



# Diagnostiek in de dermatologie

A.P.M. Lavrijsen

Microscopische sneldiagnostiek is inzetbaar op verschillende werkterreinen van de dermatoloog. In de spreekkamer bij frequent voorkomende aandoeningen, waardoor een dermatoloog onafhankelijk van ziekenhuisfaciliteiten kan werken, maar ook in de kliniek bij complexe ernstige ziektebeelden waarbij snelheid relevant is en de dermatoloog op deze manier een waardevolle bijdrage kan leveren. De resultaten van deze technieken hangen af van het op de juiste wijze afnemen van het materiaal, het goed uitvoeren van de kleurtechniek en de ervaring die men heeft met het beoordelen van dergelijke preparaten. Of u deze technieken efficiënt kunt inzetten is afhankelijk van de logistiek rondom de afname, het maken van de preparaten en de manier waarop het beoordelen van de preparaten is ingebed in de praktijk. Er zijn geen grote aanpassingen van de werkplek nodig en slechts een beperkt aantal benodigdheden (zie tabel 1) om microscopische sneldiagnostiek toe te passen. Een wasbak en een kleine tafel met daarop een foto-ontwikkelbak met daarin de benodigdheden om de preparaten te kleuren en een plek voor een microscoop zijn vaak voldoende. De technieken zijn eenvoudig te leren door ervaren praktijkondersteuners.

Tabel 1. Benodigdheden voor het maken en beoordelen van een KOH-preparaat, methyleenblauwpreparaat en tzanckpreparaat.

	KOH-preparaat	Methyleenblauwpreparaat	Tzanckpreparaat
20% Kaliumhydroxideoplossing (KOH 20%)	x		
Hemacolor® kit (Merck, cat. nr. 111674)			x
Löfflers methyleenblauwoplossing (Merck, cat. nr. 1012870100, 100 ml)		x	
Föhn		x	x
Brander (alternatief tafelaansteker)	(x)	x	
Objectglasjes	x	x	x
Dekglasjes	x		
Spuitfles met water (alternatief injectiespuit 25 ml)		x	x
Petrischaaltje met glazen triangle (alternatief plastic bakje met 2 cocktailprikkers)	x		
Overige zoals 70% ethanol voor desinfectie werkgebied, filtreerpapier of tissues, pincetten en nagelschaar	x	x	x
Microscoop	x	x	x
Objectief	4x (of 5x); 10x, 40x	10x; 100x (olie)	10x; 100x (olie)
Immersie-olie (bv Zeiss Immersie-olie 518N 20 ml)		x	x

In dit artikel komen drie types directe preparaten aan de orde. Allereerst het KOH-preparaat dat met name voor mycologie wordt gebruikt en vervolgens twee gekleurde preparaten waaronder het methyleenblauwpreparaat dat met name wordt gebruikt voor het aantonen van bacteriën en gisten en het tzanckpreparaat waarmee diverse celtypen kunnen worden geïdentificeerd. Het tzanckpreparaat kan ondersteuning geven bij het diagnosticeren van een breed scala infectieuze en niet-infectieuze dermatosen. Complexere kleuringen voor het diagnosticeren van weinig voorkomende ziektebeelden worden niet besproken.

Microscopische sneldiagnostiek is een van de instrumenten die de dermatoloog heeft om patiëntvriendelijke en goedkope zorg te verlenen. De diagnose wordt direct gesteld en een vervolggconsult is meestal niet nodig. De directe diagnostiek zorgt ervoor dat er snel kan worden gestart met een behandeling als er sprake is van ernstige infecties zoals herpesinfecties bij pasgeborenen, immuungecompromitteerde patiënten en bij patiënten met constitutioneel eczeem. Ook kan snelheid relevant zijn in het kader van infectiepreventie. Denk hierbij aan preventie van scabiës, gonorrhoe enzovoorts.

Microscopische sneldiagnostiek is zowel inzetbaar bij veelvoorkomende infecties van de huid als bij zeldzame en of alarmerende dermatologische aandoeningen zoals vesiculopustulaire huidafwijkingen bij pasgeborenen, leishmaniasis en herpesvirusinfecties bij immuungecompromitteerde patiënten.

Deze bijdrage biedt praktische informatie om te kunnen starten met diagnostiek en laat gebruikers die al werken met KOH-preparaten zien hoe makkelijk gekleurde preparaten te maken en te beoordelen zijn.

