

ZEISS Axio Lab.A1

Mikroskopische Lebenduntersuchung des Parasiten
Trichomonas vaginalis

ZEISS Axio Lab.A1

Mikroskopische Lebenduntersuchung des Parasiten

Trichomonas vaginalis

Autoren: Dr. Michael Zölffel, Dr. Thorsten Kern
Carl Zeiss Microscopy GmbH, Deutschland

Dr. Dr. Gerhard Ey
Praxis Dr. Holthaus und Partner, Deutschland

Datum: August 2016

Wissenswertes über Trichomonaden

Trichomonaden sind mehrgeißelige Flagellaten. Sie kommen als Bewohner des Urogenitaltraktes, in der Mundhöhle oder den Verdauungsorganen bei verschiedensten Lebewesen (z.B. Arthropoden, Säugetieren, Menschen) vor (Abb. 1). Der Flagellat *Trichomonas vaginalis* ist ein meist durch ungeschützten Sexualverkehr übertragbarer Parasit des Urogenitaltraktes beider Geschlechter des Menschen. Andere Kontaktinfektionen (z.B. über Handtücher etc.) sind sehr selten. Bei der Infektion mit *Trichomonas vaginalis* handelt es sich um die häufigste, nicht-virale sexuell übertragbare Infektionskrankheit weltweit. Nach WHO-Angaben (2008) wird von bis zu etwa 280 Millionen Infektionen weltweit ausgegangen. Bis zu 20 % der infizierten Schwangeren übertragen die Infektion perinatal auf ihre Neugeborenen. Die Inkubationszeit beträgt zwischen 5 – 25 Tage. Die Infektion bleibt oft zunächst unbemerkt. Sie verläuft bei Frauen in 10 – 30 %, bei Männern in bis zu 90 % asympto-

matisch. Die Infektion des Urogenitaltrakts der Frau (Colpitis) zeigt sich durch eine Veränderung der Zusammensetzung des Vaginalsekretes: Es entsteht ein stark übelriechender und meist gelblich gefärbter und oft schaumiger Ausfluss. Dieser enthält zahlreiche Bakterien, Eiterzellen und Trichomonaden. Häufig tritt dann der Parasit in die Harnröhre über und ruft dort ebenfalls Infektionen hervor, die besonders bei der Frau durchaus schmerzhaft sein können. Beim Mann verläuft die Infektion meist symptomlos. Es gibt Hinweise darauf, dass eine bestehende Infektion mit *Trichomonas vaginalis* das Risiko der Ansteckung mit weiteren Geschlechtskrankheiten (z.B. HIV) erhöht.

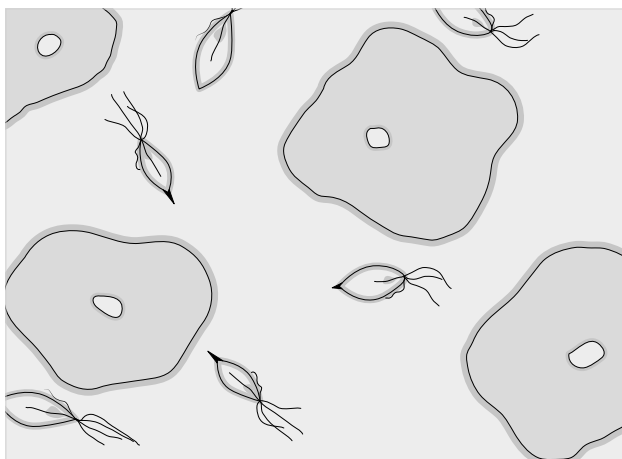


Abbildung 1 *Trichomonas vaginalis* im Vaginalsekret
Quelle: Jenny J: Phasenkontrastmikroskopie in der täglichen Praxis.
Verlag Jenny u. Artusi, Schaffhausen, 1977

