

LETTER TO THE EDITOR**Chicago Sky Blue Contrast Stain: A New Ally in the Fungal Wet Mount****Coloração Chicago Sky Blue: Um Novo Aliado no Exame Micológico Directo**Received/Recebido
2020/12/27Accepted/Aceite
2020/12/28Published/Publicado
2021/03/30Joel Reis¹, Glória Cunha Velho¹, Manuela Selores¹¹Centro Hospitalar Universitário do Porto, Serviço de Dermatologia, Porto, Portugal**KEYWORDS** – Staining and Labeling; Trypan Blue.**PALAVRAS-CHAVE** – Azul Tripano; Coloração e Rotulagem.

O exame micológico direto é uma técnica fundamental para o rápido diagnóstico de dermatomicoses. O hidróxido de potássio (KOH) (10%-20%) é a técnica tradicionalmente usada, pouco dispendiosa e de fácil execução, mas à qual falta sensibilidade e especificidade sobretudo nas amostras mais espessas e naquelas em que o número de hifas é reduzido.^{1,2} A falta de contraste torna difícil

a visualização das estruturas fúngicas, exigindo treino e experiência para a sua interpretação (Fig.s 1A e B).

Para tentar ultrapassar esta dificuldade, têm sido usadas diferentes colorações ao longo do tempo. A sua utilização permite destacar as estruturas fúngicas (como os esporos e hifas) dos restantes componentes celulares.

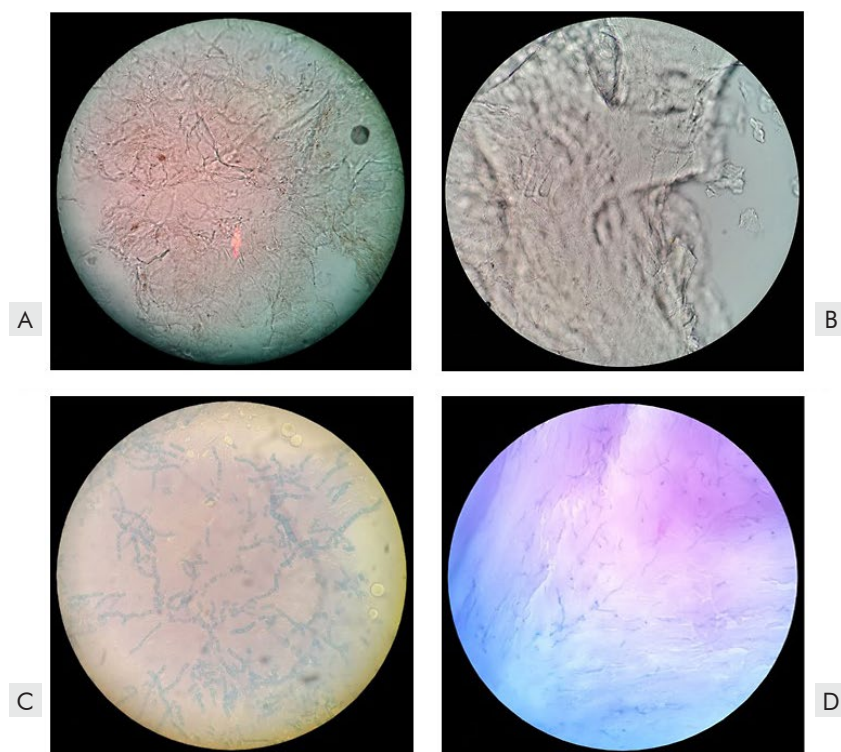


Figura 1 - (A e B): KOH(x20) – técnica de hidróxido de potássio simples - Hifas longilíneas e finas e esporos visualizadas como elementos refractivos. (C e D): CSB (x40) – técnica de KOH e coloração com *Chicago sky blue* - Hifas septadas coradas de um tom azul permeando a queratina que adquire um tom rosa/magenta.

Em 1954, Cohen sugeriu a adição de tinta Parker "Superchrome" ao KOH, mas este método funciona somente nos casos de *Malassezia furfur*³ e a produção da tinta foi descontinuada em 1956. A coloração de Swartz-Lamkins surgiu em 1964,4 usando a tinta Parker "Super Quink" juntamente com um surfactante, permitindo visualizar *M. furfur* e dermatófitos. Contudo a tinta atualmente comercializada viu a sua fórmula alterada face a versão "vintage" e não cora eficazmente. O negro de clorazol-E foi outra das alternativas descritas em 1984,⁵ mas apesar de eficaz na observação de dermatófitos, *M. furfur* e *Candida* spp., é considerado um potencial carcinogênico.

O branco de calcofluor é outro corante que pode ser adicionado ao KOH. É descrito como superior em termos de eficácia e especificidade aos métodos previamente descritos,^{1,2} mas necessita do microscópio de fluorescência, que não está disponível na maioria dos laboratórios.

Em 2008, surgiram as primeiras publicações mencionando a associação da coloração *Chicago sky blue* a 1% (CSB) ao KOH na identificação de *M. furfur*, *Candida* spp. e dermatófitos.^{6,7} A coloração é uma solução aquosa na concentração de 1% do corante *Chicago sky blue* 6B, de cor azul intenso. As estruturas fúngicas adquirem uma cor azul contra um fundo rosa/magenta (Fig.s 1C e 1D).

