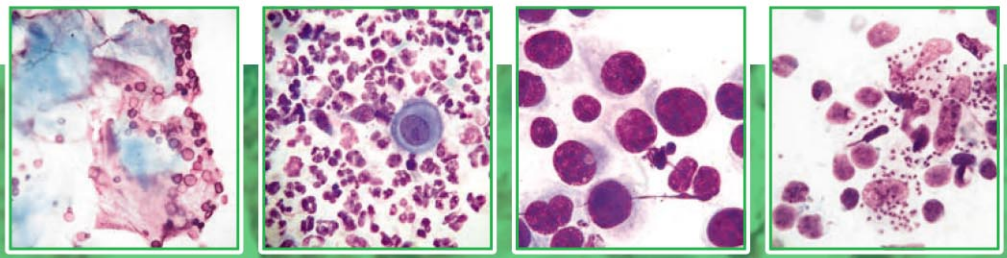
БИБЛИОТЕКА ЦИТОЛОГА

М. Дурду

Цитопатология кожи

Проба Цанка

Перевод с английского под редакцией
И.А. Кузьмичевой и Е.С. Федосеевой



практическая медицина

УДК 616.5-091.8
ББК 52.5
Д84

Дурду М.

Д84 Цитопатология кожи. Проба Цанка / М. Дурду; пер. с англ. под ред. И.А. Кузьмичевой, Е.С. Федосеевой. — М.: Практическая медицина, 2021. — 336 с. — доп. тит. л. англ. (Серия: Библиотека цитолога)

ISBN 978-3-030-10721-5 (англ.)
ISBN 978-5-98811-648-6 (рус.)

Книга представляет собой полноценное руководство по цитологической диагностике заболеваний кожи. Помимо традиционных опухолевых заболеваний, в ней детально рассмотрен широкий спектр неопухолевых поражений, которые гораздо чаще встречаются в клинической практике.

Изложенные алгоритмы оценки материала и ключевые признаки каждой нозологии позволяют оптимизировать диагностический поиск и лечебный процесс.

Для специалистов цитологической и клинической лабораторной диагностики, дерматологов и врачей различных специальностей, сталкивающихся в своей практике с заболеваниями кожи.

УДК 616.5-091.8
ББК 52.5

Настоящее издание было впервые опубликовано на английском языке под названием Cutaneous Cytology and Tzanck Smear Test (by Murat Durdu), edition 1. Издание было переведено и опубликовано по контракту со Springer Nature Switzerland AG. Springer Nature Switzerland AG не несет ответственности и обязательств в отношении точности перевода.

Издано при поддержке

СУТО-ЛАБ

Научно-практическое издание

Серия «Библиотека цитолога»

М. Дурду

ЦИТОПАТОЛОГИЯ КОЖИ. ПРОБА ЦАНКА

Перевод с английского под редакцией
Кузьмичевой Ирины Александровны,
Федосеевой Евгении Сергеевны

Главный редактор канд. мед. наук *Д.Д. Проценко*
Ответственный редактор *Т.А. Магась*
Корректор *А.М. Кольцова*
Макет, верстка *В.С. Чукашев*

Подписано в печать 30.04.2021
Формат 70 × 100$^{1}/_{16}$. Объем 15,85 авт. л. / 21 п. л.
Тираж 1000 экз. Заказ

Издательство «Практическая медицина».
115201, Москва, 1-й Котляковский пер., д. 3.
Тел. +7 (495) 324-93-29. E-mail: medprint@mail.ru (редакция).
Тел. +7 (495) 981-91-03. E-mail: opt@medprint.ru (отдел реализации)
WWW.MEDPRINT.RU

ISBN 978-3-030-10721-5 (англ.)
ISBN 978-5-98811-648-6 (рус.)

© Springer Nature Switzerland AG, 2019
© практическая медицина, перевод и оформление, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

Сокращения 8
Предисловие 9
Благодарности 10

1. История цитологии 11
Литература 14

2. Получение материала и его дальнейшая обработка 15
Получение материала и приготовление цитологических препаратов 16
Фиксация материала 20
Окраска материала 20
Окраска по Маю—Грюнвальду—Гимзе 30
Diff Quick 31
Быстрая окраска по Папаниколау (Cytocolor) 32
Окраска метиленовым синим 32
Окраска толуидиновым синим 36
Литература 39

3. Цитологическая диагностика заболеваний кожи 40
Оценка цитологических препаратов 42
Оценка адекватности препарата 42
Микроскопическое исследование 42

4. Цитологическая терминология 45
Клетки 45
Возбудители инфекций 46
Клеточные паттерны 46
Внеклеточные элементы 47
Клетки плоского эпителия 47
Койлоциты 56
Эмпериполез 59
Клеточный каннибализм 59
Клетки крови 59
Другие клетки 67
Себоциты 69
Возбудители инфекций 76
Клеточные паттерны 80
Внеклеточные структуры 92
Литература 98

5. Диагностика акантолитических заболеваний 99
Гигантские многоядерные клетки и акантолитические клетки 101
Акантолитические клетки с признаками дискератоза и кокки 105
Акантолитические клетки, округлые тельца и зерна 110
Неровный контур ядер акантолитических клеток 113
Отложения IgG вокруг акантолитических клеток 119
Акантолитические клетки без отложения иммуноглобулинов 125
Литература 128

6. Диагностика спонгиозного дерматита 129
Эозинофилы, тучные клетки (мастоциты) и клетки-головастики 133
Гигантские многоядерные клетки, акантолитические клетки и клетки-головастики 135
Акантолитические клетки и клетки-головастики 135
Бактерии и клетки-головастики 139
Гифы, споры и клетки-головастики 141
Недержание пигмента — меланоциты, эозинофилы и клетки-головастики 143
Многочисленные клетки-головастики 143
Литература 148