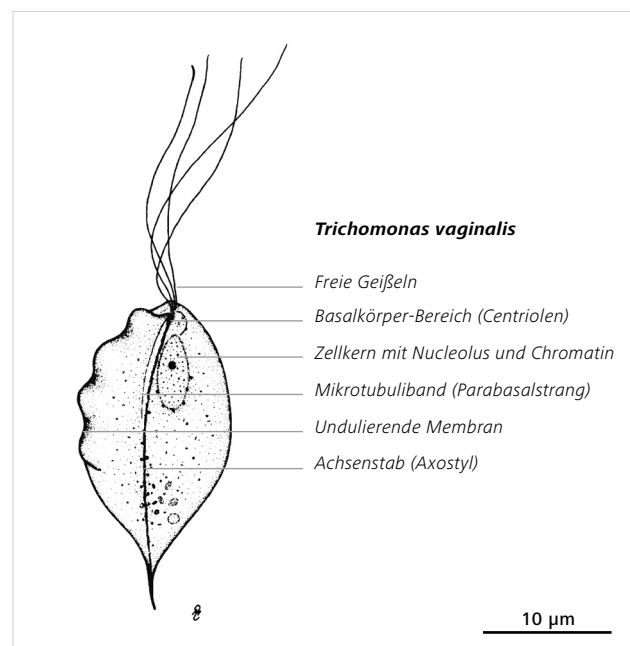


Abbildung 2 *Trichomonas vaginalis* (Schema)

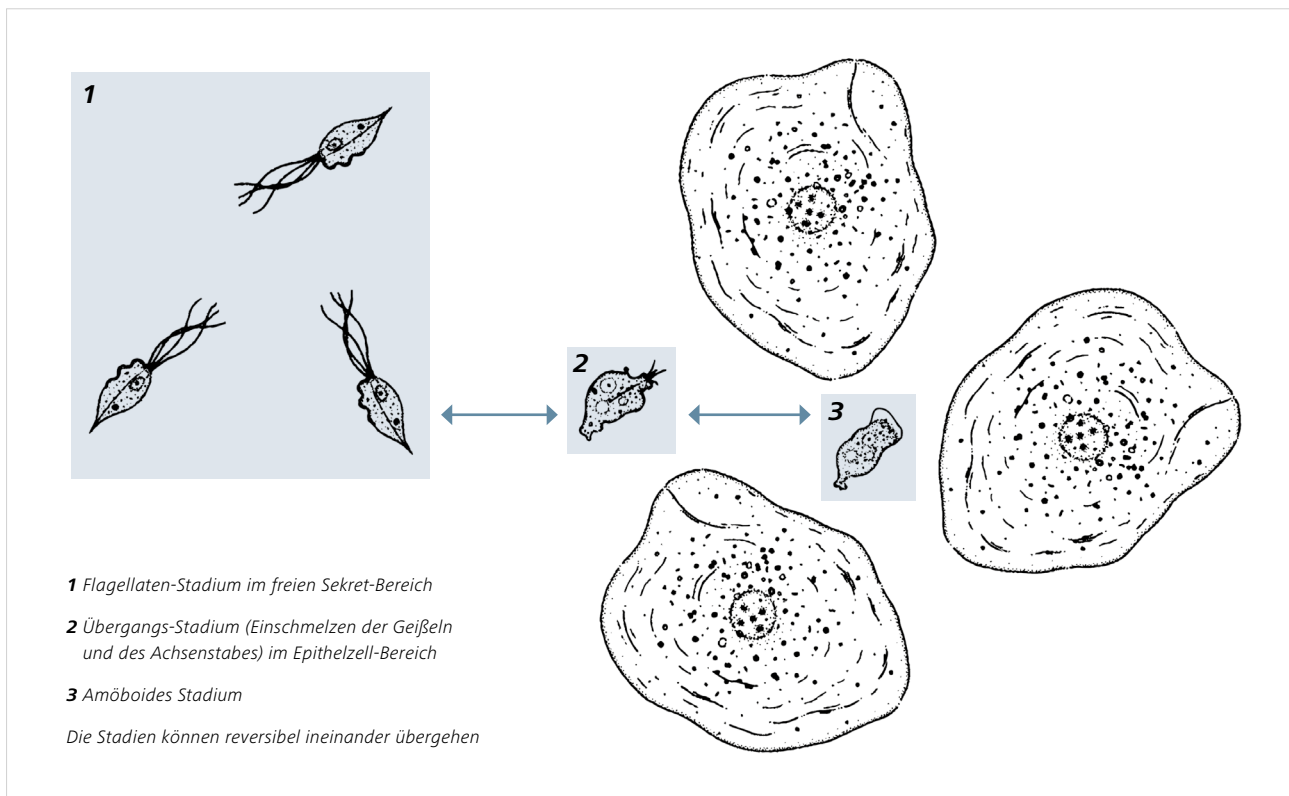


Abbildung 3 *Trichomonas vaginalis* (Flagellat und Amöboidstadium)

Die Therapie muss bei beiden Partnern zeitgleich erfolgen (oral und vaginal), z.B. durch Nitroimidazol-Präparate, wie *ClontTM* oder *FlagylTM*. Außerdem in Frage kommen Tinidazol- und Ornidazol-Abkömmlinge, wie *FasigynTM* oder *TiberaTM*.

