

Comparación de las tinciones con hematoxilina y eosina versus azul de toluidina en la evaluación de los carcinomas cutáneos durante la cirugía micrográfica de Mohs

Comparative study of toluidine blue and hematoxylin and eosin staining in evaluating skin-carcinoma during Mohs micrographic surgery

Comparação da coloração de hematoxilina e eosina versus azul de toluidina na avaliação de carcinomas cutâneos durante a cirurgia micrográfica de Mohs

Erika Lutz¹, Virginia Rivero², Nelson Turra³, Camila Otero¹, Cecilia Fernández¹, Alicia González⁴, Verónica Lezué⁴, Analía Guerra⁵, Julio Magliano⁶, Carlos Bazzano⁷

Resumen

Introducción: la cirugía micrográfica de Mohs es una técnica quirúrgica especializada para el tratamiento del cáncer de piel no melanoma. La histopatología cumple un rol fundamental, y la elección de la tinción es un punto de controversia.

Objetivos: comparar el rendimiento de las tinciones de hematoxilina y eosina (HyE) versus azul de toluidina (AT) durante la cirugía.

Método: estudio observacional, descriptivo y transversal a partir de noviembre de 2017 hasta mayo de 2018. Se incluyeron las láminas empleadas durante la cirugía en el período mencionado. Estas fueron analizadas por el cirujano de Mohs, tres residentes y una dermopatóloga. Se valoró el rendimiento de ambas tinciones, teniendo en cuenta las características celulares y los elementos del estroma.

Resultados: se estudiaron 23 tumores (16 carcinomas basocelulares y 7 carcinomas espinocelulares). Al observarse al microscopio óptico tanto con la tinción de AT como con HyE no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en lo global, sólo en algunas características, especialmente con la HyE.

Conclusiones: es el primer trabajo en Uruguay que compara la eficacia de las dos tinciones durante la cirugía micrográfica de Mohs. Como conclusión tanto la tinción de HyE como el AT son muy buenas técnicas para el diagnóstico de carcinomas cutáneos.

Palabras clave: Cirugía micrográfica de Mohs
Cáncer de piel
Colorantes
Hematoxilina
Eosina
Azul de toluidina
Carcinoma basocelular
Carcinoma de células escamosas

Key words: Mohs micrographic surgery
Skin cancer
Coloring agents
Hematoxylin
Eosine
Toluidine blue
Carcinoma, basal cell
Carcinoma, squamous cell

1. Médica dermatóloga. Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela. Montevideo, Uruguay.

2. Médica posgrado de dermatología. Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela. Montevideo, Uruguay.

3. Médico dermatólogo. Hospital Puerto Montt Dr. Eduardo Schütz Schroeder. Puerto Montt, Chile.

4. Técnica anatomía patológica. Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela. Montevideo, Uruguay.

5. Asistente de la Cátedra de Dermatología. Médica dermatóloga y dermopatóloga. Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela. Montevideo, Uruguay.

6. Profesor Adjunto de la Cátedra de Dermatología. Médico dermatólogo, cirujano de Mohs, Jefe de la Unidad de Cirugía Dermatológica. Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela. Montevideo, Uruguay.

7. Profesor Agregado de la Cátedra de Dermatología. Médico dermatólogo, Encargado del Servicio. Hospital de Clínicas, Dr. Manuel Quintela. Montevideo, Uruguay.

Cátedra de Dermatología Médico Quirúrgica. Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

Correspondencia: Dra. Virginia Rivero. Correo electrónico: vickyrivero_90@hotmail.com

Los autores se declaran sin conflictos de intereses. Fuentes de apoyo financiero: ninguna.

La investigación fue aprobada por el Comité de Ética Médica del Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Universidad de la República.

