

Info 7/2021

Kožní seškrab, otisk nebo přeci jen trichogram? Návod k mikroskopickému vyšetření kožního povrchu

Kůže je největším orgánem těla a je snadno dostupná různým vyšetřením. I přesto může být sestavení diagnostického postupu u dermatologického pacienta frustrující. Udělejte si proto u dermatologických pacientů pevný diagnostický plán a podle něj postupujte. Po důkladné anamnéze (ideálně v podobě anamnestického dotazníku) a klinicko-dermatologickém vyšetření, odborně posuďte změny, které jste zjistili během dermatologického vyšetření.

Na začátku podrobné diagnostiky by mělo proběhnout mikroskopické vyšetření kůže a kožních derivátů, resp. chlupů. Tímto způsobem můžeme rychle identifikovat bakterie, plísňe, kvasinky nebo parazity, stejně jako zánětlivé buňky.

Odběr vzorku je obecně lehce proveditelný, výtěžnost jednotlivých vyšetření však hodně závisí na volbě odebíraného materiálu, stejně jako na způsobu odběru vzorku.

Nejllepším způsobem průkazu **Cheyletiell** (obrázek 1) je mikroskopické vyšetření lepící pásky. Tito roztoči způsobují suchou seboreu především na hřbetě. Opakovaným přilepením lepící pásky na postižená místa lze získat vhodný materiál pro vyšetření, alternativním způsobem je vykartáčování šupin. Na podložní sklíčko poté nanese 1 kapku parafinového oleje a přelepíme lepící páskou. Preparát je dobré prohlížet objektivem 4X

s odklopeným kondenzorem. Prohlížejte celý preparát, protože parazitů je většinou menší množství.

K průkazu **sarkoptového svrabu** a méně často se vyskytujícího **notoedrového svrabu** u koček se provádí povrchový kožní seškrab. Cheyletielly, které žijí na kožním povrchu, mohou být tímto způsobem také prokázány. Méně často lze tímto způsobem prokázat demodexe nebo chlupy napadené plísní.



Obrázek 1: Cheyletiella spp. Cheyletielly žijí na povrchu kůže a živí se tkáňovými tekutinami. Celý vývojový cyklus se odehrává na hostiteli, proto můžeme na chlupech hostitele najít i vajíčka Cheyletiell.

Pomocí již použitého skalpelu (pro minimalizaci rizika poranění) a parafinového oleje seškrábneme z míst, která jsme předtím oholili, co možná nejvíce šupin. Jelikož se Sarcoptes

nachází jen v malém počtu jedinců, doporučujeme provádět seškrab z několika míst (především z okrajů ušních boltců a z loktů) a z velké plochy. Nejjistější diagnóza je při seškrabu čerstvých papulek.

Získaný vzorek nanese na podložní sklíčko, přidáme další kapku parafinového oleje a překryjeme krycím sklíčkem. Prohlížíme pod mikroskopem s objektivem 4x až 10x a bez kondenzoru.

Diagnostiku sarkoptového svrabu můžeme provést také pomocí PCR z kožního seškrabu (bez parafinového oleje), případně provést stanovení titru protilátek ze séra.

Demodex je možné diagnostikovat pomocí hlubokých kožních seškrabů.



Obrázek 2: Demodex canis. Demodex žije v chlupových folikulech a živí se mazem a odloučenými buňkami. V malém množství jsou nalézány u mnoha zdravých zvířat (i u lidí).

Pomocí skalpelové čepelky nebo ostré lžičky a parafinového oleje škrábeme pokožku po směru růstu chlupů až do prvního krvácení. Mezi seškraby je vhodné kůži mačkat, abychom vytlačili roztoče z hloubky chlupových folikulů na povrch. Vzorky odebíráme z míst s eflorescencemi, jako jsou zarudnutí, alopecie, šupinatění nebo tvorba komedonů,

případně keratinizace kůže. Seškrábnutý materiál je vhodné okamžitě přenést na podložní sklíčko a zakapat dostatkem parafinového oleje, protože krev má tendenci vytvářet shluky a ty se poté špatně vyšetřují pod mikroskopem. Po zakrytí krycím sklíčkem vyšetřujeme vzorek pomocí objektivu 4x nebo 10x. Demodex (obrázek 2) můžeme nacházet ve velkém počtu a v preparátu mohou být nalepení na kořen chlupu.