## MATERIAALAFNAME

Het is nodig om te weten wat de klinische verdenking is zodat het juiste materiaal afgenomen wordt. Bij verdenking op een dermatofytose moet altijd keratinebevattend materiaal worden afgenomen zoals huidschilfers, haren en nagels om de 'keratofiele' dermatofyt te kunnen aantonen. [1] Bij verdenking op een dermatomycose veroorzaakt door een gist heeft een uitstrijk van een pustel of slijmvlies de voorkeur.

### KOH-preparaat – indicatie dermatofytose

**Huidschilfers** worden bij verdenking op een dermatofytose bij voorkeur afgenomen op de overgang van de klinisch aangedane naar de klinisch gezonde huid waarbij de schilfers in de richting van de gezonde huid worden losgetrokken. In het centrum van een dermatomycose wordt vaak geen schimmel meer gevonden. Bij de inflammatoire variant van tinea pedis waarbij vesikels en eventueel blaren op de voorgrond staan, is het dak van een vesikel het meest geschikte materiaal voor een direct preparaat. Het materiaal kan worden afgenomen met een scalpel (verhoorde huid of vesikeldak) of (splinter)pincet (zachte huid). Bij voorkeur wordt hiervoor geen objectglaasje gebruikt omdat dit kan breken en het glas de huid kan beschadigen. [2]

Bij verdenking van een tinea capitis/trichofytose is het relevant om naast huidschilfers ook **loszittende haren** van het aangedane huidgebied met een pincet uit te trekken voor zowel het directe preparaat als voor de schimmelkweek. Afgeknipte haren zijn onbruikbaar omdat de dermatofyt zich meestal in de basis van de haar en/of de haarwortel bevindt. Vaak laten aangedane haren zich makkelijk zonder pijn uittrekken. [2]

Bij verdenking op een onychomycose moet het **nagelmateriaal** zo proximaal mogelijk worden afgenomen ter plaatse van de overgang van het klinisch aangedane naar het klinisch gezonde deel van de nagel waarbij zowel een gedeelte van de bovenkant als van de onderkant van de nagel wordt afgenomen. Wanneer de totale nagel is aangedaan wordt materiaal van het oppervlakte van de nagel en subunguaal afgeschraapt. [2]

### KOH-preparaat – overige indicaties

Huidschilfers voor een KOH-preparaat kunnen worden afgenomen van een schilferende huidafwijking verdacht voor pityriasis versicolor of een candidiasis. Als er pustels zijn heeft een uitstrijk voor een gekleurd preparaat de voorkeur. Bij de verdenking op scabiës of demodexfolliculitis kan een KOH-preparaat een waardevol diagnosticum zijn om de diagnose te bevestigen. De scabiësmijten of gangetjes worden met behulp van een dermatoscoop geïdentificeerd en met een scalpelmessje (nr. 15) uitgeschraapt. [3] Een follikel verdacht voor infectie met demodexmijten kan eveneens worden uitgeschraapt. Is dit materiaal droog dan kan er een KOH-preparaat worden gemaakt. Is het materiaal vochtig dan kan of een methyleenblauwpreparaat of een tzanckpreparaat worden gemaakt.

### Methyleenblauwpreparaat

Uitstrijken voor een methyleenblauwpreparaat kunnen onder andere worden gemaakt van ecoulement, fluor en mondslijmvlies. Dit materiaal wordt afgenomen met een steriele öse en dun

uitgestreken op een objectglaasje. Er kan ook materiaal van een blaar of pustel worden afgenomen met een steriele naald of scalpelmessje (nr. 15) en dun op een objectglaasje worden uitgestreken. Bij verdenking op pityriasis versicolor, candida-infectie en erythrasma kan bovendien schilfermateriaal worden afgenomen met behulp van plakband. Het plakband wordt vervolgens gekleurd met methyleenblauw.