Recibido: 25/9/2021

Aprobado: 7/3/2022

Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

Introducción

El cáncer de piel es el cáncer más prevalente a nivel mundial. Se divide en dos grandes grupos: por un lado, el cáncer de piel no melanoma (CPNM)^(1,2) que incluye al carcinoma basocelular (CBC) y el carcinoma espinocelular (CEC), y por otro lado al melanoma.

La cirugía micrográfica de Mohs (CMM) es una técnica quirúrgica especializada para el tratamiento del CPNM, realizado por un médico especializado en cirugía cutánea e histopatología, que permite el control microscópico preciso del 100% de los márgenes, utilizando secciones horizontales congeladas, ofreciendo de esta manera índices de curación superiores a otras opciones terapéuticas⁽³⁻⁵⁾. La base fundamental de la CMM es el examen histopatológico del tejido, para ello se emplean diferentes tinciones: azul de toluidina (AT)⁽⁶⁾ y/o hematoxilina y eosina (HyE)⁽⁷⁾. La elección de la tinción ha sido un punto de controversia⁽⁸⁾.

Muchos cirujanos de Mohs fueron entrenados con la tinción AT, donde se puede observar con claridad la presencia de mastocitos y mucopolisacáridos. Luego, un mayor número de cirujanos comenzaron a utilizar exclusivamente la HyE⁽⁹⁾. No se sabe con exactitud qué motivó el cambio de tinción. Algunos autores afirman que el AT es inferior que la HyE con respecto a la visualización del tumor, mientras que otros estudios destacan que el uso de AT revela signos que ayudan a detectar la presencia tumoral que con la HyE hubieran sido imperceptibles⁽¹⁰⁾. Actualmente la tinción con HyE es la más utilizada tanto para CMM como para dermatología general⁽⁹⁾. Sin embargo, en algunos estudios se observó que utilizar ambas tinciones podría tener ventajas sobre el uso de una técnica sola⁽⁸⁻¹⁰⁾.

El estudio tiene como objetivo general comparar el rendimiento de las tinciones de HyE versus AT en la evaluación de CPNM durante CMM en la Cátedra de Dermatología Médico Quirúrgica del Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela en Montevideo, Uruguay.

Los objetivos específicos incluyen la valoración del rendimiento de ambas tinciones para cada tipo tumoral (CBC y CEC), considerando las características celulares y los elementos del estroma, así como evaluar si existen discordancias entre los observadores. Con el fin de establecer si el uso dual de ambas técnicas mejora la visualización del CPNM, se analiza la sensibilidad a la técnica observada en cada grupo, lo que ayudaría a la toma de decisiones quirúrgicas.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal a partir de noviembre de 2017 hasta el 29 de mayo de 2018, donde se incorporaron las láminas empleadas durante la CMM durante el periodo mencionado. Se incluyeron pacientes mayores de 18 años de

edad con diagnóstico confirmado de CBC y/o CEC con indicación de tratamiento con CMM⁽⁵⁾ y con el consentimiento informado leído, firmado y entregado. No se aplicaron criterios de exclusión. Se obtuvieron un total de 23 tumores, de los cuales 16 corresponden a CBC y siete a CEC.

Para este estudio se realizó una búsqueda bibliográfica de ambas técnicas.

Las muestras fueron obtenidas durante la CMM con tejido fresco y fueron congeladas usando criostato. Se realizaron secciones de 2 a 6 micras, y las mismas láminas fueron teñidas tanto con HyE como con AT para poder realizar la comparación al microscopio durante la cirugía. Los observadores evalúan las láminas de ambas tinciones de forma independiente, y sin intervenir entre ellos para no influir en la valoración. Deben completar los datos en una planilla especialmente diseñada, donde se marca como positivo si se identifica esa estructura con una o ambas técnicas de tinción. Los observadores se dividen en tres grupos: un grupo está compuesto por el cirujano de Mohs, otro grupo por tres residentes y un tercer grupo por un dermatopatólogo (*gold standard*).