Trichomonas vaginalis (Länge 5 – 30 µm, Abb. 2, 3) ist ein birnenförmiger, 5-geißeliger Flagellat. 4 Geißeln sind frei. Sie dienen bei vitalen Zellen der Schwimmbewegung (Abb. 4) und sind dann nach vorne gerichtet. Ebenfalls aus dem Centriol-Bereich entspringt eine weitere, fünfte Geißel. Diese zieht nach hinten und liegt dabei dem Zellkörper eng an. Geschützt durch eine umhüllende Membran wird diese zur undulierenden Membran. Der Geißelschlag versetzt die undulierende Membran in eine heftige, wellenförmige Bewegung (Abb. 5). Ebenfalls aus der Centriol-Region entspringt ein spitz zulaufender Achsenstab. Dieser dient der mechanischen Stabilisierung des Flagellaten im dünnen Sekretfilm. Den Achsenstab begleitet ein Mikrotubuliband (sog. Parasalstrang). Der ovale Zellkern befindet sich im vorderen Teil der Zelle. Die Ernährung erfolgt durch Aufnahme gelöster Nährstoffe aus dem die Zelle umgebenden Medium (z.B. Vaginalsekret). Die Lebensweise ist anaerob, bei einem pH-Optimum von 5,4 – 6,0. Die Flagellaten vermehren sich

durch Zweiteilung. Die freischwimmenden, begeißelten Stadien heften sich häufig an die Epithelzellen an und wandeln sich unter Abwurf der Geißeln in amöboide Stadien um. Diese werden mehrkernig. Das Amöbenstadium kann sich jederzeit wieder in die begeißelte Form umwandeln (Abb. 3). Unbegeißelte, abgerundete Dauerstadien kommen vor, beschaltete Dauerstadien (Zysten) sind bisher nicht nachgewiesen. Zwischenwirte sind unbekannt.

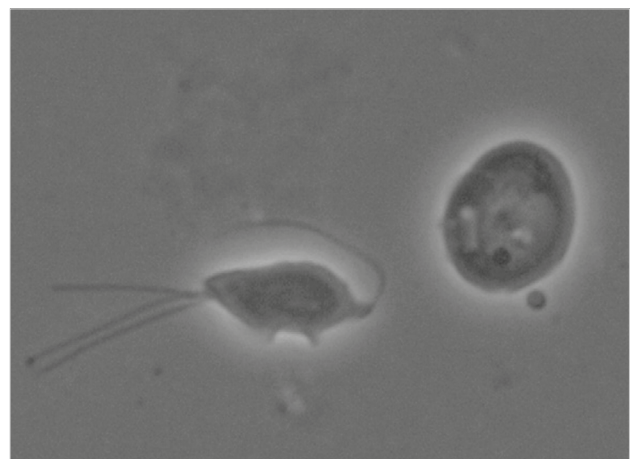


Abbildung 4 *Trichomonas vaginalis* Lebendaufnahme. Phasenkontrast mit Objektiv EC Plan-NEOFLUAR 40x/0,75 Ph2

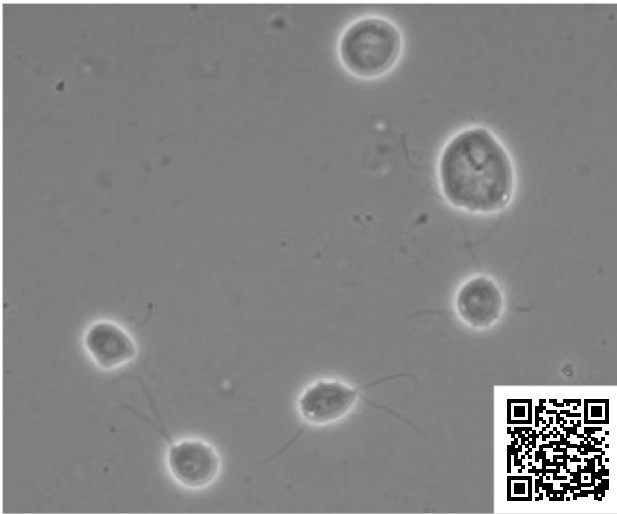


Abbildung 5 *Trichomonas vaginalis* Lebendaufnahme im Phasenkontrast mit Objektiv EC Plan-NEOFLUAR 40x/0,75 Ph2

Trichomonas vaginalis in der Praxis

Trichomonaden können lichtmikroskopisch im Vitalpräparat nachgewiesen werden. Als Kontrastierungsverfahren dient meist der Phasenkontrast (Abb. 4, 5).

