Phasenkontrastmikroskopie in der gynäkologischen Praxis

K.		Heim
G.		Pinzger

Univers.-Klinik f. Frauenheilk. Innsbruck (Vorst.: Prof. Dr. O. Dapunt)

Dr. K. Heim, Univers.-Klinik f. Frauenheilk., Anichstraße 35, A-6020 Innsbruck

Die Phasenkontrastmikroskopie (PhKM) wurde Anfang der 30er Jahre vom holländischen Physiker Fritz Zernike entwickelt (Nobelpreis 1953) und 1941 wurden von der Firma Carl Zeiss verkäufliche Geräte realisiert [1].

Der Unterschied zwischen einem normalen Durchlichtmikroskop und einem Phasenkontrastmikroskop besteht in einer Veränderung des Objektivs – Einbau einer Phasenplatte – und der Zusatzeinrichtung einer Ringblende. Es kommt dadurch zusätzlich zum betrachteten Objekt zu einer Phasenverschiebung der Lichtwellen, zur teilweisen Auslöschung derselben an verschiedenen Objektstrukturen, insgesamt zu einer verstärkten Kontrastierung, insbesondere an Randstrukturen [1].

Die gesamte Zellforschung erhielt durch die Möglichkeit, lebende (ungefärbte) Objekte in ihren Mikrostrukturen und in ihrer Mikromorphogenese auch in starken lichtoptischen Vergrößerungen kontrastreich und naturgetreu darzustellen, wichtige neue Impulse. Die PhKM leistet auch für die tägliche Routinediagnostik in der gynäkologischen Praxis wertvolle Dienste, erleichtert wesentlich die aktuelle Beurteilung von Vaginalsekret, Zervixschleim und auch Spermien.

Die Videoaufnahmen erfolgten durch ein Olympusmikroskop mit 100- oder 400facher Vergrößerung mit einer JVC-Kameraausrüstung und einer Sony-U-matic-Aufzeichnungsmaschine.

Am Beginn der Beurteilung des Vaginalsekretes durch ein Phasenkontrastmikroskop steht die Herstellung zweier tauglicher Nativpräparate. Es erscheint uns wichtig die Anfertigung eines sogenannten 2fachen Nativpräparates (neben einem mit 0,9 %iger Kochsalzlösung, auch eines mit 10 %iger Kalilauge) zu empfehlen, da durch KOH eine wesentlich bessere Diagnostik der Mycelien ermöglicht wird und eine verstärkte oder überhaupt erst eine positive Geruchsprobe auftritt. Andererseits würde ein solches KOH-Präparat alleine nicht ausreichen, da die Vaginalzellen und v. a. auch Trichomonaden zerstört werden.

Eine der möglichen Fertigungsmethoden zeigt die Einleitungssequenz des Videofilmes. Auf einem Objektträger werden zuerst nebeneinander ein kleiner Tropfen Kochsalzlösung und Kalilauge aufgebracht, dann vom hinteren Untersuchungsspiegel durch ein Stäbchenende jeweils Vaginalsekret entnommen und im Flüssigkeitstropfen verrührt. Es folgt nun am Kalilaugentropfen die Geruchsprobe nach evtl. vorhandenem Fischgeruch (Amingeruch). Zum Abschluß wird auf beiden Tropfen ein Deckglas aufgebracht und angedrückt. Die fertigen beiden Nativpräparate auf einem einzigen Objektträger können anschließend nunmehr unter dem Phasenkontrastmikroskop zuerst mit der schwächeren Vergrößerung durchmustert werden. In praxi wichtig zeigt sich der Hinweis, daß immer die zum Objektiv passende Phasenplatte

gewählt werden muß. Gerade in einem Ambu-lanzbetrieb mit wechselnden Untersuchern ist auch noch das Gebot zu erlassen, daß bei einem korrekt justierten Gerät sonst keinerlei Schrauben außer der Scharfeinstellung mehr verändert werden dürfen.

Im Video werden in folge Liveaufnahmen verschiedenster häufiger oder auch seltener vorkommender Befunde unter dem Phasen-mikroskop demonstriert.

Folgende Beurteilungen in der PhKM sind möglich: vgl. Tabelle 1 [1, 3, 4, 5]. Nicht geeignet ist sie jedoch für den Nachweis von Gono-kokken (Ölimmersionsmikroskopie/Gramfärbung, Kultur) und Tre-ponema pallidum (Lues) (Dunkelfeldmikroskopie, Serologie). Eine Krebsdiagnose im Nativpräparat ist nicht zuverlässig (hiezum selbstverständlich einzig nach Papanicolaou gefärbte fixierte Präparate legitim).