Las variables estudiadas con respecto a las características celulares fueron la presencia de detalles nucleares, queratinización individual, necrosis individual y empalizada periférica, mientras que con respecto al estroma se valoró la presencia de reacción artefactual, mucopolisacáridos, queratina, colágeno, mastocitos, infiltrado inflamatorio y signo de corona perineural. Además se consideró la presencia de otras estructuras encontradas en los tejidos como folículo piloso, glándulas sebáceas, músculos, cartílagos, vasos y nervios. Con el análisis de estas características se realizó una planilla de volcado de datos para Microsoft Excel 2010. Se evaluaron los datos obtenidos a fin de dar respuesta a los objetivos planteados. La investigación fue aprobada por el Comité de Ética Médica del Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Universidad de la República. Se entregó el consentimiento informado y carta con información a todos los pacientes incluidos en el estudio, a los cuales se les explicó y fue firmado por el paciente.

Para analizar la concordancia entre los observadores, se tomó un valor de sensibilidad mayor o igual a 75%, calculando el índice Kappa global. Se trabajó con un nivel de significación de 0,05. El software estadístico fue STATA v. 12.0.

Resultados

Con respecto al CBC, se analiza la planilla de datos que evidencia las características celulares, del estroma y anexos (tabla 1).

Con el fin de establecer la sensibilidad para CBC con ambas tinciones, se comparó los resultados obteni-

Tabla 1. Planilla de datos para CBC.

Características	Cirujano de Mohs			Residentes			Dermopatólogo		
	HyE	AT	No se vio	HyE	AT	No se vio	HyE	AT	No se vio
Detalles nucleares	8	7	1	9	5	2	10	3	3
Queratinización individual	0	0	16	0	0	16	0	0	16
Necrosis individual	0	0	16	0	0	16	0	0	16
Empalizada periférica	3	8	5	12	1	3	9	3	4
Retracción artefactual	4	6	6	9	1	6	9	2	5
Mucopolisacáridos	0	4	12	0	0	16	0	3	13
Queratina	4	6	6	0	0	16	9	0	7
Colágeno	16	0	0	13	0	3	14	0	2
Mastocitos	0	3	13	0	9	7	1	1	14
Infiltrado inflamatorio	8	3	5	4	7	5	12	1	3
Corona perineural	0	0	16	0	0	16	0	0	16
Folículo piloso	2	7	7	6	6	4	11	0	5
Glándulas sebáceas	5	7	4	5	6	5	4	1	11
Músculo	1	3	12	0	0	16	1	0	15
Cartílago	0	0	16	0	0	16	0	0	16
Nervios	1	0	15	0	0	16	0	0	16
Vasos	6	5	5	11	2	3	9	0	7

dos por el cirujano de Mohs y los residentes con el gold standard, en este caso el dermatopatólogo (tabla 2).

Se destaca que en el caso de los mastocitos hay una predominancia con la técnica AT para ambos grupos, donde ambos tuvieron un 100% de sensibilidad.

Para la tinción con AT se encontró una diferencia significativa con un valor $p<0,05$ para la detección de empalizada periférica y mucopolisacáridos entre el cirujano de Mohs y los residentes, el cirujano de Mohs tuvo una sensibilidad del 100% para la observación de los mucopolisacáridos.

Para la tinción de HyE se encontró una diferencia estadísticamente significativa con un valor $p<0,05$ para la detección de retracción artefactual, queratina y músculo entre el cirujano de Mohs y el grupo de residentes.

Con respecto a los detalles nucleares, el infiltrado inflamatorio y el folículo piloso, los observadores tuvieron una sensibilidad de 100% para la AT y una menor sensibilidad para HyE. El resto de las estructuras no se visualizaron con ninguna técnica.

En suma, se encontró que para ambos grupos la sensibilidad para el CBC según las características fue globalmente mayor para la tinción con AT que para la HyE con un valor $p<0,05$. Esto quiere decir que la concordancia entre ambos grupos es muy fuerte, por lo cual puede decirse que no hay diferencias entre ambos grupos en lo global, sólo en algunas características especialmente con la HyE.

