



**ЦИТОЛОГИЯ В ДЕРМАТОЛОГИИ:
ПРИМЕНЕНИЕ НА ПРАКТИКЕ.**

Г. Абакан 12.11.2015

Кобякова Галина.

ЦИТОЛОГИЯ КОЖИ.

- Это быстрый и информативный способ получить информацию.
- Прост в исполнении
- Незаменим для диагностики (высокая значимость при наличии знаний)
- Уши, пустулы, себорейные, экссудативные поражения.



ПОЛУЧЕНИЕ ОБРАЗЦА

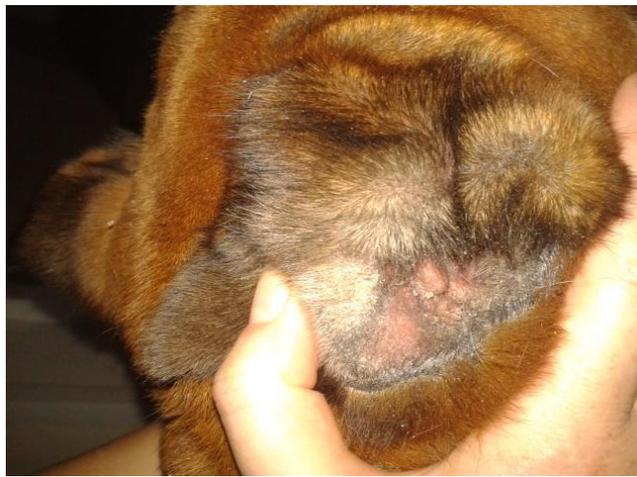
Важно!

- Места для отбора материала нельзя выбирать случайным образом
- Предпочтительно: интактные первичные поражения (эритема, макула, везикула, волдырь, папулы и пустулы, узлы, опухоль и)
- При исследовании с мест вторичных поражений (чешуйки, корочки, зоны алопеции и лихенификации, эпидермальные воротнички, эрозии, язвы– возможно выявить только вторичные проблемы



МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Мазки отпечатки / скотч-тест
- Аспирационная цитобиопсия
- Соскоб (глубокий и поверхностный)
- Мазки отделяемого из ушей, глубоких кожных складок



ОТПЕЧАТОК НА СТЕКЛЕ / СКОТЧ ТЕСТ

- Для влажных, жирных, шелушащихся поражений.
- С изъязвленной или эрозивной кожи.
- Предметным стеклом или скотч лентой.
- Идентификация:
 - *Malassezia* sp.
 - Бактерии
 - Клещи
 - Блохи
- Можно исследовать после окрашивания (объектив*100)



ПОВЕРХНОСТНЫЙ СОСКОБ

- С влажных и жирных поражений
- Межпальцевая область



КОЖНЫЕ СОСКОБЫ

□ Поверхностный:

- Чесоточные клещи
- *Demodex gatoi*
- *Cheylitiella*

Совет: используйте каплю вазелинового масла.

□ Глубокий соскоб

- Чесоточные клещи
- *Demodex cati*
- Оценка клеточных реакций
- Микроорганизмы
- Опухолевые клетки



ГЛУБОКИЙ СОСКОБ СКАЛЬПЕЛЕМ

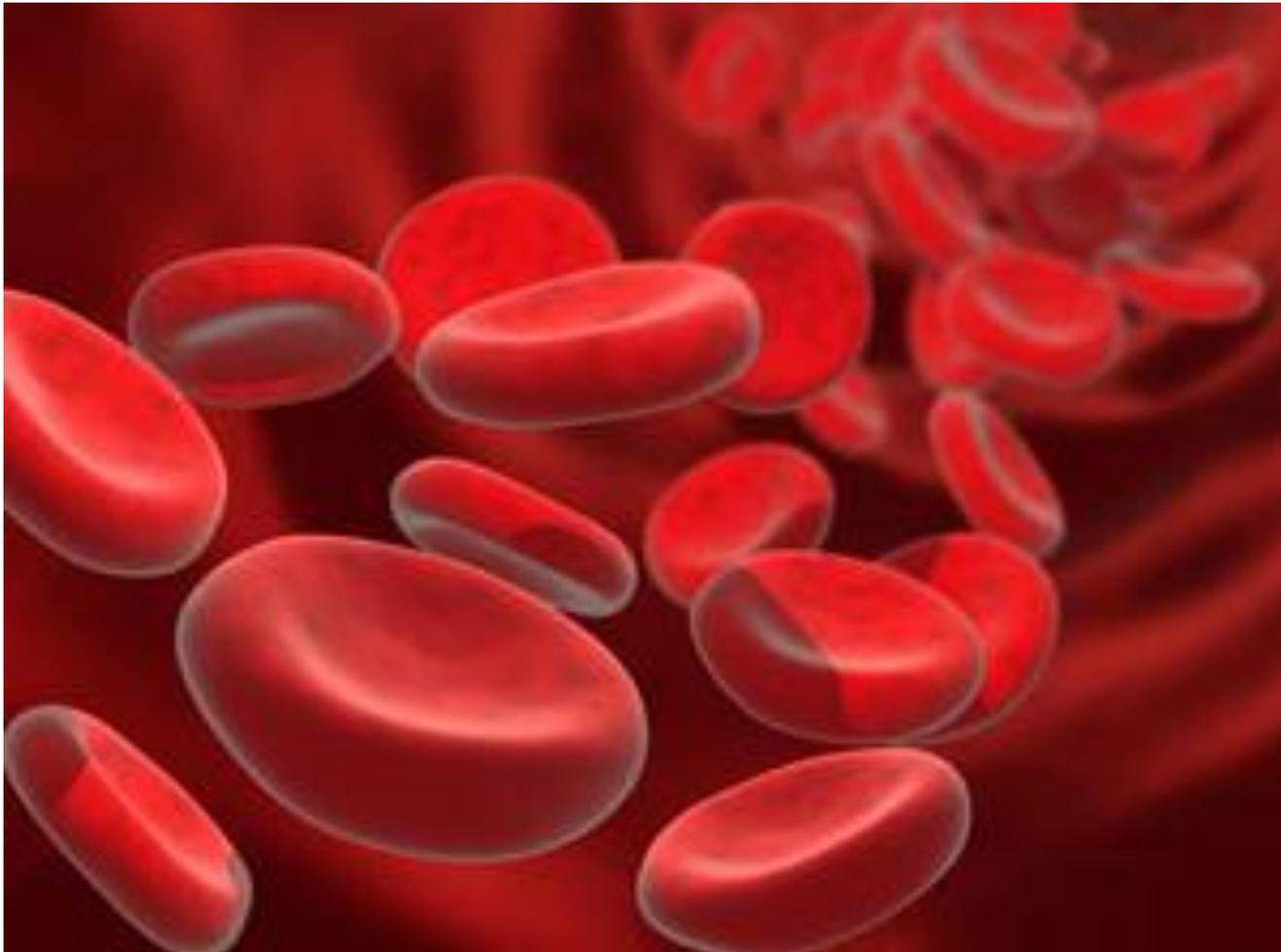


ГЛУБОКИЕ СОСКОБЫ

- Все пациенты с алопецией
- Пациенты с папулами, пустулами, межпальцевыми поражениями, корками.



При правильном взятии глубокого соскоба в образце должны присутствовать форменные элементы крови



МАЗКИ ВАТНОЙ ПАЛОЧКОЙ

- Цитология из ушей
- Экссудативные поражения
- Интертриго комплекс

- Идентификация:
 - При окраске (об.*100): дрожжи, бактерии, воспалительные клетки.
 - Нативный мазок (об. *4, *10): клещи.



АСПИРАЦИОННАЯ ЦИТОБИОПСИЯ (АПТИ)

- Пустулы, везикулы, внутрикожные и подкожные образования.



ПОЛУЧЕНИЕ ЦИТОБИОПТАТА

- Аспирация проводится шприцом объемом 5 мл иглой 20-25G.
- Перед извлечением иглы аспирацию прекращают.
- Для удаления биоптата из иглы необходимо:
отсоединить иглу от шприца, набрать в шприц 2-3 мл воздуха, присоединить иглу, аккуратно выдавить содержимое на обезжиренное предметное стекло.
- Распределить полученный биоптат по стеклу иглой либо другим стеклом.



Получение цитобиоптата



ПОДГОТОВКА ПРОБ

- Гнойный или геморрагический экссудат – высушить на воздухе/фен.
- Жирный материал (ушная сера и т.п.) – фиксация над пламенем спиртовки.

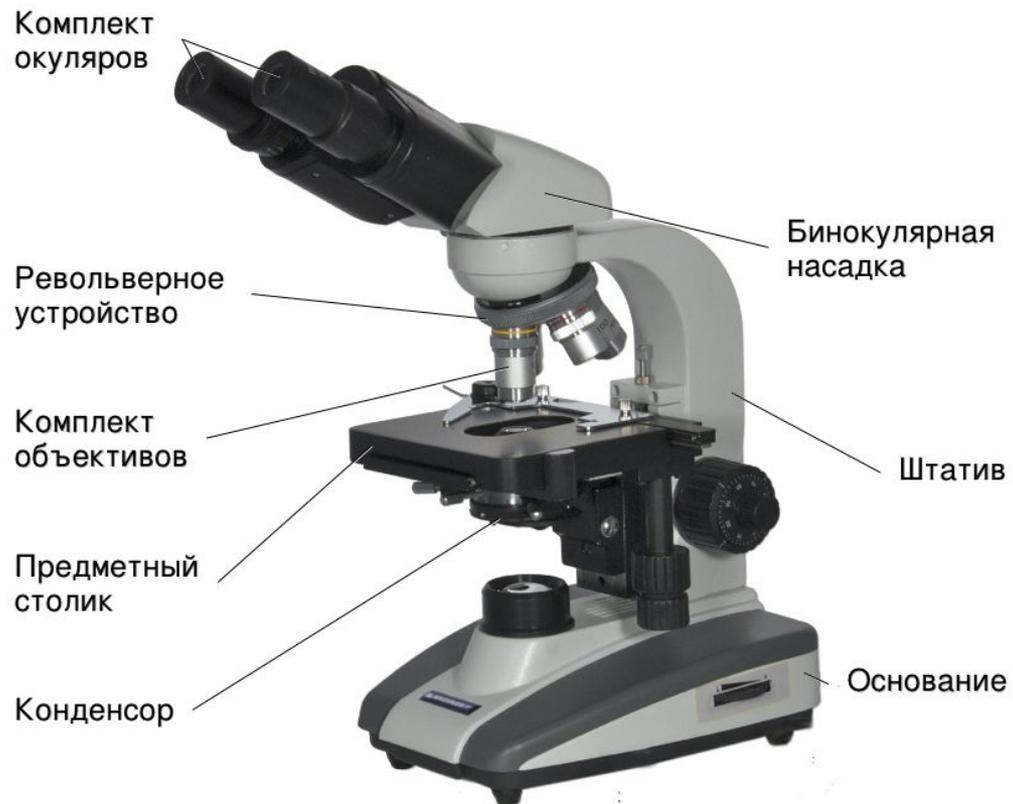


Окрашивание цитопрепаратов

- Погружение в красители Diff-Quik согласно инструкции
- При помощи гематологических красителей, например, метод Паппенгейма:
 1. Краситель гематологический эозин – метиленовый синий 0,5 – 2 мин.
 2. Добавить раствор красителя азур-эозина (10 капель на 10 мл буфера) – 2 мл на одно стекло – 3 мин.
 3. Промыть буфером.
 4. Высушить на воздухе.



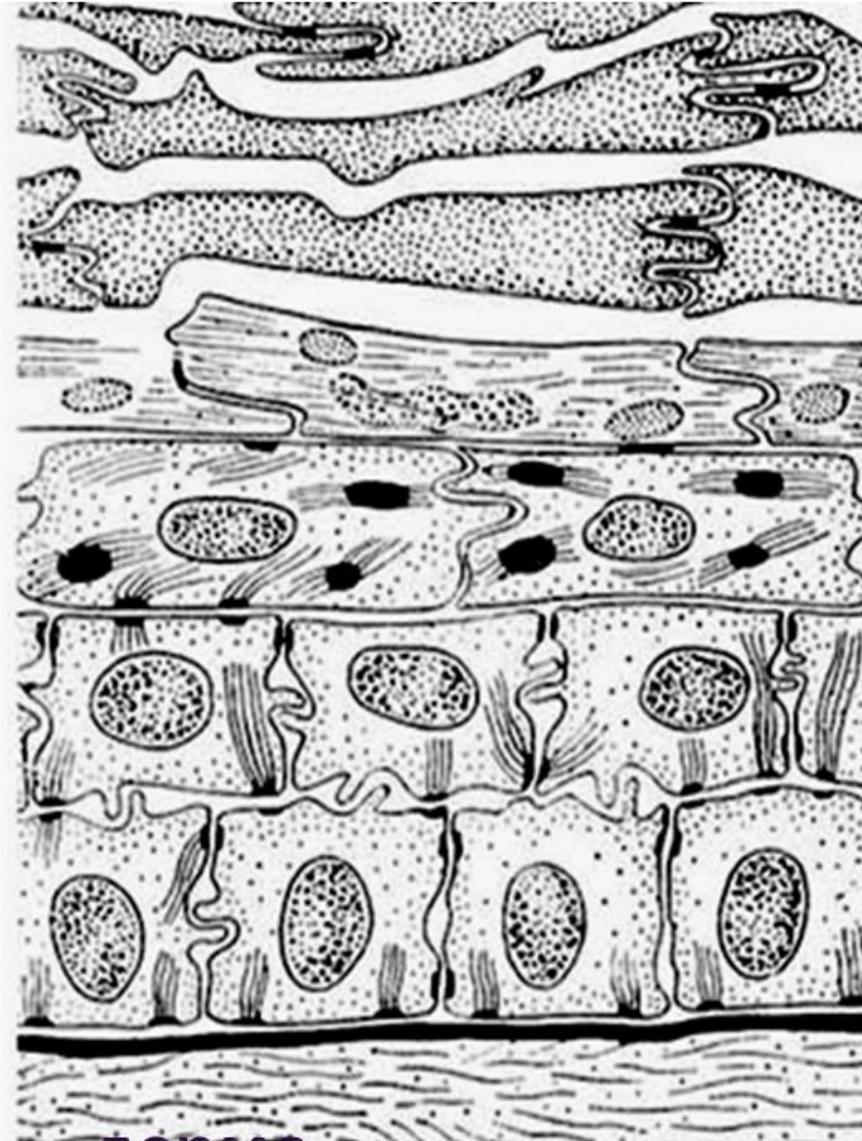
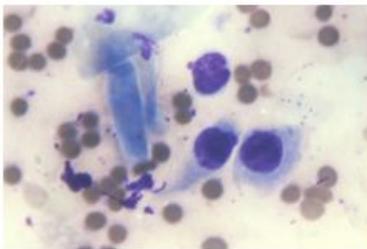
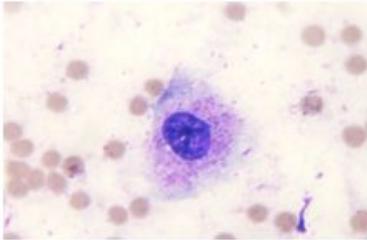
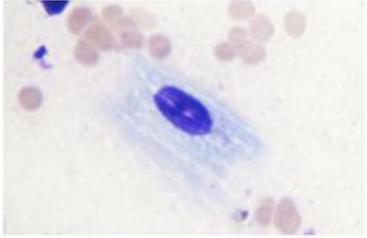
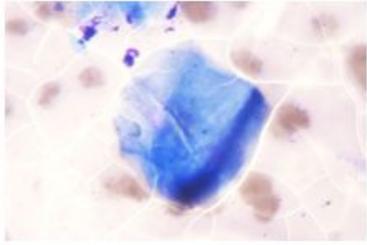
МИКРОСКОП. ОБЩИЙ ВИД.



МИКРОСКОПИЯ

- Сначала под малым увеличением, что бы выбрать участок для подробного изучения
- Затем иммерсия (увеличение 100 крат) – для выявления микроорганизмов и изучения клеточного состава.





роговой

шиповатый

блестящий

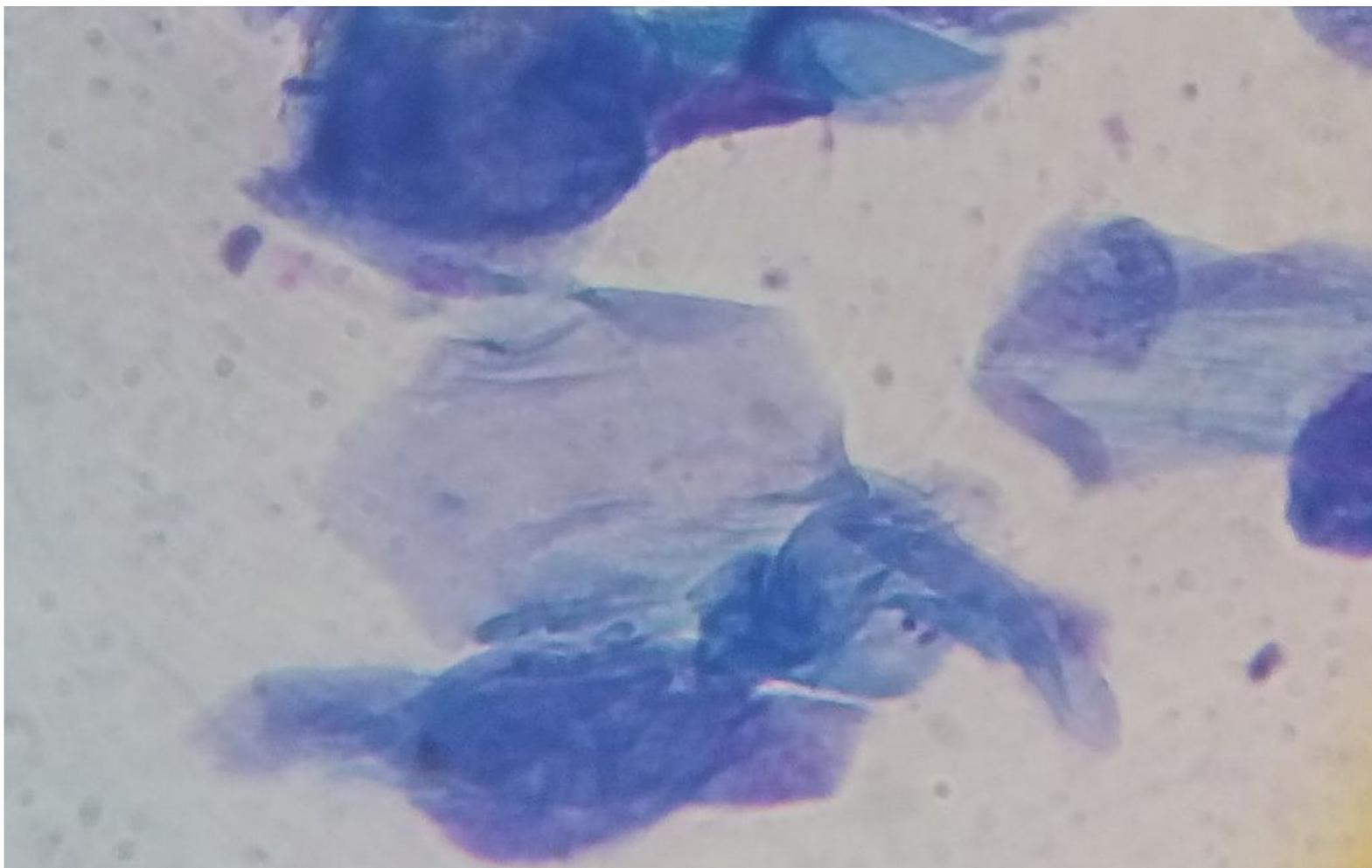
зернистый

базальный

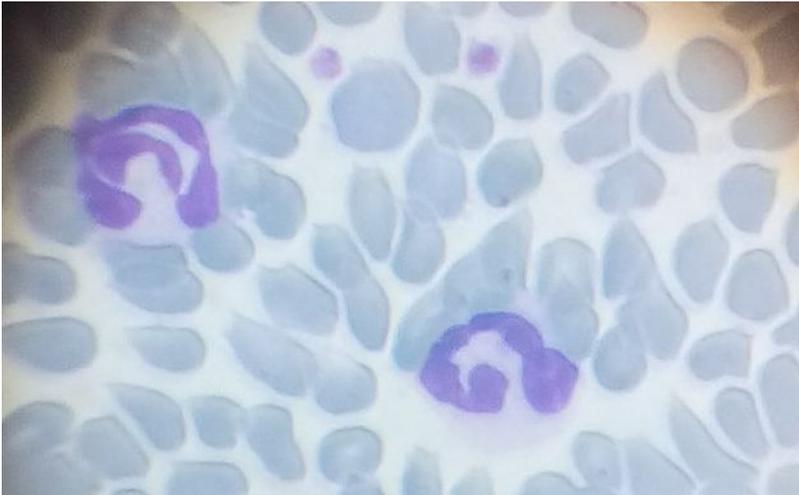
дерма



КЕРАТИНОЦИТЫ



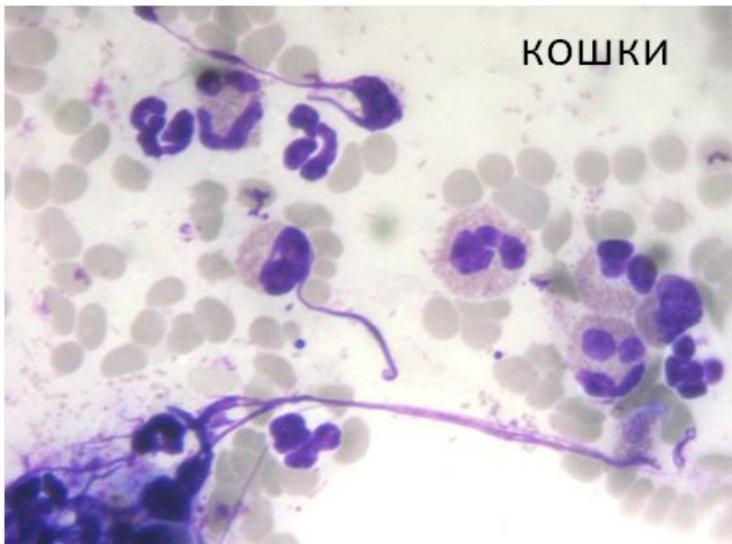
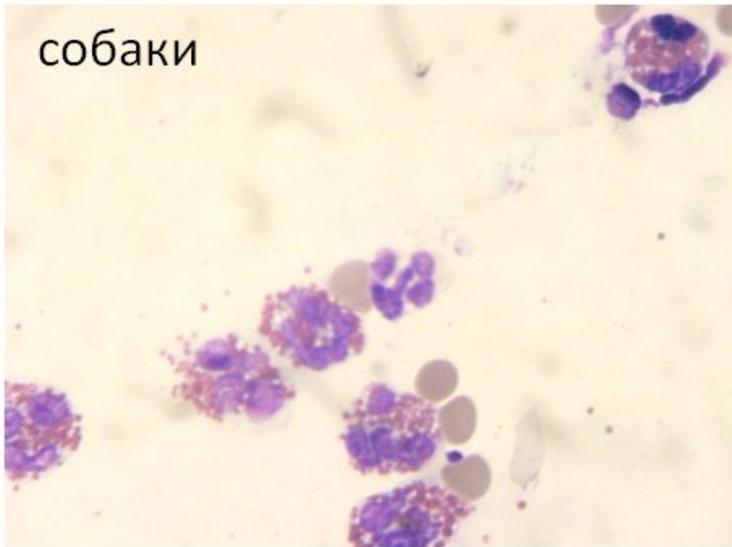
НЕЙТРОФИЛЫ



- Дольчатое ядро и слабобазофильная практически прозрачная цитоплазма
- При кариолизисе ядра набухают, окрашиваются светлее
- При кариопикнозе ядра «сжимаются», окрашиваются интенсивнее
- при кариорексисе ядра распадаются на отдельные фрагменты
- «размозженный» хроматин – chromatin streak