ZEISS Mikroskope leisten hier mit einfacher Bedienbarkeit und ihrer hervorragenden Bildqualität einen wichtigen Beitrag zur gynäkologischen in-vitro-Untersuchung.

Daneben kann der Nachweis der Parasiten auch im Methanol-fixierten Ausstrich mittels Giemsa-/ Wright- oder Papanicolaou-Färbung erfolgen (Abb. 6). Aufgrund der hier auftretenden Fixierungsartefakte sind diese Methoden nicht zu empfehlen, da die eindeutige mikroskopische Erkennbarkeit der Geißeln schwierig ist.

Präparationstechnik

Die Entnahme des Vaginalsekrets erfolgt meist über Wattetupfer (Kolposkopie). Das entnommene Sekret wird in einen nicht zu großen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung getupft, der zuvor auf den vorgereinigten Objektträger randständig aufgetropft wurde. Das Ganze wird erneut vermischt. Die Materialmenge ist optimal, wenn mit dem Auge eben erkennbar eine Trübung vorliegt. Anschließend wird das rechteckige Deckglas außen schräg an den Sekrettropfen angesetzt und dann rasch fallen gelassen. Die überschüssige Flüssigkeit, welche manchmal am Deckglasrand hervortritt

wird ebenfalls mit einem Saugpapier entfernt. Auf der Objektträgerunterseite darf sich dann keine Flüssigkeit befinden. Das Deckglas-Nativpräparat ist fertig.

Als Reinigungs- und Aufbewahrungslösung für Objektträger und Deckgläser dient Ethanol absolut. Die Objektträger und Deckgläser können randständig angefasst (Deckglaspinzette) und mittels fussel freiem Reinigungspapier (z.B. KIM WIPES) abgetrocknet werden.

Die Objektträger (76 x 26 mm) sollten „Reinweiß bekantet“ sein. Die rechteckigen Deckgläser (32 x 24 mm) müssen eine Dicke von 0.17 ± 0.01 mm haben. Weicht die Deckglasdicke vom Sollwert ab, so kommt es zu einer deutlich sichtbaren Kontrastminderung im Bild durch Auftreten von sphärischer Aberration. Das gleiche Phänomen entsteht auch, wenn die Flüssigkeitsschicht des Präparates zu dick ist. Diese kann durch randständiges Absaugen verringert und so die sphärische Aberration stark herabgemindert werden.

Mikroskopische Ausrüstung

Das Nativpräparat wird nun mikroskopisch untersucht. Hierzu kann ZEISS Axio Lab.A1 mit Phasenkontrast-Kondensator und LED-Beleuchtung dienen (Abb. 7). Das Mikroskop Axio Lab. A1 hat genügend Helligkeitsreserven für alle Methoden der Durchlichtmikroskopie (Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast, Polarisationskontrast). Es erlaubt die Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung und verfügt über justierbare Phasenkontrast-Ringblenden Ph1, Ph2 und Ph3.

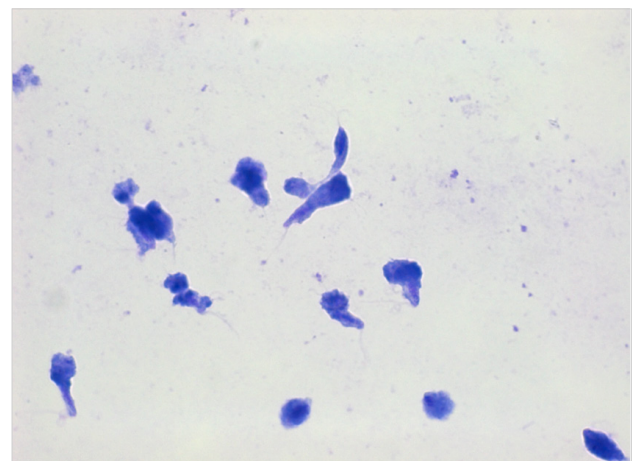


Abbildung 6 *Trichomonas vaginalis*, GIEMSA-Färbung. Hellfeld mit Objektiv EC Plan-NEOFLUAR 100x/1,30 Oil

Das Mikroskop ist mit folgenden Objektiven ausgestattet:

- Objektiv A-Plan 10x/0.25 Ph1: Es dient als Übersichtsobjektiv zum leichteren Auffinden der Trichomonaden im Phasenkontrast.
- Objektiv EC Plan-NEOFLUAR 40x/0.75 Ph2: Dies ist das Objektiv für die Untersuchung des Flagellaten-Habitus und des Bewegungsverhaltens von *Trichomonas vaginalis* im Phasenkontrast.