En la tabla 3 se adjuntan los datos obtenidos para CEC para ambas tinciones.

Si comparamos los grupos entre ellos, considerando al dermatopatólogo como *gold standard*, obtenemos la sensibilidad para CEC para ambas tinciones (tabla 4).

En el caso de los CEC se encontró una diferencia estadísticamente significativa para la tinción con HyE, con un valor $p<0,05$, entre el cirujano de Mohs y el grupo de residentes para la detección de detalles nucleares, infiltrado inflamatorio y vasos.

Ambos grupos visualizaron con una sensibilidad del 100% las células con queratinización individual, glándulas sebáceas y los folículos pilosos con la tinción

Tabla 2. Sensibilidad para la tinción con HyE y AT para CBC.

CBC	Características	Sensibilidad HyE		Sensibilidad AT	
		Cirujano de Mohs	Residentes	Cirujano de Mohs	Residentes
Células	Detalles nucleares	80%	90%	100%	100%
	Células con queratinización individual	100%	100%	100%	100%
	Células con necrosis individual	100%	100%	100%	100%
	Empalizada periférica	33,30%	100%	100%	33,30%
Estroma	Retracción artefactual	44,40%	100%	100%	50%
	Mucopolisacáridos	100%	100%	100%	0%
	Queratina	44,40%	0%	100%	100%
	Colágeno	100%	92,90%	100%	100%
	Mastocitos	0%	0%	100%	100%
	Infiltrado inflamatorio	66,70%	33,30%	100%	100%
	Signo de corona perineuronal	100%	100%	100%	100%
Estructuras	Folículo piloso	18,20%	54,50%	100%	100%
	Glándulas sebáceas	100%	100%	100%	100%
	Músculo	100%	0%	100%	100%
	Cartílago	100%	100%	100%	100%
	Nervios	100%	100%	100%	100%
	Vasos	66,70%	100%	100%	100%

AT. Los mucopolisacáridos solo fueron observados por el cirujano de Mohs con la tinción AT.

No hubo diferencias en cuanto a la sensibilidad en ambas tinciones para visualizar las células con necrosis individual. Ninguno observó la presencia de cartílago o nervios. No hubo diferencias significativas entre los grupos para el caso de AT, con un $p > 0,05$.

En suma, se encontró que para ambos grupos la sensibilidad según característica fue globalmente mayor para la tinción AT que para la HyE con valor $p < 0,05$. Esto quiere decir que la concordancia entre ambos grupos es muy fuerte, por lo tanto puede decirse que no hay diferencias entre ambos grupos a nivel global, solo en algunas características especialmente con HyE.

Discusión

La mayoría de los cirujanos de Mohs emplean una sola técnica de tinción basándose en su entrenamiento y pre-

ferencia personal. Al principio, los cirujanos de Mohs preferían el AT principalmente en el diagnóstico del CBC, debido a sus propiedades metacromáticas, mejor visualización de mastocitos y de mucopolisacáridos. Estos últimos se distinguen con un color magenta en el estroma que rodea al tumor⁽⁸⁾. De todas formas, en los últimos años los cirujanos de Mohs han preferido la técnica con HyE y muchos han sido entrenados únicamente con la misma. No se sabe con exactitud qué motivó el cambio. Esto podría deberse a su fiabilidad en una fuerte tinción nuclear de cromatina azul, mientras que tiñe el citoplasma y el estroma de color rojo. Esta tinción se prefiere particularmente en los diagnósticos de CEC, donde se ve con mayor claridad la necrosis individual, queratinización individual y la queratina⁽⁸⁾. Según Styperek y colaboradores, se estima que 83% de los cirujanos de Mohs utilizan con preferencia la tinción con HyE y un 17% utiliza AT. Algunos autores

Tabla 3. Planilla de datos para CEC.

