

*Nagrađeni studentski rad*  
*/Awarded student paper*

VREDNOST NATIVNOG U ODNOSU NA  
BOJENI PREPARAT VAGINALNOG BRISA U  
RUTINSKOJ CITOLOŠKOJ I  
MIKROBIOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI  
THE VALUE OF WET MOUNT COMPARED  
TO STAINED VAGINAL SMEAR  
EXAMINATION IN ROUTINE CYTOLOGICAL  
AND MICROBIOLOGICAL DIAGNOSTICS

**Correspondence to:**

Mentor

Prof. dr **Dušan Lalošević**,  
Katedra za histologiju i embriologiju  
Medicinski fakultet Novi Sad  
Hajduk Veljkova 3  
[dusan.lalosevic@mf.uns.ac.rs](mailto:dusan.lalosevic@mf.uns.ac.rs)  
[jelenacurcic.98@gmail.com](mailto:jelenacurcic.98@gmail.com)  
[injacd@yahoo.com](mailto:injacd@yahoo.com)

Jelena Ćurčić<sup>1</sup>, Dragana Danilov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Hajduk Veljkova 1, Novi Sad, Srbija

<sup>2</sup> Univerzitet u Novom Sadu, Prirodnomatematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju, Trg Dositeja Obradovića 2, Novi Sad, Srbija

**Ključne reči**

vaginalni bris; nativni preparat; bojeni preparat

**Key words**

vaginal smear; wet mount; stained smear

**Sažetak**

**Uvod:** Najčešća metoda ispitivanja citoloških i mikrobioloških elemenata vaginalnog brisa u rutinskoj praksi je direktno mikroskopsko ispitivanje nativnog ili bojenog preparata. **Cilj rada:** Ovladavanje osnovnim tehnikama mikroskopskog pregleda vaginalnog brisa u rutinskoj citološkoj i mikrobiološkoj dijagnostici. **Materijal i metode:** Vaginalni brisevi prikupljeni su od 45 žena. Prva grupa imala je 30 ispitanica, dok je druga od 15 ciljano pregledana na trihomonijazu. Odmah posle uzimanja brisa je u originalnoj epruveti potopljen u sterilni fiziološki rastvor i transportovan do laboratorije gde je u roku od dva sata urađen mikroskopski pregled nativnog preparata. Svaki nativni preparat je posle pregleda osušen, fiksiran, obojen metodom po Papanikolau i mikroskopski analiziran na istom uveličanju. **Rezultati:** Mikroskopskim pregledima nativnih i obojenih preparata videne su ćelije svih slojeva vaginalnog pločastoslojevitog epitela, leukociti i razni mikroorganizmi kao što su Doderlajnova flora, nespecifična aerobna flora i anaerobna flora bakterijske vaginoze sa tzv. "clue" ćelijama. U jednom slučaju videli smo prisustvo filamentoznih bacila iz grupe *Leptotrix*, u drugom *Trichomonas*. Uspeli smo da identifikujemo koilocite kao znak infekcije humanim papiloma virusima (HPV). Svi ovi elementi vaginalnih briseva videni su u obe vrste mikroskopskih preparata, tako da uporedna analiza nije pokazala značajnu razliku između nativnih i obojenih preparata. **Zaključak:** S obzirom na sličnu dijagnostičku vrednost obe metode, nativni preparat ima prednost u odnosu na bojeni zbog svoje jednostavnosti, brzo dobijenih rezultata i mogućeg brzog započinjanja adekvatne terapije. Razlog što se nativni preparat ređe koristi u rutinskoj praksi je potreba za brzim transportom do mikroskopičara, što se može prevazići relativno kratkom obukom ginekologa da samostalno analiziraju briseve neposredno posle uzimanja.

