

## Występowanie *clue cells* w rozmazach pochwowych kobiet po menopauzie. Ocena w mikroskopie fazowo-kontrastowym

### *Occurrence of clue cells in the vaginal smears of postmenopausal women – an assessment under phase-contrast microscopy*

Andrzej Malarewicz, Jadwiga Szymkiewicz, Tomasz Soszka, Jerzy Rogala, Jolanta Soszka

Zakład Perinatologii, Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa, Wydział Nauk o Zdrowiu, Akademia Świętokrzyska;  
dyrektor Instytutu: prof. zw. dr hab. Andrzej Malarewicz

Przeгляд Menopauzalny 2008; 2: 77–80

#### Streszczenie

**Cel pracy:** Postanowiono przekonać się, czy w rozmazach kobiet pomenopauzalnych obserwuje się często komórki wskaźnikowe i czy można je łatwo rozpoznać w mikroskopie fazowo-kontrastowym.

**Materiał i metody:** Badane kobiety nie miesiączkowały co najmniej od roku. Grupę I – pomenopauzalną wczesną – stanowiło 660 kobiet w wieku 51–60 lat. Grupę II – pomenopauzalną późną – stanowiło 380 kobiet w wieku 61–83 lat. Pobierano wymazy cytologiczne z szyjki macicy w kilku ośrodkach i po utrwaleniu preparatem Citofix przesyłano do Zakładu Perinatologii Wydziału Nauk o Zdrowiu Akademii Świętokrzyskiej, gdzie przygotowywane były do oglądania w mikroskopie fazowo-kontrastowym. Utrwalony preparat przepłukiwano 0,9-procentowym roztworem NaCl, przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i oglądano w mikroskopie KFA P20 z wbudowanym urządzeniem fazowo-kontrastowym. Po obejrzeniu rozmazu w fazokontraście utrwalano go dodatkowo nad płomieniem i barwiono metodą Grama. Zabarwione rozmazy oglądano w zwykłym mikroskopie optycznym w powiększeniu 100×, 400× i pod immersją. Poszukiwano *clue cells*. Zwracano również uwagę na obecność lub brak w rozmazach pałeczek Döderleina (*Lactobacillus vaginalis*), granulocytów wielojądrazastych obojętnochłonnych i rodzaj komórek nabłonkowych.

**Wnioski:** *Clue cells* obecne są w rozmazach pochwowych kobiet w każdym okresie po menopauzie. *Clue cells* są łatwo rozpoznawane w rozmazach pochwowych oglądanych w mikroskopie fazowo-kontrastowym.

**Słowa kluczowe:** *clue cells*, menopauza, cytologia menopauzy

#### Summary

**Objective:** This work was aimed at detecting the frequency of clue cells in the smears collected from postmenopausal women and establishing how easily they could be recognized under a phase-contrast microscope.

**Material and methods:** The examination was conducted among 1040 women aged over 50 years. The women had not menstruated for at least one year. The first group, called early postmenopausal, consisted of 660 women aged from 51 to 60 years. The second group, called late postmenopausal, was represented by 380 women aged from 61 to 83 years. Cytological smears from the uterine cervix collected at several outpatient clinics and fixed with Citofix were sent to the Department of Perinatology at the Faculty of Health Sciences of the Świętokrzyska Academy in Kielce where they were prepared for inspection under phase-contrast microscopy. The fixed preparation was washed with 0.9% sodium chloride solution, covered with a cover glass and inspected under the microscope KFA P20 with a built-in phase-contrast device. After inspection under phase-contrast microscopy the smear was additionally fixed over a flame and stained with a Gram method. The stained smears were inspected under a regular optical microscope at magnification 100×, 400× and under immersion. The clue cells were searched for. Attention was also paid to the presence or lack of Döderlein bacilli (*Lactobacillus vaginalis*), multinuclear neutrophilic granulocytes and the presence of epithelial cell types.

**Conclusions:** Clue cells are present in women's vaginal smears at any period after a menopause. The clue cells can easily be recognized in vaginal smears inspected under the phase-contrast microscope.