Características	Cirujano de Mohs			Residentes			Dermopatólogo		
	HyE	AT	No se vio	HyE	AT	No se vio	HyE	AT	No se vio
Detalles nucleares	3	4	0	1	4	2	3	3	1
Queratinización individual	1	3	3	2	1	4	6	0	1
Necrosis individual	2	3	2	1	0	6	0	0	7
Mucopolisacáridos	0	2	5	0	0	7	0	0	7
Queratina	2	4	1	3	1	3	6	0	1
Colágeno	2	5	0	3	1	3	6	0	1
Mastocitos	0	1	6	3	4	0	0	0	7
Infiltrado inflamatorio	2	4	1	5	0	2	7	0	0
Corona perineural	0	0	7	0	0	7	1	0	6
Folículo piloso	3	4	0	3	1	3	6	0	1
Glándulas sebáceas	3	4	0	1	3	3	3	0	4
Músculo	0	1	6	3	0	4	0	0	7
Cartílago	0	0	7	0	0	7	0	0	7
Nervios	0	0	7	0	0	7	0	0	7
Vasos	2	5	0	4	2	1	4	0	3

prefieren AT para CBC y usar HyE para CEC, mientras otros eligen usar una sola tinción para ambos tumores⁽⁸⁾. En nuestro servicio se empleaba inicialmente la AT para la cirugía de Mohs, pero luego pasó a ser la HyE. Asimismo, la HyE es la técnica más comúnmente utilizada tanto para los dermatopatólogos como para los residentes, ya que la utilizan en su práctica diaria y es en la que reciben mayor entrenamiento.

Este es el primer trabajo en Uruguay que busca comparar la eficacia de las dos tinciones en la CMM y las variaciones interobservador. Conocer las ventajas y las desventajas de cada técnica permite elegir correctamente la técnica a emplear en cada caso.

En nuestro trabajo se visualizaron los detalles nucleares mejor con AT en las piezas de CEC y mejor para CBC con HyE tanto para el cirujano de Mohs como para los residentes. Esto coincide, en el caso de CEC, con un trabajo realizado en 1996 por Humphreys T y colaboradores, donde se realizó una comparación entre AT y HyE en los CBC y CEC durante la CMM y se vio que los detalles nucleares de las piezas del tumor se observan mejor con AT⁽⁹⁾.

Las células con queratinización individual y necrosis individual son útiles para identificar proliferaciones epiteliales malignas. Fueron encontradas en los CEC tanto por parte del cirujano de Mohs como por los residentes, pero no fueron encontradas en los CBC, dado que no son características frecuentes de éstos⁽⁸⁾. Acorde

al artículo de Humphreys T y colaboradores, que indica que estas características se observan con mayor frecuencia en los CEC y que éstas se observan mejor con HyE. Este último punto difiere de nuestro estudio, en el que el cirujano de Mohs logró visualizar ambas estructuras de una mejor forma con el AT con respecto a la HyE⁽⁹⁾.

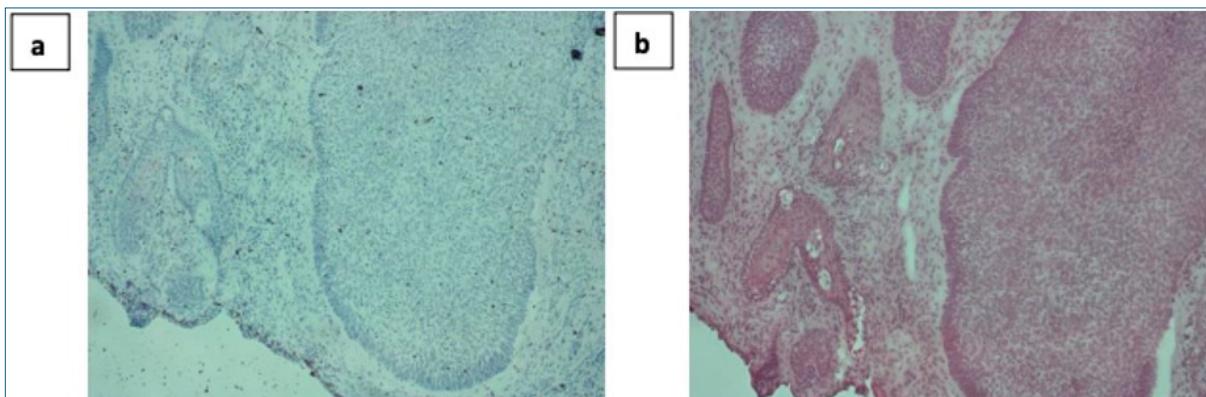
Con respecto a la empalizada periférica y la retracción artefactual, ambas características de los CBC⁽¹¹⁾, pueden verse igualmente bien con ambas tinciones según lo descrito en la literatura^(9,12).

