B, Mumps, Röteln, Tollwut).
- Rekonvaleszentenserum wird von Personen gewonnen, die von einer Infektionskrankheit genesen sind (Lassafieber).

Neben der Prophylaxe kann eine Indikation auch nach der Virusexposition (Hepatitis-B, Röteln, Tollwut) bestehen.

#### **Aktive Immunisierung:**

- Beim Lebendimpfstoff handelt es sich um vermehrungsfähige, u.a. in ihrer Neurovirulenz abgeschwächte Viren (Poliomyelitis, Masern, Röteln, Mumps)
- Totimpfstoffe enthalten nichtvermehrungsfähige, inaktivierte Viren (Influenza, Tollwut). Die Schutzzeit in der Regel kürzer.
- gentechnologisch hergestellter Impfstoff: Seit einigen Jahren ist ein sog. rekombinierter Hepatitis-B-Impfstoff im Handel. Ein großer Vorteil dieses Impfstoffes ist, daß nur ein Virusprotein verabreicht wird und kein ganzes Partikel.

Bei einigen Impfviren (Mumps, Influenza, Tollwut, Gelbsucht), die auf Hühnerembryonen oder Hühnerfibroblastenzellen gezüchtet werden, ist bei Hühnerereiweißempfindlichkeit größte Vorsicht geboten.

### 8.6.2 Antivirale Chemotherapie

Eine wirksame antivirale Substanz muß, ohne den normalen Zellstoffwechsel zu schädigen, in virusspezifische Synthesevorgänge eingreifen. Deshalb stehen derzeit nur wenige solcher Substanzen zur Verfügung (Herpesviridae). Die Stoffe wirken dahingehend, daß sie bei der Replikation die normalen Basen ersetzen und somit durch Ablesefehler den Vorgang hemmen. Deshalb unterscheidet man zwischen Purinanaloga und Pyrimidinanaloga. Interferone sind ebenfalls Stoffe, die eine Virusverbreitung hemmen. Sie werden nach viraler Induktion in Leukozyten oder von T-Lymphozyten gebildet oder aus induzierten Fibroblastenzelllinien gewonnen. Interferone sind allerdings speziesspezifisch, nicht dagegen virusspezifisch.

## 8.7 Diagnostik viraler Erkrankungen

Die Labordiagnose einer Viruserkrankung beruht zum einen auf dem Nachweis des Erregers und zum anderen auf dem Nachweis virusspezifischer Antikörper. Viren können durch Anzüchtung oder durch den Nachweis viraler Antigene bzw. viraler Nukleinsäure nachgewiesen werden.

### 8.7.1 Virusanzucht

Da Viren Parasiten sind benötigt man zur Anzucht lebende Wirtszellen (Zellkulturen, Brutei und Versuchstier). Am häufigsten werden heute Zellkulturen zur Virusanzucht verwendet, da diese ein relativ einheitliche Wirtssystem darstellen. Kulturen, die direkt von Organen oder Geweben stammen, werden als Primärkulturen bezeichnet. Sekundärkulturen entstehen nach Subkultivierung von Primärkulturen. Das Anzuchtmedium enthält alle notwendigen Bestandteile für die Zellvermehrung. Im Erhaltungsmedium kommt es zu keiner Zellvermehrung, die Zellen werden jedoch lebensfähig gehalten.

### 8.7.2 Nachweismethoden zur Identifizierung von Viren in Zellkulturen

Nach Beimpfung einer Zellkultur mit Untersuchungsmaterial wird diese regelmäßig unter einem Umkehrmikroskop auf das Auftreten eines zytopathischen Effektes beobachtet. Dieser äußert sich durch Zellzerstörung oder Bildung von Riesenzellen. In der Regel sind weitere Identifizierungsmethoden notwendig.

Es wird unterschieden in den

- Indirekten Nachweis
  - Interferenz-Test (eine bereits infizierte Zelle ist für einen anderen Virus nicht mehr empfänglich)
  - Behandlung mit organischen Lösungsmitteln (Chloroform, Äther) zur Unterscheidung von umhüllten und nichtumhüllten Viren