**UVOD**

Krajem 19. veka mikroskop je počeo da se koristi za preglede u rutinskoj citološkoj i mikrobiološkoj dijagnostici. Prvo bojenje krvnog razmaza uveo je Paul Ehrlich, a usavršili su ga Romanovski i Gimza [1]. Mikroskopsku analizu vaginalnog brisa vrlo detaljno je opisao Doderlajn u svojoj monografiji gde je dao opis i naglasio značaj laktobacila [2]. Revoluciju u citološkoj dijagnostici i ginekologiji izveo je Papanikolau serijom svojih publikacija u kojima je opisao

metodu za rano otkrivanje prekanceroznih promena i karcinoma grlića materice [3].

Pored detekcije ćelijskih patoloških promena, analiza vaginalnog brisa služi i za dijagnostiku vaginalnih infekcija i bakterijske vaginoze, odnosno promenjenog vaginalnog mikrobioma bez znakova upale. Najčešća metoda ispitivanja sastava vaginalnog mikrobioma u rutinskoj praksi je i dalje direktno mikroskopsko ispitivanje nativnog i bojenog preparata. Nativni preparat podrazumeva vizuelizaciju

mikroorganizama u uzorku svetlosnim mikroskopom bez bojenja, a kada se radi o obojenim preparatima za bojenje se mogu koristiti različite tehnike, najčešće po Gramu i Papanikolau. Direktna mikroskopska ispitivanja nativnih i obojenih preparata su jednostavna i jeftina, dok su druge tehnike koje podrazumevaju kultivisanje na specifičnim podlogama i detekciju gena bakterija i virusa u uzorku primenom molekularnih tehnika znatno skuplje, zahtevnije i kao novije donose brojne kontradikcije i potrebu za dodatnim studijama koje će im potvrditi značaj i pomoći u uvođenju u rutinsku praksu [4].

Cilj rada je upoređivanje vrednosti nativnog u odnosu na bojeni preparat vaginalnog brisa u rutinskoj citološkoj i mikrobiološkoj dijagnostici.

### MATERIJAL, ISPITANICE I METODE

Vaginalni brisevi su uzimani od strane ginekologa u Poliklinici Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Vojvodine kod 45 ispitanica, a uz poštovanje standardnih etičkih normi. U prvoj grupi od 30 su bile žene koje su se javile na pregled iz različitih razloga, a druga grupa od 15 žena ciljano je ispitivana na trihomonijazu. Svaki bris je uzet pod spekulom iz zadnjeg svoda vagine u originalnu sterilnu epruvetu, potopljen je sa 2 ml sterilnog fiziološkog rastvora (transportni medijum) i u roku od dva sata prenet u laboratoriju gde je urađen pregled nativnog preparata na mikroskopu Olympus. Svaki nativni preparat je posle pregleda osušen, fiksiran i obojen metodom po Papanikolau. Mikroskopska analiza obojenih preparata vršena je na istom uveličanju.

U obe vrste preparata tražili smo ćelije vaginalne sluznice, prisustvo normalnih i patoloških mikroorganizama (različite bakterije, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*), kao i ćelija koje su markeri izmenjenog vaginalnog mikrobioma i infekcija (leukociti, "clue" ćelije, koilociti). Uporednom analizom rezultata, odnosno detekcijom pojedinih citoloških i mikrobioloških elemenata u nativnom i bojenom preparatu pokušali smo da ukažemo na prednosti i nedostake obe tehnike u rutinskoj praksi.

### REZULTATI

U nativnim preparatima vaginalnih briseva koji su kasnije obojeni i analizirani uspeli smo da prepoznamo ćelije svih slojeva vaginalnog pločastoslojevitog epitela, normalnu vaginalnu floru, kao i neke elemente patološke vaginalne flore.

Ćelije vaginalne sluznice detektovane u nativnim i obojenim preparatima vaginalnih briseva (slika 1) su: superficijalne (malo piknotično jedro sa obilnom citoplazmom), intermedijarne (obilna citoplazma, krupnije jedro vidljive hromatinske građe i ponekad savijene ivice) i parabazalne (ovalnog oblika, manjih dimenzija sa krupnijim jedrima mrežaste hromatinske građe).