En este caso fueron identificadas de mejor forma con AT por el cirujano de Mohs (figura 1).

En el caso de los mucopolisacáridos para los CBC, se evidenció que solo fueron vistos con AT por el cirujano de Mohs. Este hecho puede deberse a que el cirujano de Mohs tiene una mayor experiencia para la visualización de dichas estructuras. En las publicaciones de Goldberg L y colaboradores, Therani H y colaboradores y Humphreys T, indican que los mucopolisacáridos se tiñen mejor con AT por sus propiedades metacromáticas. Se tiñen de un color magenta oscuro, que aunque no es un indicador absoluto de presencia tumoral, su existencia debe hacer sospechar la presencia de tumor residual. Para quedarse tranquilo el cirujano debe mirar todo el bloque desde su interior hasta el margen periférico para ver cómo el color magenta desaparece lentamente, a esto se le llama “sol poniente”^(10,12,13). Lo mismo sucede con

Tabla 4. Sensibilidad para CEC con tinción de HyE y AT.

CEC	Características	Sensibilidad HyE		Sensibilidad AT	
		Cirujano de Mohs	Residentes	Cirujano de Mohs	Residentes
Células	Detalles nucleares	100%	33,30%	100%	100%
	Células con queratinización individual	16,70%	33,30%	100%	100%
	Células con necrosis individual	100%	100%	100%	100%
	Mucopolisacáridos	100%	100%	100%	100%
	Queratina	33,30%	50%	100%	100%
	Colágeno	33,30%	50%	100%	100%
	Mastocitos	100%	100%	100%	100%
	Infiltrado inflamatorio	28,60%	71,40%	100%	100%
	Signo de corona perineuronal	0%	0%	100%	100%
Estructuras	Folículo piloso	50%	50%	100%	100%
	Glándulas sebáceas	100%	33,30%	100%	100%
	Músculo	100%	100%	100%	100%
	Cartílago	100%	100%	100%	100%
	Nervios	100%	100%	100%	100%
	Vasos	50%	100%	100%	100%

**Figura 1.** Carcinoma basocelular. a) Tinción con AT. b) Tinción con HyE. Obsérvese la empalizada periférica. Aumento 10x