- Hämagglutinierende Viren (manche infizierten Zellen exprimieren Rezeptoren für Erythrozyten (Hämagglutinine) und diese werden nach der Knospung Bestandteil der Virushülle. Setzen sich Erythrozyten an, so kann man diese mikroskopisch nachweisen).
- Direkter Nachweis  
Die obigen Nachweise sind relativ unspezifisch im Gegensatz zu Verfahren, bei denen zum Nachweis spezifische Antikörper eingesetzt werden.
  - Neutralisationstest (spezifische virusneutralisierende Antikörper machen eine Virusvermehrung unmöglich)
  - Plaquereduktionstest (Variante des Neutralisationstestes; der Virus wird durch eine Agarschicht so gezüchtet, daß er sich nur von Zelle zu Zelle ausbreiten kann; werden sie durch die Antikörper nicht neutralisiert, so hinterlassen sie Plaques (Zelltrümmer)).
  - Das früher häufig verwendete Brutei (embryonierte Hühnerei) spielt heute nur noch in Spezialfällen eine Rolle. Die Zellkulturtechnik hat es abgelöst.
  - Versuchstiere werden nur in Ausnahmefällen indiziert (z.B. Cocksackie-A-Viren in Mäusen, die jünger als 48 Stunden alt sind; löst aus: abakterielle Meningitis, Perikarditis, Herpangina, epidemische Pleurodymie, Poliomyelitis ähnliche Lähmungen)

### 8.7.3 Antigennachweis aus Patientenmaterial – infizierten Zellkulturen

- Unspezifischer Virusnachweis  
Hinweise auf eine Virusinfektion in Zellkulturen.
  - lichtmikroskopisch findet man nach Anfärbung Einschlusskörperchen im Zytoplasma oder im Kern von infizierten Zellen
  - elektronenmikroskopische Darstellung viraler Feinstrukturen in infizierten Zellen.
- Spezifischer Virusnachweis  
Spezifischer Nachweis mit virusspezifischen Antikörpern
  - direkter Immunfluoreszenztest
  - Enzymimmuntest (Farbreaktion, mikroskopisch, photometrisch)
  - Radioimmuntest (Markierung mit  $J^{125}$ )
  - Latexagglutinationstest (Verklumpungen)

#### 8.7.4 Nukleinsäurenachweis

Durch Hybridisierung erfolgt der Nachweis viraler Nukleinsäure oder auch viraler Enzyme, die zur Replikation benötigt werden.

Die Hybridisierungstechniken dienen zum Nachweis homologer Nukleinsäuresequenzen. Man unterscheidet:

- Dot-Blot-Hybridisierung
- In situ-Hybridisierung
- Hybridisierung in Flüssigphase

Sie basieren auf der Basenpaarung einzelsträngiger komplementärer Nukleinsäurestränge.

#### 8.7.5 Nachweis spezifischer Antikörper

Es werden drei Antikörperklassen unterschieden:

- IgM-Antikörper (verschwinden relativ früh)
- IgG-Antikörper (existieren lange Zeit)
- IgA-Antikörper (werden von Schleimhäuten gebildet und verschwinden relativ früh)
- Nichtspezifischer Antikörpernachweis
  - Paul-Bunnell-Test: IgM-Antikörper können mit Schaf-, Rinder- oder Pferde-, nicht jedoch mit Meerschweinchenerythrozyten agglutinieren.
- Spezifischer Antikörpernachweis
  - Komplementbindungsreaktion
  - Hämolyse-in-Gel-Test
  - Hämagglutinationshemmtest

## VIROLOGIE, spezieller Teil

**9 Hepadnaviridae**

Familie	Vertreter
Hepadnaviridae	Hepatitis-B-Virus (HBV) Animale Hepatitisviren

Der Hepatitis-B-Virus ist nicht nur Ursache einer akuten Hepatitis-B-Infektion, sondern ist auch an der Entstehung von chronischen Lebererkrankungen, Leberzirrhose und primären Leberzellkarzinom beteiligt.

**9.1 Hepatitis-B-Virus (HBV)**

<b>Eigenschaften:</b>	Größe	42–45 nm
	Symmetrie	ikosaedrisch
	Hülle	vorhanden
	Nukleinsäure	zirkuläre ss/ds-DNA
	Molekulargewicht	1,6–2,1 x 10 <sup>6</sup> Dalton
	Replikation	im Zellkern
	Zusammenbau	im Zytoplasma
Freisetzung	vermutlich durch Knospung	

**Pathogenese:** parenterale Übertragung (unter Umgehung des Magen-Darm-Traktes) durch:

- Blut
- andere Körperflüssigkeiten

Durch Veränderung der Antigenität der Zelloberfläche werden die infizierten Hepatozyten von der körpereigenen Immunabwehr als fremd erkannt und eliminiert.

**Klinik, Verlauf:**

- häufig inapparent oder subklinisch
- akute Hepatitis
- chronische Hepatitis
  - chronisch persistierend
  - chronisch aktiv
- primäres Leberzellkarzinom
- HBV-Infektion während der Schwangerschaft

**Diagnose** aus Serum:

- Nukleinsäurenachweis

- Antikörpernachweis
- Antigennachweis

**Therapie:** Eine spezifische Therapie gibt es bei der Hepatitis-B nicht. Antivirale Chemotherapeutika waren bisher erfolglos.