**Key words:** clue cells, menopause, cytology of menopause

Adres do korespondencji:

prof. zw. dr hab. **Andrzej Malarewicz**, ul. Pomorska 45/3, 25-343 Kielce, faks +48 41 368 24 09, e-mail: andrzejmalarewicz@interia.pl

Znanym cytologicznym wykładnikiem beztlenowcowego zakażenia pochwy (ang. *bacterial vaginosis* – BV) jest występowanie w rozmazach pochwowych charakterystycznych komórek – wyznaczników tego zakażenia, tzw. *clue cells*, czyli komórek wskaźnikowych [1–3].

Amsel i wsp. [4], Platz-Christensen i wsp. [5], Mashburn [6] podkreślają wysoką czułość i swoistość obecności *clue cells* do rozpoznania BV. Zdaniem Morgan i wsp. [7] oraz Wang [8] BV występuje u 10% kobiet w okresie dojrzałości płciowej, a Allsworth i Peipert [9] twierdzą, że infekcja ta dotyczy 1/3 wszystkich infekcji pochwy u wspomnianych kobiet. Holst i wsp. [10], Thomason i wsp. [11] oraz Eschenbach i wsp. [12] u prawie połowy kobiet z BV, mimo istniejącego zakażenia, nie zaobserwowali objawów klinicznych choroby. Peterek [13] twierdzi, że u 3/4 chorych na BV choroba przebiega w sposób utajony. Dotyczy to szczególnie kobiet w okresie po menopauzie, u których zakażenie BV występuje nie rzadziej niż w innych okresach życia, a rozpoznawane jest rzadko i w związku z tym nie jest leczone [14–17].

Duża potencjalnie patogenność flory bakteryjnej towarzyszącej BV, szczególnie paciorkowców beztlenowych [18–21] i podnoszony aspekt onkologiczny waginozy bakteryjnej [22, 23] sprawiają, że nierozpoznanie BV jest zjawiskiem niepokojącym i nakazuje szerokie wdrożenie działań rozpoznawczych zakażenia. Nie bez powodu więc Peterek [13] zaleca, aby każdej zgłaszającej się do gabinetu ginekologicznego kobiecie, mimo braku klinicznych objawów choroby, wykonywać w treści pochwowej testy na BV.

## Cel pracy

Mając na uwadze powyższe sformułowania, postanowiono przekonać się, czy w wymazach pochwowych pobieranych u kobiet pomenopauzalnych obserwuje się często komórki wskaźnikowe i czy można je łatwo rozpoznać w mikroskopie fazowo-kontrastowym.

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono u 1040 pacjentek powyżej 50. roku życia. Kobiety nie miesiączkowały co najmniej od roku. Grupę I – pomenopauzalną wczesną – stanowiło 660 kobiet w wieku 51–60 lat, natomiast w grupie II – pomenopauzalnej późnej – znalazło się 380 kobiet w wieku 61–83 lat.

Wymazy cytologiczne z szyjki macicy pobierano w kilku ośrodkach i utrwalone preparatem Citofix przesyłano do Zakładu Perinatologii Wydziału Nauk o Zdrowiu Akademii Świętokrzyskiej, gdzie przygotowywane były do oglądania w mikroskopie fazowo-kontrastowym. Utrwalony preparat przepłukiwano 0,9-procentowym roztworem NaCl, przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i oglądano

w mikroskopie KFA P20 z wbudowanym urządzeniem fazowo-kontrastowym.

Po obejrzeniu rozmazu w fazokontraście utrwalano go dodatkowo nad płomieniem i barwiono metodą Grama. Zabarwione rozmazy oglądano w zwykłym mikroskopie optycznym w powiększeniu 100×, 400× i pod immersją.

Poszukiwano *clue cells*. Zwracano również uwagę na obecność lub brak w rozmazach pałeczek Döderleina (*Lactobacillus vaginalis*), granulocytów wielojądrzastych obojętnochłonnych i rodzaj komórek nabłonkowych.

## Wyniki

Uzyskane wyniki badań przedstawiono w tab. I.