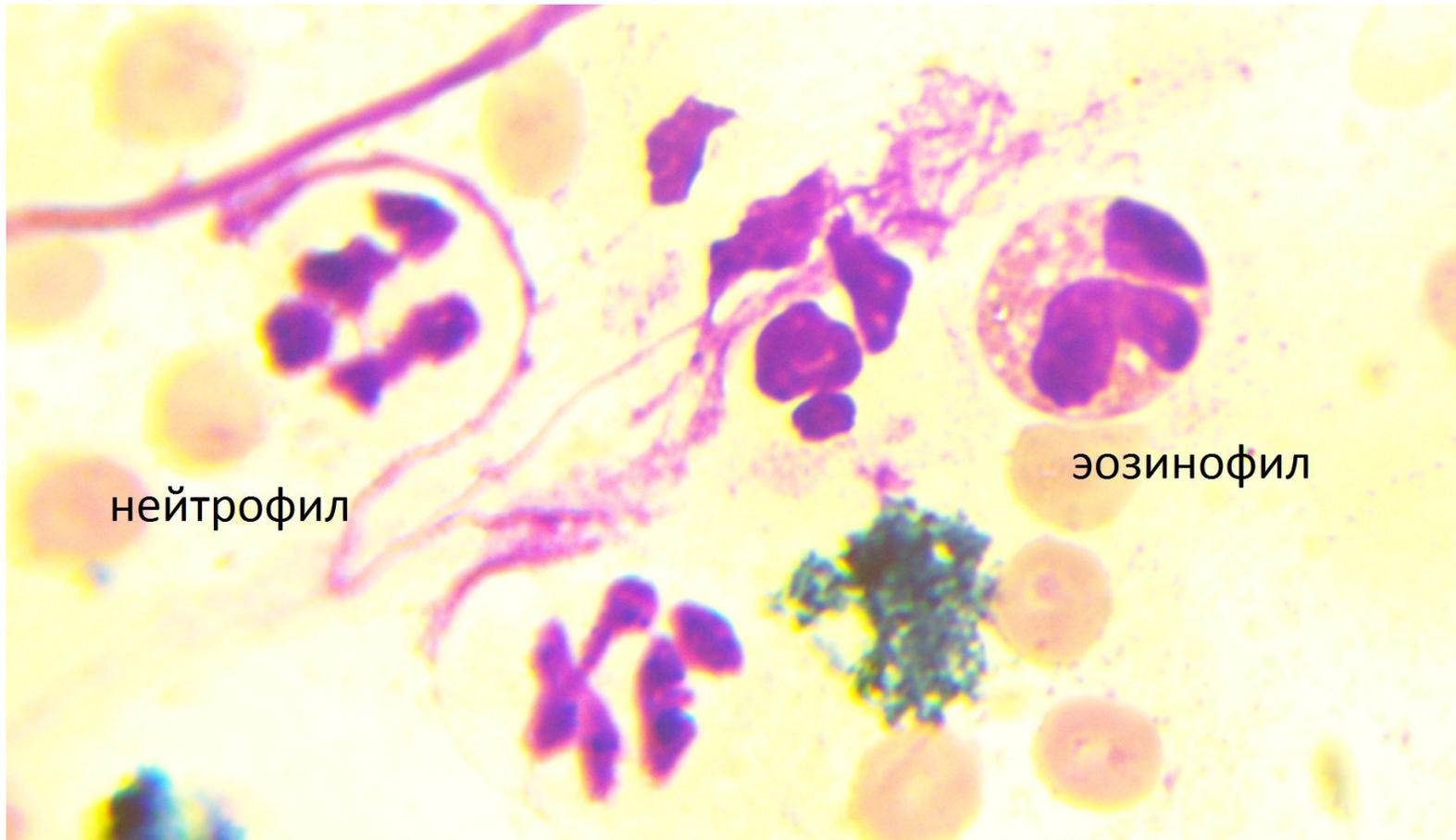
ЭОЗИНОФИЛЫ



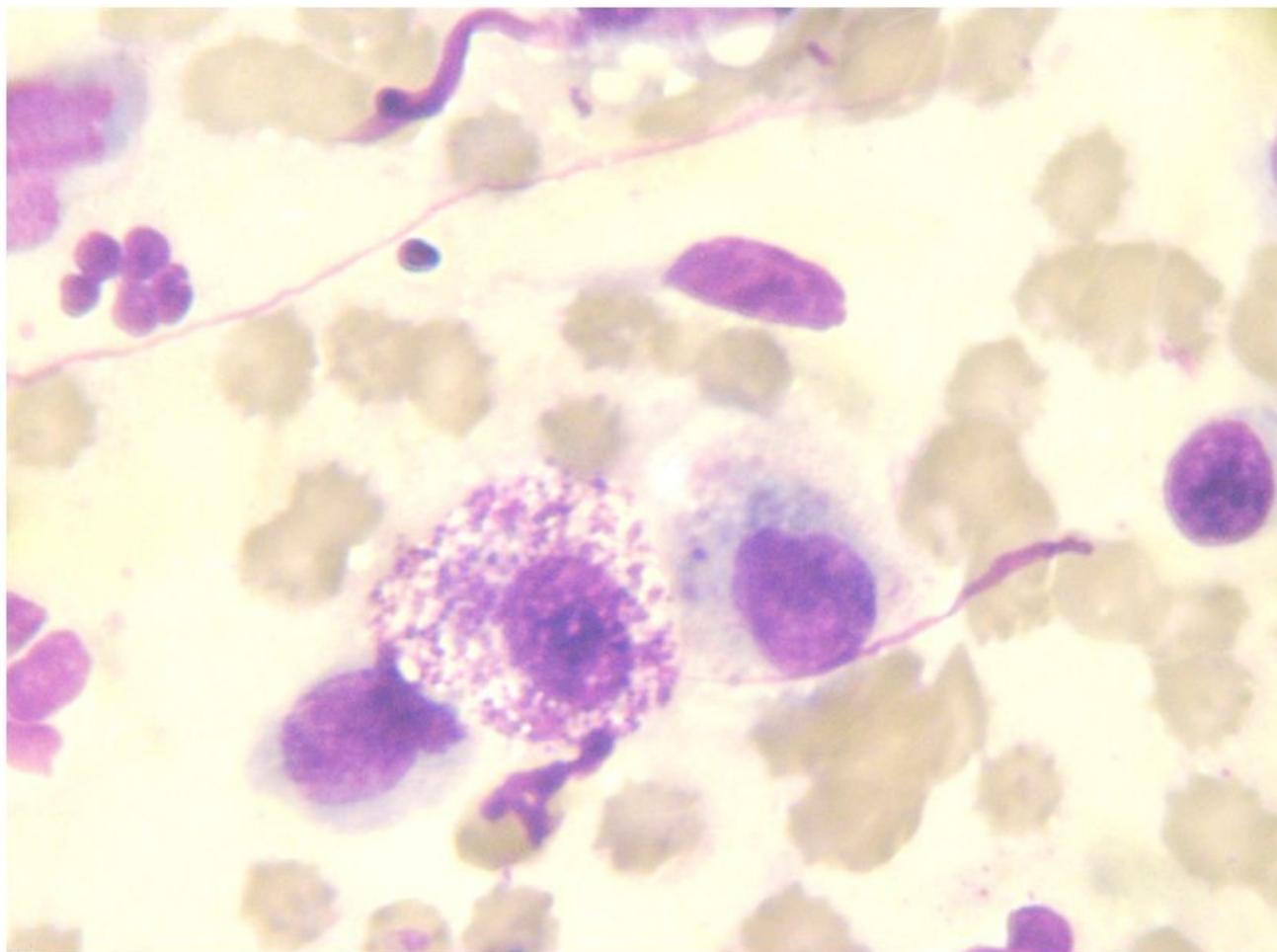
- Реакции гиперчувствительности
- Воспаление с аллергической реакцией
- Паразиты и грибы
- Инородные тела
- Хроническое воспаление
- Эозинофильные гранулёмы
- Некоторые опухоли (мастоцитомы, лимфомы)



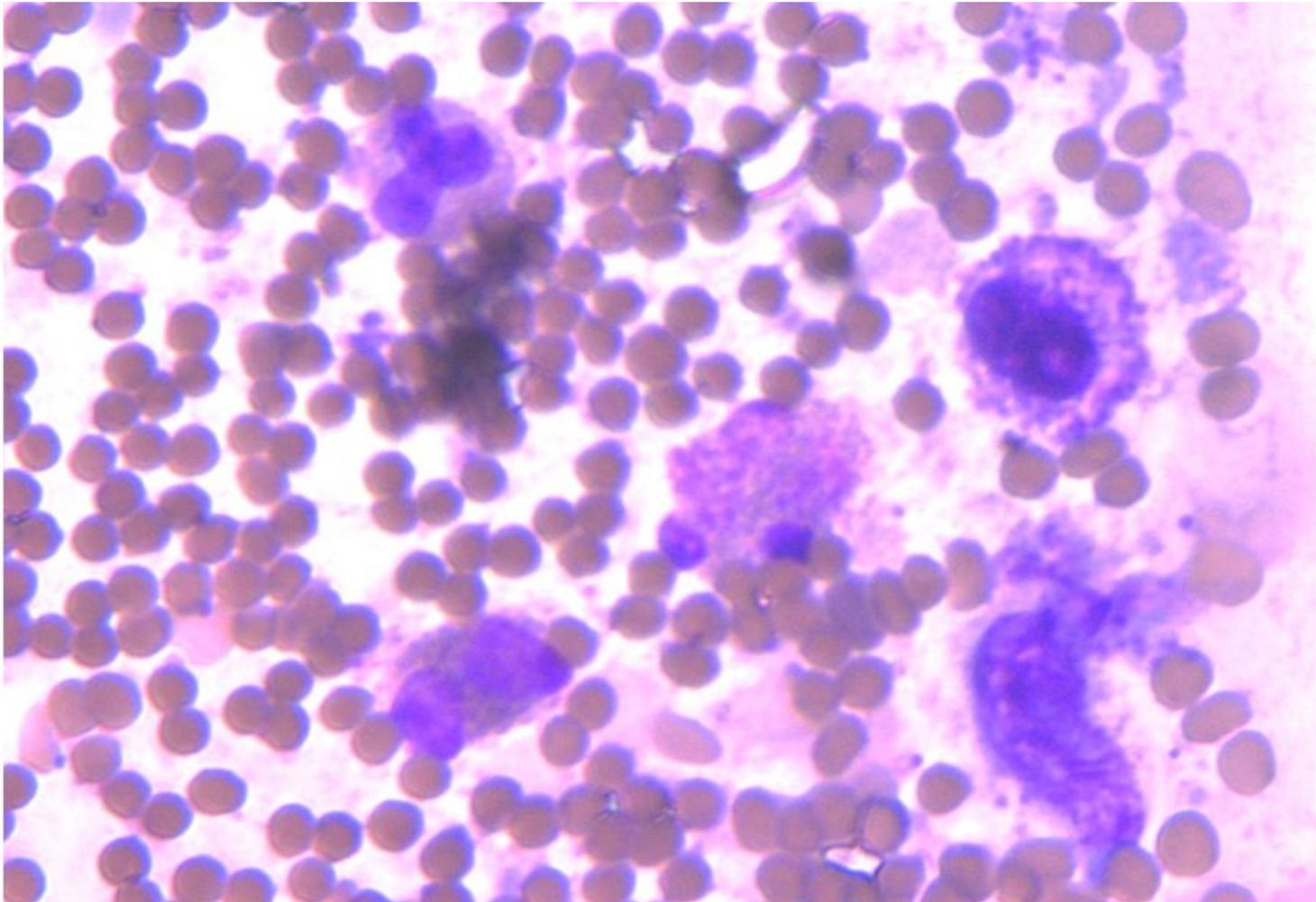
Эозинофилы и НЕЙТРОФИЛЫ



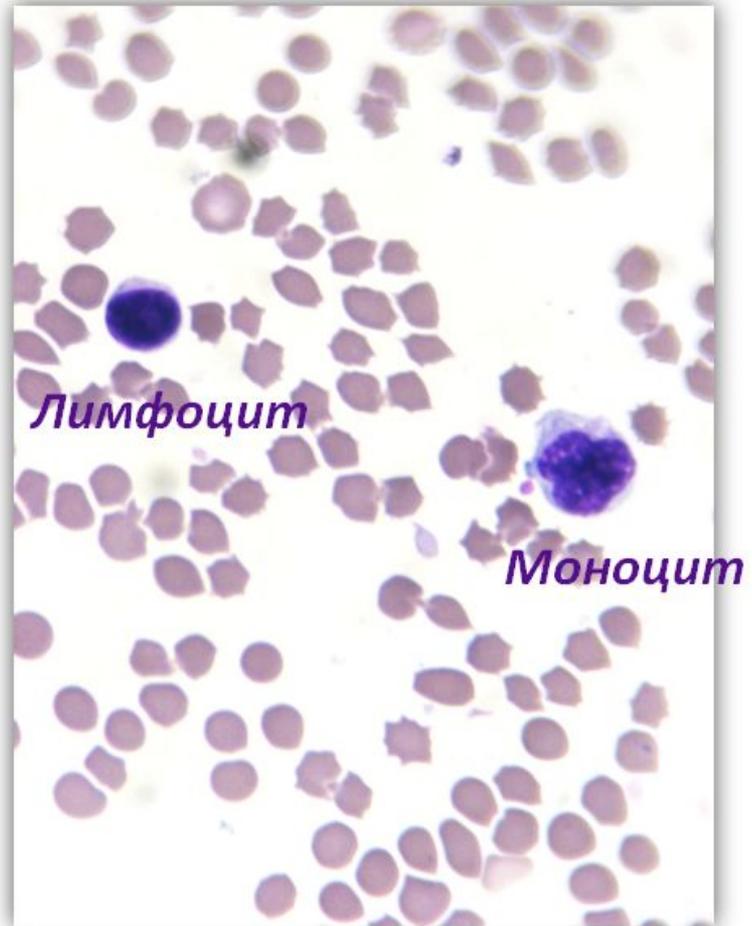
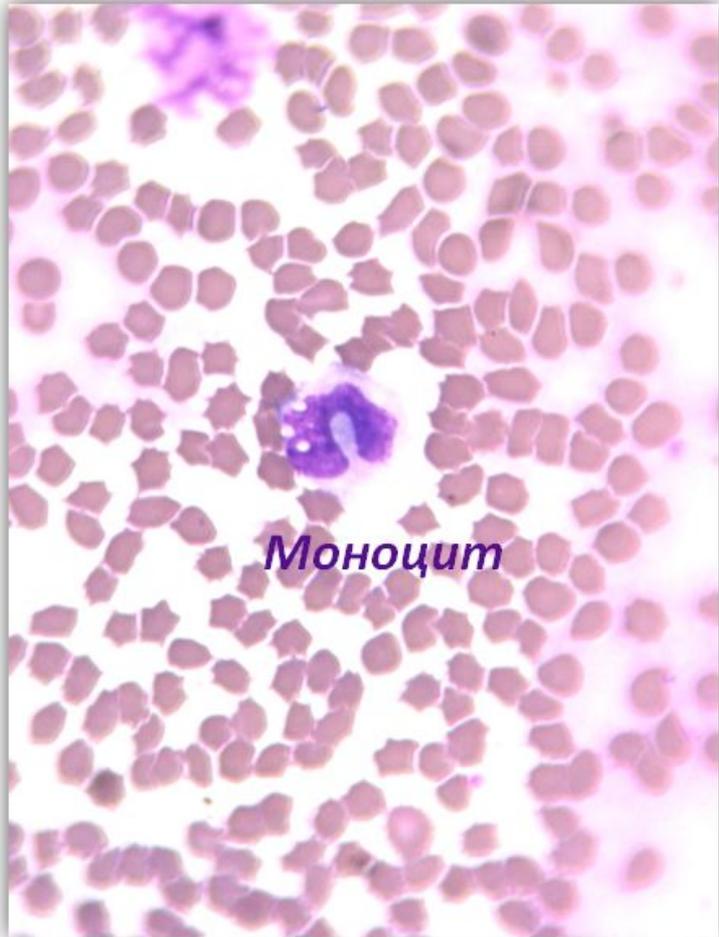
Тучные клетки



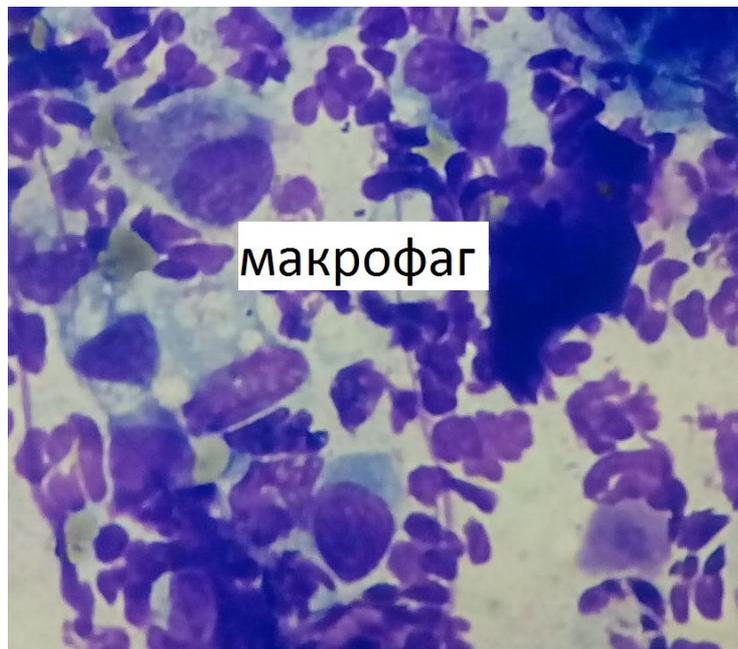
Тучные клетки, ЭОЗИНОФИЛЫ



ЛИМФОЦИТЫ, МОНОЦИТЫ



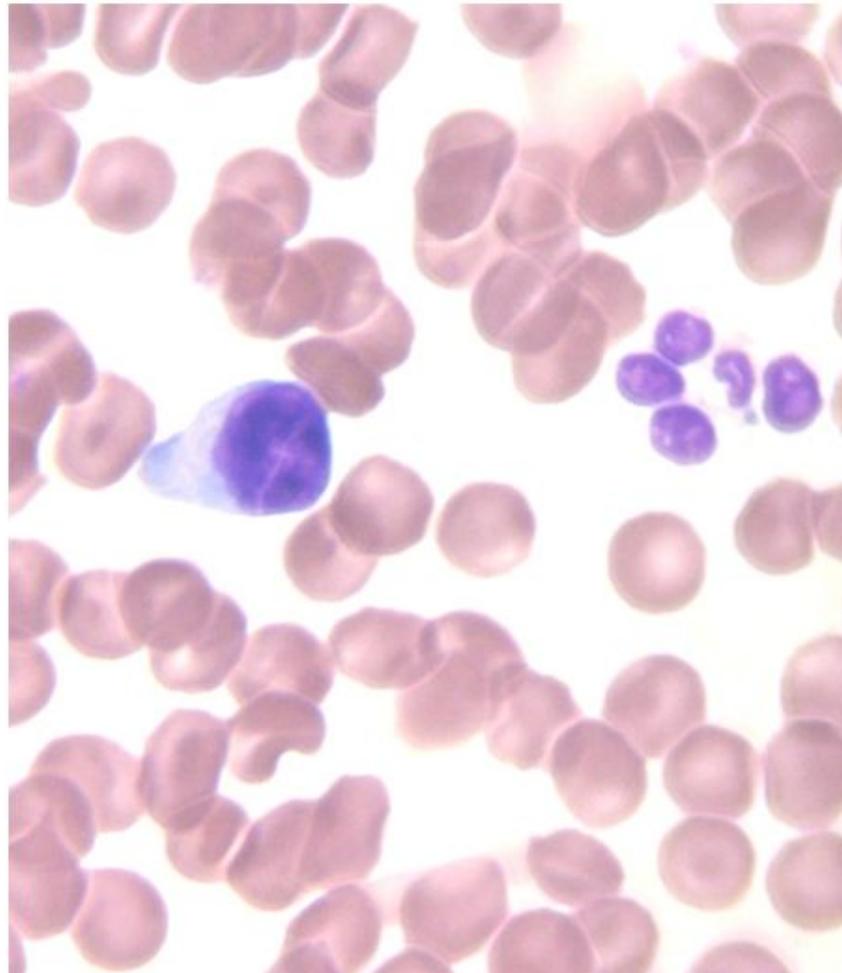
МАКРОФАГИ



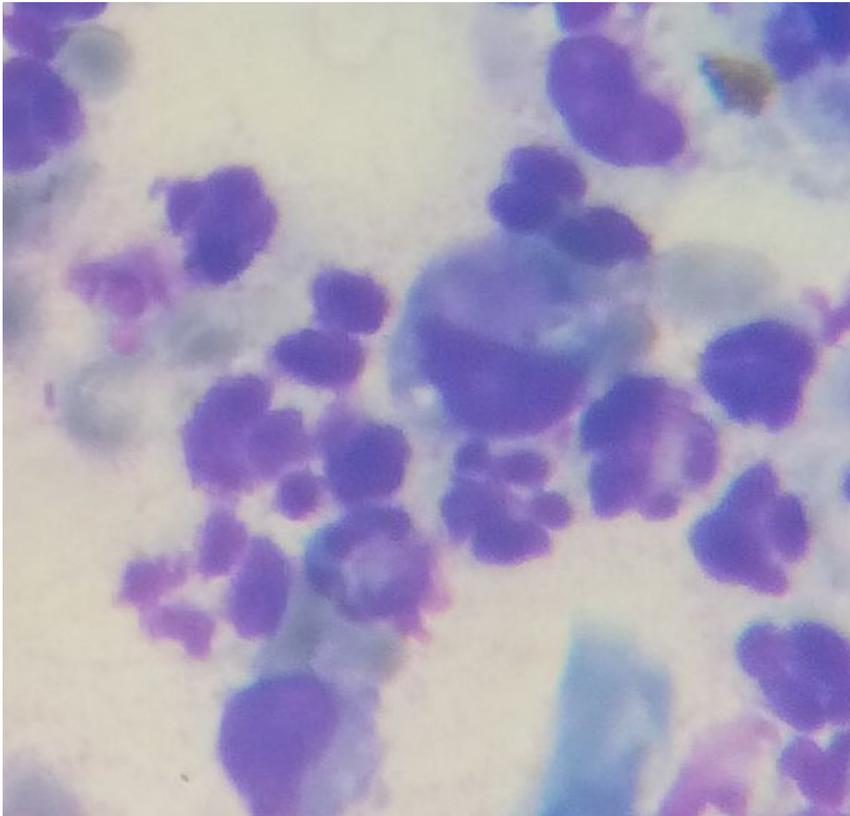
- Грибковые инфекции
- Простейшие и паразиты
- Реакция на инородное тело
- Гранулёма от разлизывания
- Вторичное воспаление при неоплазии



ПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ КЛЕТКА



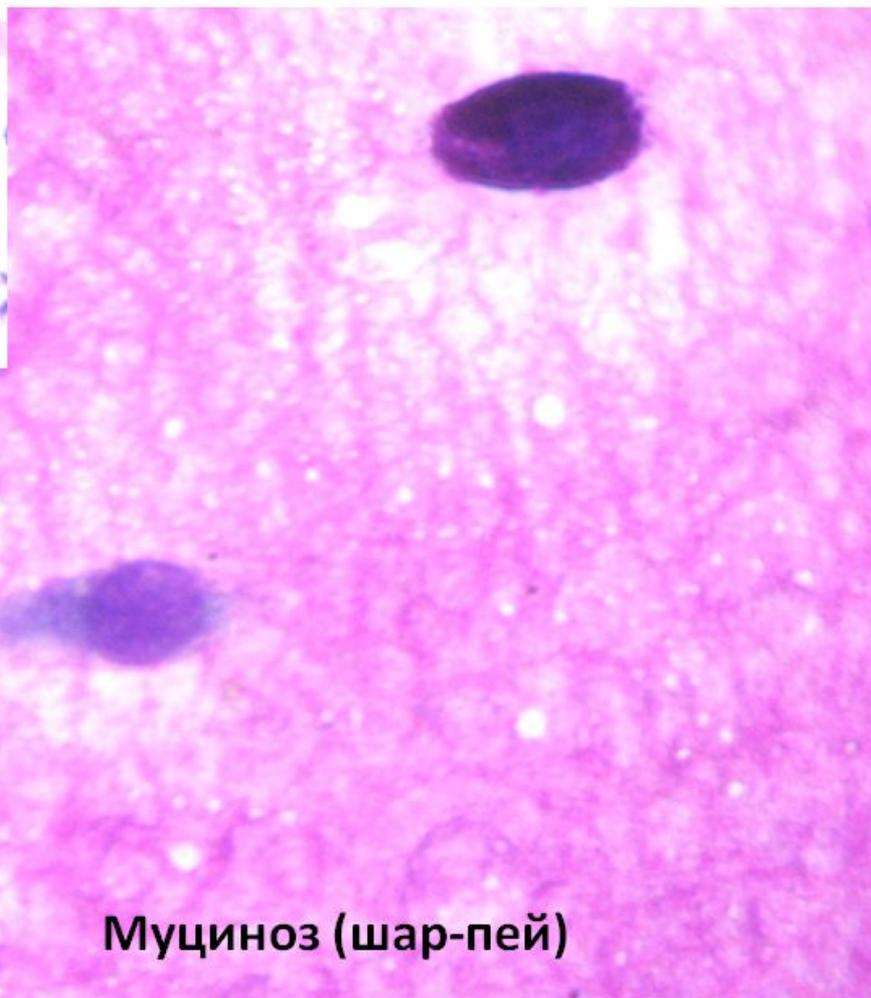
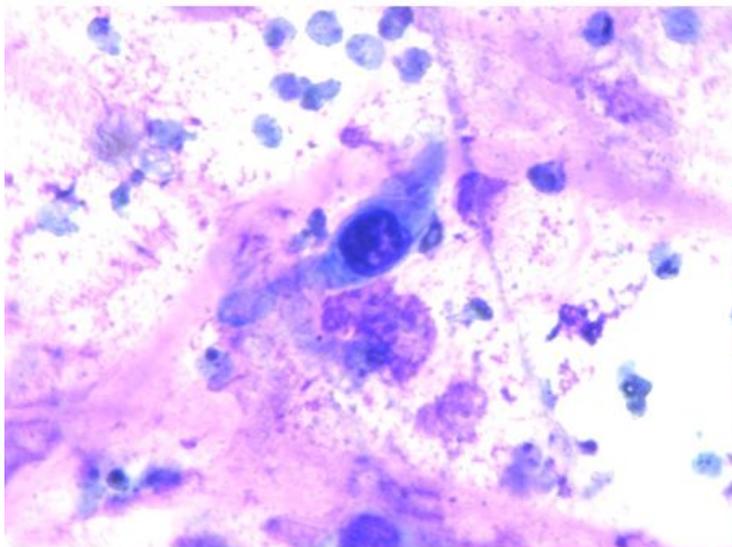
МАКРОФАГИ И НЕЙТРОФИЛЫ



- Бактериальные инфекции
- Грибковые инфекции
- Реакция на инородное тело
- Травма
- Инъекции
- Вторичное воспаление при неоплазии



Фибробласты



Муциноз (шар-пей)

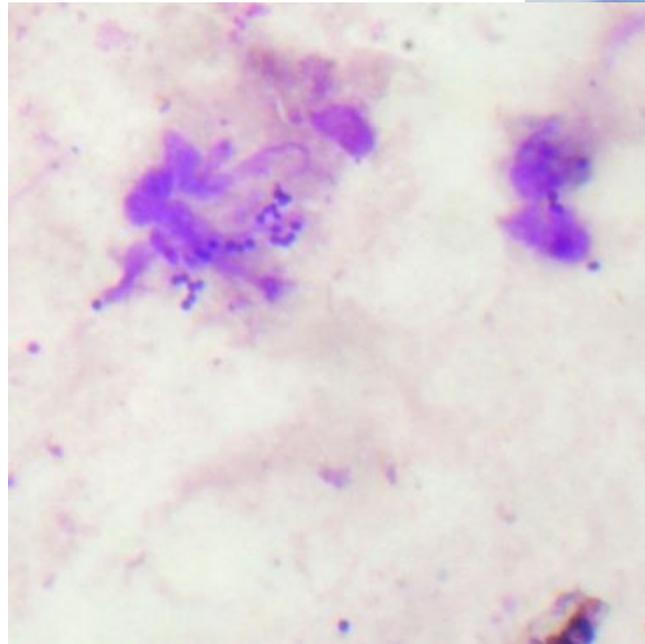
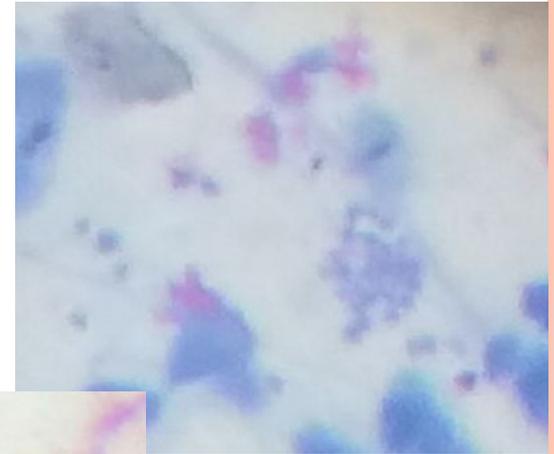
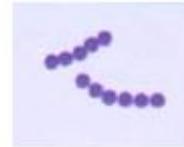