Für spezielle Aufnahmen der Trichomonaden-Feinstruktur im Phasenkontrast werden ein Öl-Immersionsobjektiv EC Plan-NEOFLUAR 63x/1.25 Oil Ph3 oder das EC Plan-NEOFLUAR 100x/1.30 Ph3 empfohlen. Für die Untersuchung einer Trichomonas-Infektion sind diese Objektive jedoch nicht notwendig.

Zur Kontraststeigerung des Phasenkontrastbildes wird dringend empfohlen, auf die Lichtaustrittsöffnung ein Interferenz-Breitband-Grünfilter $d = 32 \times 4 \text{ mm}$ (Best.-Nr. 467803) aufzulegen.

Trichomonas-Nachweis

Die Trichomonaden bewegen sich im frischen Vaginalsekret mit ruckartigen Schwimmbewegungen fort (Abb. 4,5). Dies geschieht mit den 4 freien Geißeln, unterstützt von den Bewegungen der undulierenden Membran (Abb. 5). Das ist im Phasenkontrast mit dem Objektiv EC Plan-NEOFLUAR 40/0.75 Ph2 sehr gut erkennbar. Der Zellkörper vitaler Stadien ist birnenförmig und hinten zugespitzt. Im Innern der beweglichen Zellen kann man keine Strukturen erkennen. Bei manchen Flagellaten ragt der zugespitzte Achsenstab über das Hinterende hinaus.

Luftbläschen im Präparat oder Fetttropfchen aus dem Vaginalsekret sind oft kugelig. Diese können jedoch von den Trichomonaden durch das Fehlen von Geißeln und eine abweichende Form leicht unterschieden werden.

Im Laufe der mikroskopischen Untersuchung verdunstet langsam die Probenflüssigkeit. Dies ist erwünscht, weil dadurch die Präparatschicht immer dünner wird und damit die Erkennbarkeit feiner Strukturen zunimmt.



Abbildung 7 ZEISS Axio Lab.A1 für die Trichomonas-Untersuchung. Mit Kondensator für Hellfeld, Dunkelfeld und Phasenkontrast. Ausgerüstet mit Objektiven für Phasenkontrast.

Absterbende Stadien kugeln sich ab und verlieren im Laufe der Zeit ihre Geißeln. Der Achsenstab wird eingeschmolzen (Abb. 4, rechte Zelle).

Mit dem direkten mikroskopischen Erkennen der lebenden Trichomonaden im Phasenkontrast kann der Nachweis einer „Infektion mit *Trichomonas vaginalis*“ erfolgen.

Das Mikroskop ZEISS Axio Lab.A1 mit Phasenkontrast und Objektiv EC Plan-NEOFLUAR 40x/0.75 Ph2 ermöglicht die Trichomonas-Erkennung in weniger als einer Minute im frisch angefertigten Lebendpräparat (Abb. 7).



Carl Zeiss Microscopy GmbH
07745 Jena, Germany
microscopy@zeiss.com
www.zeiss.com/axiolab



Autorisierter Fachhandelspartner:
Pulch + Lorenz Mikroskoptechnik
Am Untergrün 23, D-79232 March
tel: 07665 9272-0
fax: 07665 9272-20
mail: kontakt@pulchlorenz.de
web: pulchlorenz.de



Konkrete diagnostische Abläufe werden durch den Facharzt festgelegt. Die Verantwortung zur fachgerechten Diagnose obliegt ausschließlich dem Facharzt. Gegebenenfalls können weitere Nachweismethoden erforderlich sein."

Not all products are available in every country. Use of products for medical diagnostic, therapeutic or treatment purposes may be limited by local regulations. Contact your local ZEISS representative for more information.

DE_42_013_206 | CZ 09-2016 | Design, scope of delivery and technical progress subject to change without notice. | © Carl Zeiss Microscopy GmbH