Zarówno w mikroskopie fazowo-kontrastowym, jak i w preparatach barwionych metodą Grama zaobserwowano *clue cells* w rozmazach pochwowych u 96 kobiet. Stanowiło to 9,2% wszystkich badanych rozmazów. U kobiet w okresie pomenopauzalnym wczesnym *clue cells* rozpoznano w rozmazach u 64 spośród 660 pacjentek (9,7%), natomiast u pacjentek w okresie pomenopauzalnym późnym u 32 spośród 380 (8,3%).

W rozmazach cytologicznych grupy I, w których rozpoznano *clue cells*, zawsze obserwowano komórki pochodzące ze wszystkich warstw nabłonka wielowarstwowego płaskiego, u jednych kobiet z przewagą w rozmazach komórek warstwy pośredniej i z pojedynczymi komórkami warstwy powierzchniowej, u drugich z przewagą komórek warstw głębokich, przede wszystkim warstwy przypodstawnej.

*Clue cells* oglądane w mikroskopie fazowo-kontrastowym morfologicznie odpowiadały komórkom intermedialnym, miały kształt wieloboczny lub nieco zaokrąglony. Powierzchnię komórek gęsto pokrywały drobne pałeczkowate bakterie. Załamujące światło pałeczki rysowały się bardzo wyraźnie na tle cytoplazmy komórek. Pomiędzy komórkami, w tle preparatu, bakterie albo tworzyły rozległe obfite kolonie, albo było ich niewiele.

Barwienie metodą Grama wykazało, że pokrywająca *clue cells* i ściśle do nich przylegająca flora bakteryjna wybarwiała się Gram-zmiennie i morfologicznie odpowiadała drobnoustrojom *Gardnerella vaginalis* i *Mobiluncus*.

U 56 kobiet grupy pomenopauzalnej wczesnej *clue cells* stanowiły zawsze ponad 20% wszystkich obecnych w rozmazie komórek nabłonkowych.

W 8 rozmazach u kobiet z tej grupy *clue cells* nie były liczne i pojawiały się sporadycznie co kilka pól widzenia mikroskopu.

W grupie kobiet pomenopauzalnej późnej dużą liczbę *clue cells* (ponad 20%) w rozmazach zaobserwowano w 18 przypadkach. W rozmazach 14 kobiet z tej grupy *clue cells* było niewiele. Obecności *clue cells* w rozmazach tej grupy kobiet towarzyszyły przede wszystkim

komórki przypodstawne i pośrednie. Tylko sporadycznie obserwowano komórki powierzchniowe.

Zaobserwowano, że w rozmazach komórkowych kobiet z obu grup, wszędzie tam, gdzie były *clue cells*, zwracała uwagę mała liczba granulocytów wielojądrowych obojętnochłonnych i pojedyncze lub zupełny brak prawidłowych pałeczek kwasu mlekowego – *Lactobacillus vaginalis*.

## Omówienie wyników i dyskusja

Przedstawione wyniki badań dowodzą, że podobnie jak donoszą Spiniello i wsp. [14], Moi [15], Garcia Cossas i wsp. [16], Burton i Reid [17] *clue cells* zaobserwowano w rozmazach kobiet w różnym okresie po menopauzie.

Konfrontacja obrazów uzyskanych w mikroskopie fazowo-kontrastowym z obrazami mikroskopowymi preparatów barwionych metodą Grama dowodzi, że czułość metody fazowo-kontrastowej jest co najmniej identyczna z oceną preparatów barwionych metodą Grama (ryc. 1, 2.). W tych rozmazach bowiem, w których *clue cells* rozpoznawano barwieniem metodą Grama, zawsze stwierdzano te komórki w rozmazach oglądanych w mikroskopie fazowo-kontrastowym. Czułość metody fazowo-kontrastowej dla *clue cells* stawia ją więc w jednym szeregu z innymi metodami cytologicznymi wykrywającymi ten rodzaj komórek.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że oglądanie rozmazów w mikroskopie fazowo-kontrastowym jest metodą szybką i niewymagającą sztucznego podbarwienia preparatów [24]. Urządzenie fazowo-kontrastowe w mikroskopie jest bowiem układem optycznym, który ma zdolność bezpośredniego przekształcenia w badanym preparacie niewidocznych dla oka ludzkiego zmian fazowych fal świetlnych na widzialne zmiany natężenia światła. Dzięki temu komórki obecne w rozmazie są dobrze widoczne. Wykonany rozmaz nakrapla się tylko fizjologicznym roztworem NaCl i przykrywa szkiełkiem nakrywkowym [25].