7. Диагностика пустулезных поражений 149
Гигантские многоядерные клетки и акантолитические клетки 150
Тельца контагиозного моллюска 152
Зрелые особи и яйца паразитов 154
Демодекс 156
Чесоточный клещ 160
Личинки 160
Гифы, псевдогифы и споры 164
Почкующиеся споры 165
Гифы и споры 170
Псевдогифы и споры 173
Кокки или палочки в отсутствие других инфекционных агентов 174
Многочисленные эозинофилы в отсутствие инфекционного агента 180
Литература 186

8. Диагностика гранулематозных поражений 188
Кожный лейшманиоз 191
Гифы, псевдогифы и споры 195
Шаровидные скопления бактерий 218
Нитчатые бактерии 220
Кислотоустойчивые бактерии 221
Гигантские многоядерные клетки Тутона и пенистые гистиоциты 229

Инородные тела 233
Демодекс (Demodex) 237
Трофозоиты 240
Палисадные гранулемы и муцин 241
Некротизированный коллаген 244
Неинфекционные гранулемы без казеозного некроза 244
Литература 248

9. Диагностика опухолевых заболеваний 251

Эпидермальные и дермальные невоидные клетки 255
Кератиноциты с ШИК-позитивной цитоплазмой 259
Скопления себоцитов 261
Фибробласты, гистиоциты и коллагенизированная строма 263
Базалоидные клетки, окружающие гиалиновое вещество и роговые массы 266
Гиперкератоз, роговые кисты и базалоидные клетки 268
Мастоциты с метахромными гранулами 270
«Клубки» веллусных (пушковых) волос 270
Кальцификаты, клетки-тени и скопления базалоидных клеток 273
Скопления базалоидных клеток 277
Фокальная атипия кератиноцитов 287
Фокальная атипия кератиноцитов, скопления атипичных кератиноцитов 289
Выраженная атипия кератиноцитов во всех полях зрения 291
Атипичные себоциты 296
Атипичные эпителиоидные гистиоциты 296
Скопления атипичных базалоидных клеток в форме запятой, гиалиновое вещество 301
Многочисленные атипичные меланоциты 301
Веретеновидные клетки с сигароподобными ядрами 310
Атипичные плазматические клетки 314
Атипичные лимфоциты 314
Педжетоидные клетки, лежащие разрозненно или в скоплениях 327
Атипичные клетки неизвестного происхождения 330
Литература 334

1 ИСТОРИЯ ЦИТОЛОГИИ

Цитология — это диагностический метод, основанный на выявлении морфологических изменений в клетках при различных заболеваниях. Цитологические исследования стали возможны после изобретения микроскопа, который позволил увидеть, что «все живые организмы построены из клеток». Тем не менее, многие известные патологоанатомы, например, итальянец Джованни Баптиста Морганьи (1682–1771), британец Мэтью Бэйли (1761–1823) и француз Мари Франсуа Ксавье Биша (1771–1802), отказались от использования микроскопа, отложив, таким образом, его применение в диагностике до начала XIX века. Первые цитологические исследования выполнил немецкий физиолог и анатом Иоганнес Мюллер (1801–1858) в 1838 году. Работая в Берлине, он исследовал опухолевые клетки в образцах, полученных из ткани опухоли при ее хирургическом иссечении. Со временем цитологический метод получил более широкое распространение — немецкий патологоанатом Леберт (1813–1878) изучал клеточный состав выпотных жидкостей, мокроты и мочи (**табл. 1.1, рис. 1.1 и 1.2**) [1].

В дерматологии первые цитологические исследования были выполнены Арно Цанком (1886–1954)*. Он описал акантолитические клетки при пемфигусе (пузырчатке), а также гигантские многоядерные и акантолитические клетки при герпетической инфекции. Позже он опубликовал ряд работ, посвященных цитологическим характеристикам некоторых опухолей кожи. Кроме того, вместе с Дарье и Сиваттом,

* Арно Цанк родился во Владикавказе (Северная Осетия). В 4-летнем возрасте он эмигрировал с семьей в Париж. Арно поступил в лицей и увлекся медициной. Он изучал кожные и венерические болезни. В 1914 году написал диссертацию на тему “Traitement de la paralysie générale” (Лечение общего паралича). Во время Первой мировой войны Цанк был прикреплен к службе скорой помощи хирурга Антонина Госсе, одного из пионеров переливания крови во Франции. После войны он продолжил заниматься дерматологией в Париже, но молодого врача все больше привлекала гематология. Имя Арно Цанка связано с изобретенным им аппаратом, который широко использовался для гемотрансфузии во Франции. Также он известен благодаря разработанному тесту — микроскопическому исследованию соскобов с различных опухолевых и очаговых поражений кожи (особенно пузырчатки). Проба Цанка до сих пор широко используется в качестве теста на герпес и другие заболевания. Он также экспериментировал с различными методами сбережения крови и кровезаменителей. Наиболее значительный вклад Цанк внес в организацию службы переливания крови во Франции, что в конечном итоге привело к созданию Национального центра переливания крови Sanguine. Центр был открыт в 1949 году под его непосредственным руководством. Арно Цанк воспитал целое поколение серологов и иммунологов (*Прим. науч. ред.*).