### Tzanckpreparaat

Het materiaal voor een tzanckpreparaat is bij voorkeur afkomstig van een verse laesie en afgenomen met scalpelmessje nr. 15. Als het een vesikel, pustel of bulla betreft wordt met het mesje eerst het intacte blaardak geopend, daarna opzij geklapt en vervolgens wordt met het scalpelmessje voorzichtig over de bodem van de laesie geschraapt. Op dezelfde manier wordt met een mesje over de bodem van een erosie of ulcus geschraapt om materiaal te verkrijgen. Bij verdenking op leishmaniasis worden de wondranden uitgeschraapt omdat de parasiet zich in de wondranden bevindt en niet in de wondbodem of het wondbeslag. [4] Het verkregen materiaal wordt zo dun mogelijk uitgestreken op een objectglaasje en gedroogd aan de lucht. Bij verdenking op leishmaniasis kan ook een deppreparaat worden gemaakt van het huidbiopt dat voor histologisch onderzoek van de wondrand wordt afgenomen. [2]

### MAKEN EN BEOORDELEN VAN HET PREPARAAT

Voor het maken en beoordelen van het KOH-preparaat, het methyleenblauwpreparaat en het tzanckpreparaat heeft men weinig benodigdheden nodig. Deze staan in tabel 1 vermeld. Van 'hard' keratine bevattend materiaal zoals huidschilfers, nagels en haren wordt een KOH-preparaat gemaakt. Van 'vochtig' materiaal zoals uitstrijken van pustels of slijmvliezen worden in de meeste gevallen gekleurde preparaten gemaakt (tzanckpreparaat, methyleenblauwpreparaat eventueel grampreparaat).

### KOH-preparaat

Het materiaal (huidschilfers, nagelstukjes of haren) wordt op een objectglaasje gelegd. Als het nagelmateriaal betreft, wordt dit indien nodig eerst klein gemaakt met een nageltang. Breng een druppeltje 20% KOH-oplossing naast het materiaal en leg hierop een dekglaasje zodat het materiaal in de KOH-oplossing komt te liggen. Er is gekozen voor een 20% KOH-oplossing omdat een lagere concentratie het materiaal onvoldoende verweekt en een hogere concentratie eerder kristalliseert waardoor het preparaat moeilijker te beoordelen is. Het KOH-preparaat wordt bewaard in een petrischaal met triangel. [2] Voordat het KOH-preparaat wordt **beoordeeld** moet het objectglaasje aan de onderkant met een tissue worden droogge maakt zodat de kruistafel van de microscoop niet beschadigd wordt door de KOH. Om een KOH-preparaat te beoordelen is contrast nodig, wat ontstaat als het condensordiafragma van de microscoop wordt dichtgedraaid. Het preparaat wordt eerst met een 10x objectief beoordeeld, vervolgens aangedrukt, eventueel verwarmt en daarna nogmaals met een 40x objectief beoordeeld. Soms is er enige inweektijd nodig, vooral bij nagels. Daarom wordt elk KOH-preparaat, dat in eerste instantie

negatief beoordeeld is, na 2 à 3 uur nogmaals onderzocht. Met een KOH-preparaat kan men een netwerk van schimmeldraden (mycelium) zien en de afzonderlijke schimmeldraden (hyfen) met de septa in de draden. Ook kunnen gistsporen, pseudomycelia en parasieten zoals scabiësmijt en demodexmijt worden aangetoond. [2]