Vaginalna flora detektovana u nativnim i obojenim preparatima vaginalnih briseva bila je normalna ili patološka. Normalnu vaginalnu floru činili su krupni i jednaki Doderlajnovi bacili koji se ponekad vide kao jako umnoženi - laktobaciloza (funkcionalni poremećaj). Kod pacijenata sa normalnom florom broj leukocita je mali (slika 2). Patološka vaginalna flora je uočena u više različitih oblika.

Nespecifična flora (III grupa vaginalnog sekreta ili aerobni vaginitis, odnosno prisustvo stafilokoka, streptokoka i bacila u tipu *Escherichia coli*) vidi se u obe vrste preparata, praćena je smanjenjem ili odsustvom laktobacila, odnosno prisustvom velikog broja leukocita (slika 3). Bakterijska vaginoza predstavlja dominaciju anaerobnih bakterija i ona se u nativnom preparatu mogla vrlo detaljno uočiti, čak jasnije nego u obojenom preparatu, identifikacijom tzv. „Clue” ćelija, oblepljenih sitnim mikroorganizmima (slika 4).

Koilociti su znak degeneracije ćelija vagine i vaginalne porcije grlića materice usled virusne HPV infekcije i videli su se lako u nativnom i obojenom preparatu kao zaokružene ćelije krupnih jedara, nepravilne hromatinske građe sa velikim praznim prostorom citoplazme oko jedra (slika 5). U jednom slučaju videli smo filamentozne bacile iz grupe *Leptotrix*. kako u nativnom tako i u obojenom preparatu (slika 6).

U našem uzorku od 30 slučajno odabranih žena u 15 slučajeva uočili smo normalnu bakterijsku floru, u 5 slučajeva nespecifični (aerobni) vaginitis sa velikim brojem leukocita, u 6 slučajeva bakterijsku vaginozu, u 3 uzorka identifikovali smo koilocite, a u jednom prisustvo *Leptotriksa*. *Trichomonas vaginalis* (V grupa vaginalnog sekreta) nađeno je kod jedne od 15 ispitanica druge grupe. *Trichomonas* se mnogo lakše vidi u nativnom preparatu gde je aktivno i brzo pokretna flagelata, dok se u bojenom preparatu teže uočava zbog svojih malih dimenzija (slika 7a). Od pacijentkinje sa trihomonasom uradili smo i njegovu kultivaciju (slika 7b). *Candida albicans* (VI grupa vaginalnog sekreta) se lako uočava i u nativnom i u bojenom preparatu.

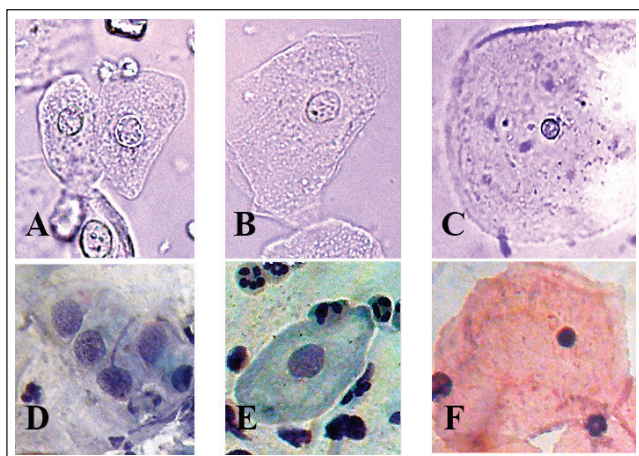
Uporednom analizom nativnih i odgovarajućih bojenih preparata nismo uočili razlike u uočavanju pojedinih citoloških i mikrobioloških elemenata vaginalnih briseva, odnosno sve elemente koje smo videli u nativnim videli smo i u odgovarajućim obojenim preparatima.