Таблица 1.1. История цитологии [1, 2]

Изобретение микроскопа и открытие клетки	Гук (1660–1665) и Левенгук (1672)
«Темные века» — период забвения микроскопии	(1665–1838)
Первые цитологические исследования в медицинской практике	Мюллер (1838)
Цитологическое исследование в ранней диагностике рака шейки матки	Глудж (1843)
Цитологическая диагностика опухолей паращитовидной железы	Фогель (1843)
Цитологическая диагностика сарком	Уолш (1844)
Цитологическое исследование выпотов, выделений и мочи	Леберт (1845)
Цитологическое исследование мокроты с примесью крови	Уолш (1846)
Аспирационная биопсия в диагностике рака молочной железы	Педжет (1853)
Цитологическое исследование мочи в выявлении злокачественных опухолей	Ламбль (1859)
Внедрение в повседневную практику цитологического исследования мочи для диагностики рака мочевого пузыря	Фергюсон (1892)
Внедрение в повседневную практику цитологического исследования мокроты	Бетшардт (1895)
Цитологическое исследование асцитической жидкости при канцероматозе брюшины	Баренберг (1895)
Выявление клеток злокачественных опухолей в ликворе	Дюфуа (1904)
Цитологическое исследование смывов со слизистой желудка	Марисси (1909)
Метод аспирационной цитологии был представлен в Нью-Йорке	Юинг (1922)
Цитологическая диагностика рака шейки матки	Папаниколау (1928)
Аспирационная биопсия в диагностике рака предстательной железы	Фергюсон (1930)
Значение цитологического метода в диагностике рака шейки матки	Папаниколау (1941)
Открытие новых методик окраски влагалищных мазков	Папаниколау (1942)
Цитологическая диагностика заболеваний кожи	Цанк (1947)
Публикация атласа по эксфолиативной цитологии	Папаниколау (1954)
Публикация первого фундаментального руководства по цитопатологии	Косс (1961)
Публикация атласа по дерматоцитологии	Руокко (1980)

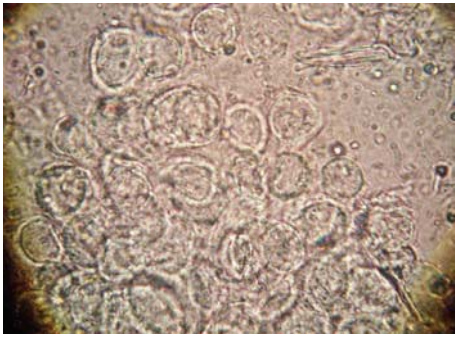


Рис. 1.1. Первые цитологические исследования проводились без окраски препаратов

Акантолитические клетки (стрелки) в нативном препарате у пациента с герпетической инфекцией (×1000)

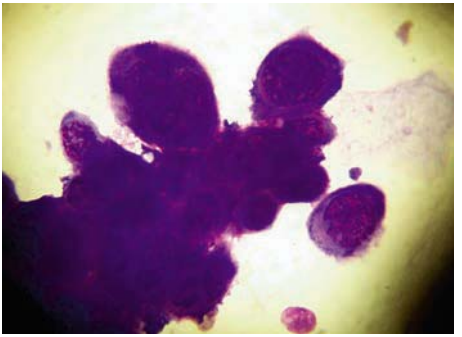


Рис. 1.2. Популярность цитологического метода росла по мере открытия новых вариантов окраски

Акантолитические и гигантские многоядерные клетки у пациента с герпетической инфекцией (МГГ, ×1000)

Цанк работал над классификацией буллезных заболеваний еще до открытия иммунофлюоресцентного метода. Таким образом, «проба Цанка» стала отправной точкой для многочисленных исследований в дерматологии [3, 4]. В частности, в 1980 году итальянским дерматовенерологом Винченцо Руокко был опубликован атлас по цитологической диагностике болезней кожи [2, 5–7].

В современной дерматологической практике применение цитологического метода ограничено: в основном он используется для диагностики пузырчатки и герпетической инфекции, а также лейшманиоза и лепры в эндемичных регионах. Тем не менее, метод нередко позволяет быстро поставить диагноз. Однако во многих дерматологических клиниках предпочтение отдается биопсии кожных поражений [8]. В последние годы интерес к цитологии возрос благодаря эффективности данного метода в отношении эрозивных везикулобуллезных, пустулезных, гранулематозных и пигментированных поражений кожи [9–15].

Литература

1. *Spriggs A.I.* History of cytodiagnosis. J Clin Pathol. 1977; 30: 1091–102.
2. *Ruocco V.* Cytodiagnosis in dermatology. Naples: Cooperativa Libraria Universitaria; 1980.
3. *Hunter J.A.A., Holubar K.* The man behind the eponym. Arnault Tzanck, his work and times. J Am Dermatopathol. 1985; 7: 121–3.
4. *Schneider W.H.* Arnault Tzanck, MD (1886–1954). Transfus Med Rev. 2010; 24: 147–50.
5. *Ruocco E., Brunetti G., Del Vecchio M., Ruocco V.* The practical use of cytology for diagnosis in dermatology. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2011; 25: 125–9.
6. *Ruocco V., Ruocco E.* Tzanck smear, an old test for the new millennium: when and how. Int J. Dermatol. 1999; 38: 830–4.
7. *Ruocco V.* Citodiagnostica dermatologica. In: Giannetti A., editors. Trattato di Dermatologia. Vol. 1. Chap. 21. 2nd ed. Padua: Piccin Nuova Libraria; 2007. P. 1–42.
8. *Horn T.D.* Commentary: heading the wrong way: the disappearing Tzanck smear. J Am Acad Dermatol. 2008; 59: 965–6.
9. *Durdu M., Baba M., Segkin D.* The value of Tzanck smear test in diagnosis of erosive, vesicular, bullous, and pustular skin lesions. J Am Acad Dermatol. 2008; 59: 958–64
10. *Durdu M., Baba M., Segkin D.* More experiences with the Tzanck smear test: cytologic findings in cutaneous granulomatous disorders. J Am Acad Dermatol. 2009; 61: 441–50.
11. *Durdu M., Baba M., Segkin D.* Dermatoscopy versus Tzanck smear test: a comparison of the value of two tests in the diagnosis of pigmented skin lesions. J Am Acad Dermatol. 2011; 65: 972–82.
12. *Durdu M., Segkin D., Baba M.* The Tzanck smear test: rediscovery of a practical diagnostic tool. Skinmed. 2011; 9: 23–32.
13. *Durdu M., Ilkit M.* First step in the differential diagnosis of folliculitis: cytology. Crit Rev Microbiol. 2013; 39: 9–25.
14. *Durdu M., Ruocco V.* Clinical and cytologic features of antibiotic-resistant acute paronychia. J Am Acad Dermatol. 2014; 70: 120–6.
15. *Eryilmaz A., Durdu M., Baba M., Yildirim F.E.* Diagnostic reliability of the Tzanck smear in dermatologic diseases. Int J. Dermatol. 2014; 53: 178–86.

