

Full English text available at
www.actasdermo.org

VIDEOS DE CIRUGÍA DERMATOLÓGICA

[Artículo traducido] Inclusión en agua del grifo y tinción ultrarrápida con azul de metileno para un procesamiento veloz de la cirugía micrográfica de Mohs

Tap Water Embedding and Ultra-rapid Methylene Blue Stain for Fast Mohs Micrographic Surgery Processing

Es sabido que la cirugía micrográfica de Mohs (CMM) es un procedimiento economizador de tiempo y recursos. Por tanto, siempre son bienvenidos los métodos que optimicen el flujo de trabajo de CMM.

En esta comunicación breve, nuestro objetivo es compartir nuestro modo de realizar el procesamiento de CMM mediante inclusión en agua del grifo y tinción de azul de metileno (azul M). Hasta donde sabemos, no se ha reportado nunca la inclusión en agua del grifo y la tinción de azul M para el procesamiento de CMM. Sin embargo, estas técnicas han sido utilizadas históricamente para la evaluación patológica intraoperatoria de otras muestras quirúrgicas^{1,2}. Por tanto, la aplicación de este método de procesamiento de CMM es la «vuelta a los fundamentos» de la patología intraoperatoria. La idoneidad de este procesamiento viene respaldada por los datos de 261 casos consecutivos de CMM recopilados en una base de datos prospectiva de febrero de 2022 a agosto de 2024.

Incorporar la temperatura de corte óptima (OCT) estándar implica el uso de dispositivos y moldes de inclusión y de portaobjetos, así como un nivel de burbuja o un extractor de calor. El motivo de utilizar la OCT es lograr la temperatura óptima de corte de manera rápida, para evitar los artefactos de congelación bien conocidos. Sin embargo, según nuestra experiencia, el agua del grifo no genera más artefactos de congelación que la OCT, con tiempos de congelación más rápidos.

Nuestro procesamiento de CMM sigue los pasos siguientes: 1) tras realizar las extirpaciones quirúrgicas, se procesan

las muestras de CMM siguiendo una técnica estándar; 2) se prepara en el criostato un soporte para tejidos (*chuck*) con una capa de agua del grifo congelada (es decir, una cama de hielo) a fin de disponer de una superficie suave donde sujetar y colocar las secciones planas; 3) se retira el *chuck* del criostato y se coloca la sección del CMM en él; 4) se añaden gotas de agua del grifo alrededor de la sección para completar la inclusión; 5) seguidamente se vuelve a colocar el *chuck* en el criostato y se aplica el extractor de calor; 6) transcurridos de 10 a 15 s, la sección está lista para ser recortada y cortada. El recorte es normalmente reducido, ya que no existe capa de OCT ni otro medio de inclusión que eliminar. El técnico en Mohs sitúa capas progresivas en un portaobjetos, asegurándose de incluir la sección completa. Por último, se tiñen las láminas con azul M conforme al protocolo ultrarrápido siguiente: 5 s de inmersión en azul M (Kühne's Methylene Blue Phenicated solution, QCA, Amposta, España) y 5 s de lavado en agua del grifo. Seguidamente se secan las láminas con papel y se entregan al patólogo y al cirujano de Mohs para su evaluación. Para acelerar aún más el procesamiento, no se aplican cubreobjetos ni se necesitan medios de montaje. Estos se aplicarán más tarde, cuando las láminas estén listas para ser escaneadas (Aperio GT450, Leica, Wetzlar, Alemania). Los pasos de esta CMM y algunos trucos de ejecución se muestran en el [Anexo Bvideo 1](#). La calidad de las láminas obtenidas con nuestro método se muestra en las [figuras 1 y 2](#) y en el [Anexo Bvideo 1](#).