**Prophylaxe und Schutzimpfung:**

- passive Immunisierung durch Hepatitis-B-Immunglobulin
- aktive Immunisierung:
  - Gabe von HBsAg (mitlerweile gentechnologisch erzeugt)
  - Impfschema beachten
  - Impferfolg kontrollieren

Personengruppen, denen eine Hepatitis-B-Schutzimpfung empfohlen wird:

- medizinisches und zahnmedizinisches Personal, mit direktem Kontakt zu Patienten, Blut, Gewebe oder Körpersekreten,
- Patienten, denen häufig Blut oder Blutbestandteile übertragen werden (z.B. Häophile, Dialysepatienten),
- Patienten in psychiatrischen Anstalten oder Fürsorgeeinrichtungen, Zerebralgeschädigte oder Verhaltensgestörte,
- Neugeborene HBsAg-positiver Mütter,
- Homosexuelle,
- Prostituierte,
- Fixer,
- Geschlechtspartner und eventl. Familienangehörige von chronisch Infizierten.

**Epidemiologie:** Vermutlich 200 Millionen Menschen weltweit

## 9.2 Hepatitis-D-Virus

**Eigenschaften:**

- defekter Virus
- benötigt HBV als Helfervirus

**Pathogenese:**

- simultane Infektion mit HBV
- Superinfektion von HBsAg-Trägern

**Diagnose:**

- Antigennachweis
- Antikörpernachweis
- Nukleinsäurenachweis

**Prophylaxe** durch Hepatitis-B-Impfung

**Epidemiologie:**

- parenterale Übertragung
- besonderes Risiko für:
  - Fixer
  - Hämophile

## 10 Retroviridae

Familie	Subfamilie	Vertreter
Retroviridae	Oncoviridae	
	Spumaviridae	
	Lentiviridae	HIV-1 HIV-2

Retroviren erstmals 1980 entdeckt (HTLV):

- HTLV-1
- HTLV-2
- HTLV-3
  - HIV-1
  - HIV-2

### 10.1 Human Immunodeficiency Virus (HIV)

<b>Eigenschaften:</b>	Größe	ca. 90–120 nm
	Symmetrie	ikosaedrisch
	Hülle	vorhanden
	Nukleinsäure	lineare ssRNA
	Polarität	Plus-Strang
	Molekulargewicht	6 x 10 <sup>6</sup> Dalton
	Replikation und Zusammenbau	im Zytoplasma
	Freisetzung	durch Knospung

Nach Adsorption fusioniert der Virus mit der Hülle und gelangt so in die Zelle. Die

virale RNA wird durch die Reverse-Transkriptase in die DNA der Wirtszelle eingebaut. In dieser Form kann die genetische Form Monate bis Jahre latent bleiben, ohne die betroffene Zelle in ihrer Funktion zu stören. Bei der Zellteilung wird sie auf die Tochterzelle vererbt. Zu jeder Zeit ist eine Reaktivierung möglich.

**Pathogenese:** Zielzellen sind in erster Linie T4-Zellen. Es kommt jedoch nur bei ca. jeder 10.000sten Zelle zur Infektion mit Zellzerstörung. Die massive Minderung an T4-Zellen wird also in indirekten Mechanismen vermutet. Der Nachweis von HIV im Hirngewebe und auch im Liquor ist ein Hinweis auf neurotropes Verhalten.

**Klinik, Verlauf:** Übertragung durch:

- Blut
- Sperma
- Vaginalsekret
- von Schwangeren aufs Kind
- kontaminierten Gegenständen
- Organtransplantation

Inkubationszeit: ca. 14–25 Tage

Latenzzeit: ca. 6 Monate – 15 Jahre

- akute Phase (uncharakteristische klinische Symptome)
- Latenzzeit
- AIDS
  - Tumore
  - rezidivierende oder persistierende Infektionen
  - opportunistische Infektionen

**Diagnose:**

- Virusanzucht
- Antigennachweis
- Nukleinsäurenachweis
- Antikörpernachweis

**Therapie und Prophylaxe:**

- Azidothymidin als Reverse-Transkriptase-Hemmer (starke Toxizität auf hämopoetisches System)
- Expositionsprophylaxe

## 11 Hepatitis Non-A, Non-B (HNANB)

Es gibt zwei Formen der viralen Hepatitis, die keinem der bekannten Hepatitisserregern (A,B,D) zugeordnet werden können und bei denen andere Ursachen einer Lebererkrankung ausgeschlossen sind:

- parenterale Form (Hepatitis-C-Virus)
- enterale Form (Hepatitis-E-Virus)