2 ПОЛУЧЕНИЕ МАТЕРИАЛА И ЕГО ДАЛЬНЕЙШАЯ ОБРАБОТКА

Приготовление цитологических препаратов проходит в три этапа.

1. Получение материала. Основные способы:
   - (а) Поверхностный соскоб с кожи
   - (б) Глубокий дермальный соскоб*
   - (в) Мазок-отпечаток
   - (г) Тонкоигольная аспирационная биопсия (ТИАБ)
2. Фиксация материала
   - (а) Высушивание на воздухе
   - (б) Фиксация в спирте
3. Окраска материала
   - (а) Традиционные методы окраски
     - По Романовскому (и его различные модификации):
       - По Гимзе
       - По Маю—Грюнвальду—Гимзе (МГГ)
       - По Райту
       - Diff Quick
     - По Папаниколау (ПАП)
     - Гематоксилином и эозином (ГЭ)
     - Толуидиновым синим
     - Метиленовым синим
   - (б) Специальные окраски
   - (в) Иммуногистохимия
   - (г) Иммунофлюоресценция

* Оригинальный термин — slit-skin smear (*Прим. науч. ред.*)

Получение материала и приготовление цитологических препаратов

Выполнение цитологического исследования считается относительно простым. Для него требуются следующие материалы: предметное стекло, скальпель (№ 15), пинцет, микроскоп, иммерсионное масло, стерильный тампон, раствор антисептика и цитологические красители. Большинство из этих материалов доступны в любой дерматологической клинике (рис. 2.1) [1]. Предметные стекла должны быть сухими и чистыми, во избежание появления в препаратах артефактов.



Рис. 2.1. Материалы, необходимые для проведения цитологического исследования:

a — иммерсионное масло; **b** — предметные стекла; **c** — скальпель; **d** — цитологические красители; **e** — микроскоп



Рис. 2.2. Методика получения материала для цитологического исследования при эрозивном везикулобуллезном поражении кожи.

Для исследования необходимо выбрать самое свежее неповрежденное образование (**a**). Пораженный участок предварительно обрабатывают тампоном, смоченным 70% этиловым спиртом (**b**). Поверхность везикулы, буллы или пустулы срезают скальпелем, удаляя жидкое содержимое тампоном, не касаясь при этом раневой поверхности (**c**). Использование ваты нежелательно, так как может привести к появлению артефактов в препарате. Материалом для исследования служит соскоб со дна образования, а не его содержимое, которое снижает информативность образца за счет его разбавления и часто содержит элементы воспаления (**d**). Корочки с поверхности образования аккуратно удаляют стерильным пинцетом, а его дно скоблят острым краем скальпеля. При необходимости, поверхность корочки можно размягчить, приложив тампон, смоченный в физиологическом растворе. Полученный материал следует незамедлительно нанести на предметное стекло тонким слоем (**e**)



Рис. 2.3. Методика получения материала для цитологического исследования при солидных (узловых) поражениях

Поверхность неизъязвленного узлового поражения (**a**) очищают ватным тампоном, смоченным 70% этиловым спиртом (**b**), после чего захватывают большим и указательным пальцами свободной руки (**c**). По краю очага поражения производится небольшой поверхностный надрез (примерно 3–5 мм длиной и 2 мм глубиной) (**d**). Ткани вдоль надреза скоблят скальпелем (**e**), полученный материал аккуратно распределяют минимум на два предметных стекла (**f**). При возникновении кровотечения следует осуществить компрессию места разреза ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором.

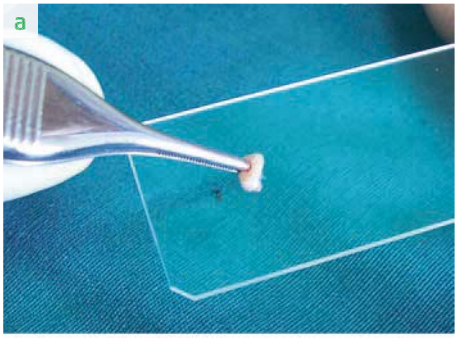




Рис. 2.4. Мазок-отпечаток

Данная методика используется при диагностике инфекционных и неопластических заболеваний кожи. Приготовление мазка можно осуществить двумя способами: 1 — биопсийный материал захватывают пинцетом и прикладывают к предметному стеклу в нескольких точках, избегая излишнего давления и деформации материала (**a**); 2 — при язвенном поражении предметные стекла прикладывают непосредственно к изъязвленной поверхности (**b**)





Рис. 2.5. Метод тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) применяется в диагностике образований размером более 1 см (узлов, кист и абсцессов):

(**a**) Для взятия материала используются одноразовые шприцы объемом 10–20 мл и иглы калибром 20–25G (предпочтительно 22G или тоньше)

(**b**) После введения иглы в очаг поражения материал аспирируют благодаря отрицательному давлению в шприце и распределяют на предметном стекле тонким слоем

Для получения материала обычно используют тупоконечный скальпель, чаще всего №15. Микроскопическое исследование проводят с помощью бинокулярного микроскопа с объективами ×10, ×40 и ×100. В качестве антисептика следует выбрать некрасящий раствор, лучше всего — 70% этиловый спирт [2].

