

## Kožný zoškrab, odtlačok alebo trichogram? Sprievodca mikroskopickým vyšetrením kožných povrchov

Koža ako najväčší orgán tela je ľahko dostupná pre rôzne vyšetrenia. Napriek tomu môže byť diagnostický proces u dermatologických pacientov veľmi frustrujúci. Preto sa odporúča u kožných pacientov vždy postupovať podľa určeného diagnostického plánu. Po podrobnej anamnéze, najlepšie na základe anamnestického dotazníka, a klinicko-dermatologickom vyšetrení, nasleduje podrobnejšie hodnotenie zmien, ktoré sa pri dermatologickom vyšetrení zistili. Na začiatku ďalšej diagnostiky stojí mikroskopické vyšetrenie materiálu z povrchu kože, resp. chlpor. Môžeme tak rýchlo identifikovať baktérie, plesne, kvasinky, parazity a zápalové bunky.

Odber vzoriek je vo všeobecnosti jednoduchý, avšak efektívnosť možných vyšetrení výrazne závisí od výberu správneho materiálu vzorky, ako aj spôsobu jej odberu.

Najlepšia metóda pre dôkaz **cheyletiell** (obr. 1) je **odtlačok lepiacou páskou**. Tieto roztoče spôsobujú suchú seboréu, predovšetkým na chrbte. Materiál získame viacnásobným pritlačeníím lepiacej pásky na postihnuté miesta kože. Alternatívne je možné najprv vyčesať šupiny hrebeňom alebo pri masívnom šupinatení pozbierať materiál z vyšetrovacieho stola. Na podložné sklíčko naniesieme kvapku parafínového oleja a na to prilepíme lepiacu pásku. Prezeráme celý preparát s objektívom 4x s odklopeným/zníženým kondenzorom, keďže väčšinou je prítomný len malý počet roztočov.

Pre dôkaz roztočov **sarcoptes** a zriedkavejšie sa vyskytujúcich roztočov **notoedres** u mačiek robíme povrchový kožný zoškrab. Cheyletielly, ktoré tiež žijú na povrchu kože, je možné dokázať v povrchovom kožnom zoškrabe, menej často týmto spôsobom nachádzame aj roztoče demodex a plesňou napadnuté chlpy.



**Obr.1:** Dravčík (*Cheyletiella* spp.). *Cheyletielly* žijú na povrchu kože a živia sa tkanivovými tekutinami. Celý vývinový cyklus prebieha na hostiteľovi, preto je možné nájsť na chlloch aj vajíčka roztočov.

Pomocou použitej/stupenej skalpelovej čepieľky (kvôli minimalizácii rizika poranenia) a parafínového oleja zoškrabeme čo najviac šupiniek z vopred oholených miest na koži. Keďže sarkoptové roztoče sa väčšinou vyskytujú v nízkych počtoch, odporúča sa materiál zozbierať z viacerých miest (najmä na okrajoch ušnic a lakťoch) a z väčšej plochy povrchu. Úspešnosť diagnostiky zvyšuje odber vzoriek z čerstvých papúl.

Získanú vzorku naniesieme s ďalšou kvapkou parafínového oleja na podložné sklíčko, prikryjeme krycím sklíčkom a prezeráme pod mikroskopom (s objektívom 4x alebo 10x s odklopeným/zníženým kondenzorom).

V diagnostike sarkoptového svrabu máme okrem toho k dispozícii PCR z kožného zoškrabu (bez parafínového oleja) a stanovenie titra protilátok zo séra.

**Hlboký kožný zoškrab** slúži na diagnostiku demodikózy.



**Obr.2:** *Demodex canis*. Roztoče demodex žijú v chlpových folikuloch a živia sa mazom a materiálom odumretých buniek. V nízkom počte ich môžeme nájsť aj u zdravých zvierat (a aj ľudí).

Skalpelovou čepielkou alebo ostrou lyžičkou a parafínovým olejom na zvlhčenie škrabeme v smere rastu chlpov tak dlho, až sa objaví kapilárne krvácanie. Medzi škrabnutiami by sme mali kožný záhyb vždy stlačiť, aby sme dostali roztoče z hĺbky chlpových folikulov na povrch. Najlepšie je odobrať vzorky zo všetkých miest, na ktorých pozorujeme eflorescencie ako začervenanie, alopecia, šupinatenie alebo komedómy, resp. keratinové manžety. Zozbieraný materiál preniesieme na podložné sklíčko a rozotrieme v oleji, pretože kvôli krvácaniu sa môže materiál zrážať do zhlukov a ťažšie sa potom vyšetovať. Vzorku prezeráme pod krycím sklíčkom s objektívom 4x alebo 10x. Demodexové roztoče sú niekedy prítomné vo veľkých počtoch a aj v preparáte ich môžeme nájsť pozdĺž chlpových korienkov.