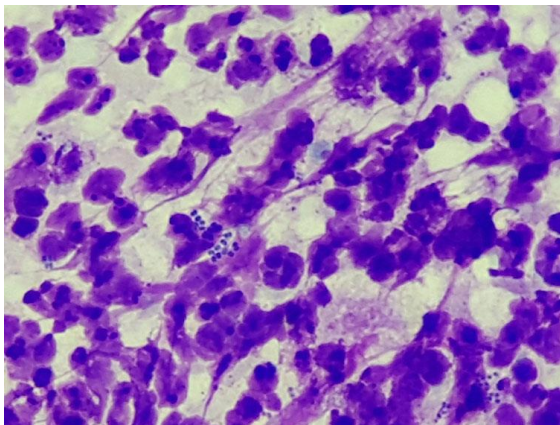
Vedle mikroskopického průkazu můžeme demodikózu diagnostikovat také pomocí PCR, která je schopna určit všechny druhy demodexe popsané u psa (*D. canis*, *D. injai*, *D. cornei*) a kočky (*D. cati*, *D. gatoi*, *D. felis*).

V některých případech jsou kožní seškraby doporučovány i k cytologickému vyšetření, pokud není povrch kůže poškozený. Tyto preparáty však často nejsou diagnostické, protože buňky jsou po tomto odběru často zcela zničené.

Otiskové preparáty k cytologickému posouzení kožního povrchu se provádějí především za účelem určit typ zánětu kůže nebo sekundárních infekcí (obrázek 3). Podložní sklíčko obtiskneme na změněné místo a poté necháme uschnout při pokojové teplotě. Při získávání otiskového preparátu je třeba dbát zvýšené opatrnosti, aby nedošlo k přetření změněného místa, protože pak dochází k poničení buněk a mikroskopicky jsou vidět pouze zbytky jader a chromatinová vlákna. Stejně jako v chirurgii, i zde platí zásada "neotírat, pouze obtiskávat." Pod mikroskopem prohlédneme preparát nejdříve pod menším zvětšením (10x, 20x), abychom našli místa s vypovídající hodnotou a ta poté mikroskopujeme pod větším zvětšením (40x až 100x a imerzí).

Pokud jsou tato místa špatně dostupná (například mezprstí) nebo jsou tak suchá, že na podkožním sklíčku nedrží odebraný materiál, můžeme pracovat s metodou lepicí pásky. Průsvitnou pásku několikrát přitiskneme na postižené místo, dokud nezískáme dostatečné množství materiálu a lepicí páska již nelepí. Při barvení vynecháme fixaci alkoholem, protože vzorek je již fixován lepidlem a mimoto se po fixaci alkoholem většina lepicích pásek zakalí. Mezi obarvenou lepicí pásku a podložní sklíčko nanese kapku oleje a pod mikroskopem hledáme mikroorganismy (bakterie/tyčky/koky nebo kvasinky) a zánětlivé buňky.

Ve velmi zřídka případech můžeme pomocí metody lepicí pásky objevit příznaky dalších kožních onemocnění (např. kutánní lymfom, pemphigus). Jelikož je posouzení buněk z otiskového preparátu lepicí páskou mnohem složitější než posuzování preparátu na podložním sklíčku, doporučujeme tuto metodu využívat přednostně k posuzování sekundárních infekcí a zánětlivých reakcí.



Obrázek 3: Pyodermie. Preparát obsahuje velké množství degenerovaných neutrofilů a intracelulárně uložené koky.

Trichoskopické vyšetření provádíme mikroskopii chlupů vytržených peanem nebo pinze-

tu, nanesených na podložní sklíčko s trochou oleje a překrytých krycím sklíčkem. U každého pacienta s podezřením na plísňové onemocnění by mělo být současně s odběrem vzorku na kultivaci a PCR, provedeno i trichoskopické vyšetření (obrázek 4). V některých případech lze takto rychle stanovit diagnózu dermatofytózy a okamžitě nasadit terapii. Vždy je však potřeba doplnit diagnózu kultivačním a PCR vyšetřením, protože senzitivita mikroskopického vyšetření je nízká a pomocí trichoskopie nedokážeme určit druh dermatofyta. K posouzení asymptomatických zvířat, resp. ke kontrole terapie po zhojení eflorescencí, je vhodnou metodou k odebrání materiálu pro plísňovou kulturu metoda McKenzie-Brush.