### Kleurtechniek methyleenblauwpreparaat

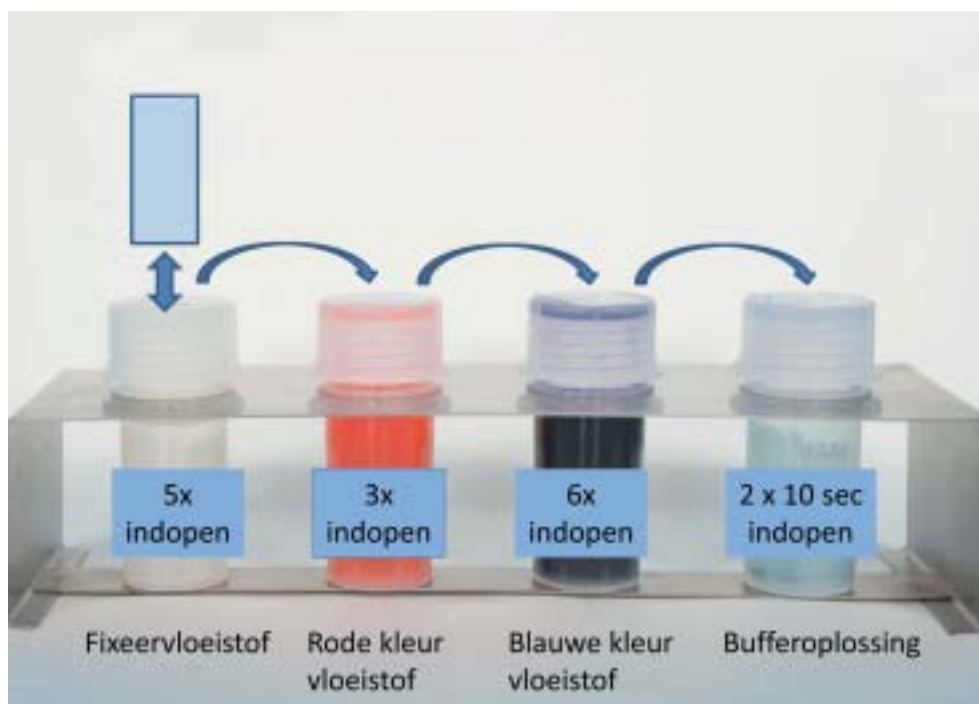
Nadat het objectglaasje met het materiaal aan de lucht is gedroogd wordt het materiaal gefixeerd door het objectglaasje 3x door een vlammetje te halen. Plaats hierna het glaasje dat moet worden gekleurd dertig seconden tot maximaal twee minuten in een kleurbakje gevuld met methyleenblauw. Het objectglaasje wordt vervolgens afgespoeld met leidingwater (uit spuitfles of injectiespuit) dat wordt opgevangen in een afvalbak/container. Ten slotte wordt het preparaat met een föhn of aan de lucht gedroogd. Als plakband is gebruikt wordt dit eerst gekleurd in de methyleenblauwoplossing zoals hierboven beschreven en daarna met de plakzijde geplakt op een objectglaasje.

Voordat het methyleenblauwpreparaat wordt **beoordeeld** moet eerst onder de microscoop het materiaal worden opgezocht met 5x of 10x objectief en daarna scherpgesteld. Vervolgens wordt er een druppeltje immersie-olie op het glaasje gedaan op de plaats waar het materiaal zit waarna het preparaat met 100x objectief wordt beoordeeld. [2] Een methyleenblauwpreparaat wordt beoordeeld met een 100x objectief en open condensor, zodat het preparaat goed belicht is. In dit preparaat kunnen leuco's, bacteriën, (staafjes, gebogen staafjes, kokken in groepen/keten, diplokokken intracellulair etc.) en gisten worden gezien. Als het nodig is om onderscheid te maken tussen gramnegatieve en grampositieve

bacteriën kan men een gramkleuring maken. Referentie 2 bevat een link naar een site met een beschrijving van deze kleuring. [2]

### Kleurtechniek tzanckpreparaat

De Franse dermatoloog Tzanck introduceerde deze cytologische onderzoeksmethode in 1947 in de dermatologie. [4] De oorspronkelijke tzanckkleuring, ofwel de may-grünwald-giemsakleuring, is vanwege de tijdsduur (> 30 minuten) minder geschikt voor spreekkamerdiagnostiek. Voor een snellere kleuringsmethode kunnen commercieel verkrijgbare kits zoals de Hemacolor® kit, QUIK-DIP en Diff-Quik worden gebruikt. Deze technieken zijn oorspronkelijk ontwikkeld om bloeduitstrijkjes te kleuren en maken het mogelijk om binnen enkele minuten de uitstrijk te beoordelen. [5] Nadat de uitstrijk aan de lucht is gedroogd verloopt de kleuring met de Hemacolor® kit in vier stappen (figuur 1). De kleuring begint met een fixeerstap met methanol, waarna een kleuring met een rode kleurreagens (eosineoplossing) plaatsvindt. Vervolgens is er een kleurstep met een blauwe kleurreagens (Azur B-oplossing) en de laatste stap bestaat uit het spoelen van het preparaat met gebufferd gedistilleerd water (pH 7,2). Hierna de overtollige vloeistof weg laten lopen door het glaasje met een zijkant op filtreerpapier te plaatsen. Als laatste het preparaat drogen met een föhn of aan de lucht, beslist niet drogen met filtreerpapier. De kleurkit is eenvoudig aan te schaffen, is niet duur en kan gebruikt worden voor meer dan 250 kleuringen. De **beoordeling** van een tzanckpreparaat met de microscoop gebeurt op dezelfde manier als bij een methyleenblauwpreparaat. [2] Met deze cytologische kleurtechniek kan men meerdere micro-organismen en celtypen onderscheiden waardoor dit diagnosticum inzetbaar is bij een breed scala van huidafwijkingen.



