

## EXAME MICOLOGICO DE ESCAMAS CUTÂNEAS CORADAS PELO PAS

M. PAES DE OLIVEIRA

O exame direto de escamas cutâneas após clarificação pelo hidróxido de potássio a 30-40%, constitui técnica simples, segura e rápida para o diagnóstico das micoses superficiais. Estas preparações não podem, no entanto, ser conservadas e se for necessário uma documentação fotográfica esta deve ser imediata, o que nem sempre é possível.

As preparações permanentes são mais úteis pois, além de permitirem a documentação fotográfica posterior, fornecem a qualquer momento a morfologia do parasito nos tecidos, o que é de importância para a sua exata classificação (caso das *tinhas ecto e endotrix*, por exemplo). Sabouraud diz em seu tratado: “. . . la nécessité de préparations permanentes est absolue. Je citerais par centaines des erreurs dues à ce que les auteurs n'avaient pas à coté de leurs collections de cultures, leur bibliothèque de préparations correspondantes”.

A dificuldade principal de uma coloração corada permanente de escamas cutâneas é a da clarificação visto que, após a ação do hidróxido de potássio, nenhuma coloração é possível. Mesmo os corantes mais suaves impregnam as escamas em massa.

Após algumas tentativas com os métodos de autores antigos como Sabouraud (1910), Unna (1887) e Adamson (1895) resolvemos utilizar o método descrito por Pilsbury & Shelley (1956) em seu tratado e que utiliza a coloração pelo PAS. Neste método a clarificação é obtida tratando-se as escamas por uma solução de ácido tartárico e hidrossulfato de zinco. Esta última substância não é encontrada no comércio em nosso país.

Por esta razão resolvemos fazer uma modificação no método: utilizamos para a clarificação o ácido fórmico, preconizado por Sabouraud (1910) em seu método de coloração pelo azul de Sahli.

Com este método, a primeira dificuldade encontrada é a do tratamento preliminar, indispensável, de desengordurar as escamas pelo éter ou clorofórmio. A fixação das escamas na lâmina utilizando-se a albumina de Mayer não é eficiente: a ação do éter ou do clorofórmio faz com que soltem-se várias escamas, senão a maioria. Sabouraud recomenda a utilização de vidros de relógio mas, após a operação, deve-se transferir as escamas para a lâmina porta-objetos o que resulta em manipulação excessiva e difícil.

Era necessário portanto concentrar as escamas num ponto da lâmina. Para isto confeccionamos anéis de vidro de 5 mm de altura e 1,5 cm de diâmetro (Fig. 1). Este anel de vidro é flambado, toca-se com ele a superfície de um bloco de parafina colocando-o em seguida no centro de uma lâmina limpa e seca. A parafina solidifica-se e temos então preparada uma câmara que servirá para contenção das escamas (Fig. 2).

