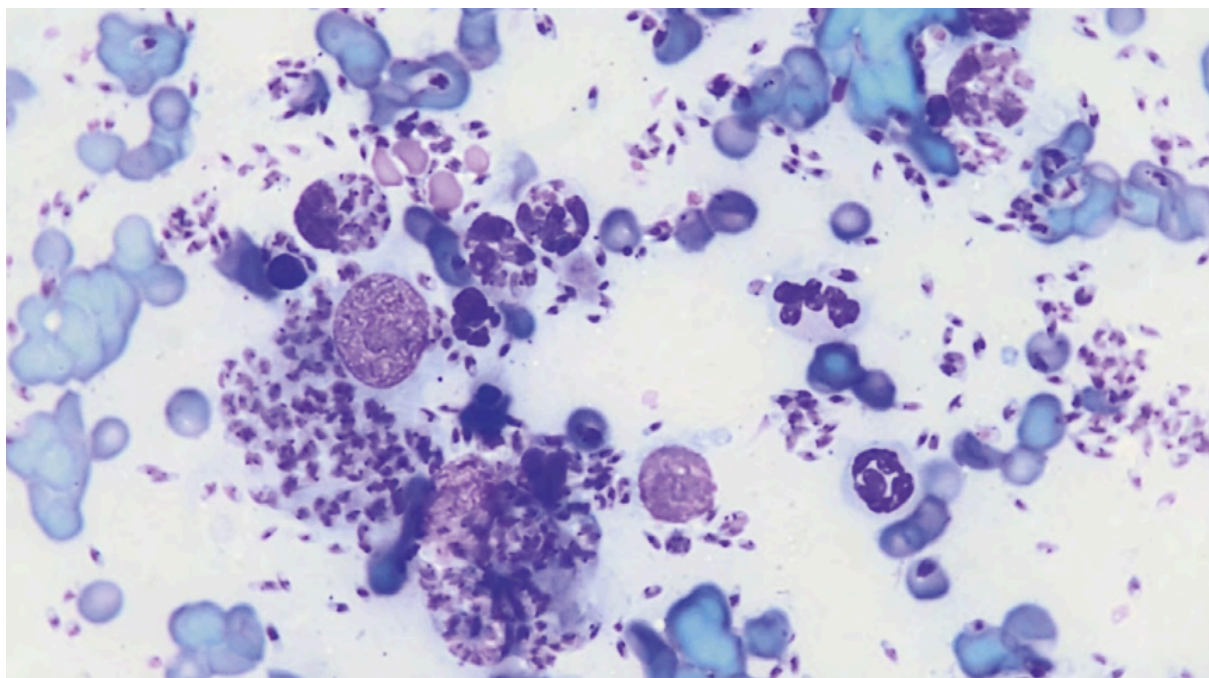


Cytologie v dermatologii



Obrázek 1: Pyogranulomatózní zánět s infekcí Leishmania
Zdroj: Dr. Maria Christian

Jako největší orgán v těle je kůže snadno dostupná pro diagnostická vyšetření. Vyšetřování dermatologických pacientů však může být náročné. I zdánlivě nekomplikované případy by měly být hodnoceny systematickým diagnostickým přístupem, aby se předešlo přehlédnutí diferenciálních diagnóz. Po podrobné anamnéze a klinickém dermatologickém vyšetření následuje důkladné zhodnocení všech zjištěných abnormalit.

Cytologie hraje v tomto procesu klíčovou roli – nejen tím, že poskytuje zásadní diagnostické informace, ale také tím, že

usměrňuje terapeutické rozhodování. Každá kožní léze by měla být během

úvodní konzultace podrobena cytologickému vyšetření, aby bylo možné určit další diagnostické kroky a zajistit vhodnou léčbu od samého počátku.

Odběr vzorků

Volba techniky odběru vzorků vždy závisí na typu kožních změn. Otiskové preparáty jsou obecně nejjednodušší k hodnocení, ale poskytují dostatek materiálu pouze u exsudativních lézí nebo na sebaceózních,

masných povrchů kůže. Z tohoto důvodu se používá u pacientů s alopecií nebo hypotrichózou a intaktní kůží otisková metoda s lepicí páskou.

Lepicí páska se také osvědčila při odběru vzorků z obtížně přístupných oblastí, například z mezprstních prostorů. Alternativně lze připravit přímé nátěry, které se klasicky využívají pro vyšetření zvukovodu, ale jsou vhodné i pro pístěle, lůžko drápu nebo interdigitální prostory.

Správný odběr vzorku je klíčový pro získání hodnotných a snadno hodnotitelných preparátů. Doporučuje se označit sklíčko ještě před odběrem vzorku jménem pacienta, místem odběru a použitou technikou.