Figuur 1. Snelle kleurtechniek voor een tzanckpreparaat met behulp van de Hemacolor® kit.

Het tweede deel van dit artikel *Toepassingsmogelijkheden, interpretatie en diagnostische waarde* zal in een komend nummer van dit tijdschrift worden geplaatst.

Met dank aan Liesbeth Raaij-Helmer voor haar waardevolle inbreng.

## LITERATUUR

1. Lavrijsen APM. *Dermatomy cose. Ned Tijdschr Dermatol Venereol.* 2016;26:517-23.
2. van der Raaij-Helmer L, Lavrijsen S. *Microscopie van directe preparaten voor de dermatologische praktijk. Leiden: LUMC; 2014.*
3. Park JH, Kim CW, Kim SS. *The diagnostic accuracy of dermoscopy for scabies. Ann Dermatol* 2012;24(2):194-9.
4. 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(2):125-9.
5. Wanat KA, Dominguez AR, Carter Z, Legua P, Bustamante B, Micheletti RG. *Bedside diagnostics in dermatology: Viral, bacterial, and fungal infections. J Am Acad Dermatol* 2017;77(2):197-218.

## SAMENVATTING

Diagnostiek is inzetbaar bij frequent voorkomende en bij bedreigende huidinfecties met schimmels, bacteriën, virussen en parasieten en ook bij een breed scala van niet-infectieuze huidaandoeningen. Het omvat een aantal eenvoudige, snelle en goedkope diagnostische technieken, die weinig benodigdheden vereisen en door de dermatoloog op de polikliniek kunnen worden toegepast. Hierdoor is de dermatoloog minder afhankelijk van ziekenhuisfaciliteiten en is de zorg patiëntvriendelijker en efficiënter. Het resultaat is afhankelijk van de afname van het materiaal, het maken van de preparaten en de ervaring van de beoordelaar. De waarde van diagnostiek bij frequent voorkomende toepassingen is goed onderzocht. Kennis van de beperkingen van deze technieken is relevant. Diagnostiek kan aanvullend microbiologisch onderzoek of histologisch onderzoek niet vervangen.

## TREFWOORDEN

tzanckpreparaat – KOH-preparaat methyleenblauwpreparaat – microscopische sneldiagnostiek – dermatomy cose – scabiës

## SUMMARY

Direct microscopic diagnostics such as potassium hydroxide examination, Tzanck smear test and methylene blue stain can be used for common and threatening infections with fungi, bacteria, viruses and parasites and also for a wide range of non-infectious skin diseases. These diagnostic techniques are simple, rapid and inexpensive. Because these tests require little materials they can be applied by the dermatologist in daily practice. This makes the dermatologist less dependent on hospital facilities and patient care becomes friendlier and more efficient. The result depends on the way in which the material is collected and processed, and the experience of the reviewer. The value of these diagnostic tests has been adequately investigated for common diseases. Knowledge of the limitations is important. This type of rapid diagnostics does not replace additional microbiological testing or standard histology.

## KEYWORDS

Tzanck smear – potassium hydroxide examination – methylene blue stain – bedside diagnostics – KOH – dermatomy cosis

Gemelde (financiële) belangenverstrengeling.  
Geen.

## CORRESPONDENTIEADRES

Sjan Lavrijsen

E-mail: [a.p.m.lavrijsen@lumc.nl](mailto:a.p.m.lavrijsen@lumc.nl)

## Oproep

Voor de rubriek *Tips & Tricks*: praktische tips die u graag met uw collega's deelt.

Voor de rubriek *Dermatologie met een knipoog*: bijvoorbeeld een verwijsbrief 'uit de oude doos'.

Heeft u een bijdrage voor een van deze rubrieken, stuurt u deze dan naar [l.fritschy@nvdv.nl](mailto:l.fritschy@nvdv.nl)

**Bij voorbaat dank!**