O seu uso mostrou ser capaz de tornar a leitura e interpretação mais fácil, mesmo para os principiantes,^{6,7} usando o microscópio habitual. A sensibilidade e especificidade deste novo método é superior a 90% e praticamente sobreponível aos resultados obtidos com o uso do branco de calcofluor, sobretudo nas dermatomicoses superficiais.^{6,8-10} A CSB mostrou também ser mais rápida na obtenção de resultados positivos ao fim de 5 minutos, quando comparado com o branco de calcofluor e o KOH (94,5%; 83,5% e 75,3%; respectivamente), e ter maior custo-eficácia.¹¹

A coloração pode ser adquirida ou preparada a partir do corante *Chicago sky blue* 6B em pó através da diluição em água (1 mg/mL).

O processo de coloração é simples. As amostras são preparadas de forma semelhante ao exame direto com hidróxido de potássio. A coloração (1 gota) pode ser adicionada inicialmente ou após a dissolução das amostras com hidróxido de potássio. O processo até à observação das lâminas demora cerca de 15 minutos. As lâminas são posteriormente examinadas no microscópio ótico.

Em conclusão o uso da coloração CSB é uma mais valia na realização do exame micológico directo. A sua sensibilidade e especificidade fazem desta uma alternativa superior ao KOH, Parker clorazole, e semelhante ao branco de calcofluor, sem a necessidade de uso de microscópio de fluorescência.

Conflicts of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare. **Financing Support:** This work has not received any contribution, grant or scholarship. **Provenance and Peer Review:** Not commissioned; externally peer reviewed.

Conflitos de Interesse: Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho. **Suporte Financeiro:** Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo. **Proveniência e Revisão por Pares:** Não comissionado; revisão externa por pares.

ORCID

Joel Reis: <https://orcid.org/0000-0002-8007-2420>

Glória Cunha Velho: <https://orcid.org/0000-0001-9242-8976>

Manuela Selores: <https://orcid.org/0000-0001-8270-8317>

Corresponding Author: Joel Reis

Adress: Serviço de Dermatologia

Centro Hospitalar do Porto Largo do Prof. Abel Salazar, 4099-001 Porto

E-mail: joelreis@outlook.com

© Author(s) (or their employer(s)) 2021 SPDV Journal. Re-use permitted under CC BY-NC. No commercial re-use.

© Autor (es) (ou seu (s) empregador (es)) 2021 Revista SPDV. Reutilização permitida de acordo com CC BY-NC. Nenhuma reutilização comercial.

REFERÊNCIAS

- Weinberg JM, Koestenblatt EK, Tutrone WD, Tishler HR, Najarian L. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis. *J Am Acad Dermatol.* 2003;49:193-7. doi:10.1067/S0190-9622(03)01480-4
- Haldane DJM, Robart E. A comparison of calcofluor white, potassium hydroxide, and culture for the laboratory diagnosis of superficial fungal infection. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1990;13:337-9.
- COHEN MM. A simple procedure for staining tinea versicolor (*M. furfur*) with fountain pen ink. *J Invest Dermatol.* 1954;22:9-10. doi:10.1038/jid.1954.3
- Swartz JH, Lamkins BE. A rapid, simple stain for fungi in skin, nail scrapings, and hairs. *Arch Dermatol.* 1964;89:89-94.
- Burke WA, Jones BE. A simple stain for rapid office diagnosis of fungus infections of the skin. *Arch Dermatol.* 1984;120:1519-20. doi:10.1001/archderm.1984.01650470125029
- Lim SL, Lim CSH. New Contrast Stain for the Rapid Diagnosis of Pityriasis Versicolor. *Arch Dermatol.* 2008;144:1058-9. doi:10.1001/archderm.144.8.1058
- Lim CSH, Lim SL. New contrast stain for the rapid diagnosis off dermatophytic and Candidal dermatomycoses. *Arch Dermatol.* 2008;144:1228-9. doi:10.1001/archderm.144.9.1228
- Lodha N, Poojary SA. A novel contrast stain for the rapid diagnosis of pityriasis versicolor: A comparison of Chicago Sky Blue 6B stain, potassium hydroxide mount and culture. *Indian J Dermatol.* 2015;60:340-4. doi:10.4103/0019-5154.160476
- Mourad B, Ismail M, Hawwam S, Msseha M, Hassan R. Evaluation of the efficacy of fluorescent staining and chicago sky blue staining as methods for diagnosis of dermatophytosis in hair and nails. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2019;12:751-8. doi:10.2147/CCID.S215661
- Afshar P, Larijani LV, Rouhanizadeh H. A comparison of conventional rapid methods in diagnosis of superficial and cutaneous mycoses based on KOH, Chicago sky blue 6B and calcofluor white stains. *Iran J Microbiol.* 2018;10:433.
- Prakash R, Prashanth HV, Ragunatha S, Kapoor M, Anitha TK, Krishnamurthy V. Comparative study of efficacy, rapidity of detection, and cost-effectiveness of potassium hydroxide, calcofluor white, and Chicago sky blue stains in the diagnosis of dermatophytoses. *Int J Dermatol.* 2016;55:e172-5.