Как уже упоминалось выше, существует четыре основных способа получения материала для цитологического исследования: поверхностный соскоб с кожи применяют при эрозивных везикулобуллезных поражениях (рис. 2.2), глубокий дермальный соскоб используется для взятия материала из папул, узелков и новообразований (рис. 2.3), мазок-отпечаток — для диагностики опухолевых и инфекционных заболеваний (рис. 2.4), а при наличии подкожных узелков или кист прибегают к ТИАБ (рис. 2.5) [1–3]. Для получения достаточного количества материала, его следует распределить по крайней мере на два предметных стекла.

Фиксация материала

Во избежание потери материала во время окраски, он должен быть зафиксирован в кратчайшие сроки — высушиванием на воздухе или в спирте. Формалин, который используется для фиксации биопсийного материала, для цитологических препаратов непригоден. Перед окраской по Романовскому (и в других модификациях этого метода) предметные стекла высушивают на воздухе. Поскольку медленное высушивание повышает вероятность образования артефактов, процесс можно ускорить энергичным встряхиванием стекол, либо используя поток горячего воздуха. Также материал высыхает быстрее, если нанесен на стекло тонким и ровным слоем. Медленное высушивание может негативно отразиться и на морфологии клеток, поэтому стекла, окрашивание которых по каким-то причинам откладывается на длительное время, следует поместить в фиксирующий раствор [2]. Перед окраской по Папаниколау материал фиксируют не менее 15 минут в 95% этиловом спирте. Также для ПАП-окраски препаратов, полученных путем ТИАБ, можно использовать аэрозольные фиксаторы на спиртовой основе. Их распыляют в два-три нажатия на расстоянии 15–25 см от предметного стекла. При окраске ГЭ время фиксации в 80% этиловом спирте составляет 30 минут.

Окраска материала

В окрашенных цитологических препаратах следует обращать внимание на три основных компонента:

1. Ядро клетки
2. Цитоплазма клетки и ее содержимое
3. Фон препарата
   (а) Межклеточное вещество
      - Коллоид
      - Слизь
      - Амилоид
      - Гиалин
      - Коллаген
      - Фибрин
   (б) Элементы некроза
   (в) Чешуйки плоского эпителия
   (г) Микроорганизмы

В цитологии используются различные методы окраски, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки (**табл. 2.1, рис. 2.6–2.23**). Наиболее часто применяют окраску по Гимзе и по Райту, а также по МГГ и Diff Quick, поскольку они позволяют легко и быстро получить нужный результат. Так, например, метод МГГ занимает менее минуты, при минимальной себестоимости окраски одного препарата. Методы ПАП и ГЭ занимают больше времени, поэтому чаще используются в гистологии.

Красители типа Романовского (Гимза, МГГ, Райт и Diff Quick) содержат метиленовый синий (азур) и эозин. Азур связывается с кислотосодержащими структурами клетки (цитоплазма и хроматин ядра), что обусловливает характерный для них синий цвет (**табл. 2.2**). Эозин представляет собой кислотный анилиновый цитоплазматический краситель. Он связывается с основаниями или с отрицательно заряженными компонентами клетки (катионные аминогруппы в белках) и окрашивает их в розовый цвет. Гематоксилин в методах ПАП и ГЭ — осно́вный краситель, который связывается с нуклеиновыми кислотами в ядрах и придает им сине-фиолетовый оттенок.

Оранж G и эозин (ПАП-окраска) — кислые цитоплазматические красители, обусловливающие ее насыщенный темно-оранжевый цвет.

Как показано в **табл. 2.1**, для дифференциальной цитологической диагностики различных заболеваний кожи можно прибегнуть к ряду специфических методов окраски.

При окраске дерматоцитологических препаратов необходимо учитывать следующее:

- Каждое погружение стекла в краситель должно занимать не более 1 секунды, иначе дифференцировка отдельных структур может оказаться затушеванной.
- Промывание препарата после окрашивания должно быть деликатным во избежание потери клеточного материала.
- Промывание должно выполняться тщательно для четкой визуализации клеточных границ .

Таблица 2.1. Преимущества, недостатки и область применения различных методов окраски в дерматоцитологии

Метод окраски	Возможности	Недостатки	Область применения
По Гимзе	Позволяет оценить ядерные и цитоплазматические характеристики клетки	Длительный процесс окраски (30–45 мин)	Стандартные цитологические исследования
		Сложно оценить наличие вирусных включений	
По Райту	Позволяет оценить ядерные и цитоплазматические характеристики клетки	Длительный процесс окраски (10–15 мин)	Стандартные цитологические исследования
По Маю—Грюнвальду—Гимзе	Быстрое окрашивание	Сложно оценить наличие вирусных включений	Стандартные цитологические исследования
	Позволяет оценить ядерные и цитоплазматические характеристики клетки		
Diff Quick	Быстрое окрашивание	Сложно оценить наличие вирусных включений	Стандартные цитологические исследования
	Позволяет оценить ядерные и цитоплазматические характеристики клетки		
Метиленовым синим	Позволяет выявить дрожжеподобные грибы в препарате и метахроматические гранулы в клетке	Сложно оценить ядерные и цитоплазматические характеристики клетки	Грибковые поражения
			Мастоцитоз
По Граму	Грамположительные бактерии окрашиваются в фиолетовый цвет, грамотрицательные — в розовый	Сложно оценить ядерные и цитоплазматические характеристики клетки	Бактериальные инфекции
По Эрлиху—Цилю—Нильсену	Для выявления кислотоустойчивых бактерий (КУБ)	Длительный процесс окраски	Туберкулез
			Атипичные микобактериальные инфекции