МИКРОФЛОРА КОЖИ

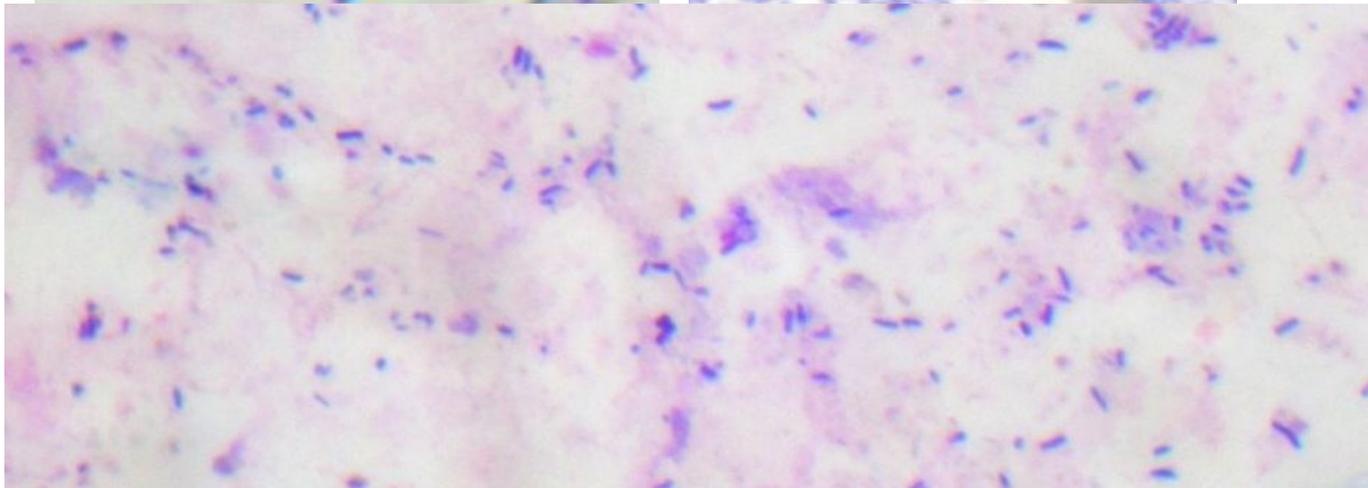
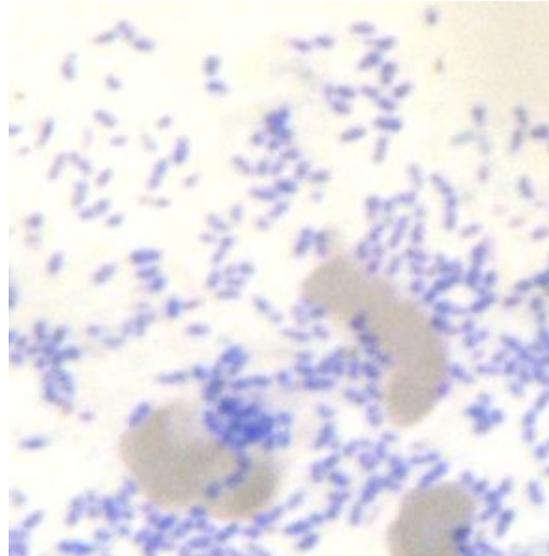
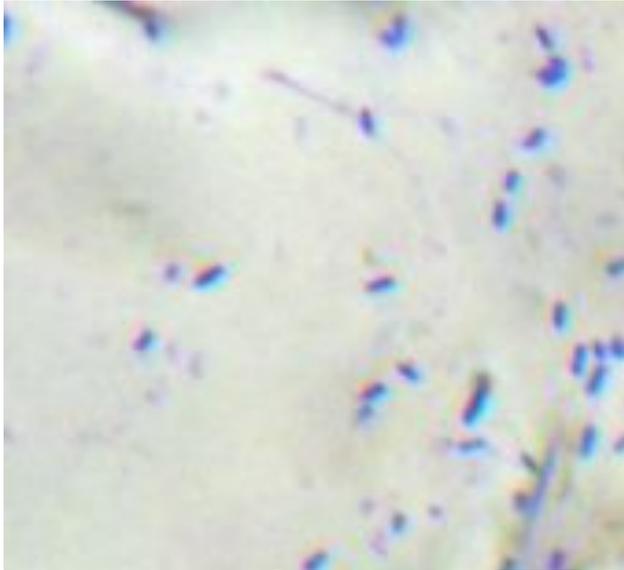


БАКТЕРИИ — КОККИ

- *Staphylococcus spp.*
скопления по 4 – 12
фиолетовых кокков 0,5
– 1,5 мкм (аэробы)
- *Streptococcus spp.*
цепочки фиолетовых
кокков 0,5 – 2,0 мкм
(аэробы)

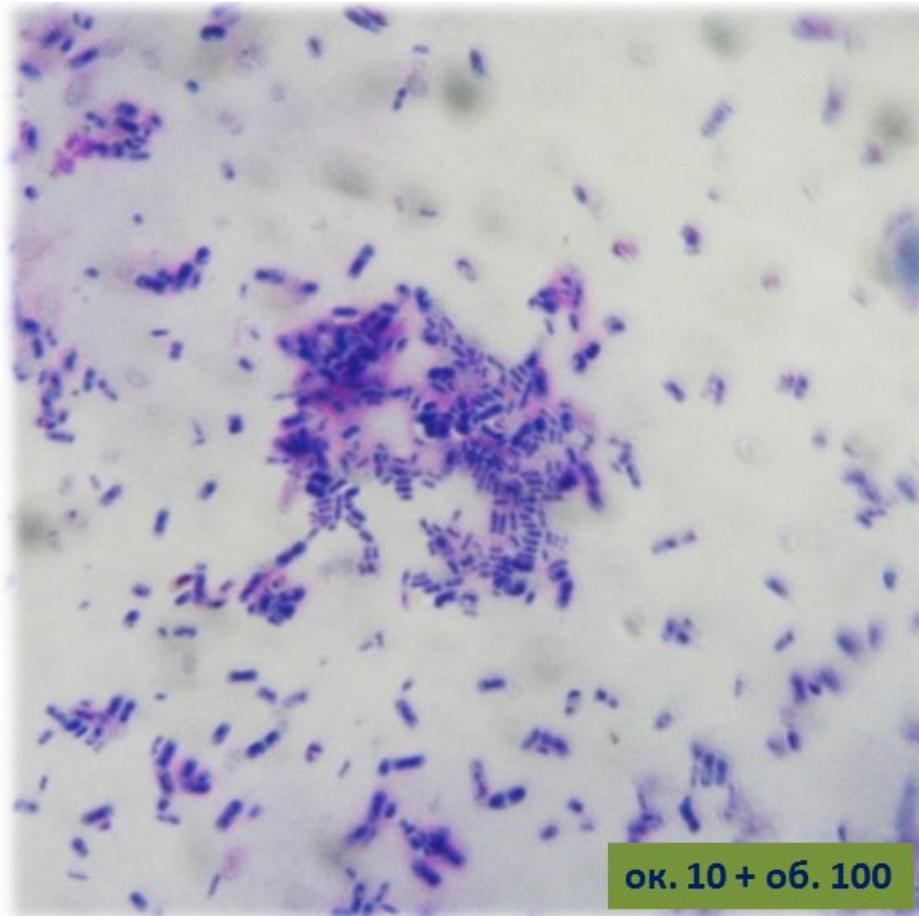


БАКТЕРИИ ПАЛОЧКИ.



БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ КОЖИ КОШЕК

- *Staphylococcus pseudintermedius*
- *Pasteurella multocida*
- *Streptococcus sp.*
(гемолитические штаммы)
- *Actinomyces sp.*
- *Bacteroides sp.*
- *Fusobacterium sp.*
- +*Malassezia sp.*,
- особенно при интертриго

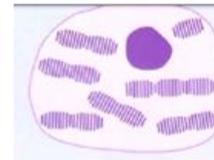


ок. 10 + об. 100



ПРОЧИЕ БАКТЕРИИ

Simonsiella

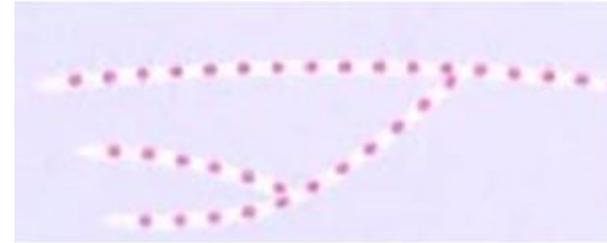


- крупные палочки (0,6-1 мкм x 0,5 – 3 мкм), расположенные бок-о-бок
- «штабеля» по 10 – 50 мкм
- Тёмно-синие или фиолетовые
- Часто на эпителиальных клетках



АКТИНОМЫЦЕС, NOCARDIA, FOSOBACTERIU SPP.

- Ветвящиеся, нитевидные анаэробные палочки
- 0,2 – 1,0 мкм x 2 – 5 мкм, длина «цепочки» 10 – 50 мкм

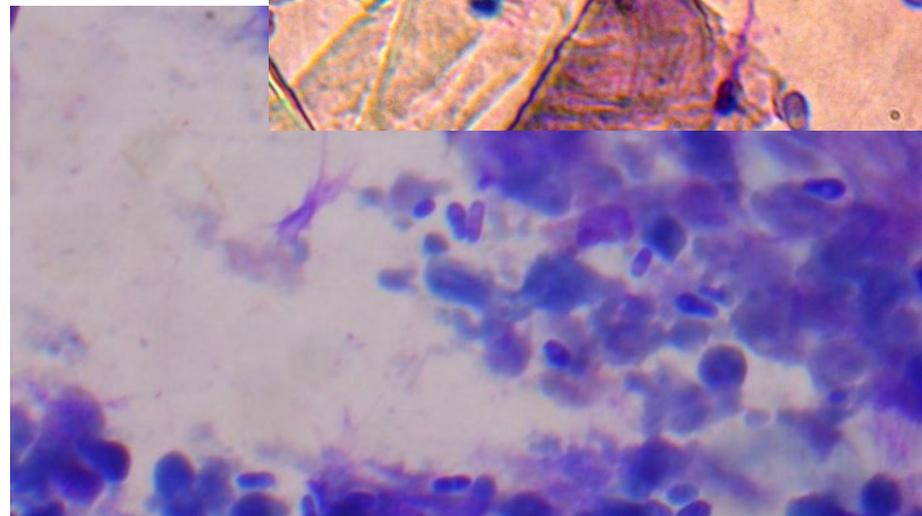
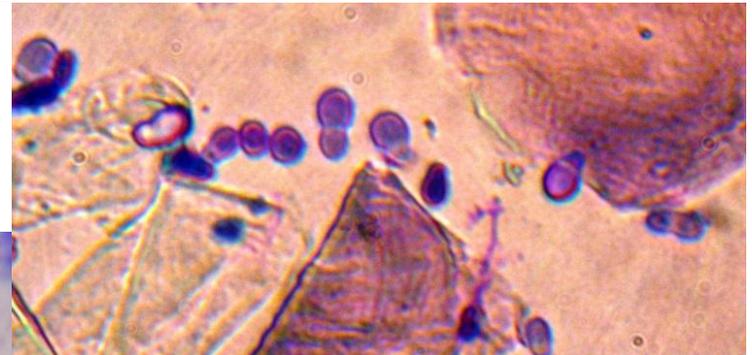
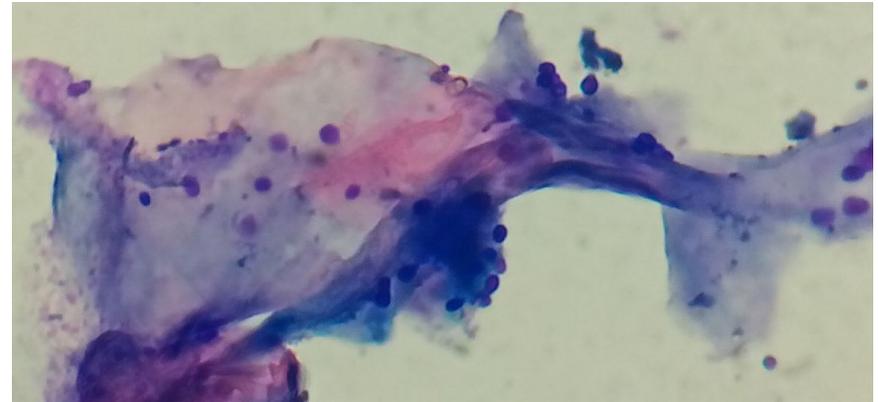


ГРИБЫ.

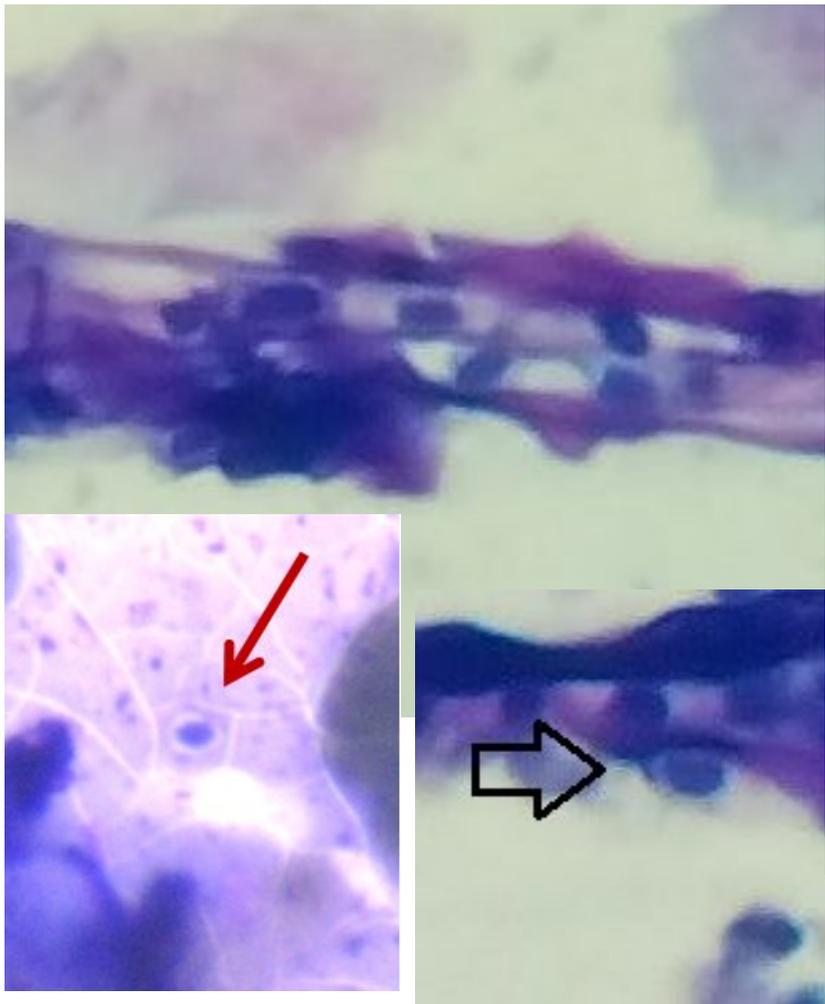


MALASSEZIA SPP.

- Типичные почкующиеся грибы в виде земляного ореха
- Округло-овальные дрожжи 2 – 4 мкм в диаметре
- Выраженная базофилия (от темно-голубого до пурпурного цвета)
- Липофильные грибы
- Не имеет капсулы и никогда не образует гифы и псевдогифы



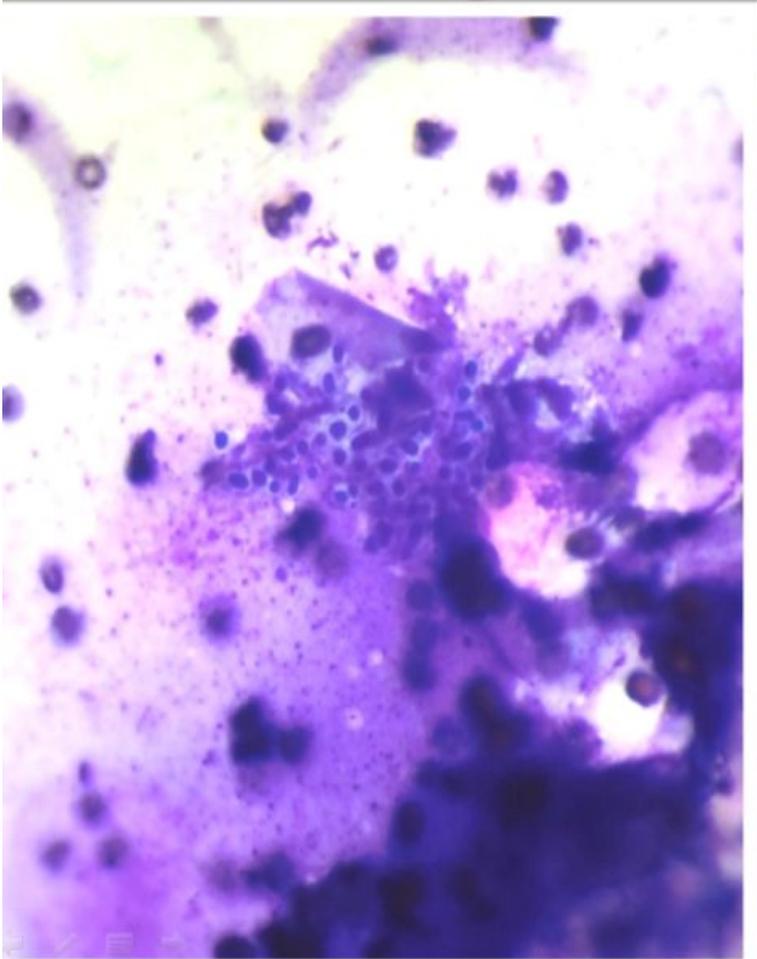
ДЕРМАТОФИТОЗЫ



- артроспоры вдоль волоса, в ороговевших чешуйках эпидермиса
- хорошо преломляют свет
- овально-округлые от светло-голубого до сиреневого цвета
- Макрофаги + лимфоциты ± эозинофилы

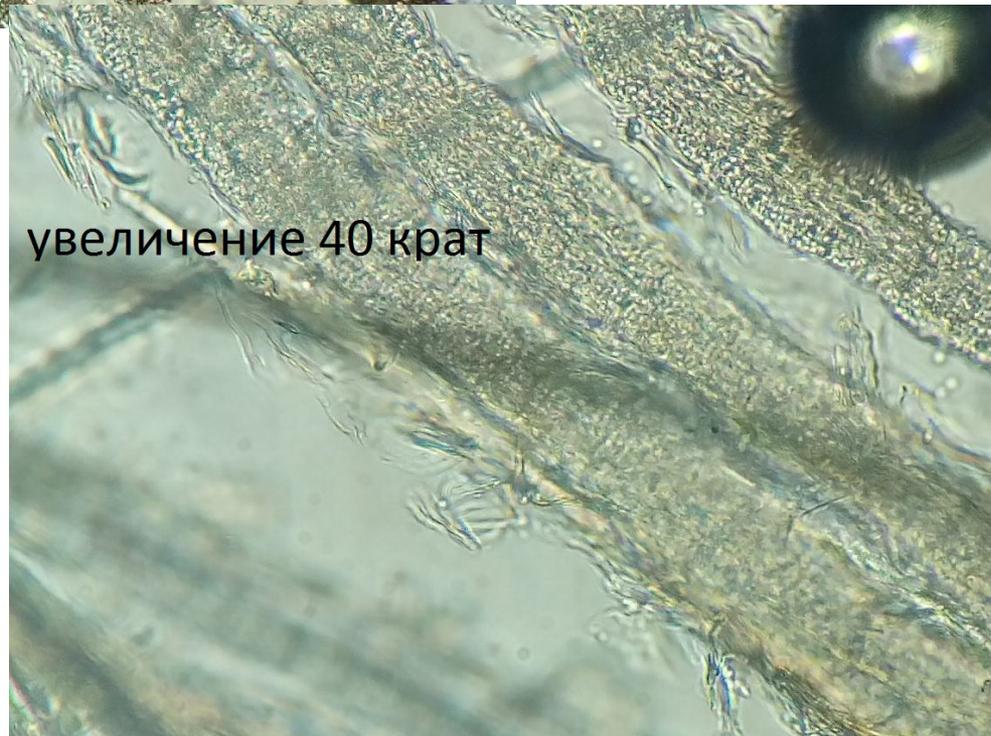


Microsporium sp.



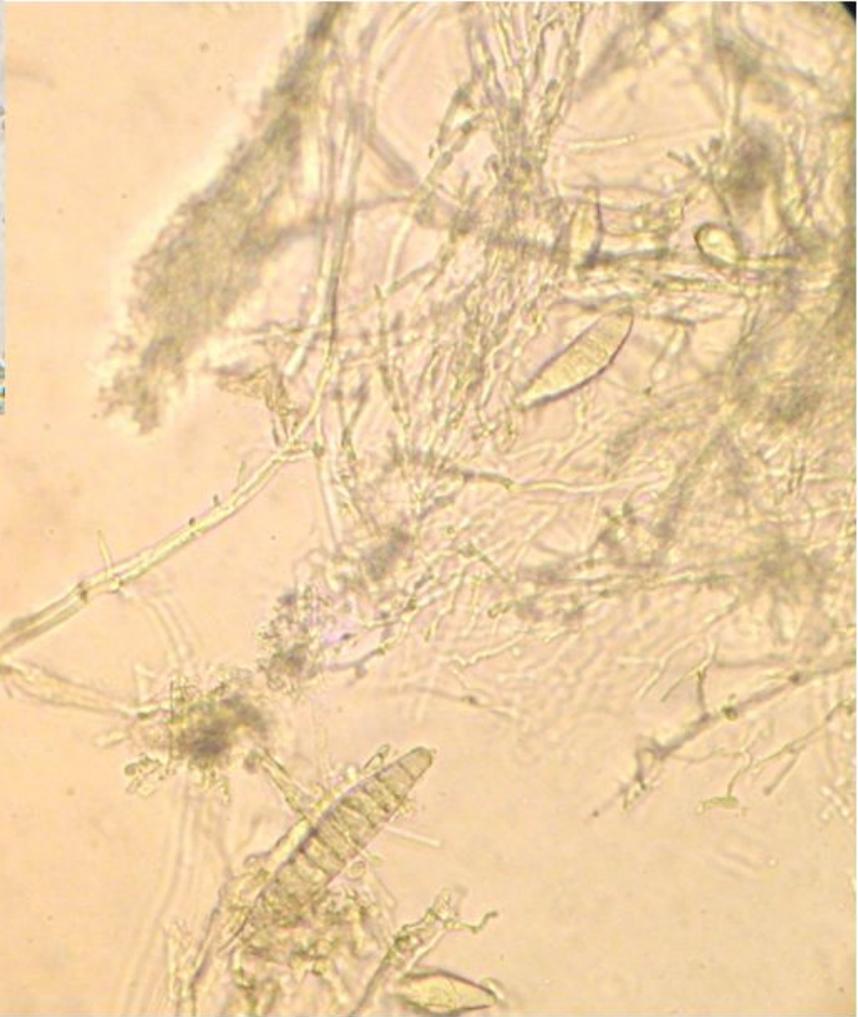


увеличение 10 крат

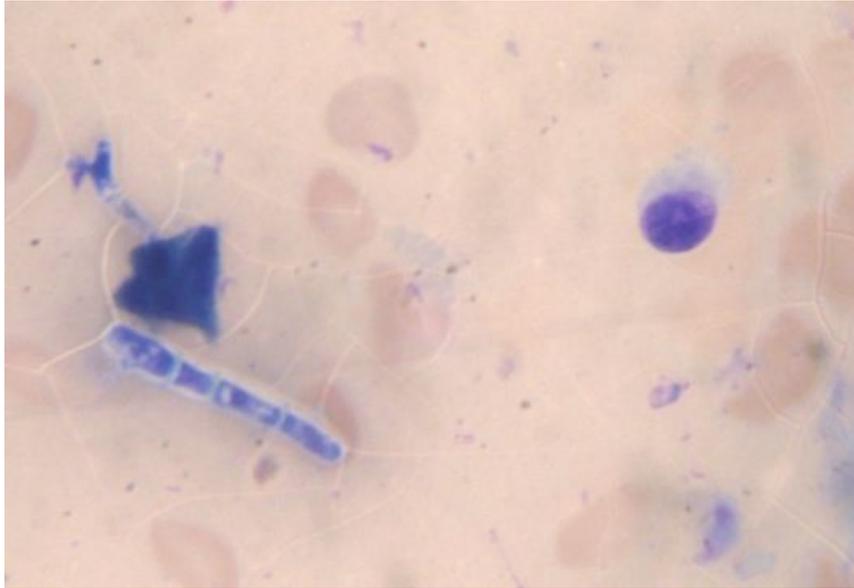


увеличение 40 крат

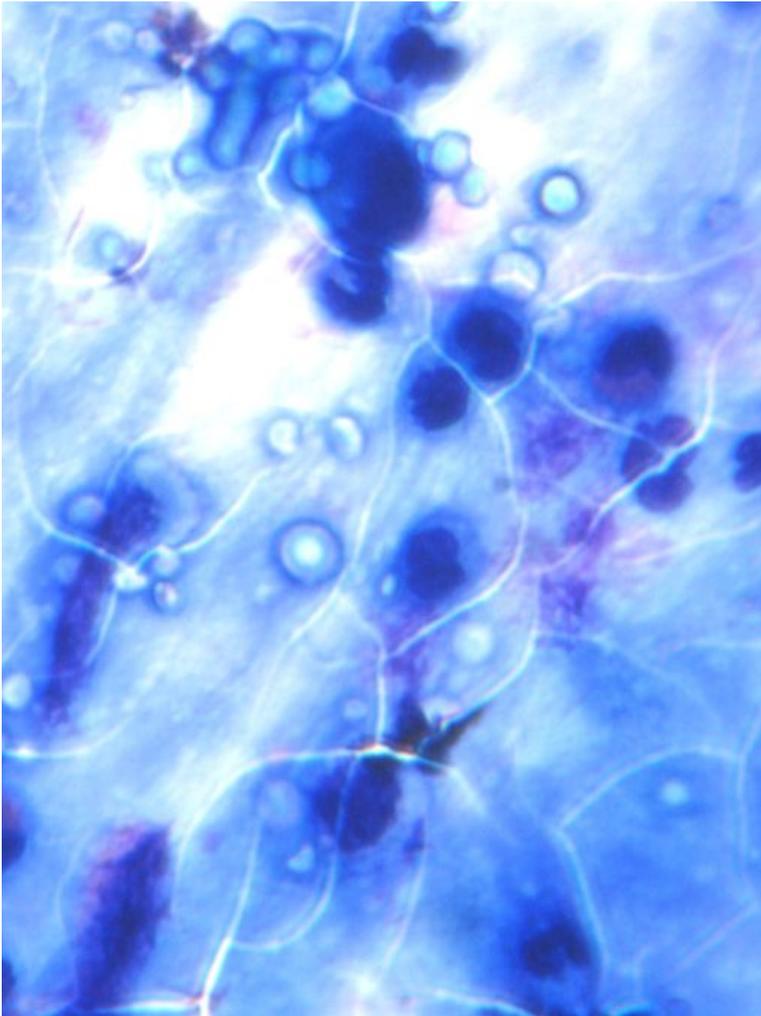




ПРОЧИЕ МИКОЗЫ



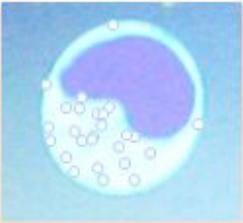
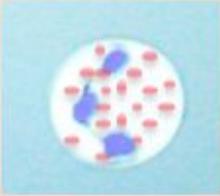
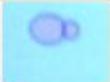
КРИПТОКОКК



- Круглые почкующиеся дрожжи
- 4-40 мкм в диаметре
- Капсула не окрашивается



ПРИБЛИЗИТЕЛЬНЫЙ РАЗМЕР ОБЪЕКТОВ ПРИ ЦИТОЛОГИИ

объект		Фактический размер	Визуальный размер x1000
макрофаг		15 – 20 мкм	1,5 см
нейтрофил		10 мкм	1 см
эозинофил		10 мкм	1 см
малассезия		4 мкм	0,4 см
бактерии		1 мкм	0,1 см

ПАРАЗИТЫ.