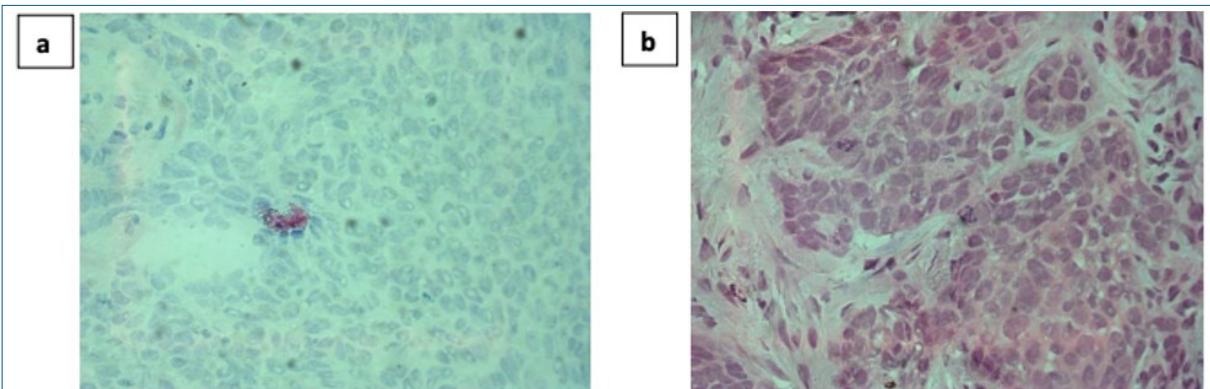


Figura 2. Carcinoma basocelular. a) Mastocito teñido con AT. b) Dos mastocitos teñidos con HE. Nótese cómo se tiñen los granos con AT. Aumento 40x.

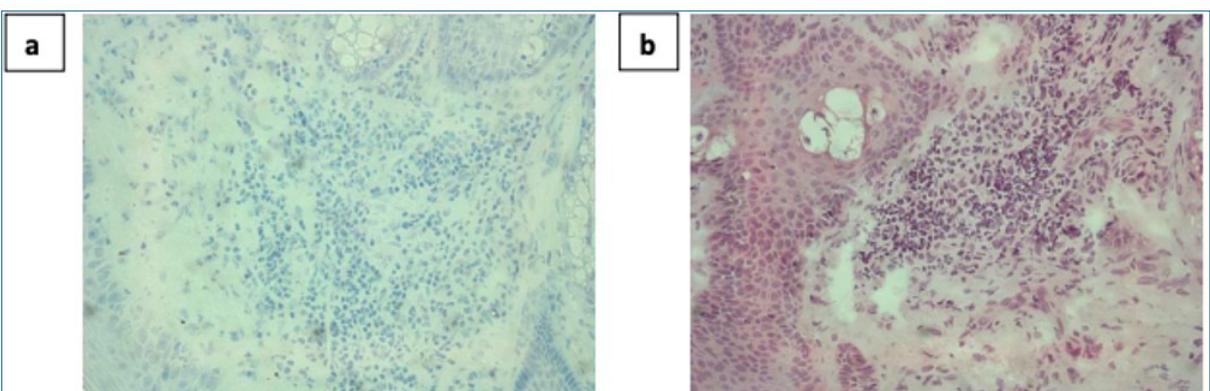


Figura 3. Infiltrado inflamatorio de un carcinoma basocelular. a) Tinción con AT. b) Tinción con HE. Aumento 20x.

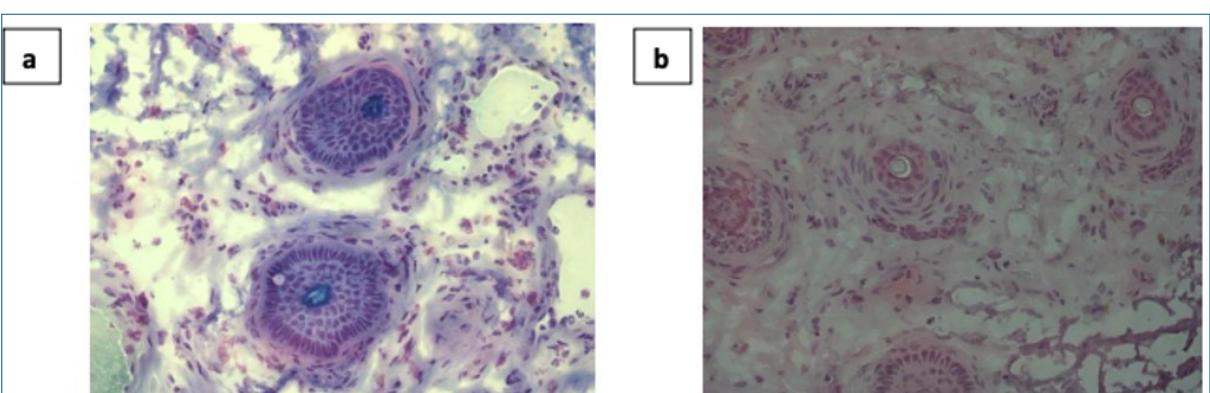


Figura 4. Folículos pilosos. a) Tinción con AT. b) Tinción con HE. Aumento 20x.