Otiskový preparát

Podložní sklíčko se přitiskne na postiženou oblast kůže a poté se nechá volně zaschnout na vzduchu. Při odběru otiskového preparátu je důležité dbát na to, aby sklíčko nebylo po kožních změnách stíráno, protože by mohlo dojít k poškození buněk. Pod mikroskopem by pak byly viditelné pouze jaderné zbytky a chromatinová vlákna.

U výrazně exsudativních lézí je vhodné připravit preparáty až po osušení nebo jemném přitisknutí léze netkanou textilií. V případě větších krust je doporučeno odebrat vzorek také z jejich spodní strany, kde lze často získat větší množství buněk a identifikovat přítomnost mikroorganismů.

Tenkojehelná aspirační biopsie

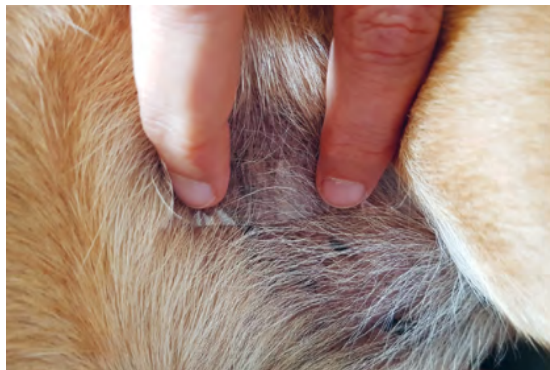
Tekutinou vyplněné léze, jako jsou pustuly, se propichují jehlou. Pokud je přítomno dostatečné množství tekutiny, je nejlepší ji nasát injekční stříkačkou podobně jako při tenkojehelné aspirační biopsii a následně ji rozetřít na podložní sklíčko.

Alternativně lze připravit nátěr z obsahu pustuly, který po propíchnutí spontánně vytéká. Nanesením těchto kapek na podložné sklíčko lze získat kvalitní cytologický preparát vhodný pro hodnocení obsahu pustuly.

Otisková metoda s lepicí páskou

Metoda lepicí pásky je obzvláště užitečná pro obtížně přístupné oblasti, například mezprstní prostory, nebo pokud je kůže příliš suchá na to, aby se materiál přichytil na sklíčko.

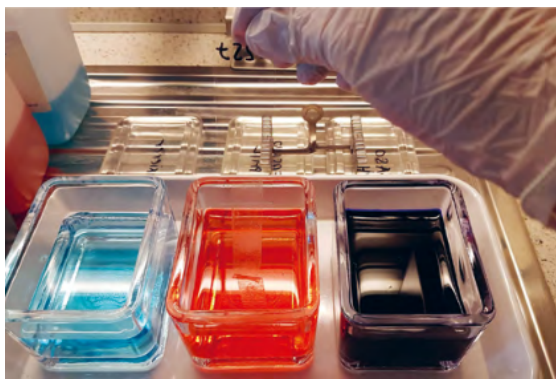
Při této technice se průhledná lepicí páska opakovaně přitiskne na postiženou oblast kůže, dokud se na ni nenachytá dostatečné množství materiálu a páska již není lepkavá (obr. 2).



Obrázek 2: Otiskový preparát pomocí lepicí pásky
Zdroj: Dr. Maria Christian

Seškrab kůže

Seškrab kůže obecně není vhodný pro cytologické vyšetření, protože při procesu seškrabávání dochází k poškození buněk. Nicméně mazový nebo masný materiál lze odebrat skalpelem – podobně jako při povrchovém seškrabu – a rozetřít na podložní sklíčko k dalšímu hodnocení.



Obrázek 3: Barvení otiskového preparátu z lepicí pásky
Zdroj: Dr. Maria Christian

Barvení preparátů

Jakmile materiál na sklíčku zcela zaschne, lze preparát obarvit. Pro praktické použití jsou velmi vhodná komerčně dostupná rychlá barviva typu Romanowsky (např. Diff-Quik®). Přestože by se obecně měly dodržovat doporučené doby barvení uvedené výrobcem, v některých případech je nutné prodloužit dobu ponoření. Cytologické preparáty, které jsou často silnější než krevní nátěry, vyžadují delší čas k absorpci dostatečného množství barviva.

Pokud je barvivo používáno již několik týdnů, může zejména modrý roztok vykazovat sníženou kvalitu barvení, což vede k bledým preparátům. V takových případech lze dosažení přijatelného výsledku podpořit zvýšením počtu ponoření nebo prodloužením doby barvení.

Barvicí roztoky je nutné vyměnit, pokud buňky zůstávají bledé i po prodloužené době barvení nebo pokud došlo ke kontaminaci roztoků bakteriemi. Doba skladování činidel může být prodloužena použitím těsně uzavíratelných nádob (např. zkumavek na moč, hermeticky uzavřených boxů nebo zavařovacích skleniček) namísto běžně používaných barvicích misek.