Utilizar la inclusión en agua del grifo puede ser un motivo de preocupación para algunos lectores. También se preocupó el autor principal (RM) cuando empezó a realizar CMM tras su especialización. Sin embargo, transcurridos más de 2 años, coincidimos en que la inclusión en agua del grifo no afecta negativamente a la calidad de las láminas. De hecho, parece ser muy útil para realizar el corte a través del tejido adiposo, un problema conocido de la CMM³. Por tanto, la inclusión en agua del grifo mantiene la calidad de la piel de la sección congelada, a la vez que mejora la calidad de la grasa, sin necesidad de realizar una congelación adicional con un pulverizador de hielo o nitrógeno líquido ([figs. 1 y 2](#)). Además, reduce el tiempo de recorte dado que ninguna capa del medio de inclusión cubre la superficie de la muestra. Por último, el uso de agua del grifo en lugar de OCT reduce el coste del procesamiento de la CMM.

Un inconveniente de la inclusión en agua del grifo puede ser la dificultad para mantener aplanada la sección de CMM una vez volteada sobre el *chuck*, dado que no estará

Véase contenido relacionado en DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.ad.2024.09.029>

<https://doi.org/10.1016/j.ad.2025.03.018>

0001-7310/© 2025 AEDV. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Cómo citar este artículo: R. Moro, B. Gallardo-Sanz, M.J. Roca-Estellés et al., [Artículo traducido] Inclusión en agua del grifo y tinción ultrarrápida con azul de metileno para un procesamiento veloz de la cirugía micrográfica de Mohs, ACTAS Dermo-Sifiliográficas, <https://doi.org/10.1016/j.ad.2025.03.018>

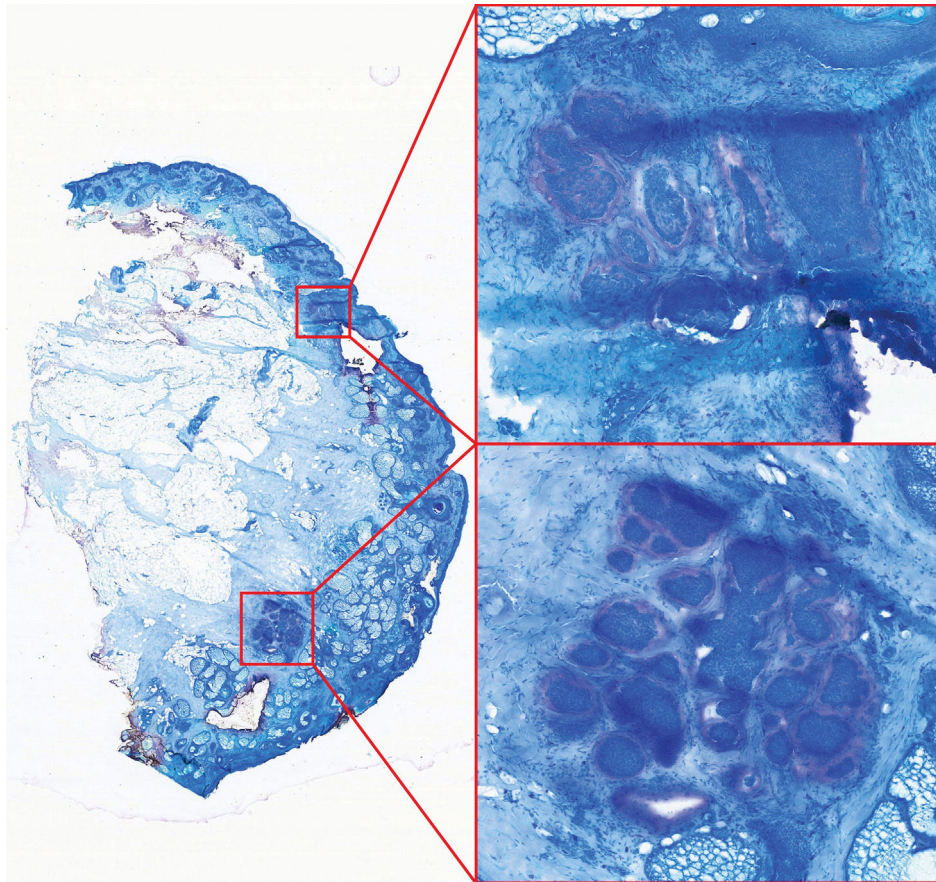


Figura 1 La metacromasia es visible como halo violeta que rodea 2 focos (263 nm/píxel, superior $\times 7$, inferior $\times 10$) de un carcinoma basocelular nodular en esta capa final de una muestra de cirugía micrográfica de Mohs de 2 secciones (263 nm/píxel, $\times 1,08$). La calidad de la lámina es buena, y presenta tejido adiposo.