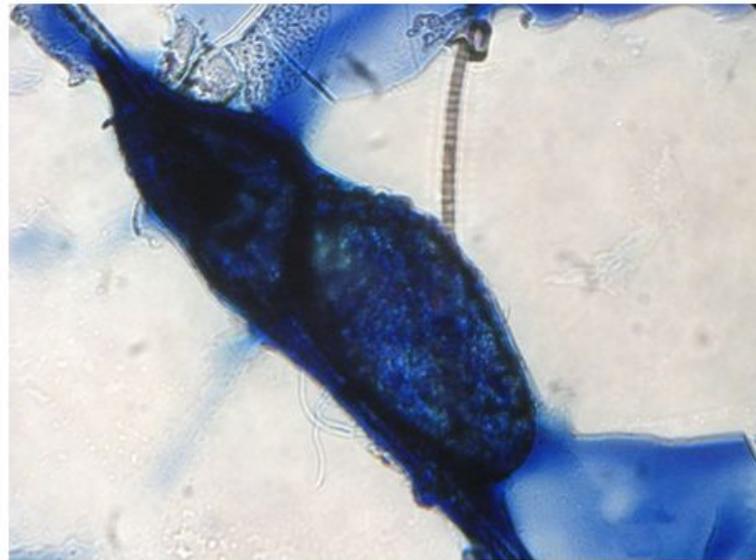
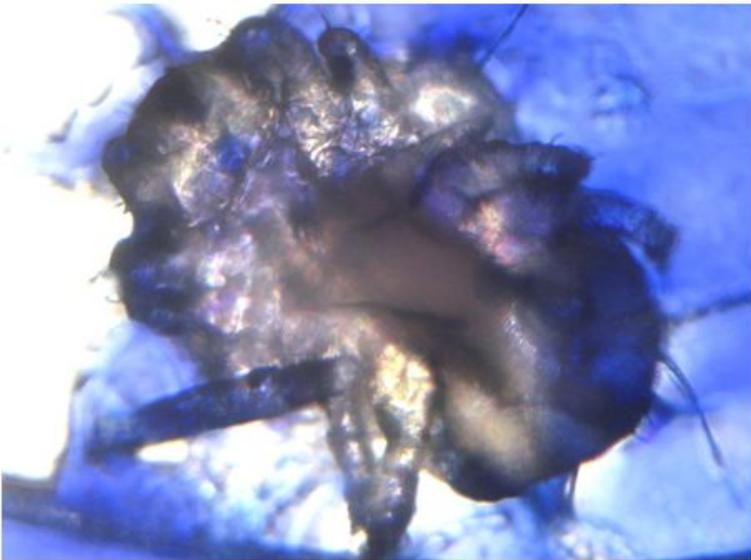
Чесотка



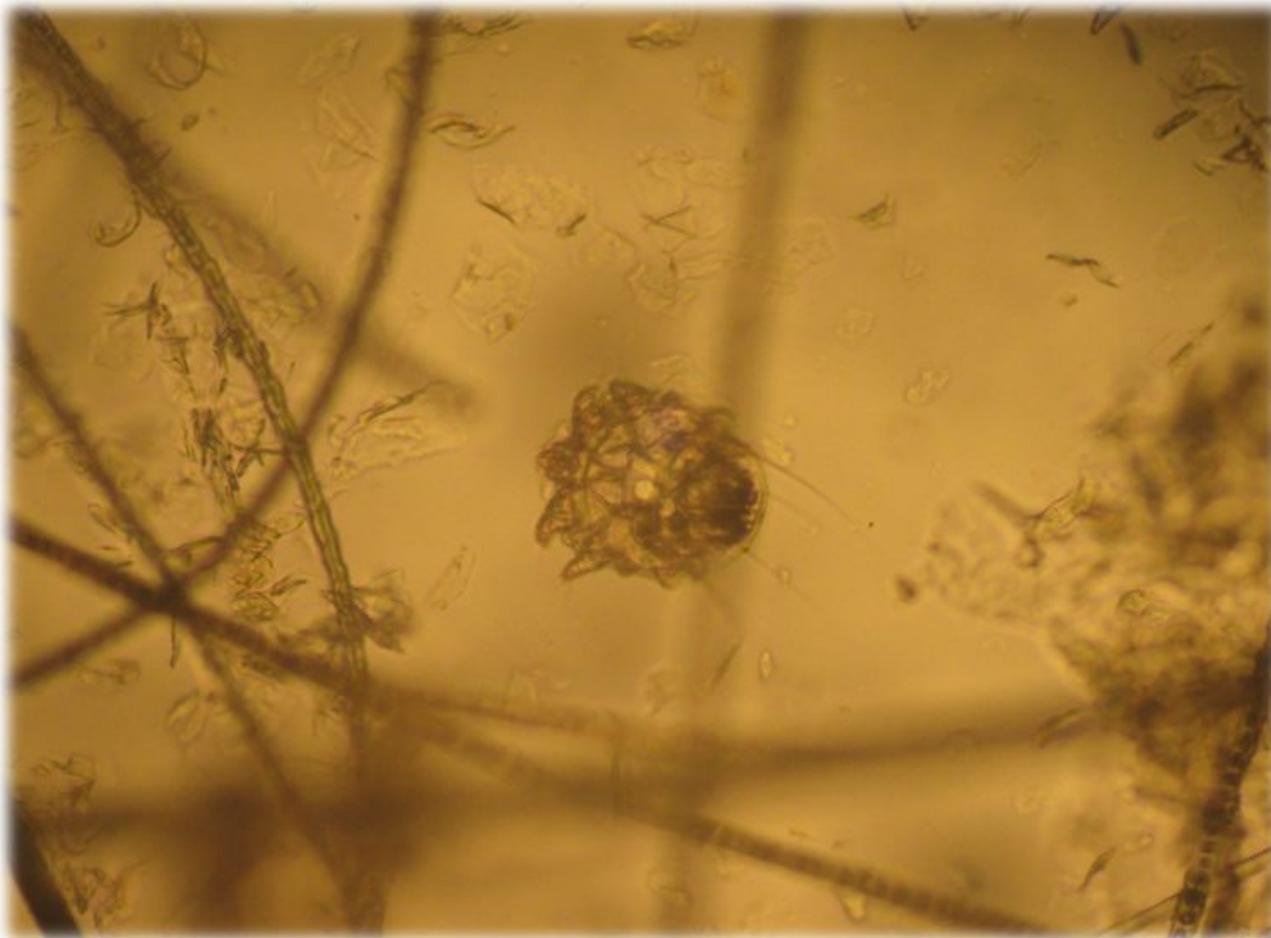
ДЕМОДЕКОЗ



ХЕЛЕТИЕЛЛА



НОТОЭДРОЗ



Уши.

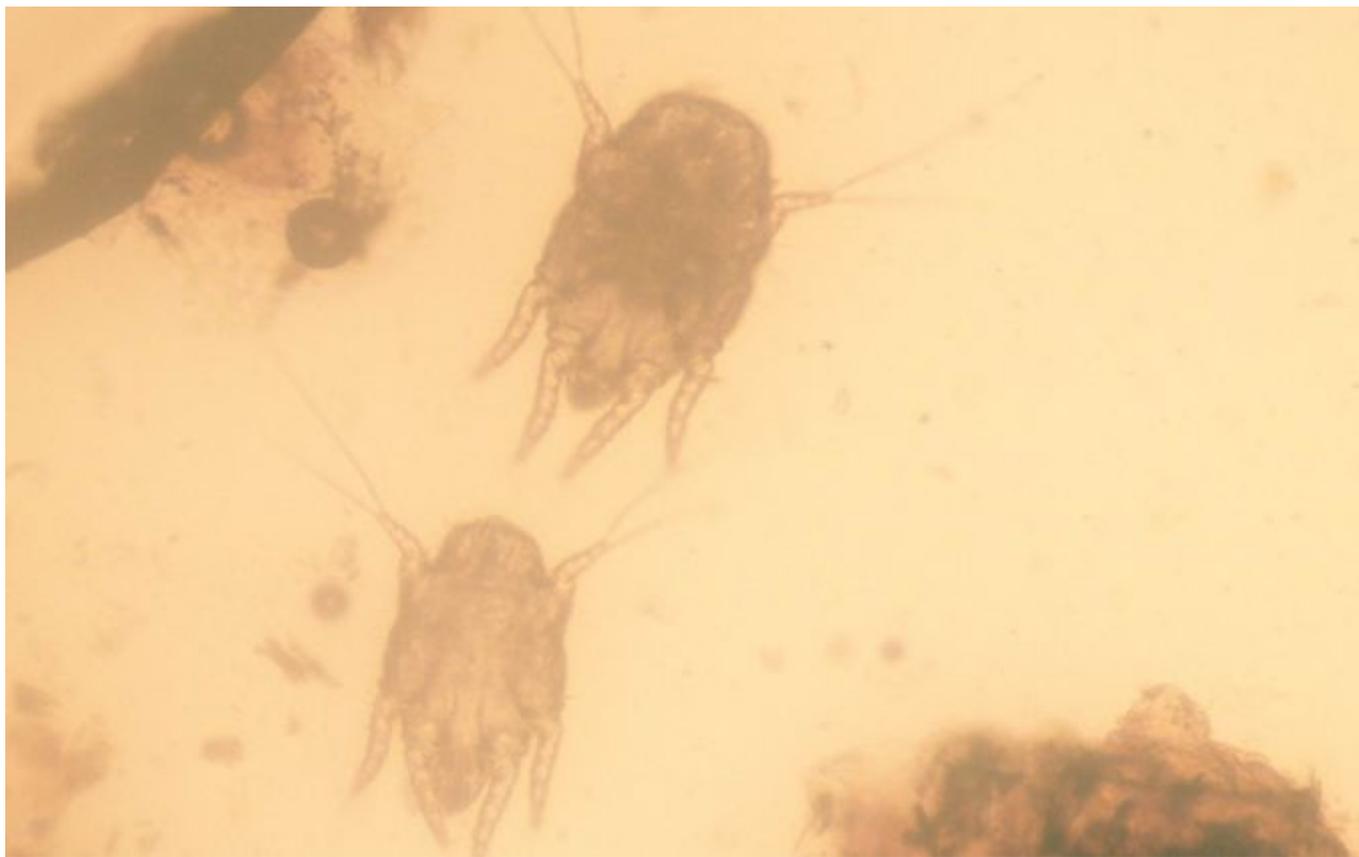


МИКРОСКОПИЯ УШНОЙ СЕРЫ ИЛИ ЭКССУДАТА

- Малое увеличение (объектив 10 крат) – общее количество клеток, с маслом – клещи.
- Иммерсия (большое увеличение 100 крат) – лейкоциты, эритроциты, клетки эпителия, неоплазия (опухолевые, атипичные клетки), бактерии, дрожжи.



ОТОДЕКОЗ



НОРМАЛЬНАЯ СЕРА

- Секрет апокриновый (церуминозных) и сальных желез.
- Содержит липиды, плохо прокрашивается
- Содержит слущенные кератиноциты.
- Содержит резидентные микроорганизмы (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., крайне редко палочки).



ПЕРЕРОСТ МИКРОФЛОРЫ

- увеличение числа резидентных микроорганизмов в дебрисе и на поверхности эпителия наружного уха

ИНФЕКЦИЯ

- Гнойное воспаления
- Нарушение эпителия, его эрозированию и изъязвлению
- Колонизация тимпанической полости (возможна)



Полуколичественная оценка.

- Среднее количество микроорганизмов в поле зрения (иммерсия) микроскопа.
- Позволяет оценить динамику.

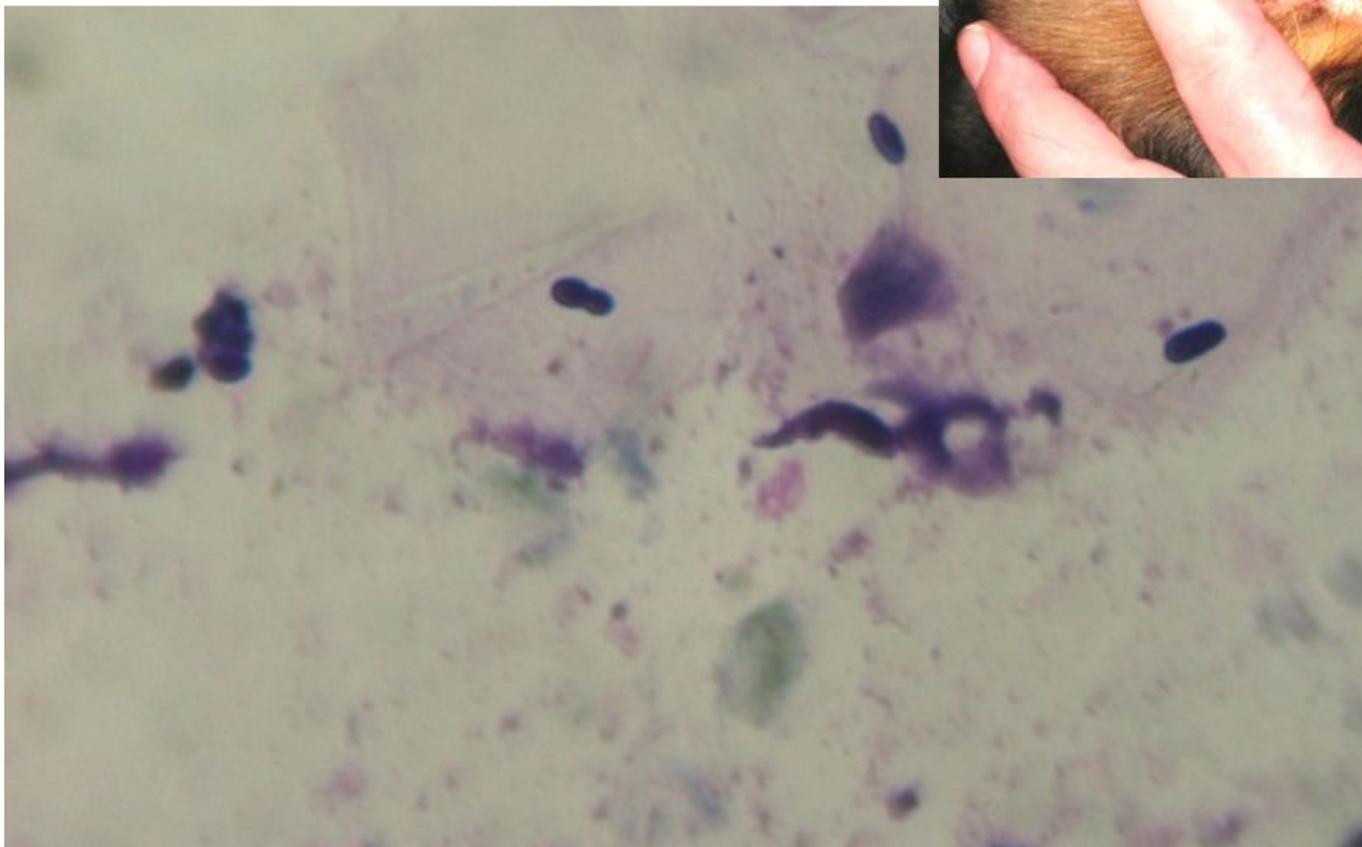


БАКТЕРИАЛЬНЫЙ/ ДРОЖЖЕВОЙ ПЕРЕРОСТ

- Обнаружение в среднем 3-5 коков или *Malassezia* в поле зрения, увеличение 100 крат
- Пограничное состояние между нормой и инфекцией.
- Связанно с повышением влажности в слуховом проходе, аллергической реакцией, попаданием воды в ухо и т.п.
- Морфологические изменения слухового канала => плохая вентиляция => нарушение эпителиальной миграции.
- При своевременном устранении причин, ситуация обратима.

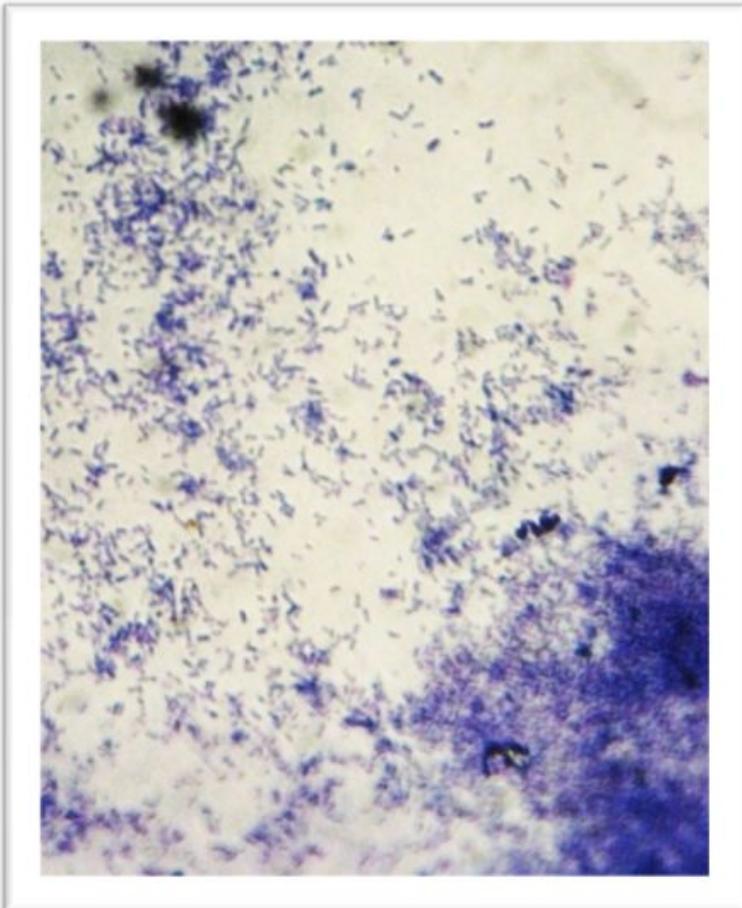


Малассезия перерост:
более 1-3 в поле зрения
x1000

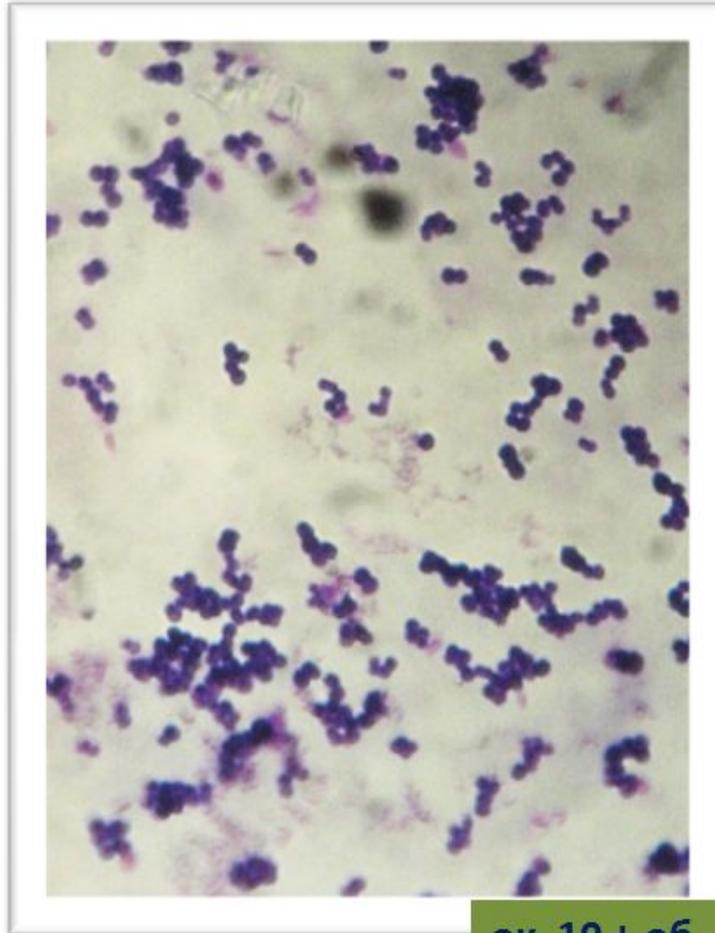


БАКТЕРИИ

палочки



КОККИ



ок. 10 + об. 100



ЦЕРУМИНОЗНЫЙ ОТИТ: ПРИЧИНЫ

Повышение секреции серных и сальных желез + эпидермальная гиперплазия в следствии воспаления, новообразования, кисты в слуховом канале = скопление серы + размножаются бактерии и дрожжи = воспаление

Первичные нарушения процессов кератинизации у собак некоторых пород (шар-пей, бассет-хаунд, ирландский сеттер, немецкая овчарка, американский коккер спаниель и пр.)

Полный цикл эпителия 8 дней вместо 22

Скопление церумина в слуховом канале

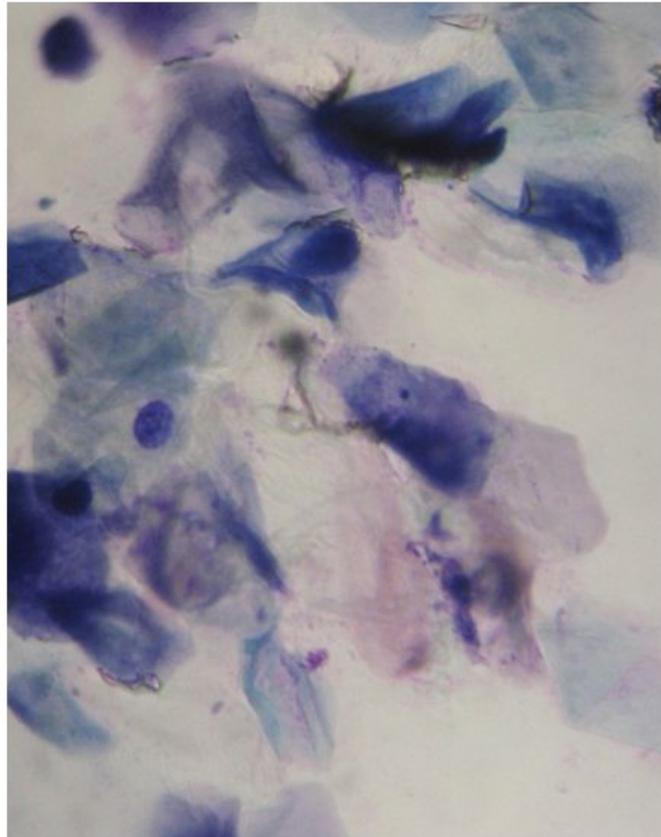
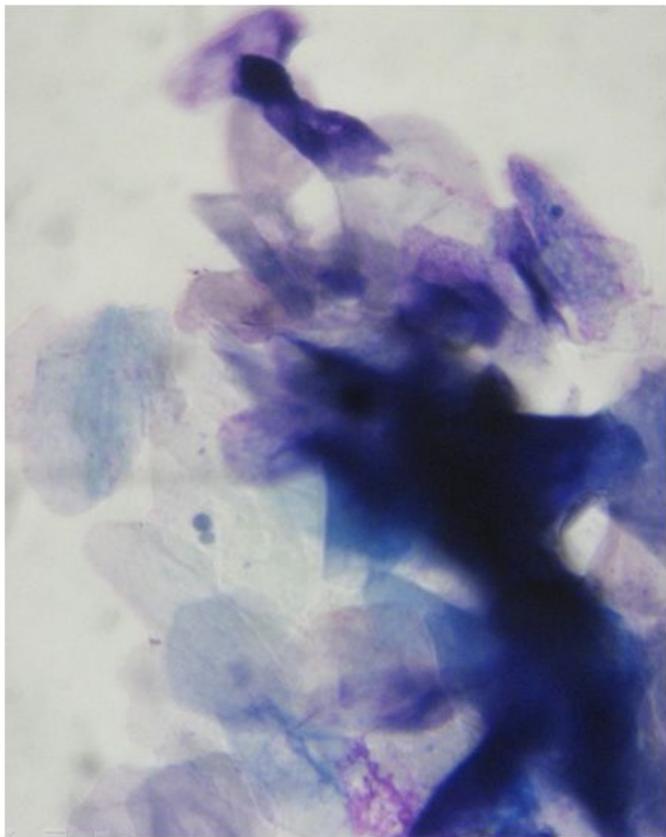
Развитие церуминозного отита

Вторичные нарушения кератинизации (гипотиреоз, недостаток витамина А, цинка и жирных кислот)



ЦЕРУМИНОЗНЫЙ ОТИТ.