### 11.1 Hepatitis-C-Virus

**Eigenschaften:** Verwandtschaft mit Toga- oder Flaviviridae

**Pathogenese** wenig bekannt

**Klinik, Verlauf:**

- Inkubationszeit: 20–60 Tage
- bis zu 50% der Patienten entwickeln eine chronische Form der Erkrankung

**Diagnose:** Ausschlußverfahren für:

- HAV
- HBV und
- andere hepatotrope Erreger

**Therapie und Prophylaxe** existieren nicht.

**Epidemiologie:**

- weltweite Verbreitung
- parenterale Übertragung durch Blut und Blutprodukte
- Infizierte können vermutlich jahrzehntelang Träger von Erregern sein

### 11.2 Hepatitis-E-Virus

**Eigenschaften:** nicht ganz entschlüsselt, Verwandtschaft mit Caliciviridae

**Klinik, Verlauf:**

- Inkubationszeit: 30–40 Tage
- Anorexie, extreme Müdigkeit, schleichend
- schwerer Krankheitsverlauf bei Schwangeren

**Diagnose:** durch Ausschlußverfahren für:

- HAV,
- HBV und
- andere hepatotrope Erreger

**Therapie und Schutzimpfung** existieren nicht.

**Prophylaxe** nur durch Meiden von kontaminierten Lebensmitteln

**Epidemiologie:**

- fäkale–orale Übertragung
- hohe Mortalität in der Schwangerschaft

## 12 Schutzimpfungen

- aktive Impfung: das Immunsystem wird aktiviert und es bildet sich ein dauerhafter Schutz aus.
- passive Impfung: Immunglobuline werden ohne Aktivierung des Immunsystems zugeführt, es entsteht nur ein temporärer Schutz.

### 12.1 Passive Impfung

- *natürliche* passive Immunität bei Neugeborenen.
- Passiv übertragene Immunglobuline können Bakterientoxine und Viren neutralisieren, die Phagozytose fördern und das Komplementsystem aktivieren.
- Bei der Gabe von heterologem Antiserum besteht die Gefahr anaphylaktischer Reaktionen.
- menschl. Hyperimmunseren haben hohe Antikörpertiter gegen bestimmte Antigene. Wichtig kann ihr Einsatz bei Tollwut, Diphtherie, Tetanus, Zytomegalie, Keuchhusten, Varizellen oder Hepatitis–B und Frühsommermeningoenzephalitis (FSME) sein.

### 12.2 Aktive Impfung

Diese Impfstoffe aktivieren das Immunsystem. Drei Arten von Impfstoffen werden verwendet:

- Totimpfstoffe
- Lebendimpfstoffen
- Toxoide

### 12.2.1 Totimpfstoffe

**Vorteil:** Anwendungsmöglichkeit bei immunsupprimierten Patienten.

**Nachteil:** Antigenstimulus ist geringer als bei Lebendimpfstoffen

- Keuchusten (Beschränkung auf Risikogruppen)
- Typhus
- Cholera
- Poliomyelitis
- Tollwut (die Impfstoffe können prophylaktisch und postexpositionell eingesetzt werden)
- Influenza (Herz-, Kreislaufkrankheiten, chron. Erkrankungen des Respirationstraktes oder der Niere, ältere Personen in Gemeinschaftseinrichtungen)
- Hepatitis-B (indiziert bei Personal des Gesundheitsdienstes, Homosexuellen, Drogenabhängigen, keine Gefahr der HIV-Übertragung)
- FSME (Land- und Forstarbeiter, Personen in Endemiegebieten)
- Pneumokokken (ältere Menschen)
- Meningokokkenmeningitis (Reise in Risikoländer)

### 12.2.2 Lebendimpfstoffe

Sie enthalten vermehrungsfähige, in ihrer Virulenz jedoch stark abgeschwächte Erreger. Diese können bei abwehrgeschwächten Patienten eine Erkrankung auslösen.

- Tuberkulose (ansteckungsgefährdete Neugeborene, tuberkulinnegative ältere Kinder, exponierte Erwachsene)
- Typhus
- Poliomyelitis
- Masern (kontraindiziert bei Allergie gegen Hühnereiweiß; Kombination mit Mumps- und Rötelnimpfung)
- Röteln (Ziel: Verhütung von Rötelnembryopathien)
- Gelbfieber (bei Reisen in Endemiegebiete, kontraindiziert bei Schwangeren)

### 12.2.3 Toxoidimpfstoffe

Unter Toxoiden werden Toxine verstanden, deren Toxizität, nicht jedoch deren Antigenität, durch eine Formalinbehandlung aufgehoben wurde.

- Diphtherie (heute noch notwendig)
- Tetanus (Auffrischungsimpfung)