			Лепра
			Инфекционные заболевания, вызванные нокардиями
Толуидиновым синим	Четко определяются метахроматические гранулы	Сложно оценить наличие вирусных включений	Мастоцитоз и опухолевые поражения
Гематоксилином и эозином	Для образцов, фиксированных в спирте	Перед окрашиванием необходимо провести фиксацию материала	Стандартные цитологические исследования в патологоанатомических отделениях
			Реже используется в дерматоцитологии
		Длительный процесс окраски	
По Папаниколау	Позволяет оценить ядерные и цитоплазматические характеристики клетки, а также вирусные включения	Длительный процесс окраски	Герпетические инфекции
		Реже используется в клинической практике	Инфекционные поражения, имитирующие опухоль
		Даже быстрый вариант окраски занимает полчаса	
		Перед окрашиванием необходимо провести фиксацию материала	
Шифф-йодной кислотой (ШИК)	Для диагностики поверхностных и глубоких микозов	Сложно оценить ядерные и цитоплазматические характеристики клетки	Глубокие микозы
			Светлоклеточная акантома
По Фонтана—Массону	Цитологические исследования пигментированных поражений	Длительный процесс окраски	Пигментированные опухоли

Окончание табл. 2.1

Метод окраски	Возможности	Недостатки	Область применения
		Не подходит для стандартных цитологических исследований	
По Уортину—Старри	Позволяет выявить риккетсии и спирохеты	Не подходит для стандартных цитологических исследований	Болезнь кошачьих царапин
			Бактериальный ангиоматоз
Иммунофлюоресценция*			
Антитела к клеткам кожи	Используются для дифференциальной диагностики акантолитических поражений	Необходимо специальное оборудование	Пузырчатка
Антитела к вирусу герпеса	Используются при выявлении в препарате гигантских многоядерных и акантолитических клеток	Необходимо специальное оборудование	Герпетическая инфекция
Антитела к трепонеме	Используются для дифференциальной диагностики первичного шанкра	Необходимо специальное оборудование	Сифилис
Антитела к микобактериям	Используются для дифференциальной диагностики микобактериальных инфекций	Необходимо специальное оборудование	Туберкулез и атипичные микобактериальные инфекции

* Для проведения иммунофлюоресцентного исследования препараты высушивают на воздухе, затем на них на 30 мин наносят антитела, меченные флюоресцентной меткой, после чего трижды промывают по 5 мин в натрий-фосфатном буфере (PBS). После добавления забуференного глицерина препараты исследуют с помощью иммунофлюоресцентного микроскопа

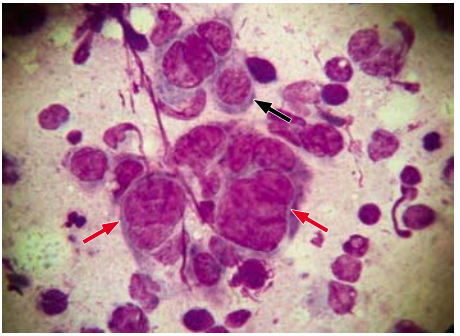


Рис. 2.6. Окраска по Маю—Грюнвальду—Гимзе часто используется в рутинных цитологических исследованиях, так как позволяет оптимально оценить характеристики ядра и цитоплазмы [акантолитическая клетка (*черная стрелка*) и гигантские многоядерные клетки (*красные стрелки*) при герпетической инфекции, МГГ, ×1000]

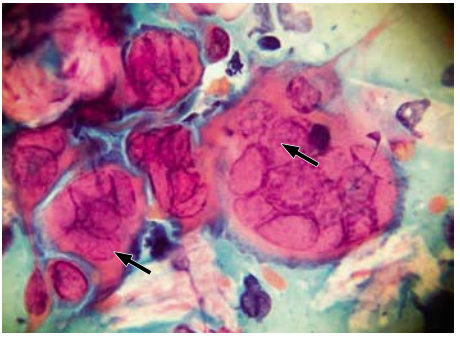


Рис. 2.7. Окраска по Папаниколау (ПАП): в сравнении с МГГ, значительно лучше видны изменения в структуре ядра (стрелками отмечены внутриядерные включения при герпетической инфекции, ПАП, ×1000)

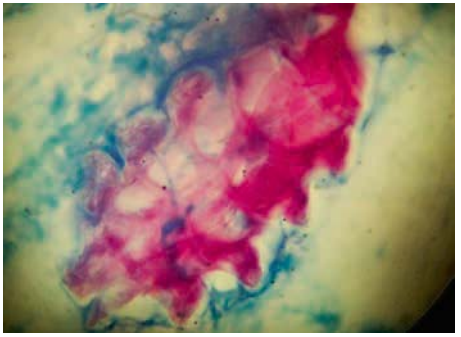


Рис. 2.8. Окраска на кислотоустойчивые бактерии (КУБ) применяется для выявления микобактерий и не подходит для рутинного цитологического исследования (позитивно окрашенный демодекс, окраска по Эрлиху—Цилю—Нильсену, ×400)

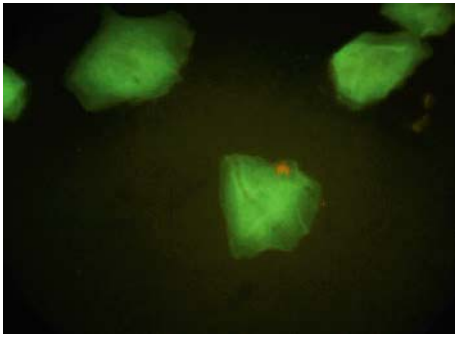


Рис. 2.9. Метод прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) используется для визуализации клеток и возбудителей инфекций с помощью антител, меченных флюоресцентной меткой (коралловое свечение коринебактерий, ПИФ, ×1000)