- Кератиноциты в большом количестве и не окрашенные салые массы.
- Единичные микроорганизмы

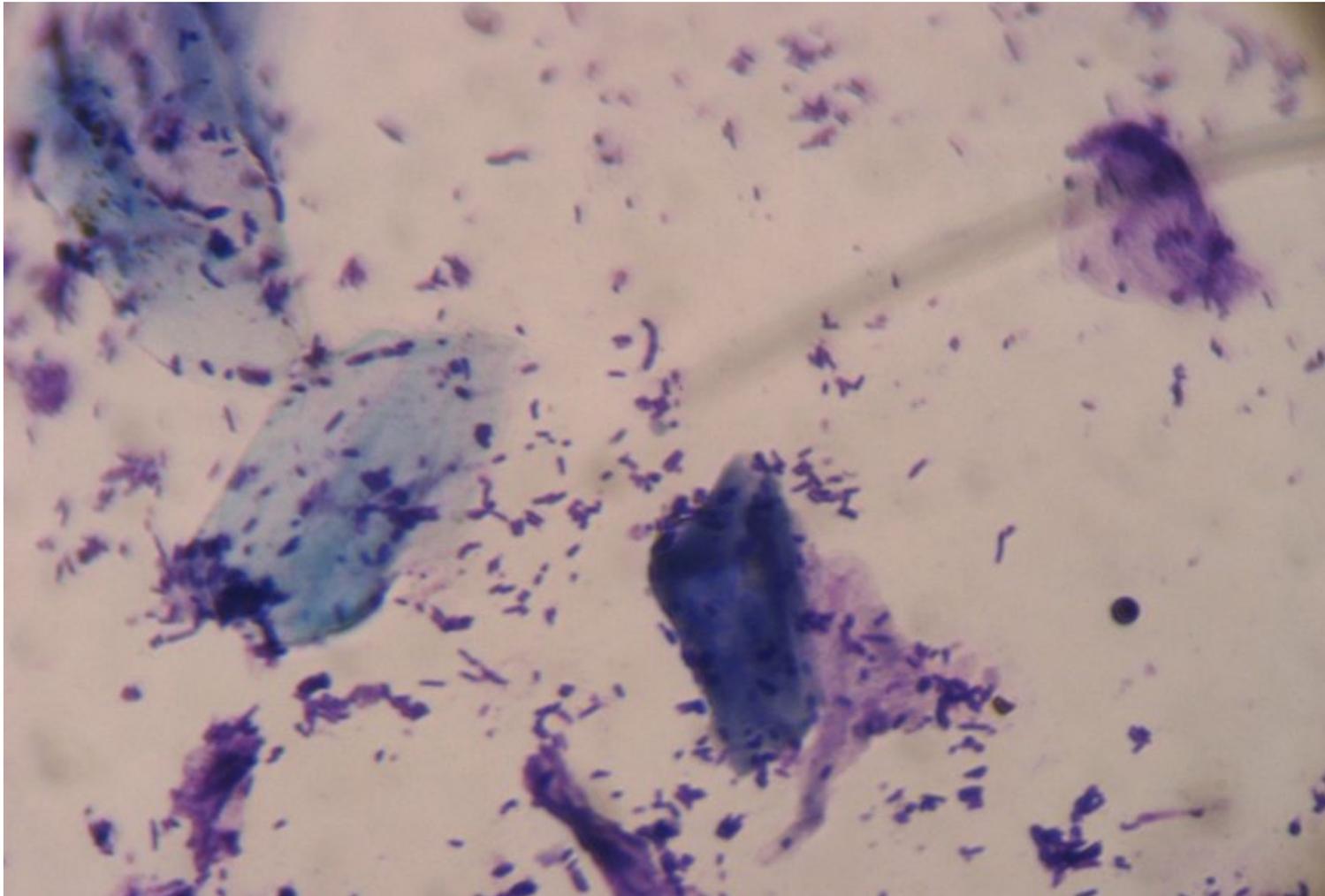


Гнойный отит. Цитология.

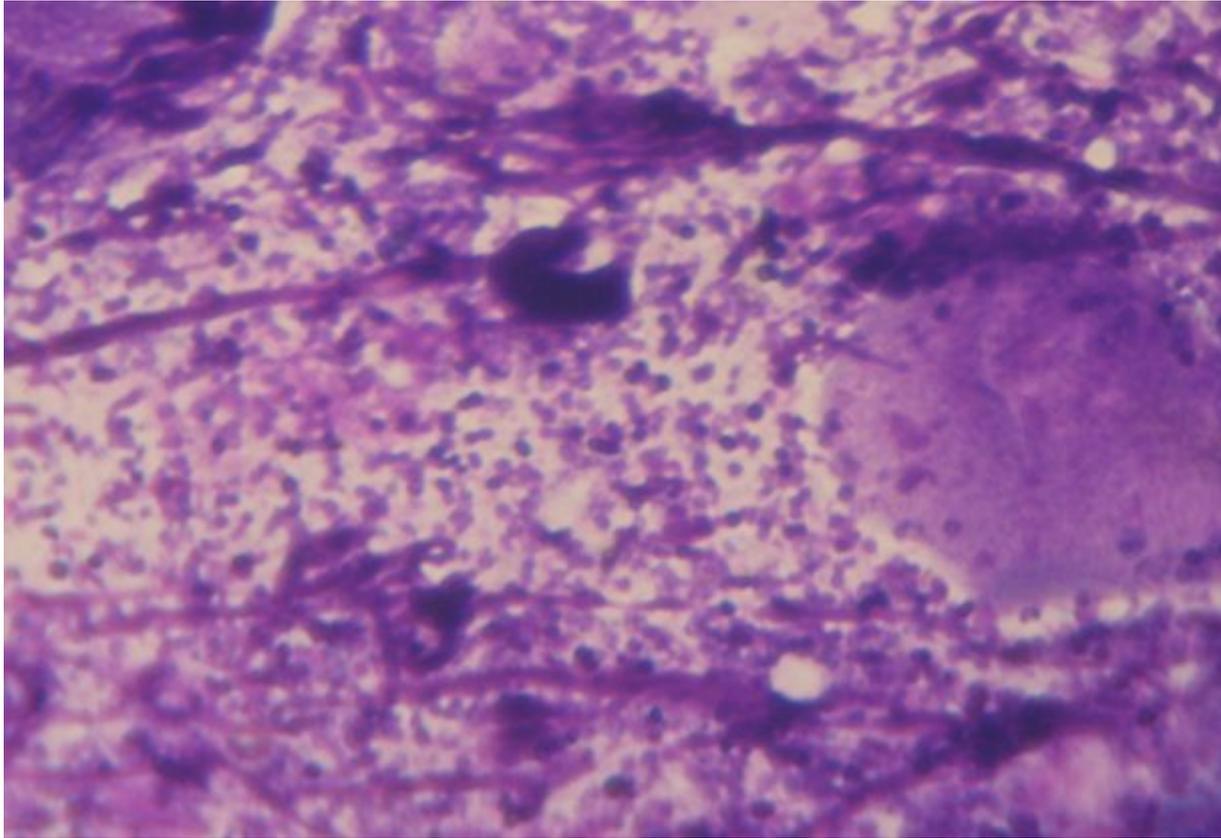
- Дебрис
- Разрушенные лейкоциты
- Фагоцитированные бактерии (кокки и/или палочки)



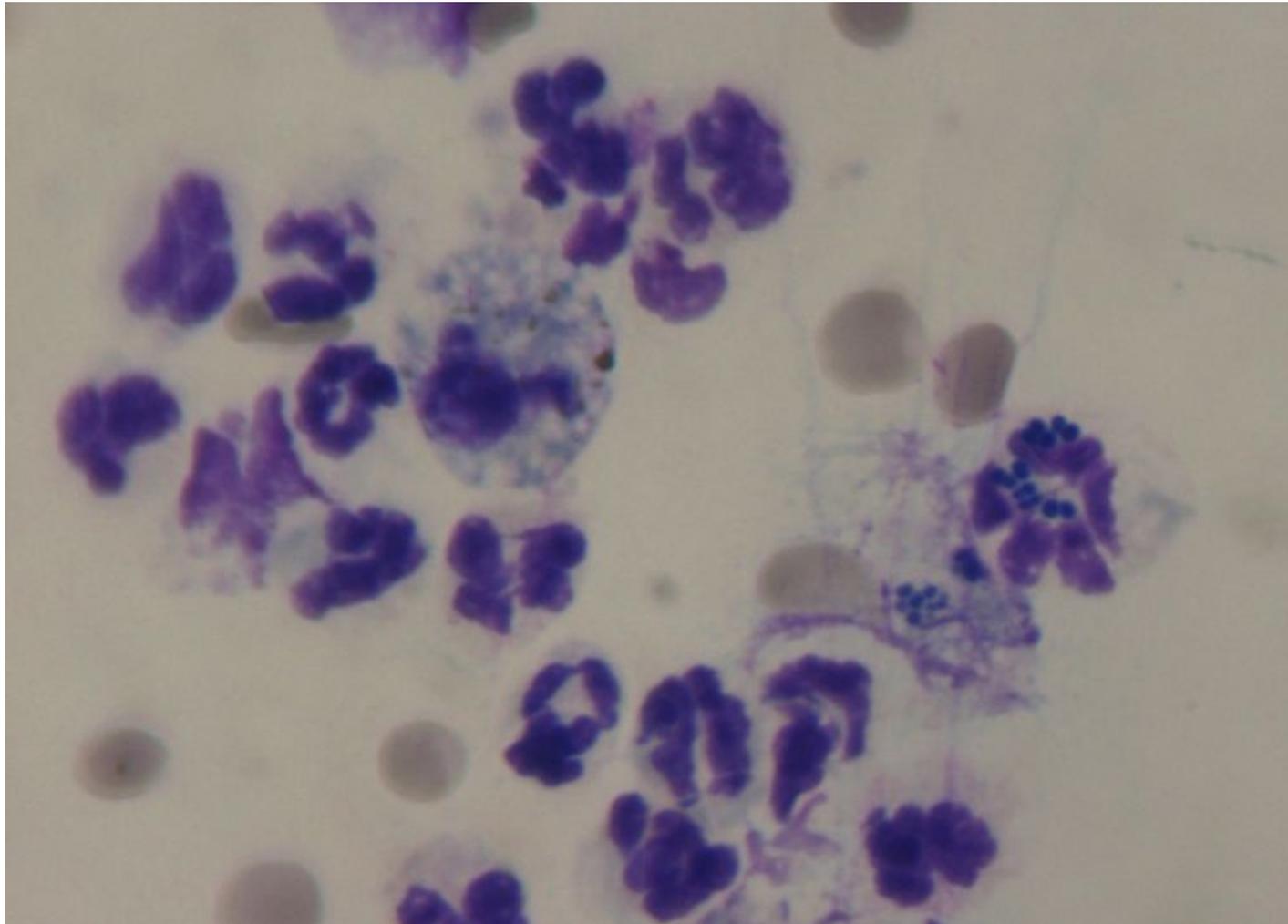
БАКТЕРИИ - ПАЛОЧКИ



БАКТЕРИИ - КОККИ



БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ОТИТ



Цитология отита
Клиника отита (зуд, эритема, боль...)
+
Цитология (объектив x100):

Перерост микрофлоры

- Кокки более 3 – 5 и /или
- *Malassezia* более 1

Инфекционное воспаление

Лейкоциты/фагоцитоз +
любое количество
микробов

ИЛИ

Присутствуют бактерии-
палочки

ИЛИ

Candida spp.

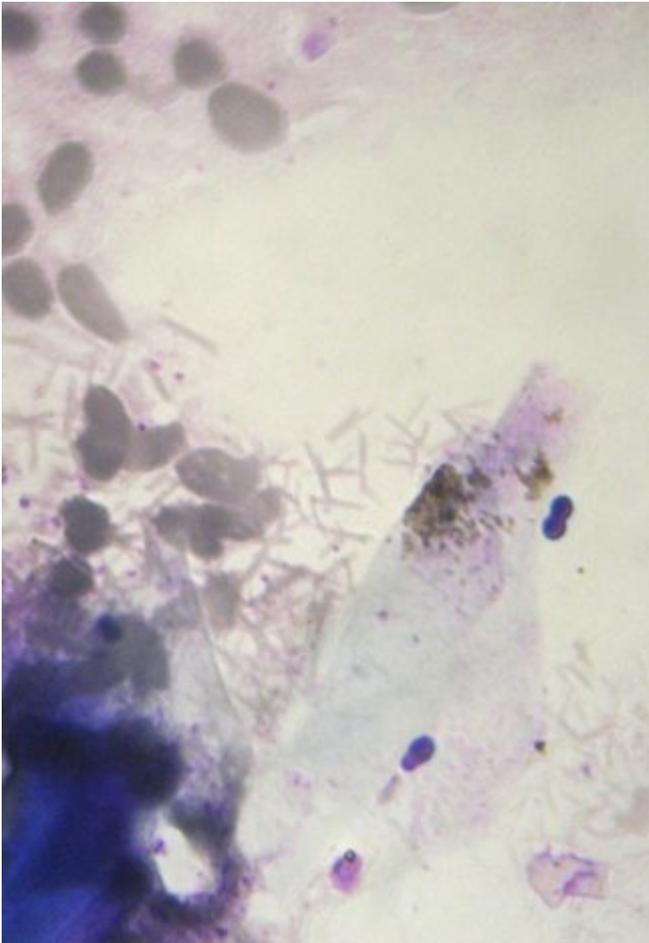


СОСКОБЫ С КОЖИ.

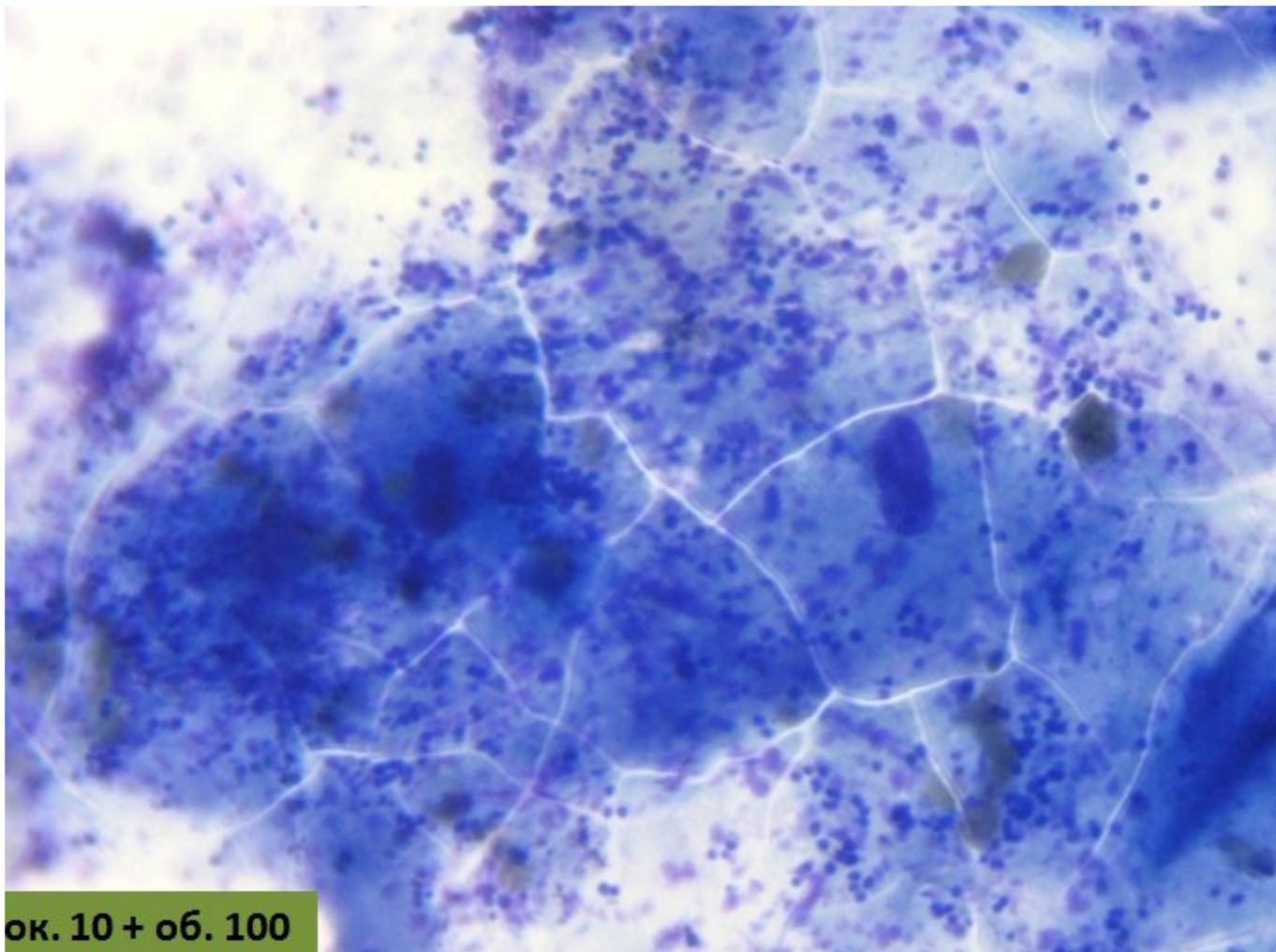
- Диагностические критерии



МАЛАЦЕЗИЯ + КЕРАТИНОЦИТЫ =
МАЛАССЕЗИОЗНЫЙ ПЕРЕРОСТ



БАКТЕРИИ + КЕРАТИНОЦИТЫ = БАКТЕРИАЛЬНЫЙ
ПЕРЕРОСТ

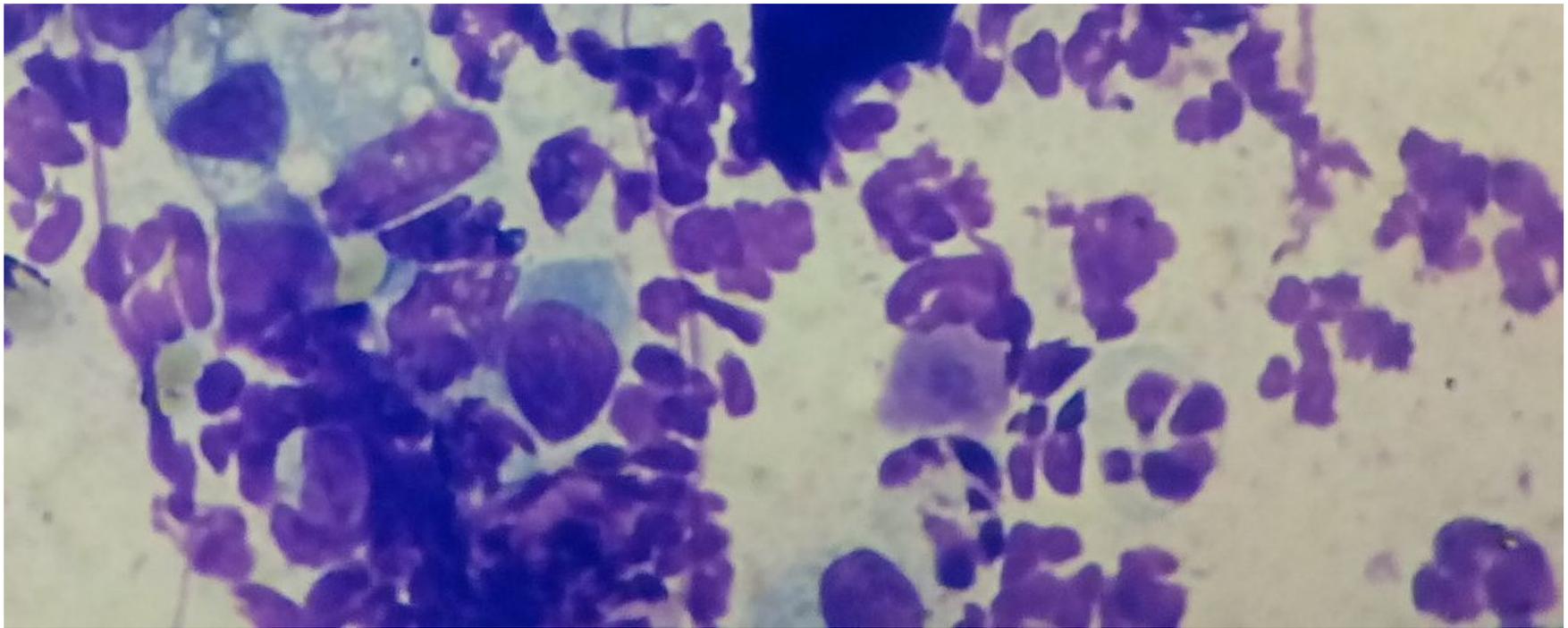


НЕЙТРОФИЛЫ.

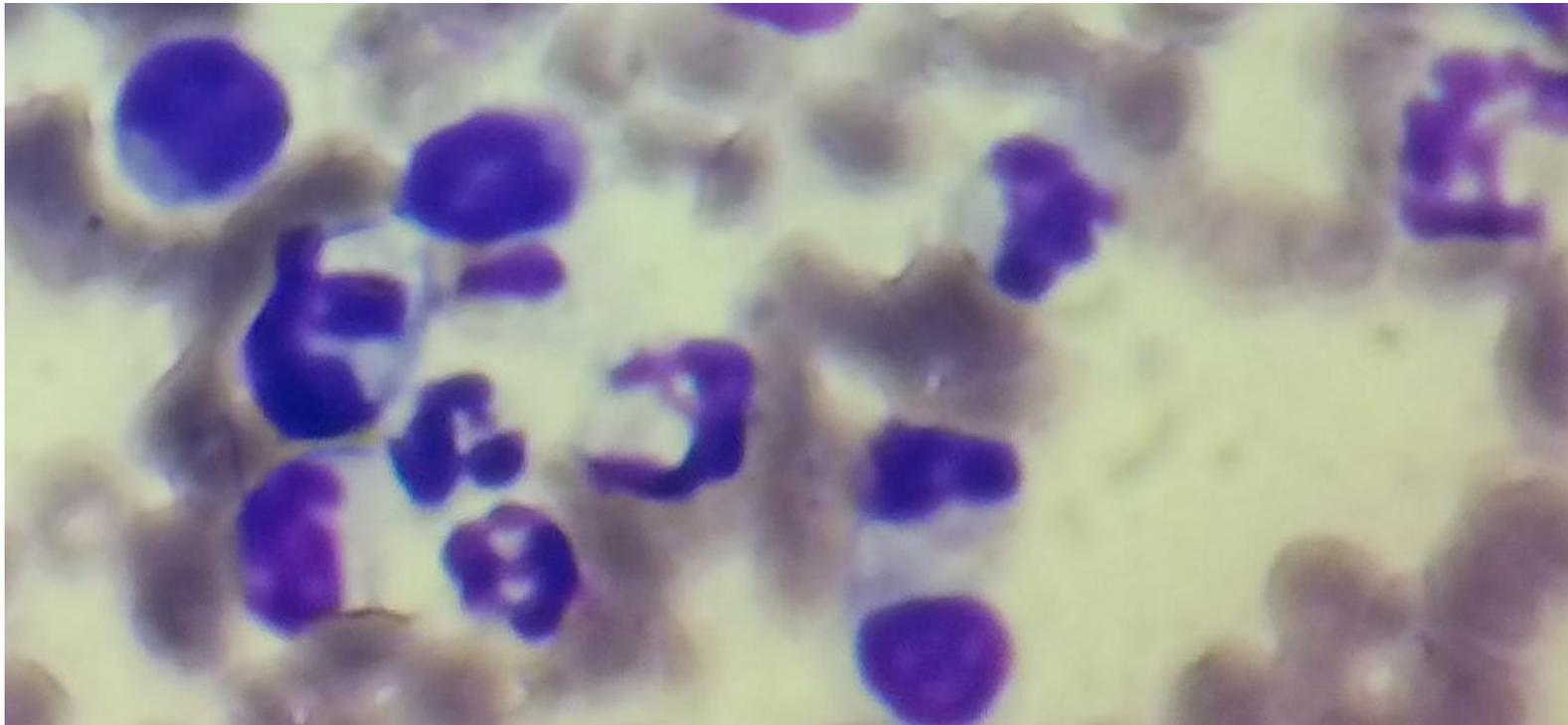
- Инфекции бактериальные
- Иммуноопосредованные реакции
- Травма
- Микозы
- Неопластические процессы (вторичное воспаление)



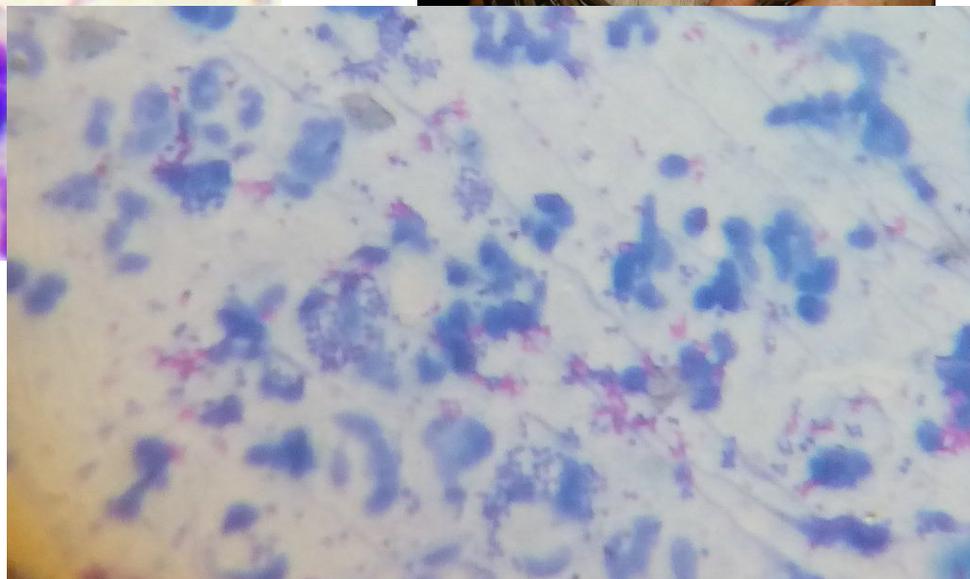
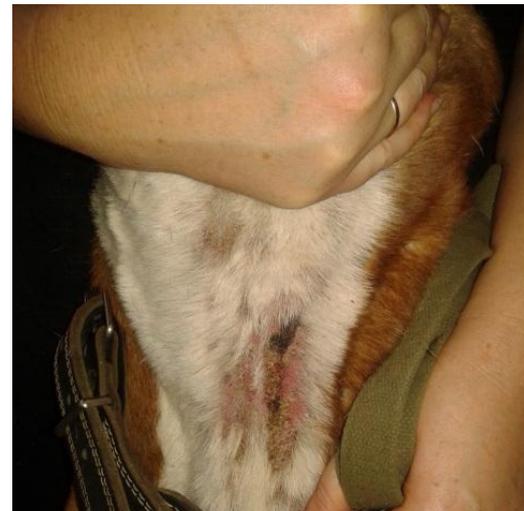
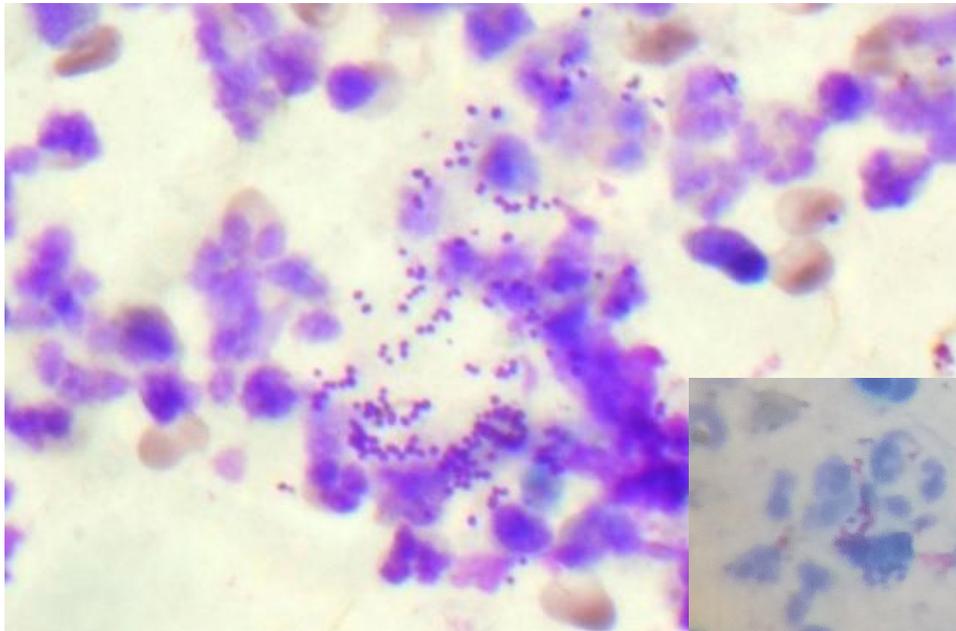
ПРЕОБЛАДАНИЕ НЕЙТРОФИЛОВ УКАЗЫВАЕТ НА ВОСПАЛЕНИЕ