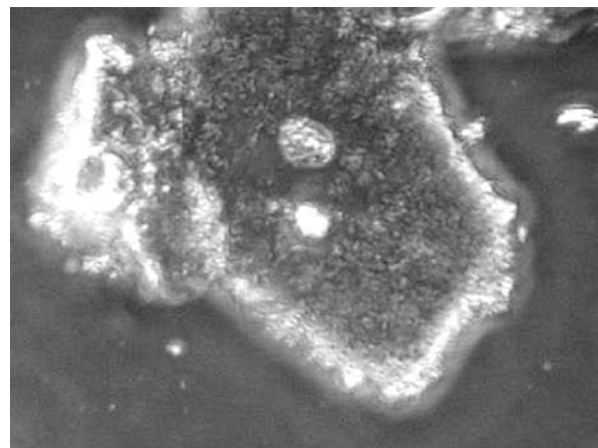
Z tab. I wynika, że zarówno u kobiet do 10 lat po menopauzie, jak i u kobiet starszych *clue cells* pojawiają się w rozmazach pochwowych w przybliżonym procencie przypadków – odpowiednio 9,7 i 8,3%. Pomiędzy tymi dwiema grupami wiekowymi zauważono różnicę tylko w zawartości komórek nabłonkowych w rozmazach, pochodzących z poszczególnych warstw nabłonka. W grupie kobiet w okresie pomenopauzalnym wczesnym w rozmazach, w których występowały *clue cells*, obserwowano zawsze komórki ze wszystkich warstw nabłonka z większą lub mniejszą przewagą komórek z warstwy pośredniej i przypodstawnej. U kobiet starszych komórki pośrednie i przypodstawne zawsze występowały w znacznej przewadze. Komórek powierzchniowych albo nie obserwowano, albo występowały one tylko sporadycznie.

Przeprowadzone badania upoważniają do sformułowania następujących wniosków:

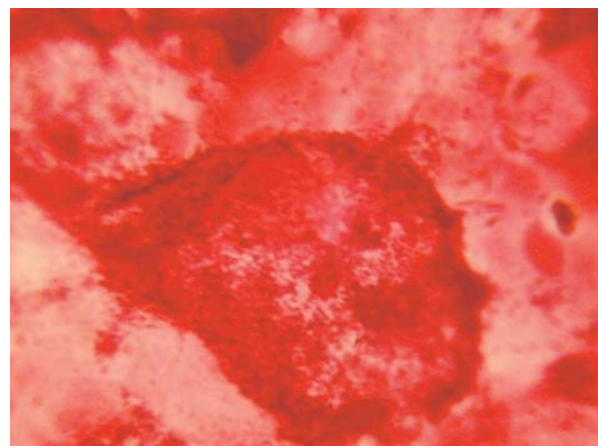
1. *Clue cells* obecne są w rozmazach pochwowych kobiet w każdym okresie po menopauzie.
2. *Clue cells* są łatwo rozpoznawane w rozmazach pochwowych oglądanych w mikroskopie fazowo-kontrastowym.

Tab. I. Występowanie *clue cells* w badanych grupach kobiet

Grupa	Liczba kobiet	Barwienie metodą Grama	Mikroskop fazowo-kontrastowy
I pomenopauzalna wczesna (51–60 lat)	660	64 (9,7%)	64 (9,7%)
II pomenopauzalna późna (61–83 lat)	380	32 (8,3%)	32 (8,3%)
razem	1040	96 (9,2%)	96 (9,2%)