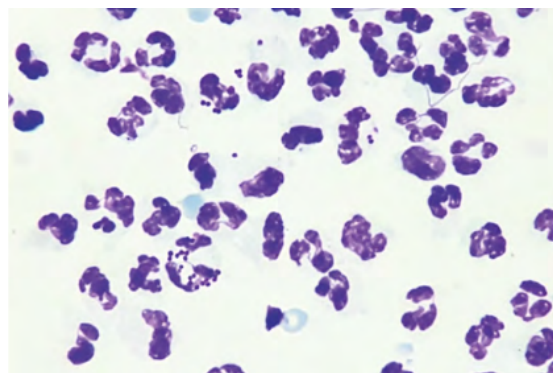
Po opláchnutí veškerého zbývajících barviva vodou z vodovodu by měly být preparáty znovu vysušeny na vzduchu. V naléhavých případech lze proces urychlit sušením v inkubátoru, umístěním na teplý povrch (např. běžící laboratorní přístroj) nebo použitím fénu.

Vzorky odebrané lepicí páskou nevyžadují sušení ani fixaci, protože jsou již fixovány samotným lepidlem. Navíc alkoholové fixační roztoky mohou způsobit zakalení mnoha typů lepicích pásek.

Při barvení se lepicí páska připevní k jednomu konci podložního sklíčka, které slouží jako držák při ponořování do barvicích roztoků (obr. 3). Po zaschnutí se lepicí páska odstraní a umístí na sklíčko vzorkovanou stranou dolů, přes kapku imerzního oleje.

Mikroskopické hodnocení

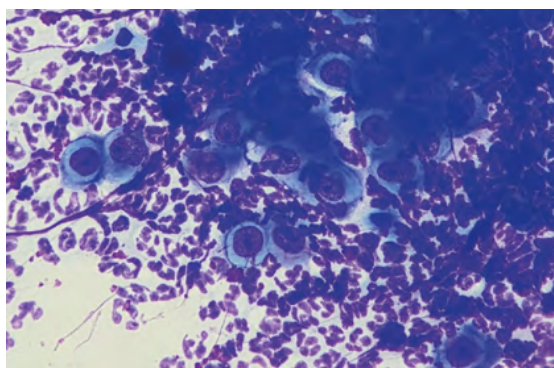
Cytologické vyšetření kožního povrchu se zaměřuje na identifikaci typu zánětu nebo přítomnosti sekundární infekce. V některých případech může povrchová cytologie také pomoci při detekci neoplazií.



Obrázek 4: Pyodermie u psů
Zdroj: Dr. Maria Christian

Pokud většinu buněk tvoří neutrofilní granulocyty, jedná se o **neutrofilní nebo purulentní** zánět. Tyto záněty obvykle naznačují infekční proces (převážně bakteriální, obr. 4), ale mohou být i

sterilní, například u imunitně zprostředkovaných onemocnění, jako je pemphigus foliaceus (obr. 5), nebo u neoplastického zánětu. Při bakteriálních infekcích často neutrofilů vykazují degenerativní změny – jejich jádra se zvětšují, blednou a v extrémních případech může být obtížné neutrofilů vůbec rozpoznat. Přítomnost intracelulárních bakterií, na rozdíl od extracelulárních, naznačuje septický proces. Hnisavé záněty mohou být způsobeny také houbami a protozoa.



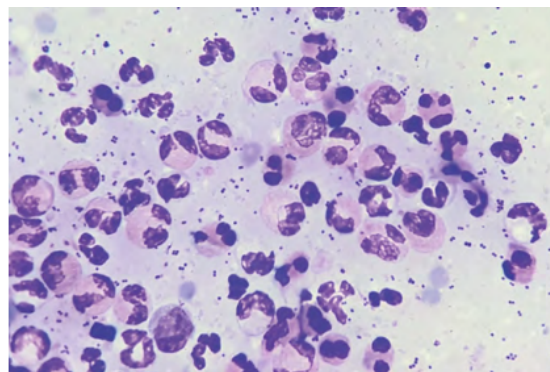
Obrázek 5: Pemphigus foliaceus u koček
Zdroj: Dr. Maria Christian

Pokud tvoří makrofágy až 50 % buněk vedle neutrofilů, jedná se o **pyogranulomatózní** zánět. Pokud je makrofágů více než 50 %, zánět se označuje jako **granulomatózní**. Oba typy zánětů mají podobné příčiny a jsou typicky spojeny s chronickými procesy. Mezi běžné příklady patří reakce na cizí tělesa, mykózy, protozoární infekce (např. leishmanióza, obr. 1) a některé bakteriální infekce (např. mykobakterie, aktinomykety).