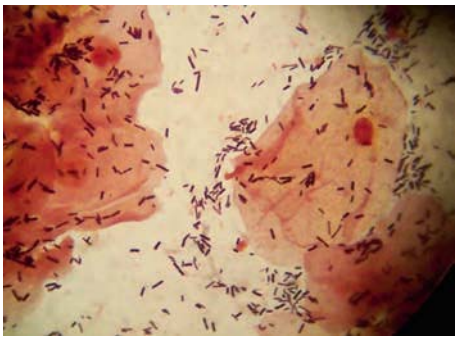


Рис. 2.10. Окраска по Граму позволяет классифицировать бактерии на грамположительные и грамотрицательные; в рутинной цитологической практике не используется (грамположительные бактерии, окраска по Граму, ×1000)

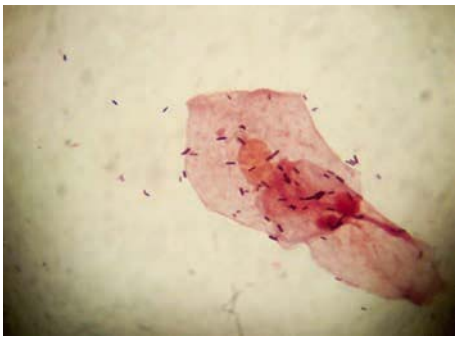


Рис. 2.11. Окраска по Граму позволяет классифицировать бактерии на грамположительные и грамотрицательные; в рутинной цитологической практике не используется (грамположительные бактерии, окраска по Граму, ×1000)

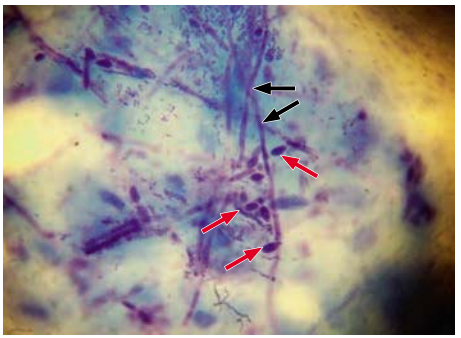


Рис. 2.12. Окраска метиленовым синим применяется для обнаружения микроорганизмов и гранул тучных клеток; в рутинной цитологической практике не используется [бактерии, псевдогифы (*черные стрелки*) и споры (*красные стрелки*) у пациента с кандидозом полости рта, метиленовый синий, ×1000]

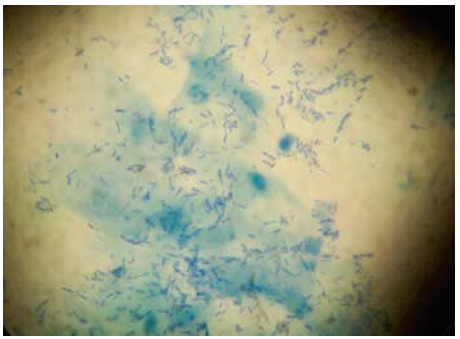


Рис. 2.13. Окраска метиленовым синим применяется для обнаружения микроорганизмов и гранул тучных клеток; в рутинной цитологической практике не используется [бактерии, метиленовый синий, ×1000]

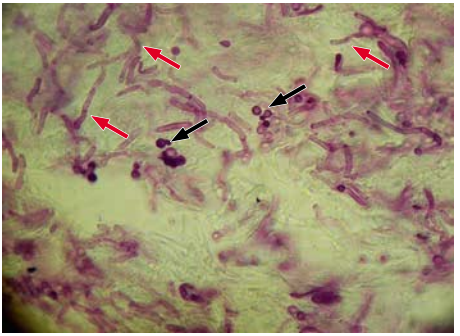


Рис. 2.14. Окраска толуидиновым синим позволяет выявлять микроорганизмы, а также облегчает диагностику мастоцитоза и некоторых опухолей [гифы (*красные стрелки*) и споры (*черные стрелки*) у пациента с отрубевидным лишаем, толуидиновый синий, ×1000]

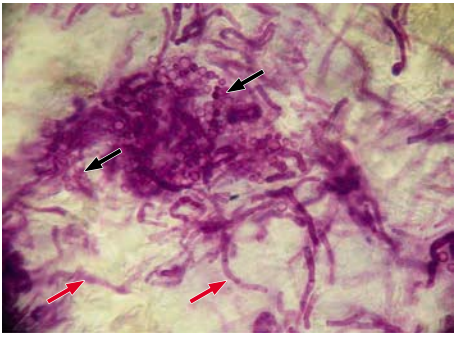


Рис. 2.15. Окраска толуидиновым синим позволяет выявлять микроорганизмы, а также облегчает диагностику мастоцитоза и некоторых опухолей [гифы (*красные стрелки*) и споры (*черные стрелки*) у пациента с отрубевидным лишаем, толуидиновый синий, ×1000]



Рис. 2.16. Окраска по Фонтана—Массону используется для визуализации пигментных структур; не подходит для рутинной цитологической практики [пигментированные гифы (*черные стрелки*) и конидии (*красные стрелки*), окраска по Фонтана—Массону, ×1000]

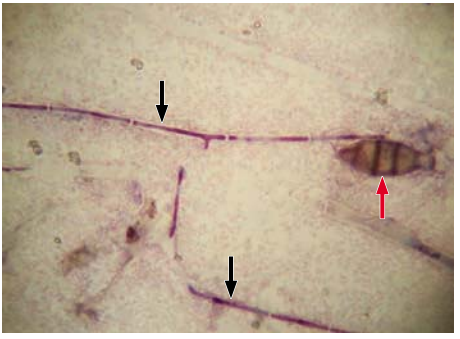


Рис. 2.17. Окраска по Фонтана—Массону используется для визуализации пигментных структур; не подходит для рутинной цитологической практики [пигментированные гифы (*черные стрелки*) и конидии (*красные стрелки*), окраска по Фонтана—Массону, ×1000]