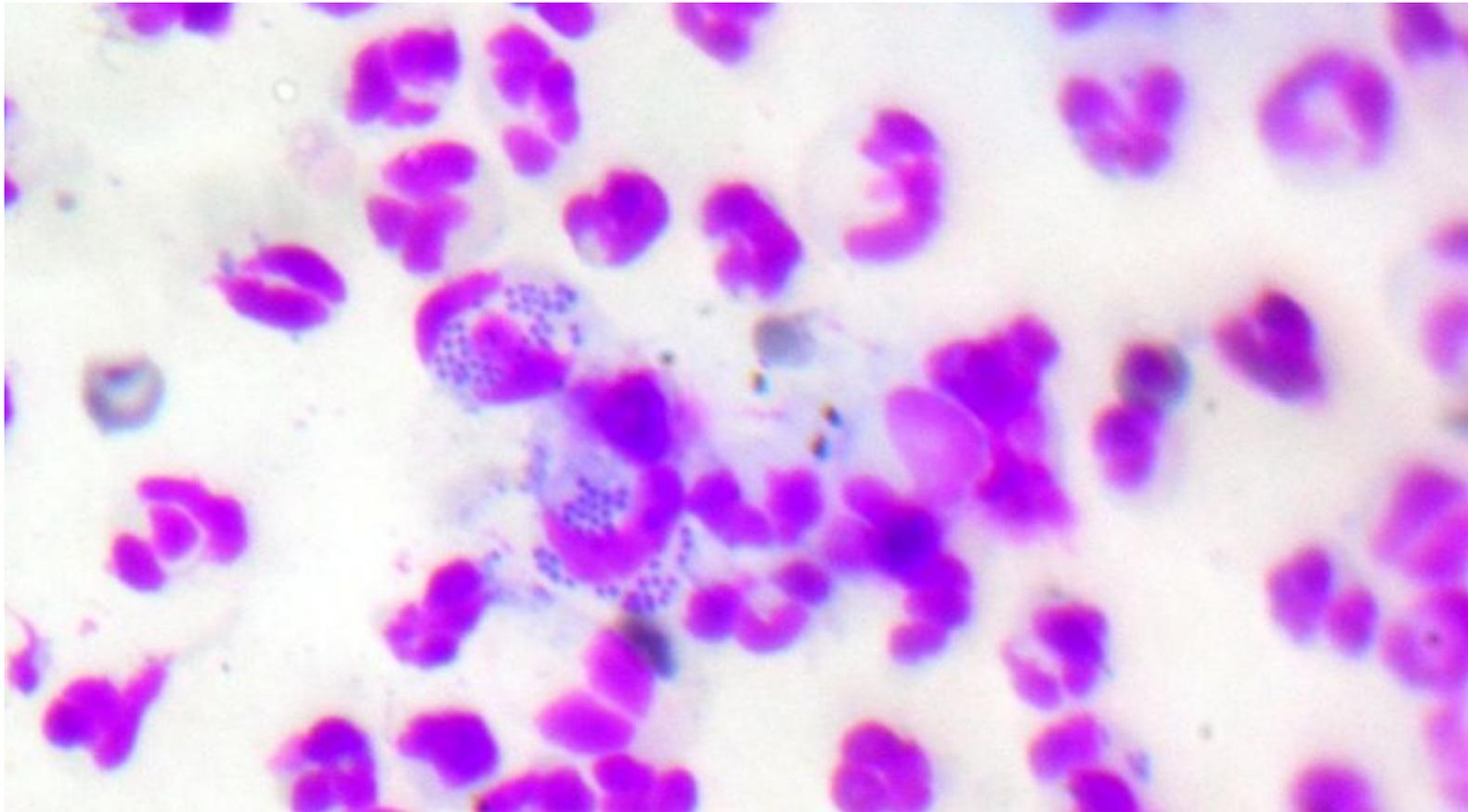
НЕЙТРОФИЛЫ ДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ И НЕ
ДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ = ВОСПАЛЕНИЕ



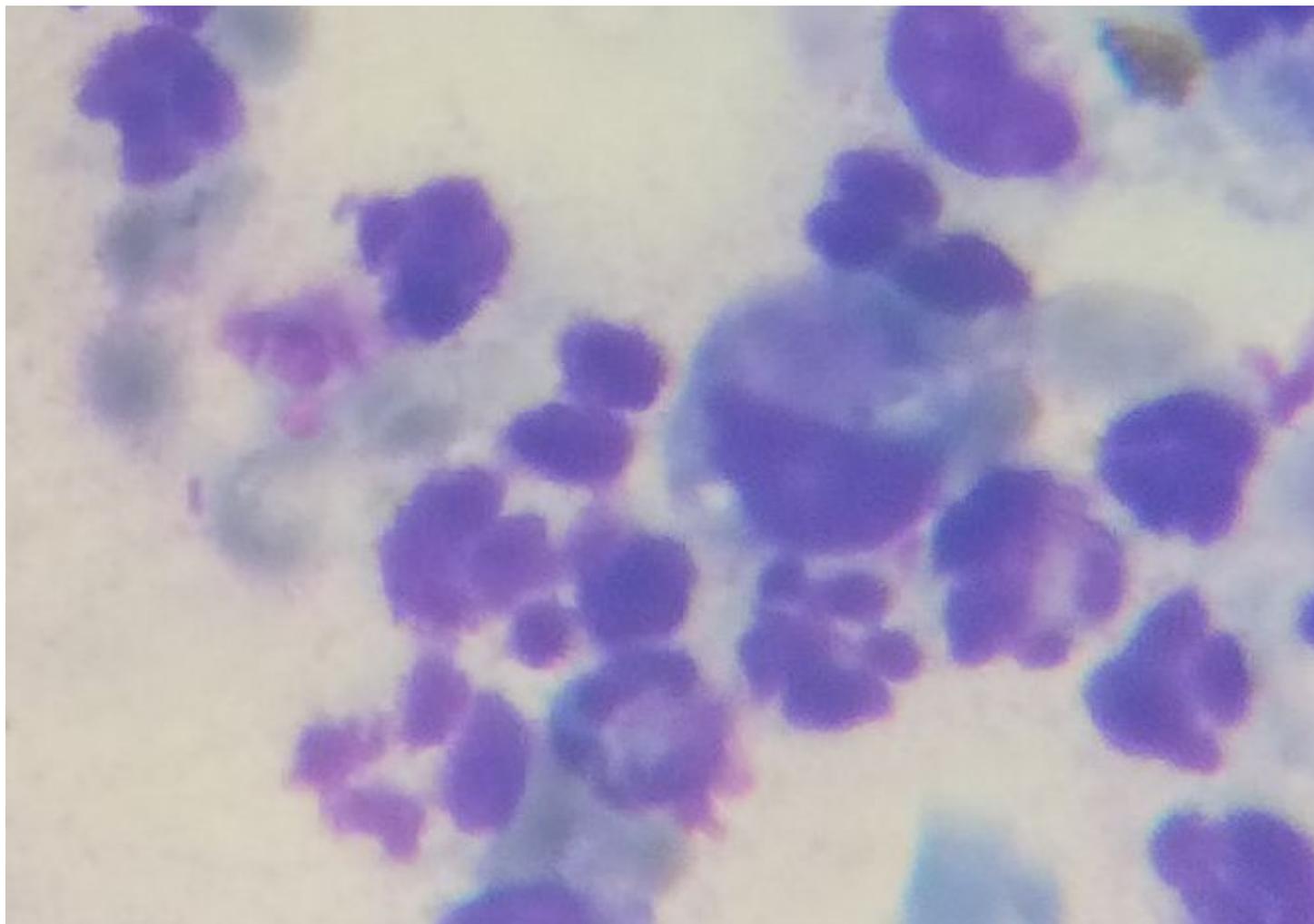
ДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ НЕЙТРОФИЛЫ + БАКТЕРИИ = ПИОДЕРМИЯ

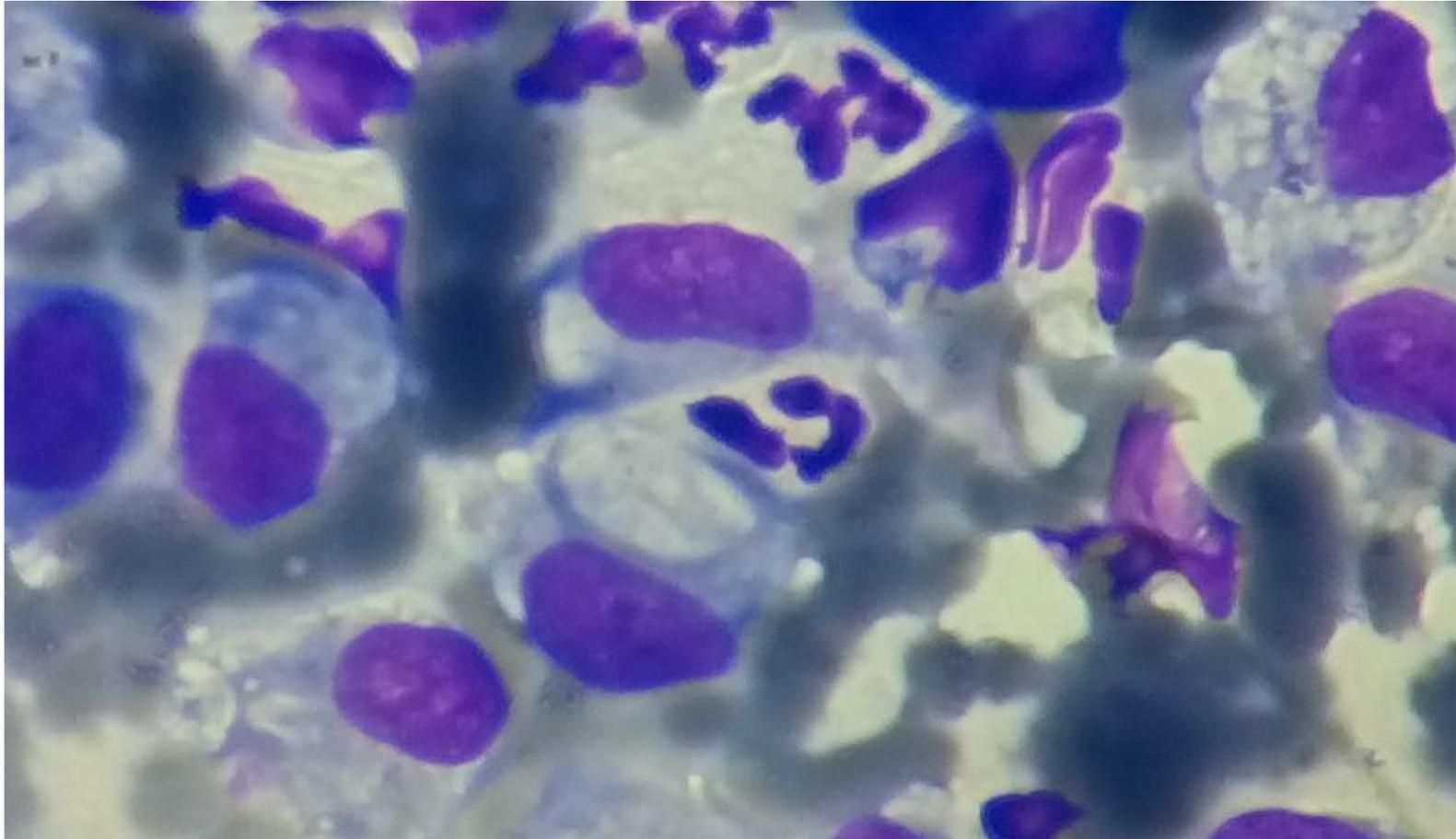


ФАГОЦИТОЗ



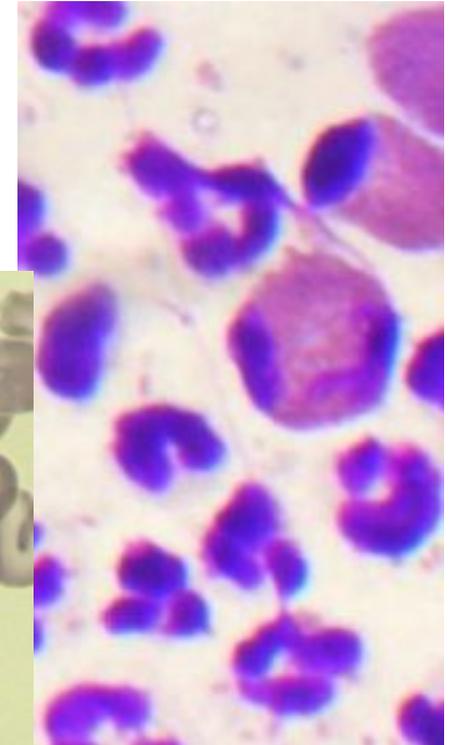
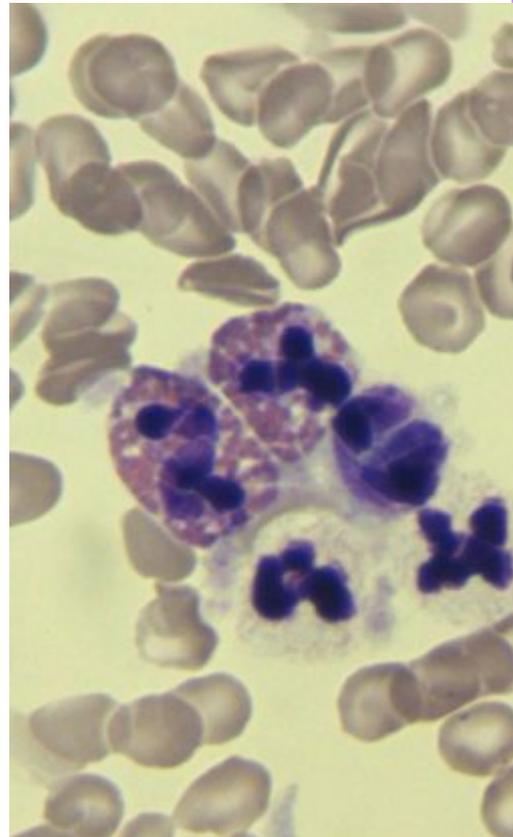
МАКРОФАГИ



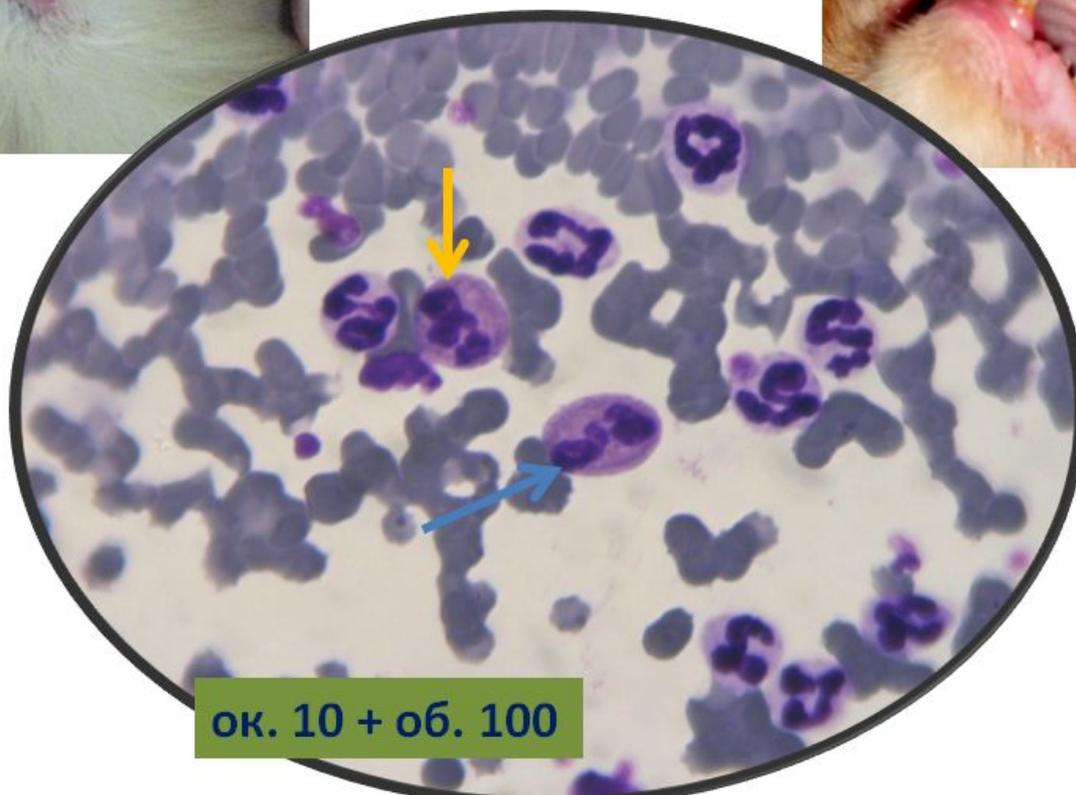


ЭОЗИНОФИЛЫ ПРАКТИЧЕСКИ В КАЖДОМ ПОЛЕ ЗРЕНИЯ

- Атопия, БАД
- Комплекс эозинофильной гранулемы (кошки)
- Эозинофильный фурункулез
- Паразитарные узелки
- Некоторые опухоли + атипичные клетки

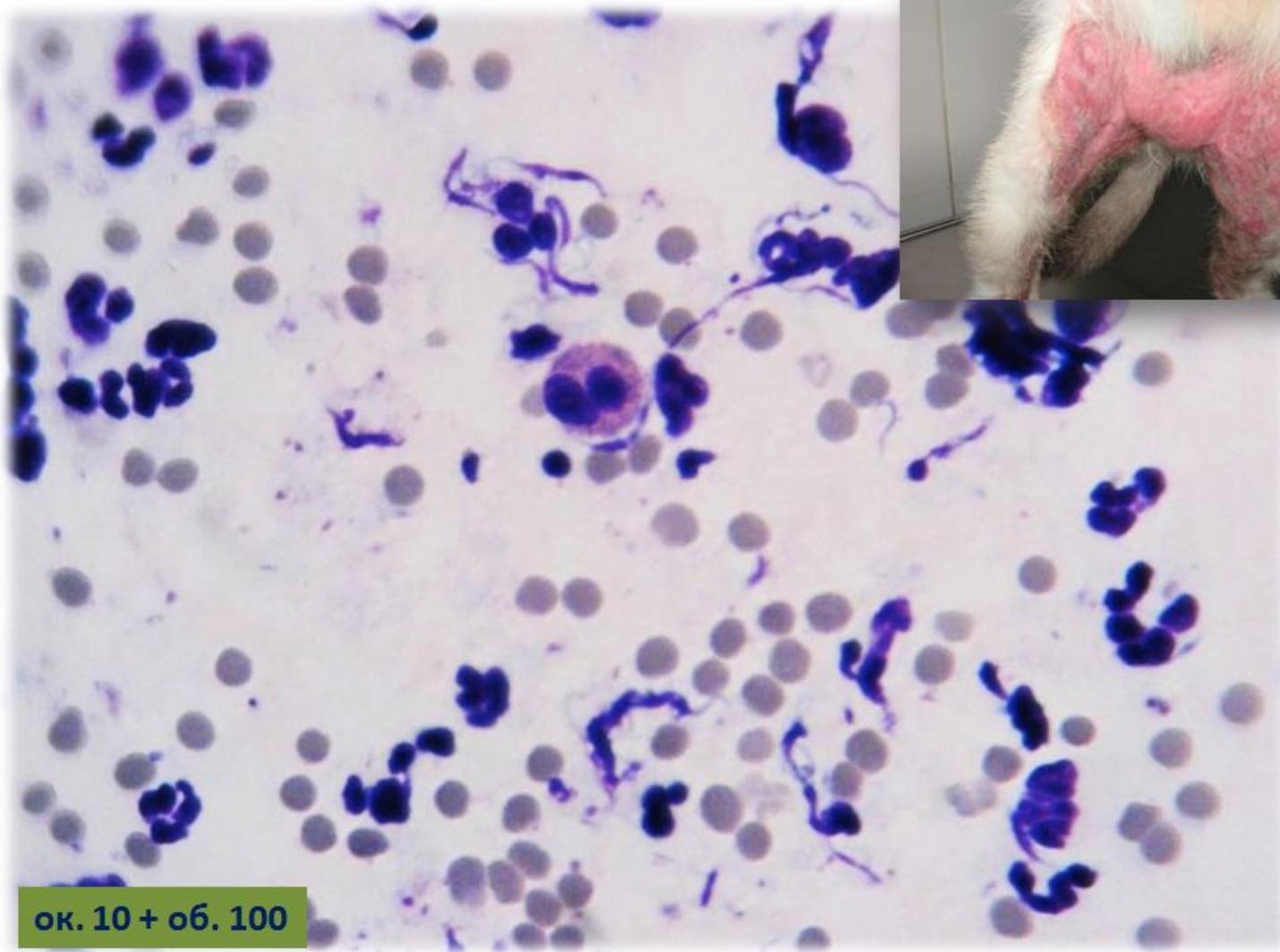


Комплекс эозинофильных гранулём



ок. 10 + об. 100





ок. 10 + об. 100

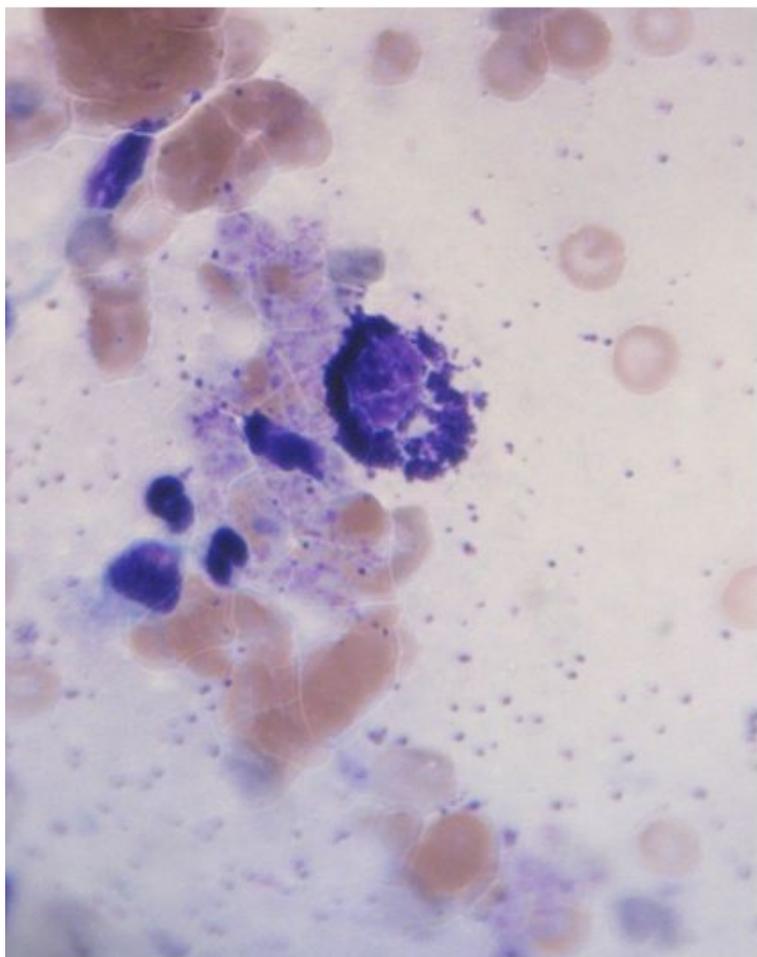


Тучные клетки

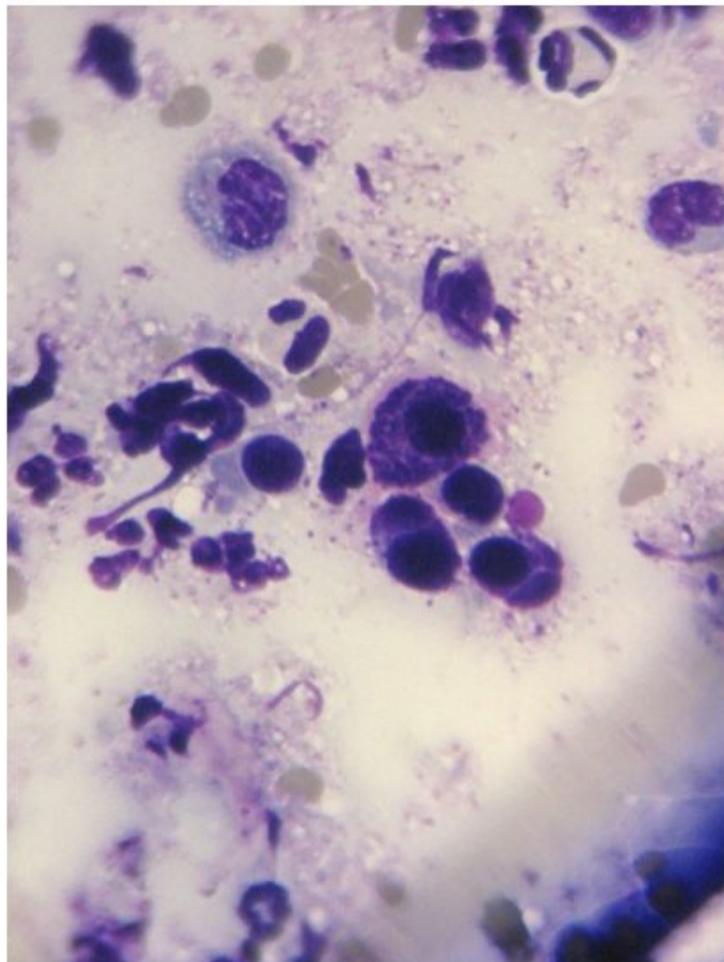
- БАД (+ эозинофилы)
- Укусы насекомых (+эозинофилы)
- Мастоцитомы