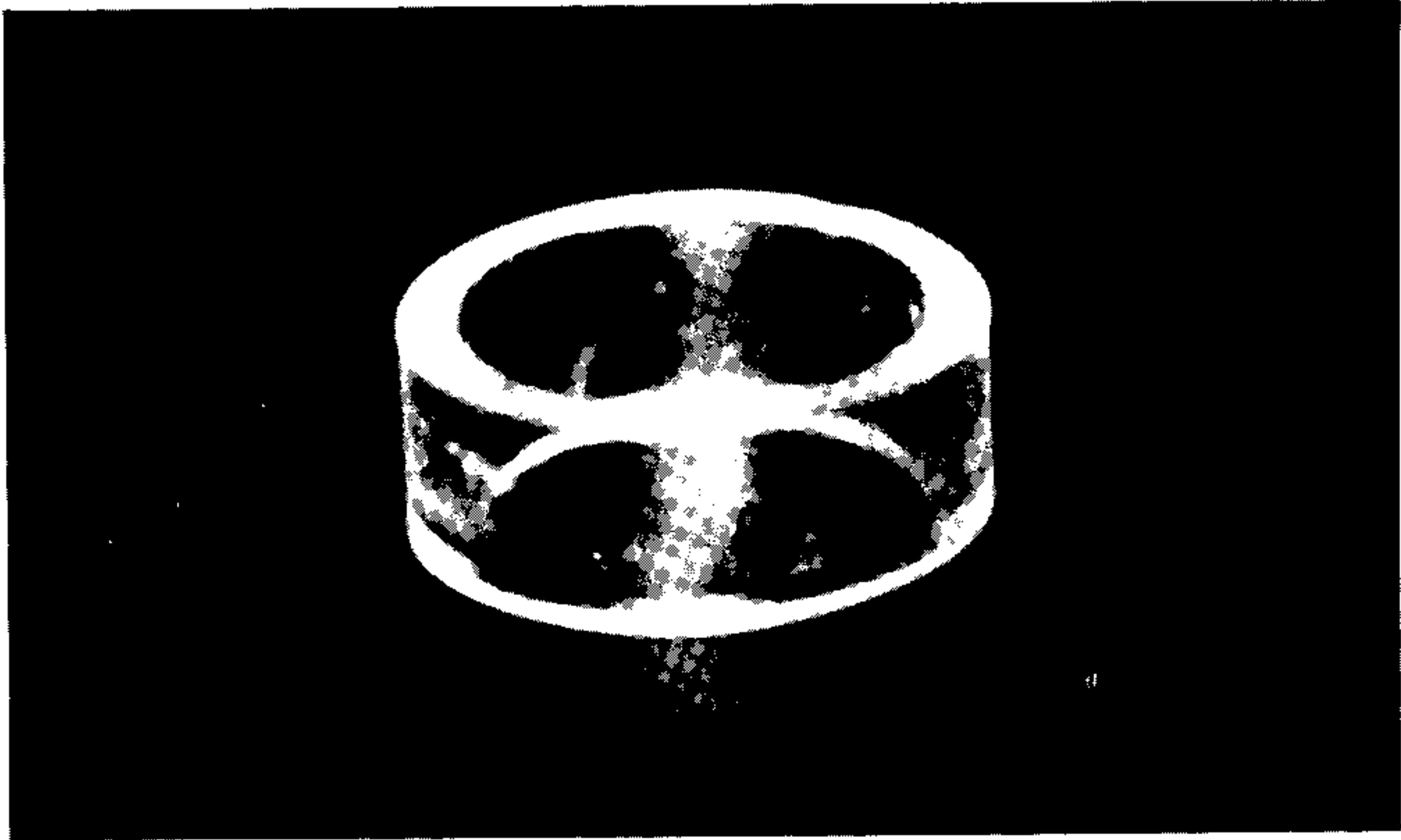


Fig. 1 – Anel de vidro.