Popri mikroskopickom dôkaze môžeme demodikózu diagnostikovať aj pomocou PCR, ktorá zachytáva všetky druhy popísané u psa (*D. canis*, *D. injai*, *D. cornei*) aj u mačky (*D. cati*, *D. gatoi*, *D. felis*).

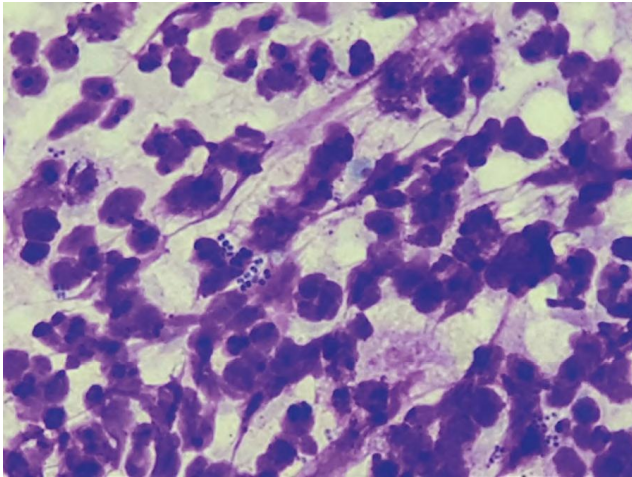
V niektorých prípadoch sa kožný zoškrab odporúča aj na cytologické vyšetrenie – keď je povrch kože intaktný. Tieto preparáty však často nie sú diagnostické, pretože bunky sú kvôli odberu vzorky väčšinou úplne zničené.

**Odtlačkové preparáty na cytologické vyšetrenie** kožných povrchov robíme najmä za účelom posúdenia typu prebiehajúceho zápalu alebo sekundárnych infekcií (obr. 3).

Podložné sklíčko pritlačíme na zmenené miesto kože a potom necháme na vzduchu vyschnúť. Pri odtlačku dávame pozor, aby sme v žiadnom prípade sklíčkom netreli po kožnej zmene, lebo týmto spôsobom sa bunky zničia a mikroskopicky potom pozorujeme len zvyšky jadier a vlákna chromatinu. Preparát najprv prezrieme pod menším zväčšením (objektív 10x alebo 20x), aby sme našli miesta s dobrou výpovednou hodnotou, a tie potom hodnotíme s vysokým rozlíšením (40x až 100x, imerzný olej).

Pokiaľ sú postihnuté miesta kože **ťažko dostupné** (napr. medzi prstami) alebo tak **suché**, že sa na podložnom sklíčku nezachytí žiadny materiál, je možné použiť **metódu lepiacej pásky**. Priehľadná lepiaca páska sa viackrát pritlačí na postihnuté miesto kože, až sa prichytí dostatočné množstvo materiálu a páska už nelepiť. Pri farbení vynecháme fixáciu, pretože vzorka je lepidlom už tak či tak fixovaná, a alkalický fixačný roztok väčšinu lepiacich pásek zakalí. Medzi nafarbenú páska a podložné sklíčko kvapneme olej a môžeme pod mikroskopom začať hľadať mikroorganizmy (baktérie/tyčinky/koky alebo kvasinky) a zápalové bunky.

Vo veľmi zriedkavých prípadoch vyšetrenie lepiacou páskou môže poukázať aj na iné kožné ochorenia (napr. kutánný lymfóm, pemphigus). Keďže možnosť zhodnotenia buniek na lepiacej páske je oveľa horšia ako na podložnom sklíčku, odtlačok lepiacou páskou by mal byť vyhradený na vyšetrenie sekundárnych infekcií a zápalových reakcií.



**Obr.3:** Pyodermia. Okrem degenerovaných neutrofilov vidíme aj intracelulárne koky.

Na **trichoskopii** vytrhneme chlpy pinzetou alebo peánom, s trochou oleja preniesieme na podložné sklíčko a po prikrytí krycím sklíčkom prezeráme pod mikroskopom. U každého pacienta s podozrením na dermatofytózu by sa mali spolu s odberom vzorky na kultiváciu alebo PCR vyšetriť chlpy aj mikroskopicky (obr. 4).

V niektorých prípadoch je tak možné diagnózu **dermatofytóza** stanoviť veľmi rýchlo a neodkladne započat' terapiu. Kultivačné alebo PCR vyšetrenie je však vždy potrebné spraviť. Na jednej strane preto, že senzitivita mikroskopického vyšetrenia nie je veľmi vysoká, na druhej strane preto, že mikroskopicky nie je možné určiť druh plesne.

Pri vyšetrení asymptomatických pacientov resp. pri kontrole terapie po zhojení eflorescencií je najlepšie materiál na kultiváciu húb získať pomocou McKenzie-Brush metódy. Novou zubnou kefkou kefujeme srst' aspoň päť minút, pri kontrole terapie najmä na miestach, ktoré boli predtým postihnuté.