Tabla 1 Comparación entre la inclusión de agua del grifo y temperatura óptima de corte

	Inclusión en agua del grifo	Inclusión de OCT
Pros	Tiempo de congelación más rápido (10-15 s) Buena calidad de la grasa congelada, sin congelación adicional Sin coste	Medio de inclusión estándar
Contras	El recorte y el corte pueden ser técnicamente más difíciles	Tiempo de congelación más lento (> 60 s) La calidad de la grasa congelada puede ser baja, sin congelación adicional

88 «flotando» en la OCT. De hecho, el borde de la piel puede
89 caer bajo el plano horizontal de la sección, especialmente
90 si se corta una sección única de CMM. Sin embargo, pueden
91 elevarse los bordes de la piel (Anexo Bvideo 1). La compa-
92 ración entre la inclusión en agua del grifo y OCT se muestra
93 en la tabla 1.

94 El uso de tinción de azul M puede ser menos sorpren-
95 dente. La tinción de azul M es prácticamente idéntica a
96 la tinción de azul de toluidina (azul T). El azul T es muy
97 conocido en la literatura para realzar la visualización de los
98 cánceres de piel tratados normalmente mediante CMM. Este
99 realce es debido a un fenómeno denominado metacromasia,
100 donde la tinción de azul T del estroma de los mucopolisacá-
101 ridos que rodea a las células tumorales vira a rosa o magenta⁴.
102 Considerando que el azul M muestra el mismo fenómeno

103 metacromático que el azul T (fig. 1 y Anexo Bvideo 1), no ha
104 sido reportado nunca como tinción de las capas de CMM. No
105 existen ventajas ni inconvenientes claros asociados al uso de
106 azul M en lugar de azul T. Se trata solo de una cuestión de
107 preferencia, coste y disponibilidad. De manera destacada,
108 nuestro protocolo de 10 s de tinción con azul M es más rápido
109 que los protocolos de azul T previamente descritos^{4,5}.

110 Aunque no han existido recidivas de cánceres de piel
111 tratados mediante procesamiento de CMM, el tiempo de
112 seguimiento de 2,5 años es muy corto para extraer conclu-
113 siones sobre tasas de recaída.

114 En conclusión, reportamos la manera de utilizar el proce-
115 samiento de CMM, que ilustra 2 aspectos noveles: la inclusión
116 en agua del grifo y la tinción ultrarrápida con azul M. Estos
117 2 nuevos aspectos aceleraron el procesamiento de CMM sin