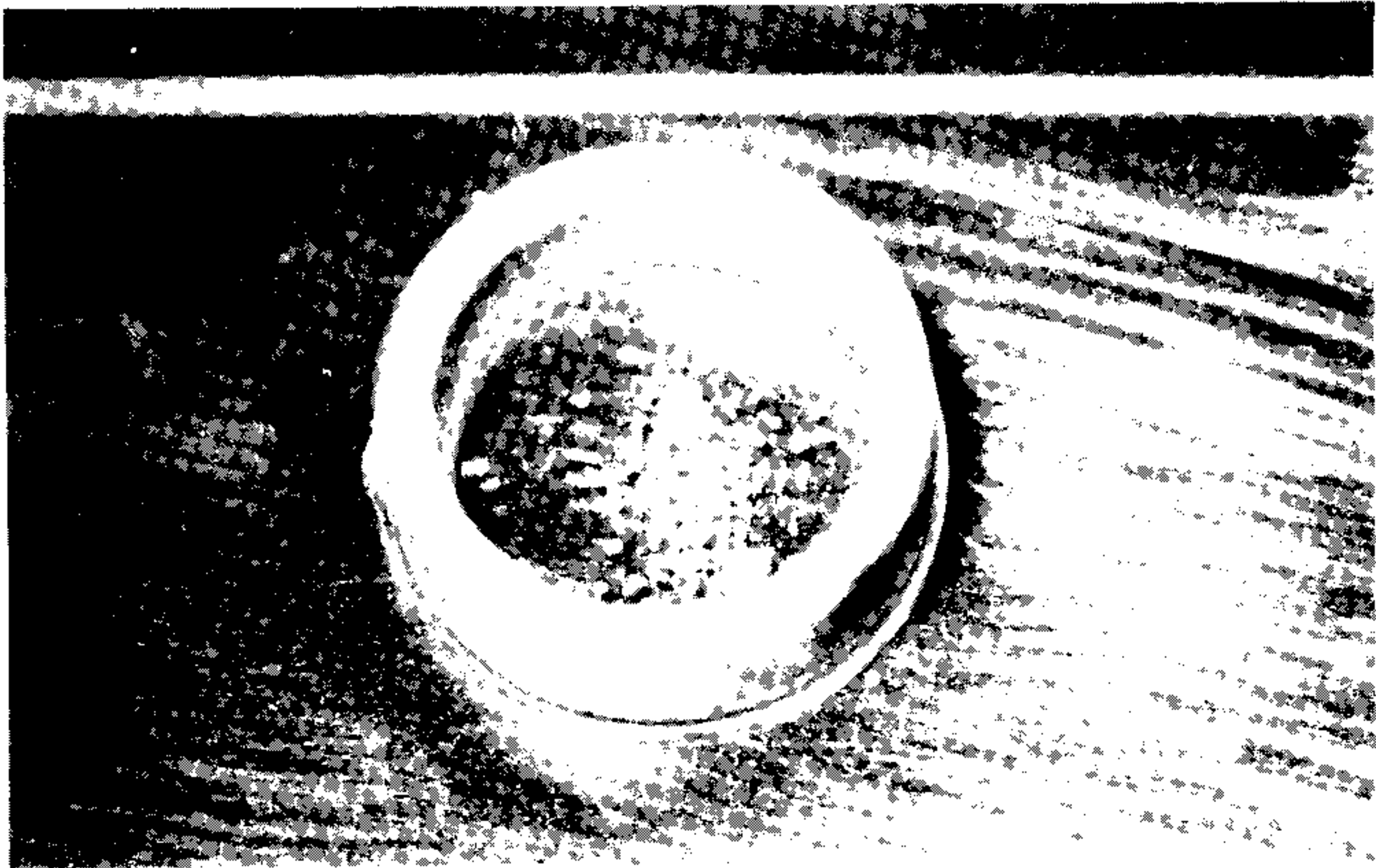


Fig. 2 – Câmara que servirá para a contenção das escamas.

A técnica completa consta dos seguintes itens:

1) cobrir as escamas na câmara com duas gotas de éter, aguardar a evaporação e colocar mais duas gotas;

2) após a evaporação cobrir as escamas com duas ou três gotas de ácido fórmico P.A. Para escamas bem finas basta um minuto, para escamas mais espessas (caso de raspados subungueais, por exemplo) pode-se aguardar até 30 minutos;

3) aquecer cuidadosamente a lâmina na chama até a evaporação do ácido. Neste momento as escamas fixam-se à lâmina e o anel de vidro solta-se sendo então retirado. As escamas dispõem-se em círculo, acompanhando as paredes do anel de vidro, pois o tratamento, tanto pelo éter como pelo ácido fórmico, tende a dispersá-las. A partir daí o procedimento é o mesmo de uma preparação histológica;

4) desparafinizar (a fim de retirar o excesso de parafina utilizada para a fixação do anel de vidro), passar nos álcoois, lavar em água destilada;

5) ácido periódico a 1% durante 10 minutos;

6) lavar em água destilada;

7) secar com papel de filtro;