Eozinofilní zánět je charakterizován přítomností více než 10 % eozinofilních granulocytů mezi ostatními zánětlivými buňkami. Pokud jsou v tomto typu zánětu detekovány intracelulární bakterie, obvykle signalizují sekundární infekci.

Mezi primární příčiny eozinofilního zánětu patří eozinofilní granulomový komplex

(obr. 6), neoplazie (zejména mastocytomy a lymfomy), alergie a parazitární infekce.



Obrázek 6: Eozinofilní plak, sekundární infekce, kočka
Zdroj: Dr. Maria Christian

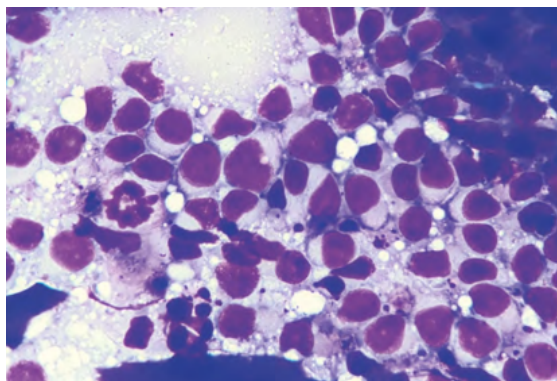
Vedle eozinofilů se běžně vyskytují také žírné buňky (mastocyty) a příležitostně bazofilní granulocyty v různém množství. Vysoký počet žírných buněk může vzbuzovat podezření na mastocytom, který by měl být zařazen mezi diferenciální diagnózy.

Lymfocytární, plazmocytární a lymfoplazmocytární zánět (s více než 50 % lymfocytů a plazmatických buněk) se typicky vyskytuje při chronických procesech, imunitně zprostředkovaných onemocněních, virových infekcích a hypersenzitivních reakcích.

Velmi vysoký obsah plazmatických buněk může naznačovat plazmocytom, který by měl být zvážen v rámci diferenciální diagnostiky.

Pokud je přítomno více středně velkých lymfocytů, lymfoidních blastů nebo monomorfní populace lymfocytů, je třeba zvážit možnost lymfomu a provést další vyšetření (obr. 7).

Protože mnoho pacientů s kožními problémy trpí chronickými onemocněními, cytologie se nepoužívá pouze k diagnostice, ale také ke sledování průběhu léčby – často při každé kontrole pacienta.



Obrázek 7: Kožní lymfom, pes
Zdroj: Dr. Maria Christian

Z tohoto důvodu je nezbytné dokumentovat nálezy, včetně počtu bakterií, *Malassezia* a zánětlivých buněk. To nám umožňuje objektivně posoudit zlepšení nebo zhoršení zánětu a sekundární infekce.

Zejména při prvním vyšetření bývají mikroorganismy a buňky přítomny v tak vysokém množství, že jejich přesný součet je obtížný. V těchto případech je dostatečné semikvantitativní hodnocení pomocí stupnice 1+, 2+, 3+. 1+ znamená, že bakterie, kvasinky *Malassezia* nebo zánětlivé buňky jsou přítomny jen v malém množství a lze je najít až po důkladném mikroskopickém prohlížení. Hodnocení 2+ naznačuje střední počet bakterií, *Malassezia* nebo zánětlivých buněk, které jsou patrné ihned a 3+ označuje vysoký počet.

Závěr

Dermatologická cytologie je rychlá a nákladově efektivní diagnostická metoda, která poskytuje zásadní informace a hraje důležitou roli při výběru vhodné léčby.

Při určité praxi lze cytologické vyšetření spolehlivě provádět v běžné veterinární praxi, což zajišťuje optimální péči o

dermatologické pacienty již od první návštěvy.

Je rozumné investovat do odborné literatury (viz doporučené zdroje). Pro ty, kteří mají s cytologií méně zkušeností, mohou být užitečné workshopy, které pomohou upevnit základy cytologické diagnostiky.

Složitější technické otázky mohou pomoci objasnit zkušení cytologové, například v rámci akcí, jako jsou ty pořádané Laboklin Academy.

Vyšetření k tématu

Cytologie

Patohistologie

Bakteriologické a mykologické vyšetření

Detekce patogenu pomocí PCR

Dr. Maria Christian

Literatura

Albanese, F. Canine and Feline Skin Cytology: A Comprehensive and Illustrated Guide to the Interpretation of Skin Lesions via Cytological Examination, 1. Auflage; Springer: Cham, Switzerland, 2017.

Noli, Ch., Scarampella, F., Toma, St. Praktische Dermatologie bei Hund und Katze, 3. Auflage, Schlütersche: Hannover, 2013.

Cian, F., Monti, P. Zytologie der Haut und Unterhaut, deutsche Erstausgabe; Verlag Laboklin: Bad Kissingen, 2023.