### DISKUSIJA

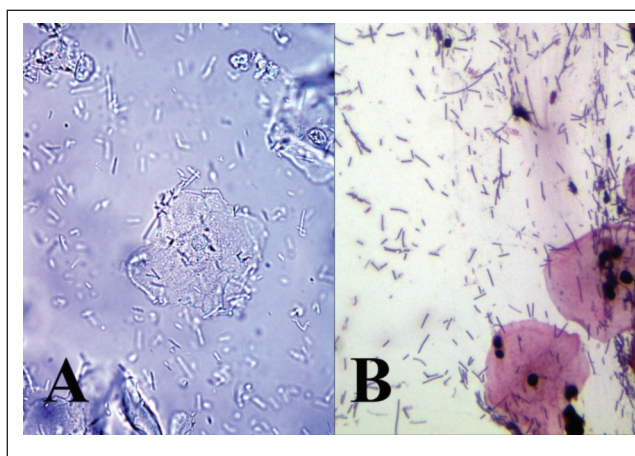
Dijagnostika vaginalnih infekcija i bakterijske vaginoze izuzetno je važna jer neprepoznate infekcije u vaginalnom ekosistemu mogu uzrokovati značajne posledice, prvenstveno po fertilitet žene, dok je virusna infekcija HPV virusima povezana sa po život opasnim karcinomom grlića materice. Najvažniji trenutak u celokupnoj mikrobiologiji je adekvatno uzimanje uzorka i njegov transport u laboratoriju, ili unutar 2 sata od uzimanja, ili u transportnoj podlozi. Posledica loše uzetog ili nepropisno transportovanog uzorka je propuštanje identifikacije uzročnika bolesti ili proglašavanje kontaminacije saprofitnim bakterijama za uzročnike bolesti što dovodi do nepravilnog i nepotrebnog lečenja [4].

Normalna vaginalna mikroflora pozitivno utiče na reproduktivno zdravlje i predstavlja dinamičan ekosistem jedinstven za svaku ženu u kome su Doderlajnovi bacili (*Laktobacili*) dominantna bakterijska populacija. Na vaginalnu floru utiču godine starosti, hormonski status, menstrualni ciklus, trudnoća, seksualne navike, lekovi i higijena. Najčešći poremećaj vaginalne flore u reproduktivnom dobu je bakterijska vaginoza koja, kao i drugi poremećaji, povećava rizik za upalnu bolest karlice, sterilitet, spontani pobačaj i prevremeni porođaj [5]. Bakterijska vaginoza je