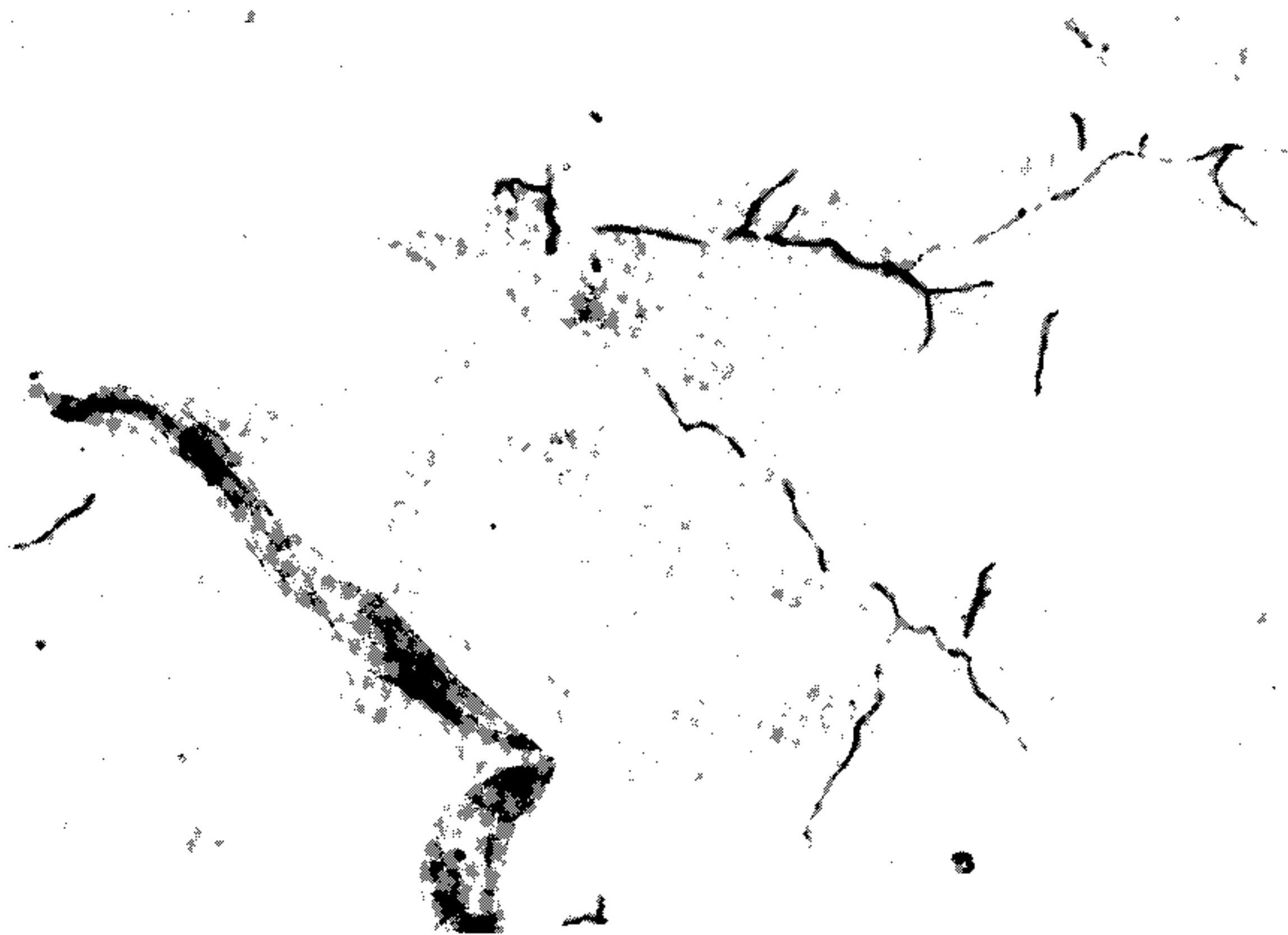
8) reagente de Schiff por 15 minutos;

9) água corrente por 10 minutos (julgamos não ser necessário o banho sulfuroso);

10) solução aquosa saturada de ácido pícrico por 3 minutos (coloração de fundo);