Ryc. 1. *Clue cell*. Mikroskop fazowo-kontrastowy, duże powiększenie



Ryc. 2. *Clue cell*. Barwienie metodą Grama, duże powiększenie

## Piśmiennictwo

1. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Przegląd mikrobiologii lekarskiej. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1991.
2. Hellberg D, Nilsson S, Mårdh PA. The diagnosis of bacterial vaginosis and vaginal flora changes. *Arch Gynecol Obstet* 2001; 265: 11-5.
3. Donder GG, Vereecken A, Bosmans E, et al. Aerobic vaginitis: abnormal vaginal flora entity that is distinct from bacterial vaginosis. *International Congress Series* 2005; 1279: 118-29.
4. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, et al. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic association. *Am J Med* 1983; 74: 14-22.
5. Platz-Christensen JJ, Larsson PG, Sundström E, Bondeson L. Detection of bacterial vaginosis in Papanicolaou smears. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 132-3.
6. Mashburn J. Etiology, diagnosis, and management of vaginitis. *J Midwifery Women Health* 2006; 51: 423-30.
7. Morgan DJ, Aboud CJ, McCaffrey IM, et al. Comparison of Gram-stained smears prepared from blind vaginal swabs with those obtained at speculum examination for the assessment of vaginal flora. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103: 1105-8.
8. Wang J. Bacterial vaginosis. *Prim Update Ob/Gyns* 2000; 7: 181-5.
9. Allsworth JE, Peipert JF. Prevalence of bacterial vaginosis: 2001-2004 national health and nutrition examination survey data. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 114-20.
10. Holst E, Wathne B, Hovelius B, Mårdh PA. Bacterial vaginosis. Microbiology and clinical findings. *Eur J Clin Bact* 1987; 6: 536-41.
11. Thomason IL, Gelbert SM, Wilcoski LM, et al. Proline aminopeptidase activity as a rapid diagnostic test to confirm bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 1988; 71: 607-11.
12. Eschenbach DA, Hillier SL, Critchlow C, et al. Diagnosis and clinical manifestation of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 819-28.
13. Peterek J. Bacterial vaginosis. *Pharmacia Upjohn*. Warszawa 1997.
14. Spinillo A, Bernuzzi AM, Cevini C, et al. The relationship of bacterial vaginosis, candida and trichomonas infection to symptomatic vaginitis in postmenopausal women attending a vaginitis clinic. *Maturitas* 1997; 27: 253-260.
15. Moi H. Prevalence of bacterial vaginosis and its association with genital infections, inflammation, and contraceptive methods in women attending sexually transmitted disease and primary health clinics. *Int J STD AIDS* 1990; 1: 86-94.
16. García-Closas M, Herrero R, Bratti C, et al. Epidemiologic determinants of vaginal pH. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 1060-6.
17. Burton JP, Reid G. Evaluation of the bacterial vaginal flora of 20 postmenopausal women's direct (Nugent score) and molecular (polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis) techniques. *J Infect Dis* 2002; 186: 1770-80.
18. Peipert JF, Montagna AB, Cooper AS, et al. Bacterial vaginosis as a risk factor for upper genital tract infection. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 1184-7.
19. Taylor-Robinson D. The future of bacterial vaginosis – related research. *Int J Gynecol Obstet* 1999; 67: 35-8.
20. Pawlaczyk M, Słomko Z. Zapalenie sromu, pochwy, szyjki macicy i bakteryjna waginoza. W: Zakażenia perinatalne. Słomko Z (red.). PTMP Poznań 2001; 2: 37-65.
21. Steinhandler L, Peipert JF, Heber W, et al. Combination of bacterial vaginosis and leukorrhea as a predictor of cervical chlamydial or gonococcal infection. *Obstet Gynecol* 2002; 99: 603-7.
22. Schiff M, Becker TM, Masuk M, et al. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in southwestern American Indian women. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 716-26.
23. Malarewicz A, Szymkiewicz J. Zastosowanie mikroskopii fazowo-kontrastującej – sposób na poprawę czułości i swoistości badania cytoonkologicznego. W: Paszkowski T (red.). Zapobieganie szkodom jatrogennym w położnictwie i ginekologii. IZT, Lublin 2004.
24. Malarewicz A, Florczak K. Cytologia fazowo-kontrastowa w diagnostyce ginekologicznej. *Digital Medicine in the Future*. Gdańsk 2006.