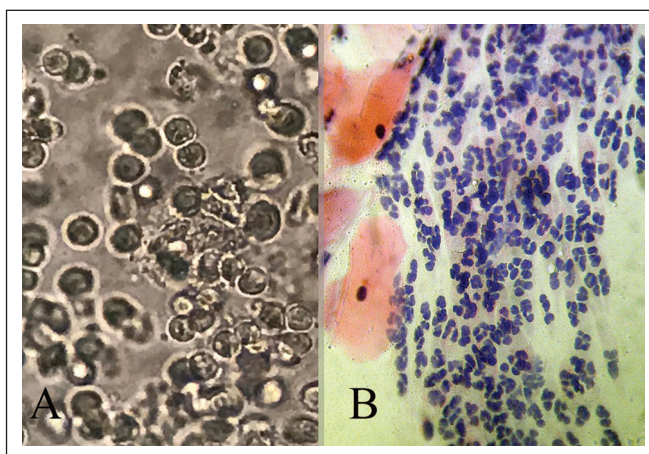




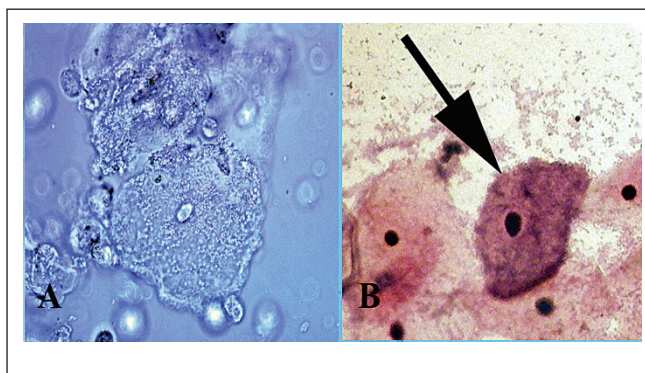
**Slika 1.** Čelijski elementi vaginalnog brisa u nativnim i obojenim preparatima kod istih pacijentkinja: parabazalne ćelije (A,D), intermedijarne ćelije (B,E) i superficijalne ćelije (C,F)



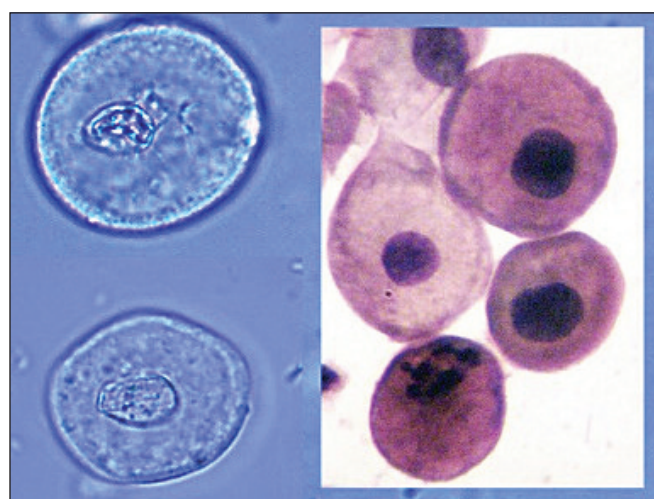
**Slika 2.** Doderlajnovi bacili u nativnom (A) i obojenom preparatu (B) vaginalnog brisa



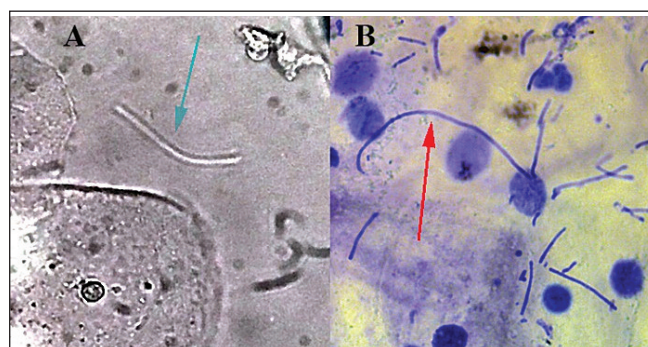
**Slika 3.** Patološka vaginalna flora sa puno leukocita u nativnom (A) i obojenom preparatu (B)



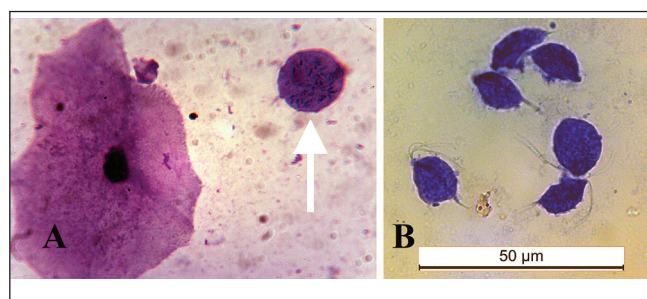
**Slika 4.** Bakterijska vaginoza u nativnom (A) i obojenom preparatu (B)