Im Vaginalsekret der geschlechtsreifen Frau finden sich normalerweise mehr oder weniger reichlich die nach Döderlein benannten Milchsäurestäbchen oder Laktobazillen. Man sieht sie teils zwischen, teils auf den Zellen liegend als nicht verzweigte längere Stäbchen. Es findet sich vielfach mehr oder weniger ausgeprägte Zytolyse. Zu sehen sind auch die sogenannten kurzen und längeren Formen.

Eine unspezifische bakterielle Mischflora ohne Amingeruch kommt seltener vor, eine zuverlässige Differenzierung einzelner Kokken- oder Stäbchenarten in der Vitalzytologie ist nicht möglich, therapeutisch jedoch auch nicht notwendig. Es finden sich oft unterschiedlich ausgeprägte Entzündungszeichen mit Leukozytenvermehrung und teilweise auch Zellveränderungen. Eine reine Kokkenflora ist ebenfalls sehr selten.

Die häufigste „Vaginalstörung“ stellt die sogenannte Aminkolpitis dar. Ihr Leitsymptom ist der typische fischartige Geruch des Vaginalsekretes, vor allem nach Zugabe von Kalilauge. Das mikroskopische Bild ist charakterisiert durch Vaginalepithelzellen, welche von einem dichten Rasen kleiner stäbchenförmiger Bakterien bedeckt

Tabelle 1. Beurteilungsmöglichkeiten in der PhKM

1. Diagnose der Scheidenflora:

fehlende Besiedelung,

normale Döderleinflora mit oder ohne Zytolyse,

bewegliche oder unbewegliche Bakterien,

Trichomonaden,

Pilze,

Lepothrix;

Entzündungszeichen: Leukozyten (Anzahl, Formation).

Kursorische Beurteilung des hormonalen Status: Epithelzellen, Farnstest.

Nachweis von Spermien im Cervixsekret (Sims-Hühner-Test und Kurzrock-Miller-Test).

Beurteilung der Spermien (z. B. Makler): Zahl, Beweglichkeit, Morphologie.

Abstriche von Vulva und ev. Analregion (z. B. bei Verdacht auf Mykose).

sind. Sie erscheinen wie mit Staubzucker überzogen und werden, da sie zur Diagnose führen, auch als clue cells oder Schlüsselzellen bezeichnet. Die Zusammensetzung der Bakterienflora beinhaltet in höherer Keimzahl Gardnerella vaginalis. daneben jedoch auch immer Anaerobier, die schließlich die eigentliche Hauptrolle bei der Aminkolpitis spielen dürften [3, 4]. Sie produzieren die Amine, welche die Vaginalschleimhäute zur erhöhten Sekretion anregen und den fisch-artigen Geruch bewirken, Gardnerella vaginalis scheint durch eigene Vermehrung und

Produktion von Succinat, einem Wachstumsfaktor für anaerobe Bakterien, vornehmlich nur der Protagonist bei der Infektion zu sein.

Leptothrix oder Fadenbakterien können als Nebenfund ohne pathogene Bedeutung gefunden werden. Sie sind haarförmige, lange und oft stark gewundene Fäden, teilweise in dichteren Knäueln angeordnet. Man sieht sie deutlich dünner als Pilzfäden, septiert, ohne Verzweigungen und ohne sichtbare Zellmembran. Sie sind jedoch öfter mit Trichomonaden oder einer unphysiologischen Bakterienflora vergesellschaftet.

Reichlich Leukozyten im Vaginalsekret in Haufen angeordnet, mit nur wenig oder keinen ungewohnten Keimen, oft neben Döderleinstäbchen ohne entzündlich degenerative Zellveränderungen und selten sichtbaren Zylinderepithelzellen, lassen an eine Cervicitis denken. Nun zu einer im Nativpräparat eindeutig zu diagnostizierenden vaginalen Infektion, den Mykosen. Sie kommen als Sproßzellen oder Pseudohyphen vor, letztere sind unterschiedlich lange segmentierte, dünne Schläuche, sie können einzeln liegen oder ein Geflecht, ein Pseudomycel, bilden. Diagnostische Irrtumsmöglichkeiten bestehen mit Schutzfasern und wie vorher erwähnt, mit Leptothrix. Man findet an den Hyphen oft knospenartige Ausstülpungen, die von der Mutterzelle getrennt als Sproßzellen bezeichnet werden. Vielfach besser als im Kochsalzpräparat werden im Kalilaugenpräparat durch die aufgelösten vaginalen Zellen die Pilzfäden deutlich sichtbar.