Pomocí nového zubního kartáčku alespoň 5 minut češeme srst zvířete, u kontroly terapie volíme místa dříve postižená plísní.



Obrázek 4: Dermatofytóza, stvol chlupu je protkán plísňovými hyfami, na okrajích můžeme rozeznat kulaté plísňové spory (Stern).

I demodexe lze prokázat pomocí trichoskopie, pokud není možný hluboký seškrab kvůli lokalizaci lézí nebo z důvodu nespolupráce s majiteli. Senzitivita hlubokého kožního seškrabu je však výrazně vyšší. Jelikož demodex žije v chlupovém folikulu přímo u kořene chlupu, můžeme je často vytrhnout společně

s chlupem. Při tomto způsobu získání materiálu však nesmíme pokožku mačkat (jako při seškrabu), protože takto vymáčkne demodexe z chlupového folikulu.

Trichogram v užším slova smyslu (trichoskopické vyšetření morfologie chlupu) můžeme využít především v diagnostice nezánettivých alopecií. Pomocí peanu nebo pinzety, jejichž špičky jsou potažené gumovými hadičkami, abychom zabránili iatrogennímu poškození chlupu, vytrhneme chlupy z postižených oblastí. Pokud bychom byli striktní, je potřeba nanést 100 chlupů paralelně na podložní sklíčko, zakapat parafinovým olejem a přikryté krycím sklíčkem vyšetřit mikroskopicky.

Chlupové kořeny, stvol a špičku vyšetřujeme mikroskopicky pod malým zvětšením (objektiv 4x nebo 10x). Na existenci endokrinního onemocnění (hypotyreóza, hyperadrenokorticismus) poukazuje přítomnost velkého množství chlupových kořenů v telogenním stádiu. Špatně utvářené kořeny chlupů poukazují směrem k folikulární dysplazii.



Obrázek 5: Alopecie barevných mutantů (color dilution alopecia, CDA). Ve stvolech chlupů jsou uloženy makromelanozomy, které mohou způsobit zlomení chlupu).

Pacienti s alopecií barevných mutantů a alopecií černých chlupů mají v chlupových stvolích melaninové shluky (obrázek 5), které nakonec vedou ke zlomení chlupu. Špička chlupu nám podává důležité informace o tom, zda je alopecie způsobena automutilací. Především kočky často před majitelem skrývají zvýšené lízání chlupů vlivem pruritu. Pokud v trichogramu najdeme zlomené špičky chlupů a třepení, můžeme vycházet z toho, že zvíře přeci jen trpí pruritickým onemocněním.

Shrnutí

Kožní onemocnění vyžadují vždy systematický diagnostický postup. Pomocí jednoduchých a levných základních vyšetření můžeme občas velmi rychle stanovit diagnózu nebo minimálně získat směr pro další vyšetření. Diagnostická hodnota je vysoká, pokud pro odpovídající vyšetřovací metodu zvolíme i správný způsob odběru vzorku.

SUSP. DIAGNÓZA	ODBĚR VZORKU	KOMENTÁŘ	DALŠÍ VYŠETŘENÍ
Sarcoptes	Povrchový kožní seškrab	Čerstvé papulky Šupiny Okraje ušních boltců, lokty	
Cheyletiella	Otisk lepící páskou, Ev.povrchový kožní seškrab	Především hřbet	
Demodex	Hluboký kožní seškrab, Ev. Vytržené chlupy/ trichoskopie	Místa, která jsou zarudlá, alopetická nebo s komedony, případně keratinové manžety	PCR ze seškrabů/chlupů
Dermatophyta	Vytržené chlupy/trichoskopie Ev.povrchový kožní seškrab, Metoda McKenzie-Brush	U asymptomatických zvířat Metoda McKenzie-Brush	Vždy doplnit kultivací nebo PCR
Sekundární infekce	Otisk podložním sklíčkem Otisk lepící páskou na suché kůži beze změn nebo na těžce dostupných místech	Seškraby jsou kvůli poškození buně méně vhodné	Bakteriologické a mykologické vyšetření
Nezánětlivá alopecie	Trichogram (cca 100 chlupů s kořenem a špičkou)	Peán/pinzeta s hroty potaženými gumovou hadičkou	Hormonální profil, patohistologie (biopsie)
Automutilace	Trichogram (cca 100 chlupů s kořenem a špičkou)	Peán/pinzeta s hroty potaženými gumovou hadičkou	Vyšetření pruritu