**Slika 5.** Koilociti u nativnom i obojenom preparatu vaginalnog brisa



**Slika 6.** Leptotrix u nativnom (A) i obojenom preparatu vaginalnog brisa (B)



**Slika 7.** A) Superficijelna ćelija i trihomonas (strelica); B) Trihomonasi odgajani u kulturi



polimikrobni sindrom u kome je populacija laktobacila zamenjena raznolikim anaerobnim bakterijama (*Gardnerella vaginalis*, *Peptococcus sp.*, *Mobilincus sp.*), pri čemu nisu izraženi simptomi upale već obilnog sekreta neprijatnog mirisa [6]. Pored bakterijske vaginoze poremećaj vaginalnog sekreta mogu prouzrokovati aerobni vaginitis, kandidijaza i trihomonijaza [7].

Na Ginekološko-akušerskoj nedelji SLD-a održanoj u Beogradu, 2019. godine posebno je istaknut značaj mikroskopske analize vaginalnog brisa u nativnom preparatu zbog njegove jednostavnosti i dobre tačnosti u otkrivanju bakterijske vaginoze, trihomonijaze i kandidijaze [4,5,6]. Iskustva drugih autora takođe pokazuju zadovoljavajuću tačnost pregleda nativnog preparata u dijagnostici kako normalne, tako i patološke vaginalne flore, sa akcentom na prednosti ovakvog oblika mikroskopskog pregleda [7,8]. Naše iskustvo pokazuje da je većinu elemenata vaginalnog brisa moguće videti u obe vrste preparata bez problema. Mada se razlikovanje pojedinih vrsta bacila u mikroskopskom preparatu može smatrati samo preliminarnim, najvažnije pitanje razlikovanja nepokretnih laktobacila od pokretnih ešerihija je lakše u nativnom nego u preparatu po Papanikolau. Ako se želi razlikovanje ova dva najvažnija bacila u vaginalnom sekretu na obojenim preparatima, mora se primeniti bojenje po Gramu.

Mikroskopsko ispitivanje nativnog preparata se i pored svojih prednosti ne primenjuje dovoljno u svakodnevnoj praksi zbog otpora ginekologa koji nisu spremni da odvoje dodatno vreme za pregled uzorka, kao i njihovu dodatnu obuku, uz potencijalno lošije rezultate u odnosu na one koje daju sertifikovani citolozi i mikrobiolozi. Međutim, studija

Dondersa i saradnika pokazala je da je moguće za kratko vreme od 10 časova obučiti studente različitog nivoa znanja i iskustva da urade standardni mikroskopski pregled nativnog preparata vaginalnog sekreta, a da su im rezultati komparabilni sa onim koje daju referentni mikroskopičari [9], što se potvrdilo i našim istraživanjem.

### ZAKLJUČAK

Mikroskopsko ispitivanje vaginalnih briseva u nativnim i obojenim preparatima nije pokazalo značajne razlike u citološkoj i mikrobiološkoj dijagnostici. S obzirom na sličnu dijagnostičku vrednost obe metode, nativni preparat ima prednost u odnosu na bojeni zbog svoje jednostavnosti, niske cene, brzo dobijenih rezultata i mogućeg brzog započinjanja adekvatne terapije. Mana nativnog preparata u odnosu na bojeni je potreba za brzim transportom do mikroskopičara, što se može prevazići relativno kratkom obukom ginekologa da samostalno analiziraju briseve neposredno posle uzimanja.

Poslednjih godina na Univerzitetu u Novom Sadu uvedene su master studije reproduktivne biologije koje upisuju uglavnom diplomirani biolozi, gde imaju priliku da se osposobe i za citologiju u ginekologiji, te mogu da rade kao asistenti u ginekološkim ordinacijama.