Pomocou trichoskopie je možné dokázať aj roztoče **demodex**, pokiaľ nie je možné zhotovenie hlbokého kožného zoškrabu z dôvodu lokalizácie alebo nedostatočnej spolupráce pacienta. Senzitivita hlbokého kožného zoškrabu je však výrazne vyššia. Keďže demodexové roztoče žijú priamo v chlpových folikuloch na chlpových koreňkoch, je často možné vytiahnuť ich spolu s chlpmi.



**Obr.4:** Dermatofytóza. Stvol chľpu je prerastený hýfami plesní, na okraji sú rozoznateľné okrúhle spóry (hviezdíčka).

Avšak kožu by sme nemali stláčať ako pri robení hlbokého kožného zoškrabu, pretože tak roztoče zostanú stlačené v chlpovom folikule a nebudú prichytené na vytrhnutom koreňku.

**Trichogram** v užšom zmysle slova (trichoskopické vyšetrenie morfológie chlpov) môže pomôcť predovšetkým v diagnostike **nezápalových alopecií**. Pinzetou alebo peánom, ktorých špičky sú obalené gumovými hadičkami (aby sme zabránili iatrogénnemu poškodeniu chlpov) vytrhávame chlpy v zmenených oblastiach. Prísne vzaté by sme mali na podložné sklíčko naukladať paralelne 100 chlpov s parafínovým olejom, prikryť krycím sklíčkom a pozeráť pod mikroskopom. Koreňky, stvoly a končeky chlpov hodnotíme pod mikroskopom pri malom zväčšení (objektív 4x alebo 10x). Veľa chlpových koreňkov v štádiu telogénu svedčí o prítomnosti endokrinného ochorenia (hypotyreóza, hyperadrenokorticismus). Deformované koreňky posúvajú suspektnú diagnózu smerom k folikulárnej dysplázii.

U pacientov s alopeciou farebných mutantov a alopeciou čiernych chlpov nachádzame na stvoloch chlpov zhľuky melanínu (obr.5). Tie nakoniec vedú k zlomeniu postihnutého chľpu.



**Obr.5:** Alopécia farebných mutantov (Color Dilution Alopecia, CDA). V stvoloch chlpov sa nachádzajú makromelanozomy, ktoré môžu viesť k lámaniu chlpov.

Výzor špičiek chlpov nám poskytuje informáciu o tom, či by alopécia nemohla byť spôsobená

automutiláciou. Hlavne mačky často neukazujú svoje zvýšené čistenie sa, spôsobené svrbením, pred majiteľom. Keď v trichograme nájdeme polámané končeky chlpov, môžeme vychádzať z toho, že predsa len ide o pruritické ochorenie.

### Zhrnutie

Kožné ochorenia vždy vyžadujú systematický diagnostický prístup. Pomocou jednoducho realizovateľných a finančne nenáročných základných vyšetrení je v časti prípadov možné rýchlo dospieť k diagnóze, alebo aspoň získať nasmerovanie, kam sa uberať v ďalšej diagnostike. Diagnostická presnosť je obzvlášť vysoká, ak sa na príslušné vyšetrenie použije správny spôsob odberu vzorky.

Dr. Maria Christian

suspektná diagnóza	odber vzorky	poznámka	ďalšie vyšetrenia
sarcoptes	povrchový kožný zoškrab	čerstvé papuly, šupinky okraje ušnic + lakte	PCR zo zoškrabu a stanovenie titra protilátok zo séra
cheyletiella	odtlačok lepiacou páskou, príp. povrchový kožný zoškrab	predovšetkým na chrbte	
demodex	hlboký kožný zoškrab, príp. vytrhnuté chlpy / trichoskopia	miesta, ktoré sú začervenané/ bez chlpov alebo komedómy resp. keratínové manžety	PCR z kožného zoškrabu / chlpov
dermatofyty	vytrhnuté chlpy / trichoskopia, príp. povrchový kožný zoškrab, McKenzie-Brush metóda	u asymptomatických zvierat McKenzie-Brush metóda	vždy s kultivačným vyšetrením alebo PCR
sekundárne infekcie	odtlačok podložným sklíčkom, odtlačok lepiacou páskou na suchých/intaktných povrchoch alebo na ťažko dostupných miestach	zoškraby sú kvôli zničeniu buniek menej vhodné	bakteriologické a mykologické vyšetrenie
nezápalová alopécia	trichogram (cca 100 chlpov s korenkami a špičkami)	na peán / pinzetu navliecť gumovú hadičku	hormonálne profily, patohistológia (biopsia)
automutilácia	trichogram (cca 100 chlpov s korenkami a špičkami)	na peán / pinzetu navliecť gumovú hadičku	diagnostika pruritu