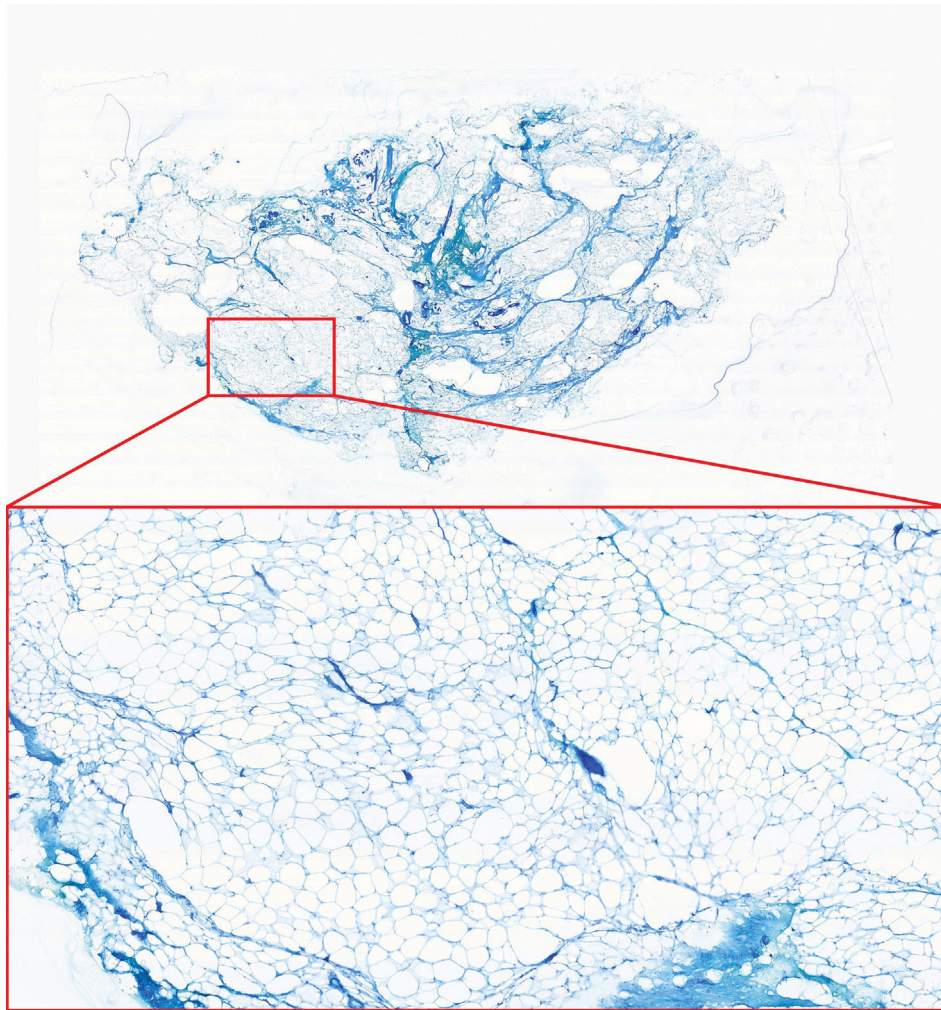


Figura 2 Calidad de la lámina de una muestra grande (3 cm) de cirugía micrográfica de Mohs rica en tejido adiposo (263 nm/píxel, $\times 0,52$). En $\times 5$ es evidente la calidad de la grasa congelada.

118 afectar aparentemente a la calidad de las láminas y los
119 resultados clínicos. La revisión de las láminas sin medios de
120 montaje ni cubreobjetos acelera aún más el proceso, lo cual
121 es especialmente importante cuando se requieren múltiples
122 secciones. Son necesarios seguimientos más prolongados y
123 estudios comparativos para confirmar nuestra experiencia.

124 Conflicto de intereses

125 Los autores declaran la ausencia de conflicto de intereses.

126 Anexo A. Material adicional

127 Pueden encontrarse datos suplementarios aso-
128 ciados a este artículo en la versión online en
129 <https://doi.org/10.1016/j.ad.2025.03.018>.

130 Bibliografía

131 1. Wilson LB. A method for the rapid preparation of fresh tissues for
132 the microscope. JAMA. 1905;XLV:1737.

2. Arteta JL. [Urgent biopsy; rapid tissue diagnosis during operative intervention] Spanish. Rev Esp Cir (Madr 1944). 1945;1:209-18. 133
3. Reserva J, Kozel Z, Krol C, Speiser J, Adams W, Tung R. Processing adipose-rich Mohs samples: A comparative study of effectiveness of pretreatment with liquid nitrogen versus flash freezing spray. Am J Dermatopathol. 2017;39:838-41. 134
4. Todd MM, Lee JW, Marks VJ. Rapid toluidine blue stain for Mohs' micrographic surgery. Dermatol Surg. 2005;31:244-5. 135
5. Donaldson MR, Weber LA. Toluidine blue supports differentiation of folliculocentric basaloid proliferation from basal cell carcinoma on frozen sections in a small single-practice cohort. Dermatol Surg. 2017;43:1303-6. 136

R. Moro^{a,b,*}, B. Gallardo-Sanz^c, M.J. Roca-Estellés^c **Q1**
y L. Alfaro-Ferreres^c

^a Escuela de Doctorado, Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir, València, España

^b Instituto Dermatológico Tekderma, Hospital Vithas Valencia 9 de Octubre, València, España

^c Servicio de Patología, Hospital Vithas Valencia 9 de Octubre, València, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ruggero_moro@hotmail.com (R. Moro). 145