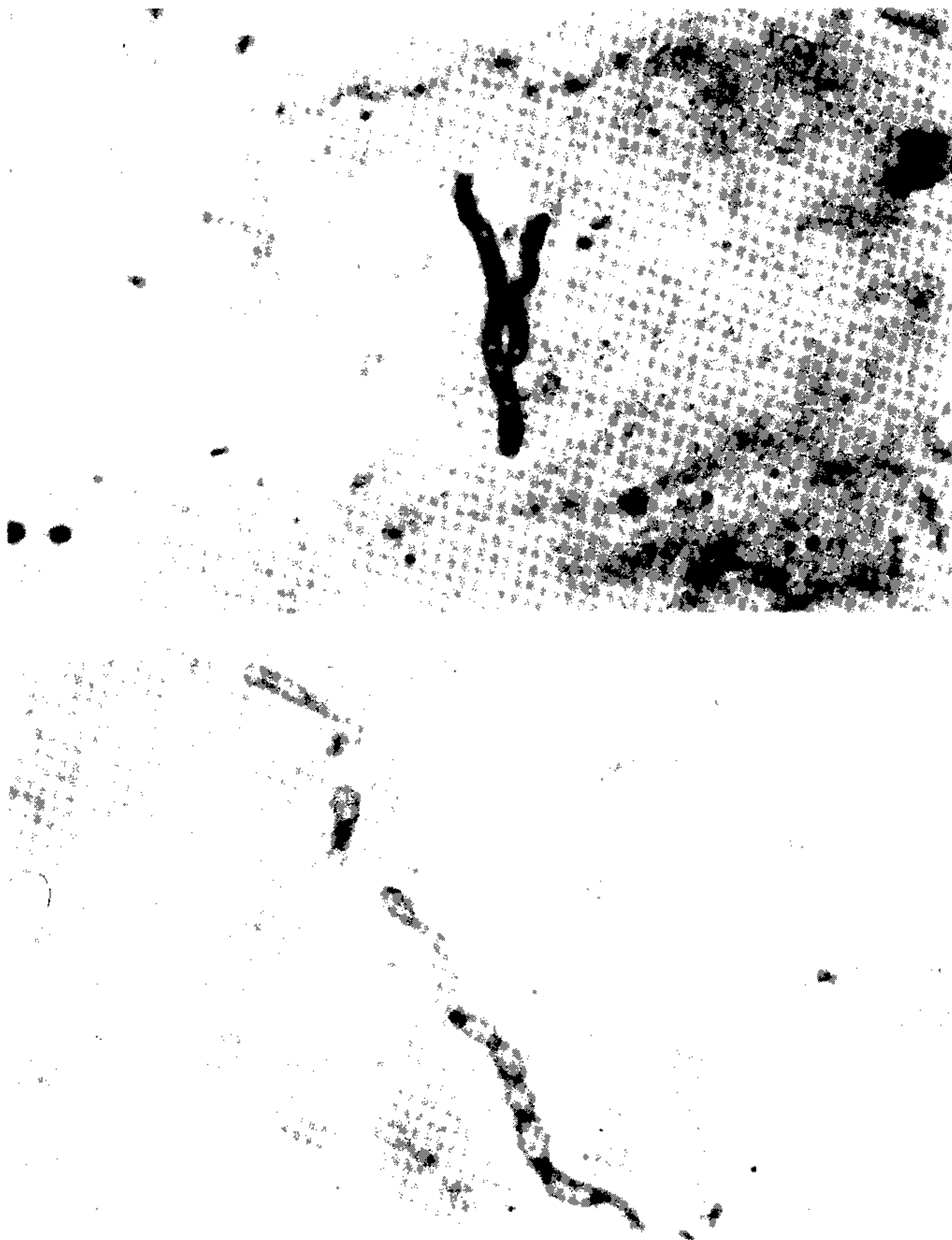
11) álcoois, xilol I e II, montar com bálsamo.

Com este método, os elementos parasitários tomam cor vermelha bem acentuada, destacando-se nitidamente do fundo, corado em amarelo (Figs. 3, 4 e 5).



O método não deve substituir o exame a fresco após clarificação pela potassa, mas além do valor já citado para documentação e fins didáticos, tivemos oportunidade de verificar que certos casos, com pobreza de elementos parasitários e dados como negativos ao exame direto, mostraram-se positivos com o método pois mesmo pequenos fragmentos de hifas parasitárias destacam-se muito bem devido ao excelente contraste proporcionado pelo método.





Figs. 3, 4 e 5 – Os elementos parasitários tomam cor vermelha, destacando-se do fundo corado em amarelo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMSON, H.G., 1895. A note on permanent staining of ringworm fungus. *Brit. J. Derm.* 7 :373-7.
- PILSBURY, D.M. & SHELLEY, W.B., 1956. *Dermatology* - W.C. Saunders Edit. Philadelphia pág. 112.
- SABOURAUD, R., 1910. *Les Teignes*. Masson et Cie. Edit Paris pág. 94.
- UNNA, P.G., 1887. Natürliche Reinculture der Oberhauptpilze *Monat. f. prakt. Derm.* 18 :257-61.