Trichomonaden sind ebenfalls häufig durch einen Blick erkennbar. Manchmal muß jedoch insbesondere bei alternden, wenig beweglichen Trichomonaden und bei Mischinfektionen das Präparat mit Vergrößerung durchgemustert werden. Junge Trichomonaden bewegen sich mit vier peitschenartig bewegenden Geißeln deutlich im Präparat sichtbar fort. Ältere besitzen oft Vacuolen und haben unterschiedliche Form und Größe. Diagnostische Irrtumsmöglichkeiten bei bestehendem Kapillarfluß ergeben sich manchmal durch Leuko-

Tabelle 2. Vorteile und Grenzen der Diagnostik durch die PhKM

Grenzen der Methode:

Vorteile:

Erregernachweis der klass. Geschlechtskrankheiten (v. a. GO, Lues) Chlamydien, Mykoplasmen
Viren (HSV, HPV, HIV) (prae)maligne Veränderungen

zeitsparend (Sofortdiagnostik)

einfach durchführbar

leicht lehr- und lernbar

zuverlässig

kostensparend

ohne Fremdhilfe durchführbar

zyten und nackte Zellkerne, Trichomonaden sind jedoch u. a. größer. Wie generell bei vaginalen Infektionen sind auch hier Mischinfektionen mit unphysiologischen Begleitkeimen oder Mykosen nicht selten.

An einem getrockneten Präparat von Zervikalsekret zur Beurteilung der zyklusveränderlichen Beschaffenheit zeigen sich unterschiedlich ausgeprägte farnkrautartige Kristallisationsfiguren. Vor allem in der Zyklusmitte sind unter zunehmendem Östrogeneinfluß durch den hohen Gehalt an Kochsalz deutliche farnblattähnliche Muster auszunehmen. Prae- und postmenstruell fehlt dieses Phänomen völlig, in den Übergangsphasen zeigen sich dann feine Verästelungen [2]. Die letzte Videosequenz zeigt vitale Spermien und die überblicksmäßige Prüfung der Penetrationsfähigkeit von Samenzellen ins Zervikalsekret.

Die Vorteile und Grenzen der Diagnostik im PhKM vgl. Tabelle 2. Einer der Nachteile war die relativ umständliche Dokumentation durch Fotos.

Für eine aktuelle differenzierte Diagnostik ist wohl zu allererst in praxi einmal zu fordern, neben aufwendigen zeitverzögerten Zusatz-untersuchungen (Kulturen, Chlamydien-, Mykoplasmen-, Virus-diagnostik, Serologien) diese Methode auszuschöpfen.

Die Phasenkontrastmikroskopie ermöglicht also eine gute kontrastreiche Betrachtung ungefärbter vitaler Präparate und stellt eine einfache, schnelle und zuverlässige Methode für die Beurteilung von Fluor, des hormonalen Status und gewisser Fertilitätsstörungen dar. Insgesamt bilden die gewonnenen Informationen vor allem auch für eine differenzierte Therapie eine bedeutsame Grundlage.

Literatur

Jenny J: Die Phasenkontrastmikroskopie in der täglichen Praxis, Leitfaden und Bildatlas. Schaffhausen, Jenny & Artusi, 1977. Keller PJ: Hormonale Störungen in der Gynäkologie. Berlin, Springer, 1984.

Martius J: Diagnostik und Therapie von Vaginalinfektionen. Spekulum 1989: 7. Jg., 2. Heft: 3-8.

Schmidt-Gollwitzer M: Fluor genitalis: in Martius G, Schmidt-Gollwitzer M (ed): Differentialdiagnose in Geburtshilfe und Gynäkologie. Stuttgart. Thieme, 1984, pp 66-77.

Stoll P, Dallenbach-Hellweg G, Gundlach H, Jaeger J: Gynäkologische Vitalcytologie in der Praxis. Berlin. Springer. 1969.

130 Heim/Pinzger Phasenkontrastmikroskopie in der gynäkologischen Praxis