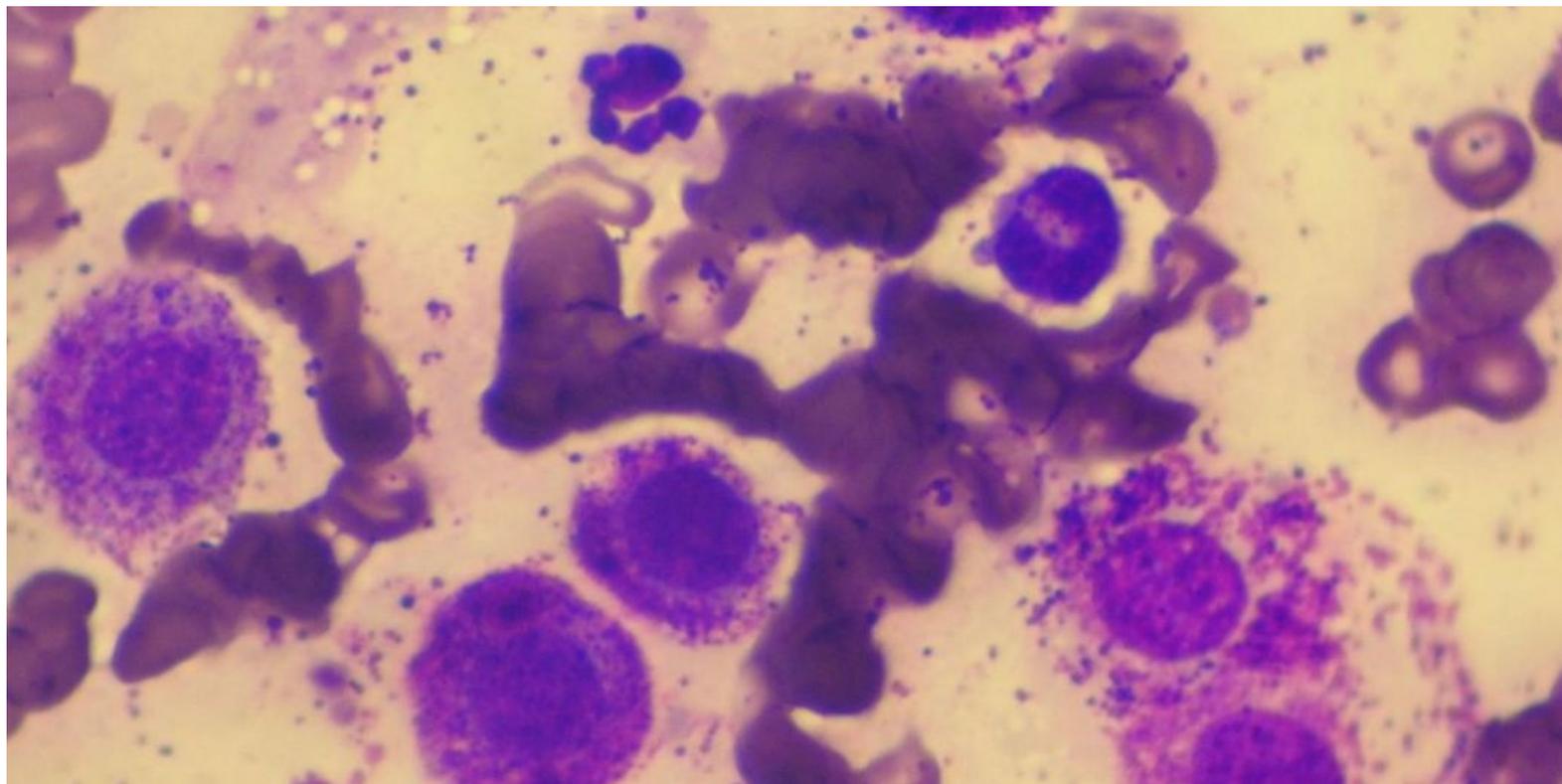
**Тучные клетки
(собака, саркоптоз)**



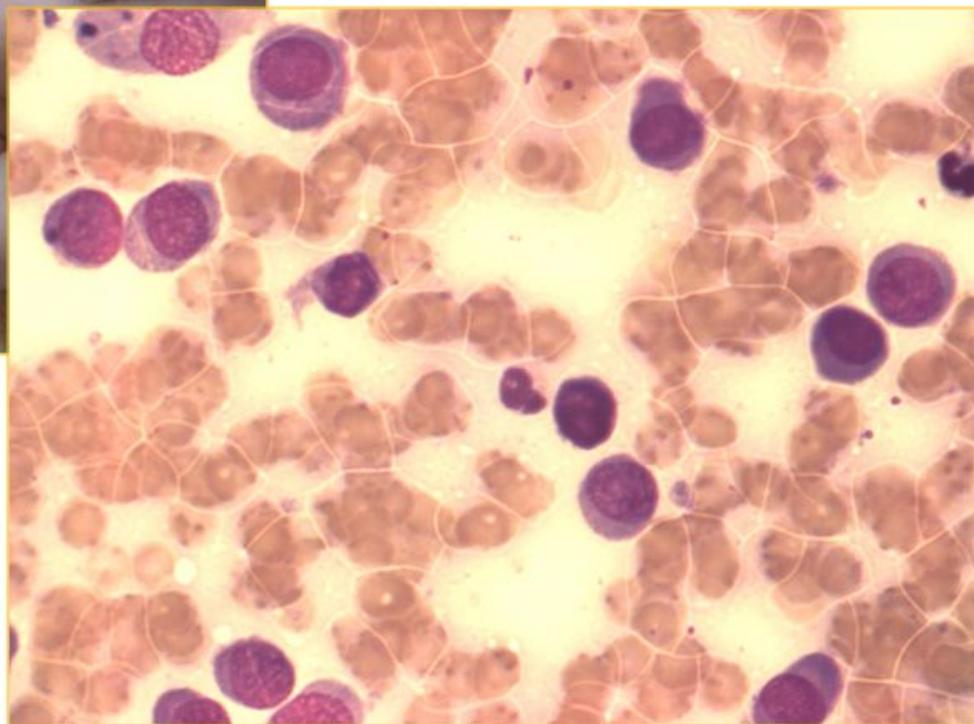
Тучные клетки (кошка, БАД)



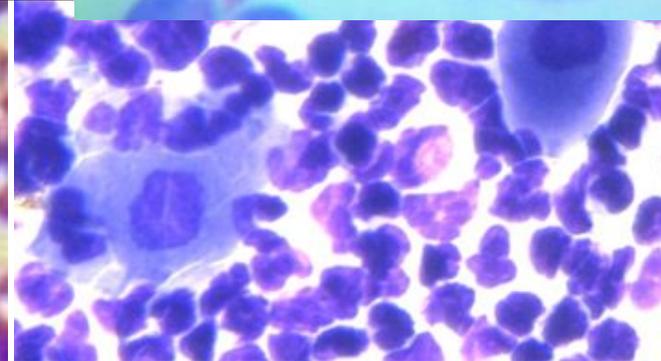
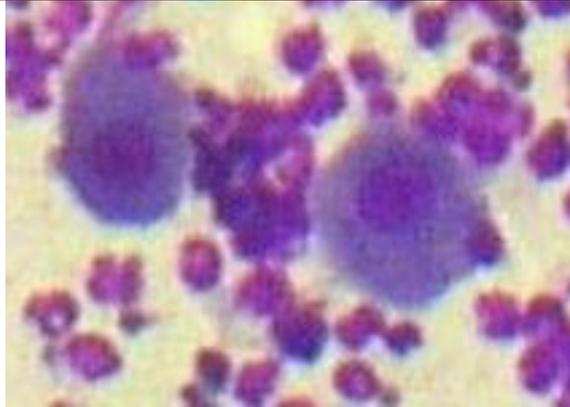
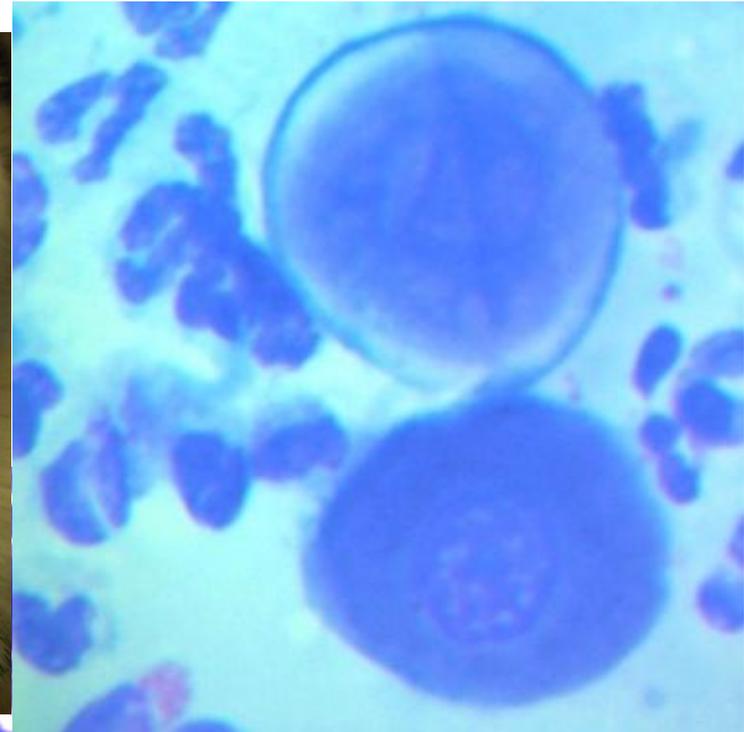
МАСТОЦИТОМА



Плазмноклеточный пододерматит



АКАНТОЛИТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ + НЕДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ НЕЙТРОФИЛЫ В БОЛЬШОМ КОЛИЧЕСТВЕ = АУТОИММУННЫЙ ДЕРМАТИТ (ЛИСТОВИДНАЯ ПУЗЫРЧАТКА И Т.П.)



Нодулярные поражения

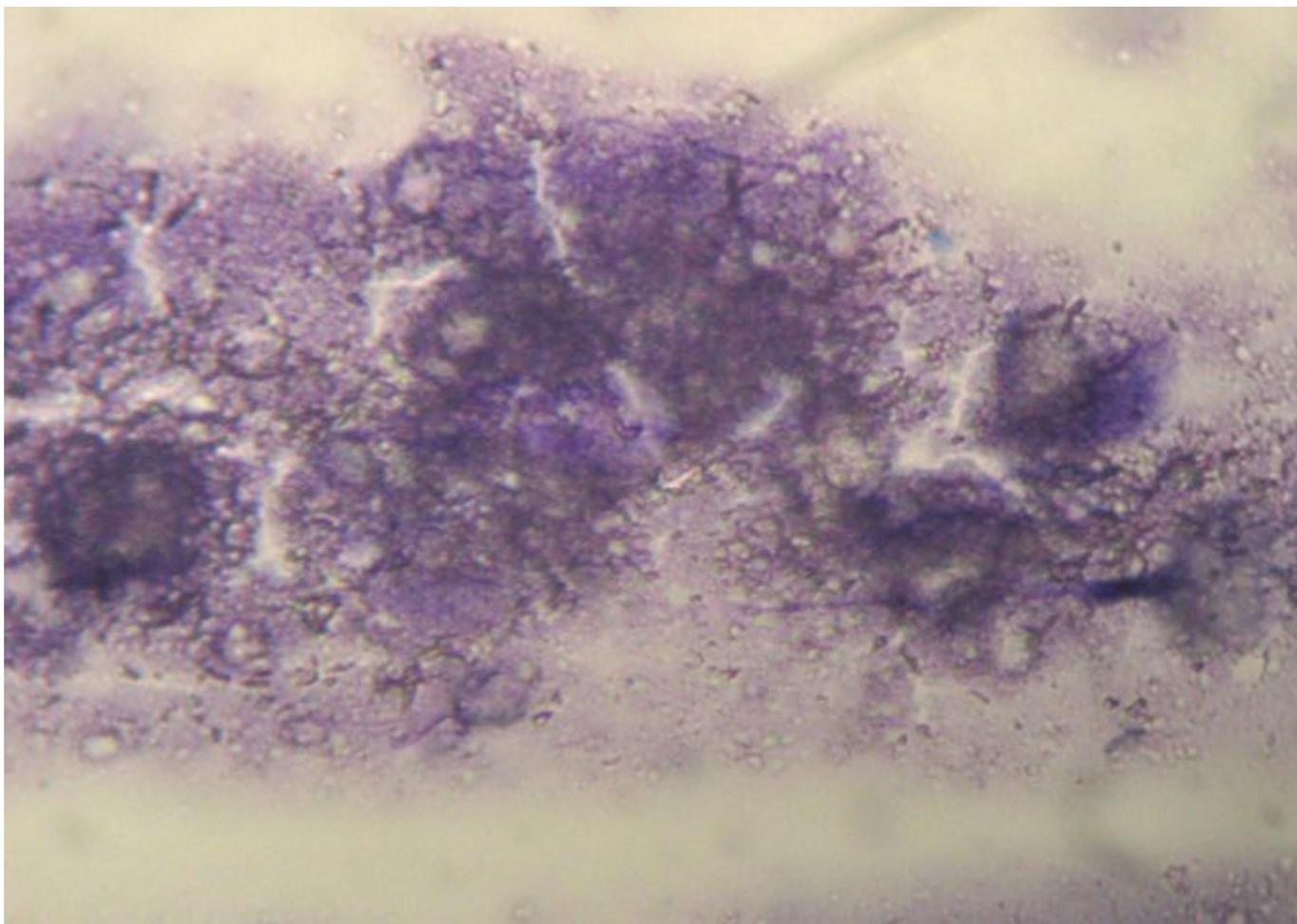


ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЕ ДИАГНОЗЫ

- Воспаление или опухоль
- Доброкачественная или злокачественная
- Мезенхимальная/ эпителиальная/ круглоклеточные (гемопозитические)



ОЧАГОВЫЙ КАЛЬЦИНОЗ КОЖИ

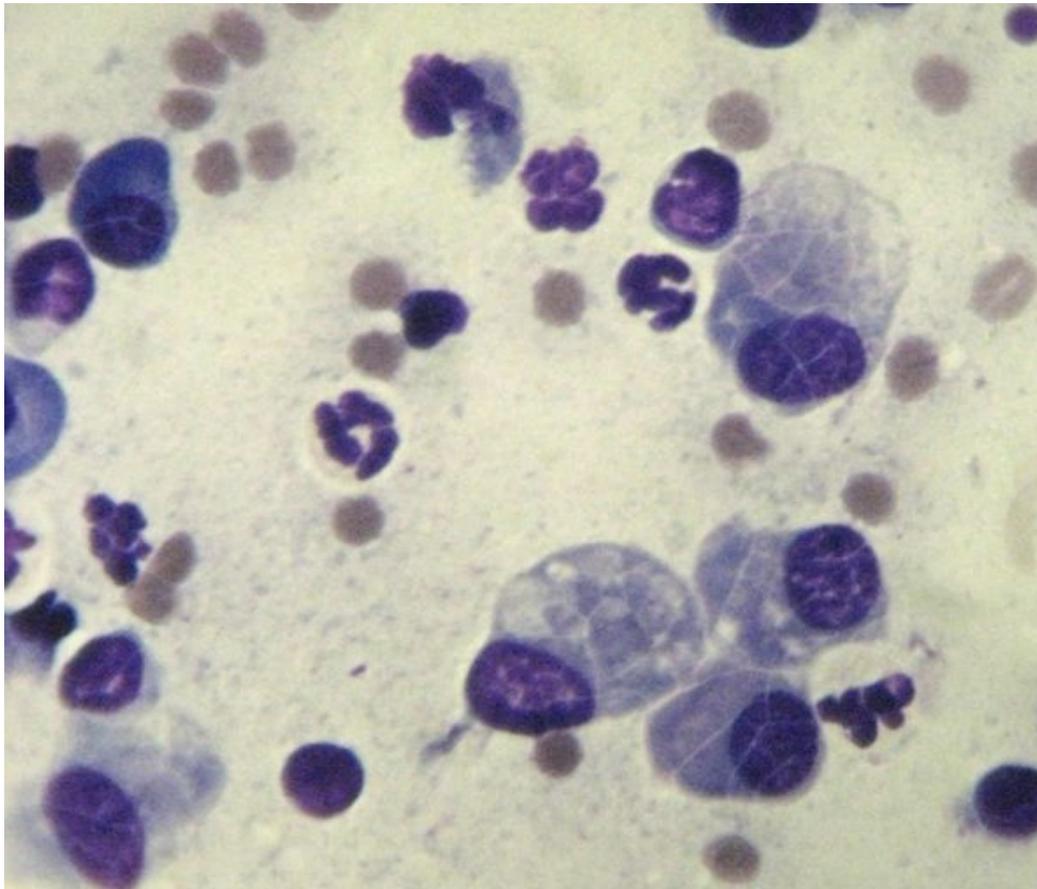


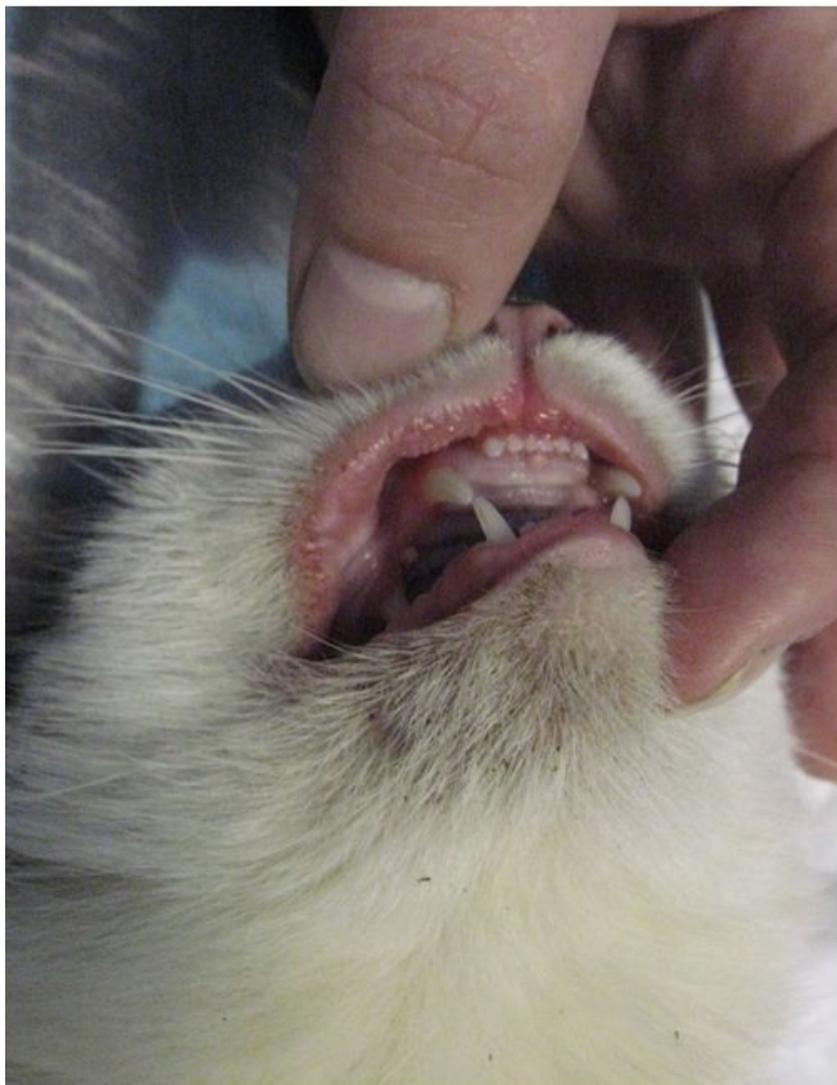
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ НОДУЛЯРНЫЕ ПОРАЖЕНИЯ — ГРАНУЛЕМЫ.

- Бактериальные
- Грибковые
- Паразитарные
- Стерильные гранулемы
- Пиогранулемы



ЛИМФОЦИТЫ ПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ + МАКРОФАГИ =
ХРОНИЧЕСКАЯ ПИОДЕРМИЯ, МИКОЗЫ, ДЕМОДЕКОЗ,
ПЛАЗМОЦИТАРНЫЙ ПОДОДЕРМАТИТ.



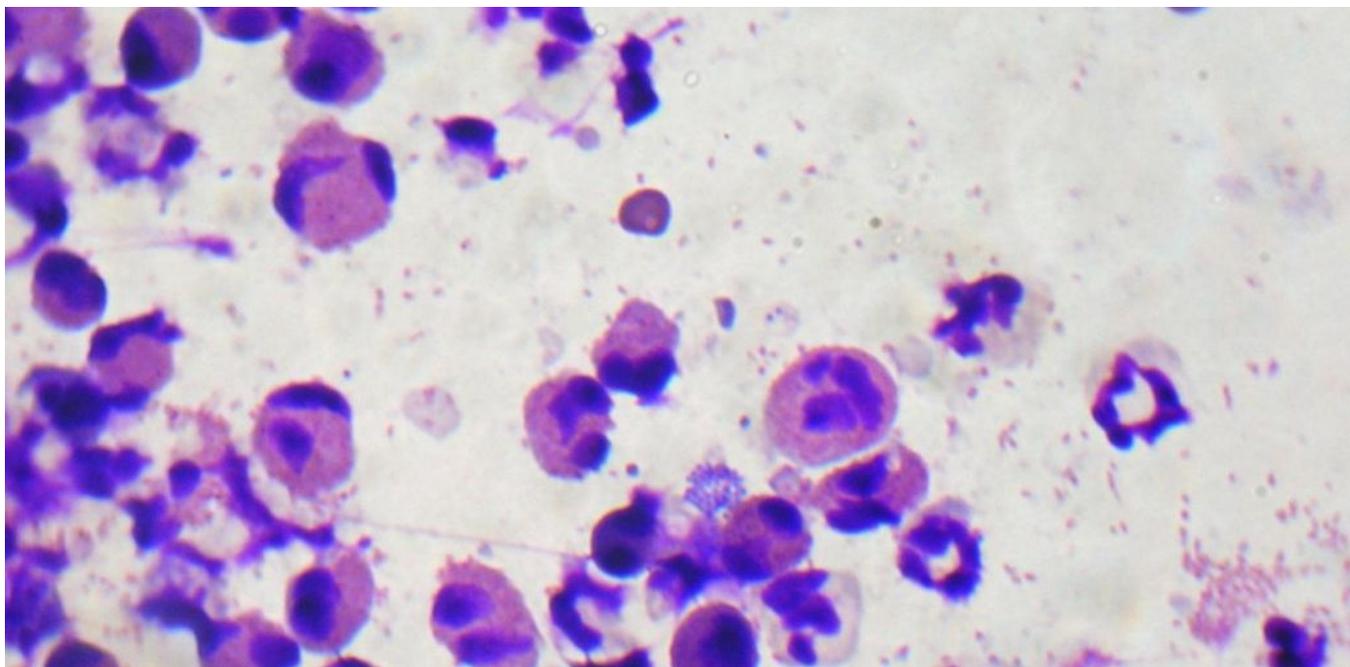


Комплекс эозинофильных гранулём кошек

- Индолентная язва
- Эозинофильная
бляшка
- Линейная гранулёма



ЭОЗИНОФИЛЬНАЯ ГРАНУЛЕМА



ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА.

□ Индолентная язва:

- Плоскоклеточная карцинома
- Герпесвирусная или кальцивирусная инфекция
- Мастоцитома
- Криптококкоз

□ Эозинофильная бляшка

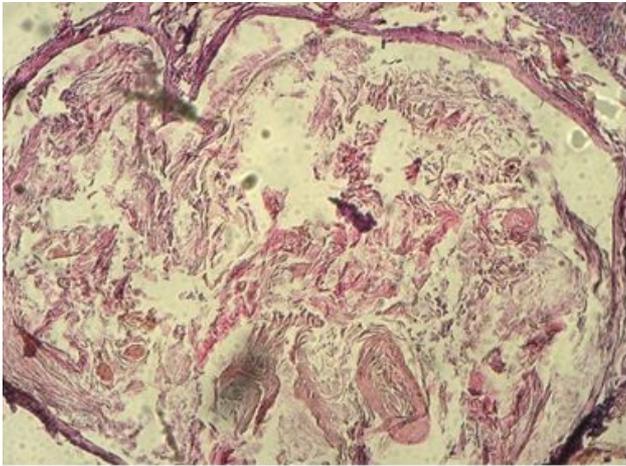
- Мастоцитома
- Плоскоклеточная карцинома
- Демодекоз
- Подкожный микоз
- Эпителиальная лимфома



ПРОЧИЕ НЕ ОПУХОЛЕВЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОЖИ

- Киста
- Гранулема
- Серома
- Прочее...





Кисты кожи: цитограмма

- чешуйки плоского эпителия
- жир, кристаллы жирных кислот, роговые массы
- мелкие мноморфные клетки железистого эпителия
- кристаллы холестерина.

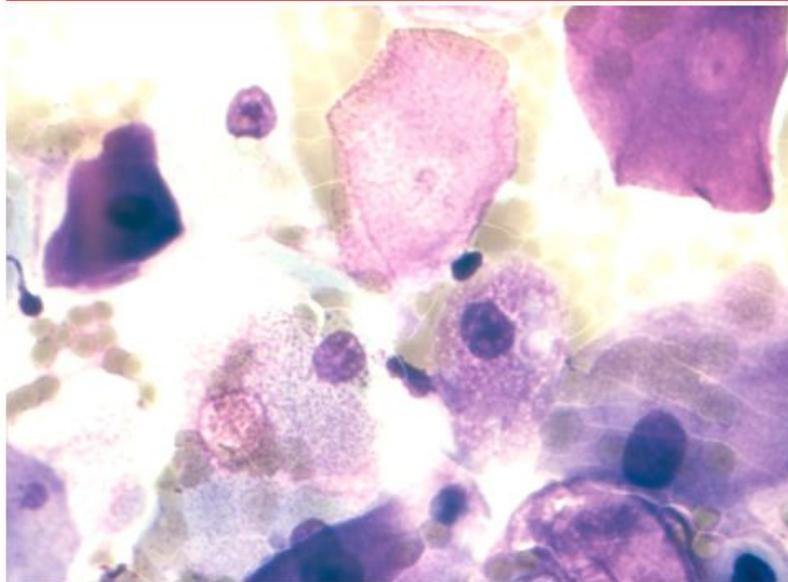


КИСТЫ КОЖИ.