---

*Rad je prezentovan na Internacionalnom studentskom kongresu u Gracu (International Student Congress Graz) 10. 6. 2023. godine.*

---

### Abstract

**Introduction:** The most common method of examination of cytological and microbiological elements of vaginal smear in the routine practice is direct microscopic examination of wet mount or stained smear. **The Aim:** Mastering the basic techniques of microscopic examination of vaginal swabs and comparing the value of wet mount versus dyed slides of vaginal swabs in the routine cytological and microbiological diagnostics. **Material and Methods:** Vaginal swabs were collected from 45 women. The first group was consisted of 30 subjects whose swabs were collected during routine gynecological examination. The second group of 15 subjects was specifically targeted for trichomoniasis. Immediately after the collection, the swab was immersed in a sterile physiological solution in the original test tube and transported to the laboratory, where the microscopical examination of the vaginal wet mount was performed within two hours. After microscopic examination, each slide was dried, fixed, stained with Papanicolau stain method and microscopically analyzed at the same magnification. **Results:** Microscopic examination of wet mount and stained vaginal smears showed us cells of all layers of vaginal squamous epithelium, leukocytes and various microorganisms such as Döderlein bacilli, non-specific aerobic flora and anaerobic flora of bacterial vaginosis with the so-called "clue" cells. In one case we saw the presence of filamentous bacilli from the Leptotrix group, in the other Trichomonas vaginalis. We were able to identify koilocytes as a sign of human papillomavirus (HPV) infection. All these elements of vaginal swabs were seen in both types of the microscopic preparations, so the comparative analysis showed no significant difference between the wet mount and the stained vaginal smears. **Conclusion:** Given the similar diagnostic value of both methods, the wet mount has an advantage over the stained one due to its simplicity, quickly obtained results and possible rapid initiation of adequate therapy. The reason why the wet mount is less often used in the routine practice is the need for rapid transport to the microscopist, which can be overcome by relatively short training of gynecologists to independently analyze swabs immediately after the collection.

**LITERATURA**

1. Lalošević D i sar. Mikroskopska laboratorijska tehnika u medicini. Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za histologiju i embriologiju 2005; Novi Sad.
2. Lash AF, Kaplan B. A Study of Doderleins Vaginal Bacillus. *The Journal of Infectious Diseases* 1926; 38(4): 333-40.
3. Diamantis A, Magiorkinis E, Koutselini H. 50 Years After the Death of George Nicholas Papanikolaou (1883-1962): Evaluation of His Scientific Work. *Acta med-hist Adriat* 2014; 12(1):181-8.
4. Tomanović S, Stojković M. Izmenjeni sastav vaginalnog mikrobioma-primeri iz prakse. *Zbornik radova 63. Ginekološko akušerske nedelje SLD*, 2019; Beograd: 171-3.
5. Vrzic-Petronijević S. Vaginalni mikrobiom i reproduktivno zdravlje žene. *Zbornik radova 63. Ginekološko akušerske nedelje SLD*, 2019; Beograd: 169-70.
6. Đukić S. Normalni i izmenjeni vaginalni mikrobiom. *Zbornik radova 63. Ginekološko akušerske nedelje SLD*, 2019; Beograd:167-8.
7. Sherrard J, Wilson J, Donders G, Mendling W, Jensen JS. 2018 European (IUSTI/WHO) International Union against sexually transmitted infections (IUSTI) and World Health Organisation (WHO) guideline on the management of vaginal discharge. *International Journal of STD&AIDS* 2018; 29(13): 1258-72.
8. Mylonas I, Bergauer F. Diagnosis of Vaginal Discharge by Wet Mount Microscopy: A Simple and Underrated Method. *Obstet Gynecol Surv* 2011; 66(6): 359-68.
9. Donders GG, Marconi C, Bellen G, Donders F, Michels T. Effect of Short Training on Vaginal Fluid Microscopy (Wet Mount) Learning. *J Lower Gen Tract Dis* 2015; 2 (19): 165-9.

■ The paper was received / Rad primljen: 01.04.2023  
Accepted / Rad prihvaćen: 21.05.2023.