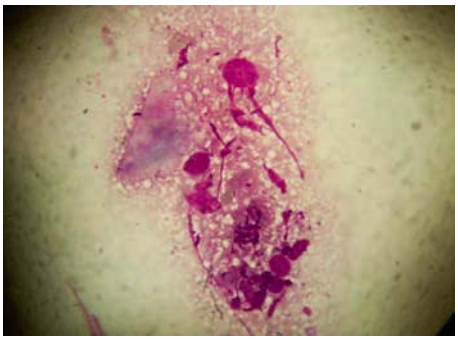


Рис. 2.18. Липидные вакуоли придают клеткам вид пенистых, так как не окрашиваются традиционными методами (МГГ, ×1000)

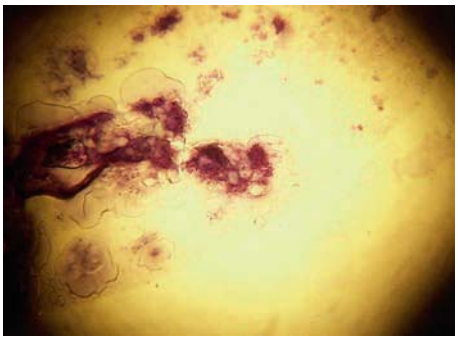


Рис. 2.19. Окраска суданом черным: липидные вакуоли окрашены в черный цвет (окраска суданом черным, ×1000)

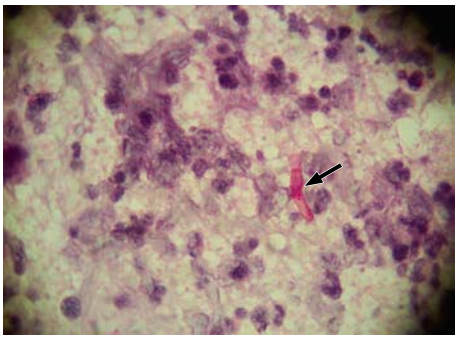


Рис. 2.20. ШИК-реакция: гифа (*стрелка*) в материале из очага дерматофитного фолликулита (ШИК-реакция, ×1000)

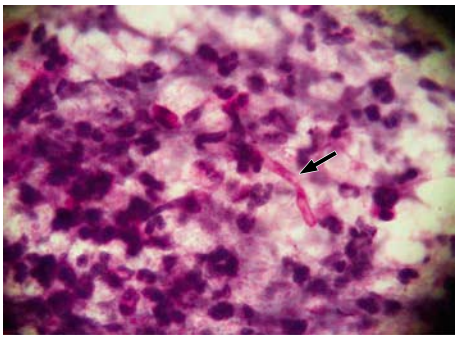


Рис. 2.21. ШИК-реакция: гифа (*стрелка*) в материале из очага дерматофитного фолликулита (ШИК-реакция, ×1000)

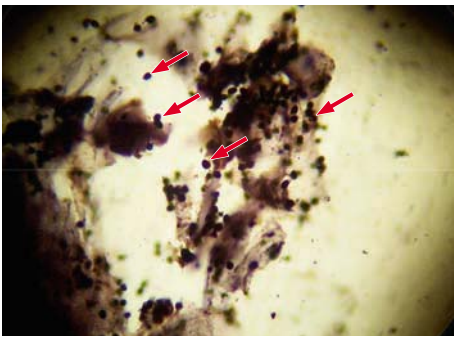


Рис. 2.22. Окраска метенамином серебра по Гомори (ГМС): споры (*стрелки*) в материале из очага дерматофитного фолликулита (ГМС, ×1000)

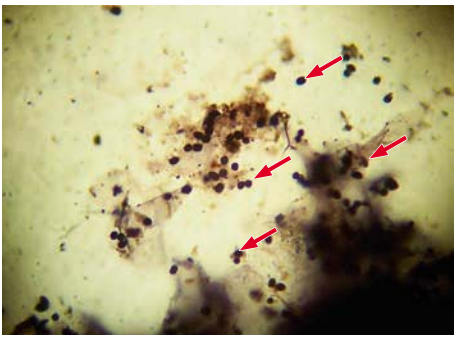


Рис. 2.23. Окраска по Гомори: споры (*стрелки*) в материале из очага дерматофитного фолликулита (ГМС, ×1000)

- Интерпретация артифициального увеличения и вакуолизации ядер (вследствие высушивания препарата на воздухе) может вызвать затруднения у неопытного цитолога

Таблица 2.2. Цвет ядра и цитоплазмы при различных методах окраски

Метод окраски	Цвет ядра	Цвет цитоплазмы
По Гимзе	Синий	Розовый
По МГГ	Синий	Розовый
Diff Quick	Синий	Розовый
По Райту	Темно-фиолетовый	Светло-розовый
Гематоксилином и эозином	Сине-фиолетовый	Розовый
По Папаниколау	Сине-фиолетовый	Темно-оранжевый

Окраска по Маю—Грюнвальду—Гимзе

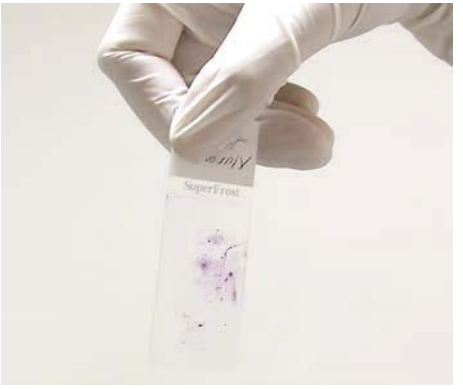
В данной методике используются три раствора: метанол в качестве фиксатора (A) и два активных красителя — эозин (B) и тиазин (C).



Препараты, высушенные на воздухе, последовательно окрашивают в каждом растворе, выдерживая не более 1 секунды при каждом погружении. В каждый раствор стекла опускают пятикратно, предварительно дав стечь излишкам жидкости.



После окрашивания стекла аккуратно промывают проточной водой



Препаратам дают высохнуть, после чего проводят микроскопическое исследование.