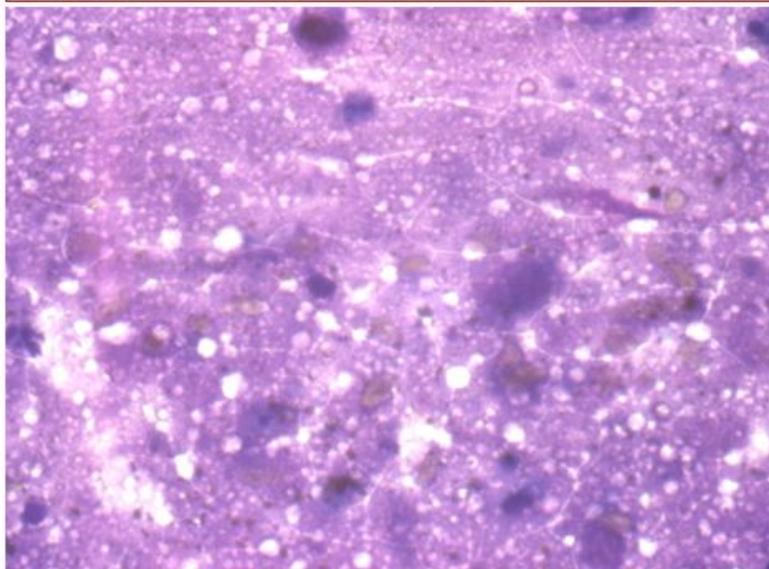
- Эпидермальные – обилие безядерных плоскоэпителиальных клеток, чешуйки плоского эпителия, бесструктурные массы
- Эпидермоидные кисты – чешуйки плоского эпителия, жир, кристаллы жирных кислот, роговые массы, мелкие мономорфные клетки железистого эпителия.
- Атеромы – кристаллы холестерина



- Эпидермальная киста собаки



- эпидермоидная киста кошки



КАЛЬЦИНОЗ КОЖИ

- Отложение солей кальция (от белого до серого цвета) в дерме и под кожей
- Кальциногранулема (на латеральной поверхности плюсны)
- При синдроме Кушинга – чаще спина, бока



НЕОПЛАЗИЯ



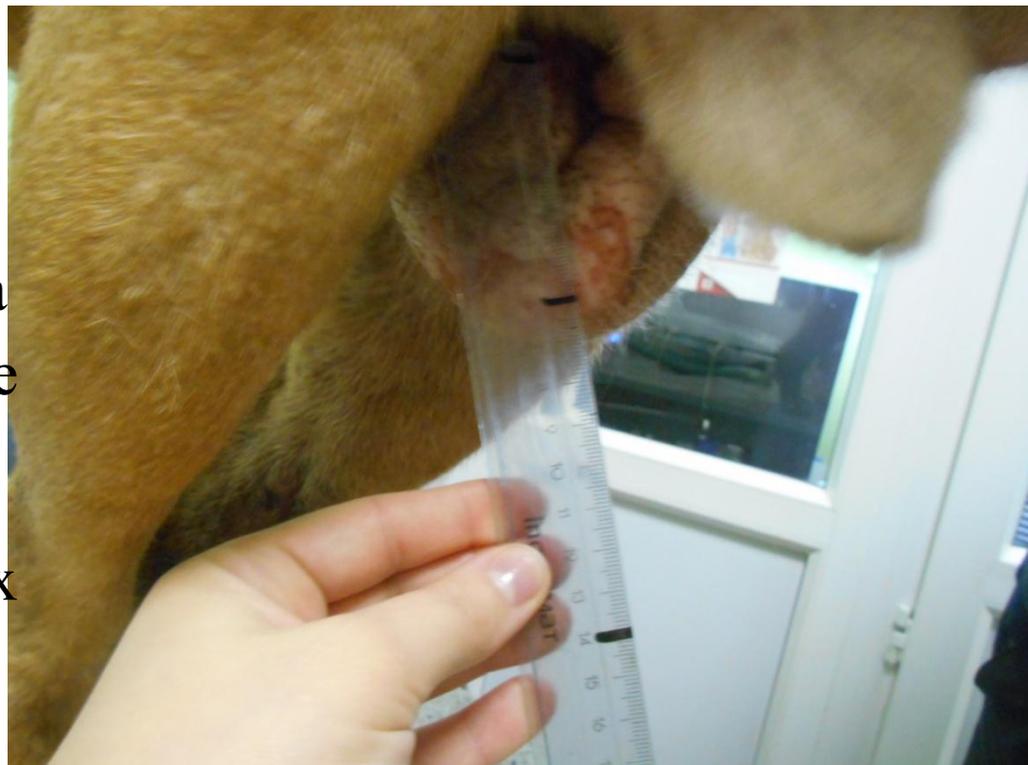
КРУГЛОКЛЕТОЧНЫЕ ОПУХОЛИ

- Мастоцитома
- Гистиоцитома
- Венерическая саркома
- Плазмоцитома
- Лимфома



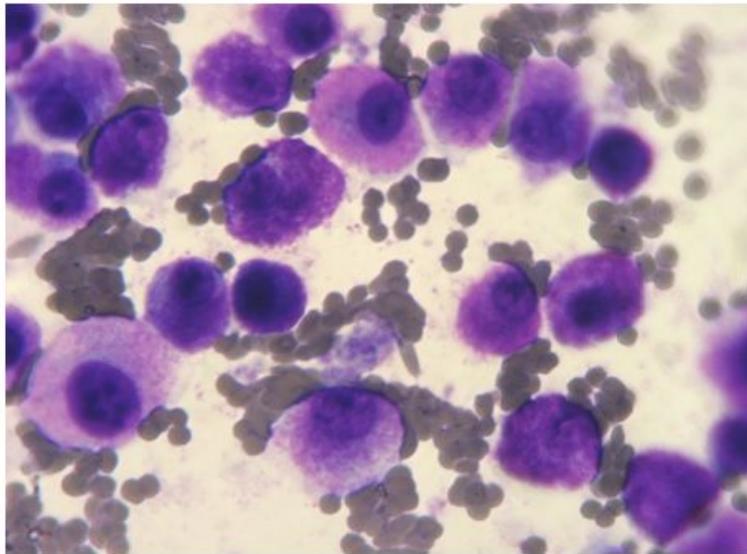
МастоцитОМА

- Много клеток
- Диаметр 10-35мкм
- Ядро от круглого до овального
- Агрегаты хроматина
- Цитоплазматические гранулы – круглые, овальные, хорошо окрашенные, разных размеров

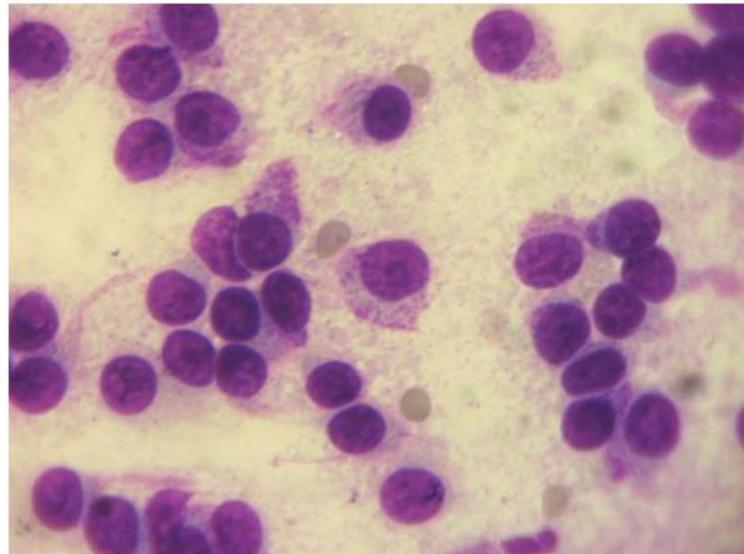


Мастоцитомы кошки

Высокозлокачественная

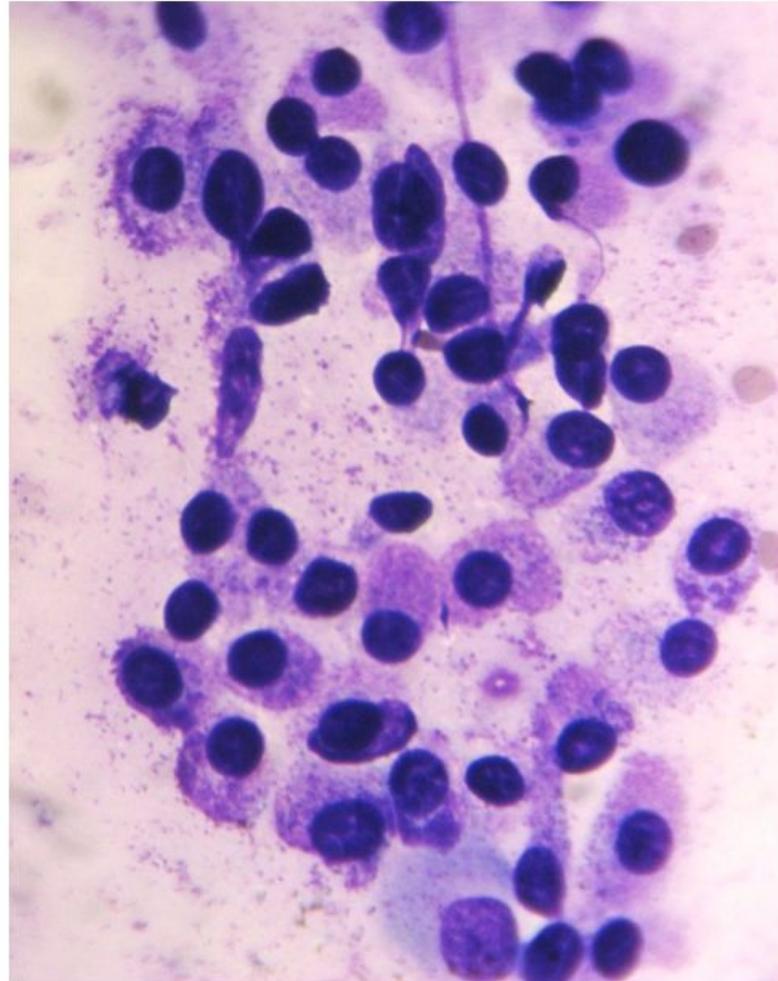


Гистиоцитарного типа



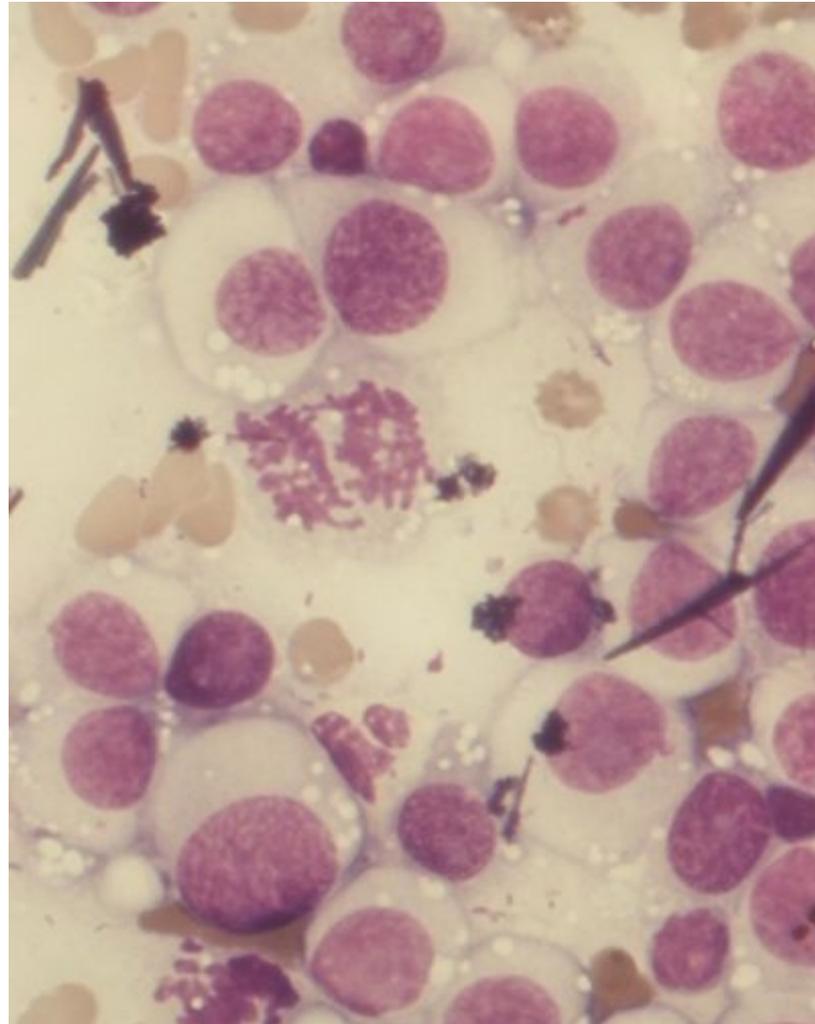
Мастоцитома

- круглоклеточная опухоль
- крупные одиночно расположенные клетки
- метахромно окрашенные зерна в цитоплазме



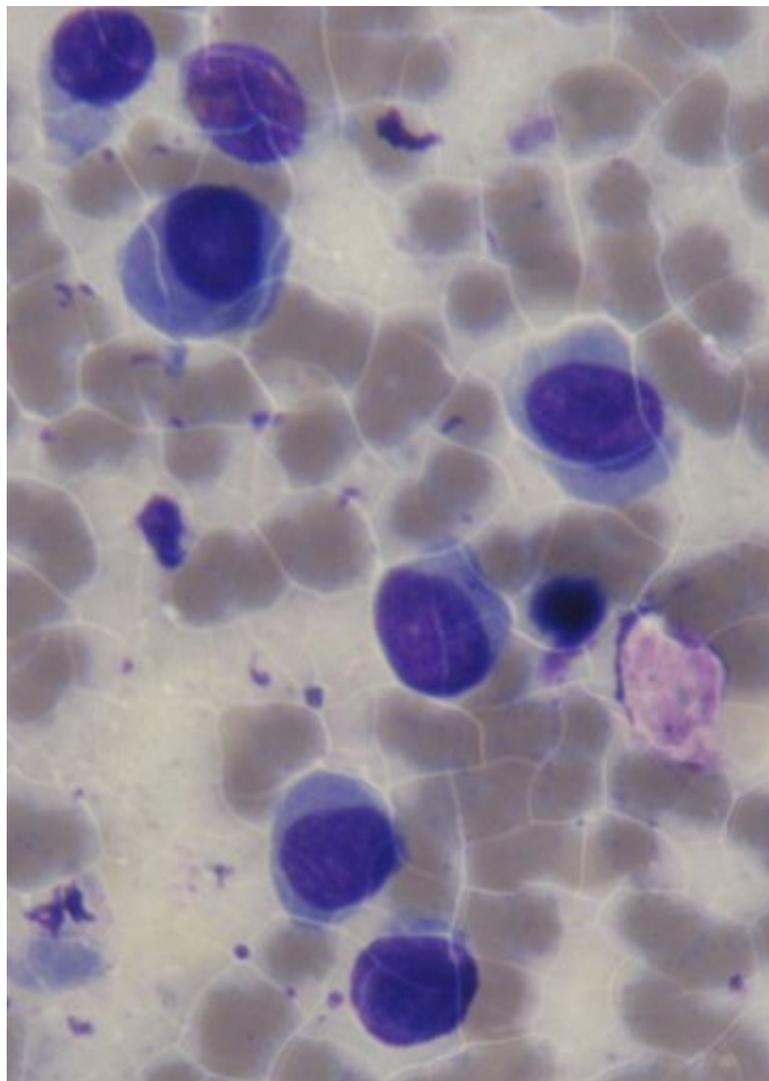
ГИСТИОЦИТОМА

- Часто собаки до 2х лет, возвышающееся образование без шерсти
- Округлы, овальные клетки
- Ядра большие светло окрашенные
- Ядрышко не видно
- Хроматин кружевной
- Цитоплазма бледно голубая, возможны вакуоли
- Часто плазматические клетки, лимфоциты-особенно при воспалении.



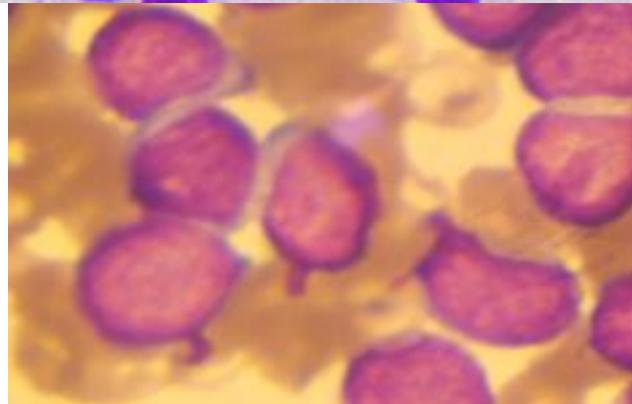
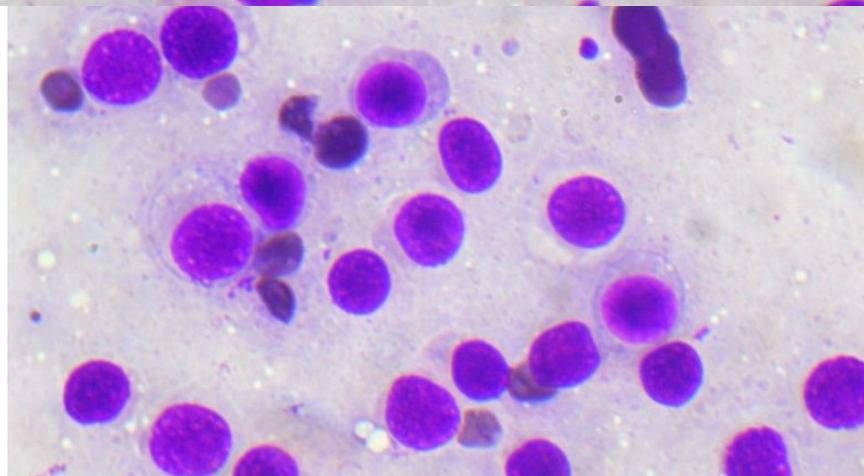
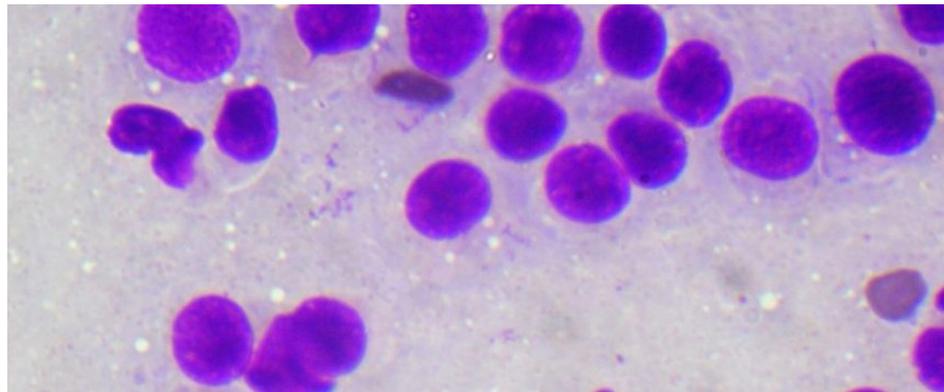
ПЛАЗМАЦИТОМА

- Чаще собаки
- Кожа пальцев, губы, морда, уши
- Возможно ротовая полость, ЖКТ.
- Плазматические клетки (округло-овальные 12-30 мкм)
- Хроматин мелко конденсированный возможны ядрышки.



ЛИМФОМА

- Крайне редко
- Однородная популяция низкодифференцированных лимфоидных клеток
- Клетки больше нейтрофила, с разным количеством голубой цитоплазмы.
- Ядра круглые, хромотиом, могут содержать несколько ядрышек.
- Дифф. Диагноз гиперплазия лимфоидной ткани.



ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ ОПУХОЛИ

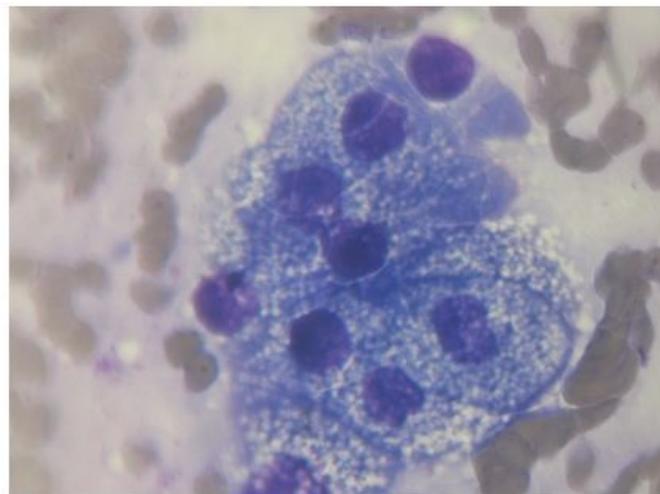
- Кератоакантома
- Плоскоклеточный рак.

Эпителиальные клетки обычно имеют форму от овальной до полигональной и склонны к образованию слоев или конгломератов по средствам мембранных структур.



АДЕНОМА САЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗ

- Доброкачественная эпителиальная опухоль
- Мелкие ядра с конденсированным хроматином
- Цитоплазма обильная, вакуолизированная
- Пластами и группами
- Нет цитологических критериев дифференцировки аденомы от гиперплазии.



МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОК ПРИЗНАКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

Цитоплазматические критерии

- ▣ Макроцитоз
- ▣ Неоднородное восприятие красителя (изменение степени базофилии)
- ▣ Анизоцитоз клеток
- ▣ Атипичные включения
- ▣ Патологические вакуолизация
- ▣ Изменения специфических гранул
- ▣ Изменение ядерно-цитоплазматического индекса.

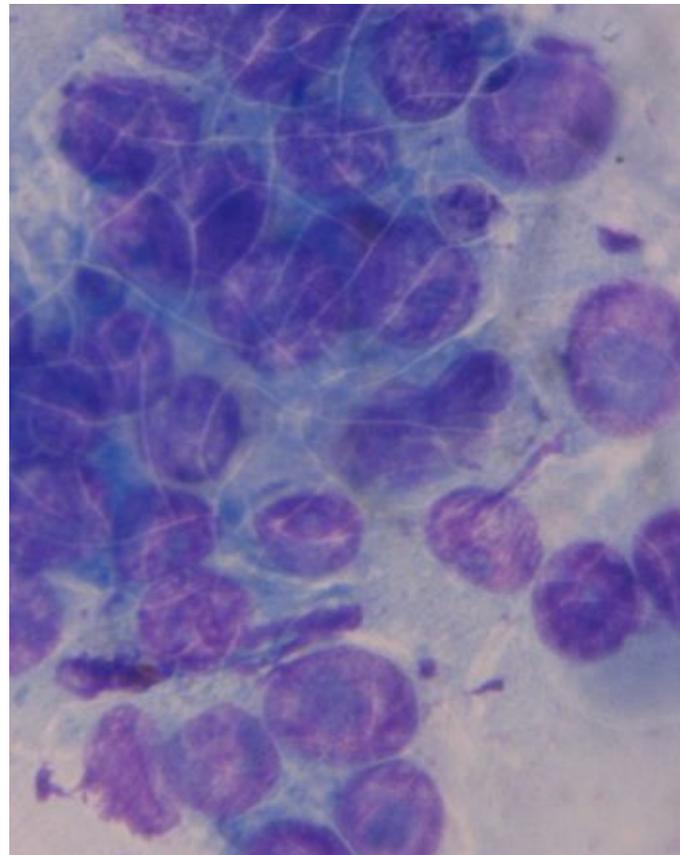
Ядерные клетки

- ▣ Макрокариоз
- ▣ Анизокариоз
- ▣ Изменение формы ядра
- ▣ Разрежение или гиперхромазия хроматина
- ▣ Анизохромазия



ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК

характеризуется полиморфными атипичными эпителиальными клетками с четко выраженными критериями злокачественности. Форма клеток разнообразная: округлая, полигональная, вытянутая, змеевидная и причудливая. Ядра полиморфные, с грубым рисунком хроматина, гиперхромные, с неровными контурами, ядрышки (1-4) выявляются в относительно светлых ядрах.



МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ ОПУХОЛИ

- Липома
- Фиброма
- Саркомы
- Меланома/меланоцитома

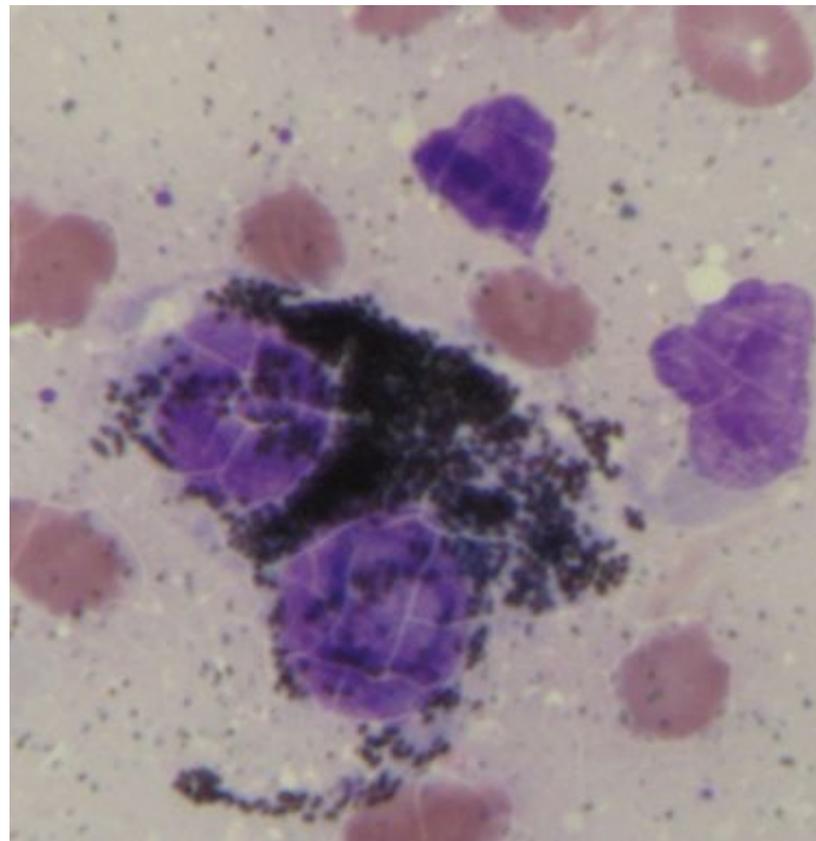


ЛИПОМА



МЕЛАНОМА И МЕЛАНОЦИТОМА

- Меланома содержит в цитоплазме гранулы пигмента меланина
- Ядра полиморфные, грубоглыбчатые, часто с увеличенными ядрышками
- Существуют безпигментные меланомы — пигмент выявляется лишь в некоторых клетках в виде аспидно-серого облачка в цитоплазме.



Цитология важный и не заменимый
инструмент врача дерматолога, но ее
результаты следует интерпретировать в
соответствии с общей
клинической картиной!





ВАШИ ВОПРОСЫ?