los mastocitos, que abundan en el estroma de los CBC, en comparación con el estroma libre de tumor y su presencia es un indicador de tumor residual. Sus gránulos se tiñen de manera metacromática con AT, siendo fácilmente reconocibles con esta tinción para los observadores, lo que concuerda con la literatura (figura 2)^(9,12).

Con respecto al colágeno, tanto el cirujano de Mohs como los residentes coincidieron en que se visualiza

mejor con HE en todos los casos para CBC, mientras que para CEC el cirujano de Mohs visualizó un poco mejor con AT.

El infiltrado inflamatorio en los CBC fue observado de mejor forma con HE tanto por los residentes como por el cirujano de Mohs, pero debemos tener en cuenta que se observa con ambas tinciones (figura 3).

Los folículos pilosos son fácilmente reconocibles

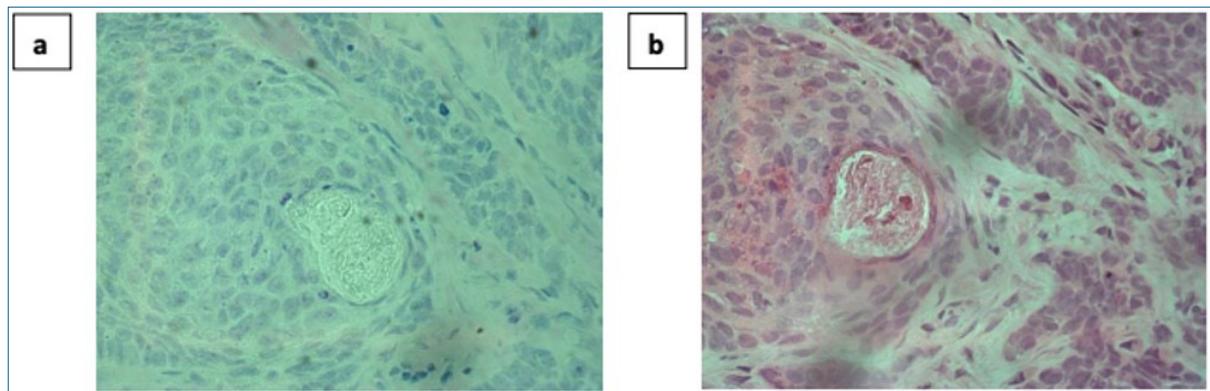


Figura 5. Vasos sanguíneos. a) Tinción con AT. b) Tinción con HyE. Aumento 40x.

con ambas técnicas, pero se vio que fueron mejor identificados con AT debido a la coloración azul intensa de la vaina de la raíz interna del folículo piloso, lo que concuerda con la literatura, donde la metacromasia de epitelio folicular es más evidente con AT que con HyE⁽¹⁰⁾. Este punto es importante, ya que las células basaloïdes benignas que rodean el folículo pueden ser difíciles de distinguir de las células basaloïdes tumorales en algunos cortes congelados de CBC (figura 4)⁽¹⁵⁾.

Los vasos fueron observados tanto por el cirujano de Mohs como por los residentes de mejor forma con HyE que con AT (figura 5).

Las glándulas sebáceas de los 2 tipos tumorales estudiados, fueron observados de mejor forma con AT tanto para el cirujano de Mohs como para los residentes.

El signo de la corona perineural no fue visualizado ni por el cirujano de Mohs ni por los residentes en ninguno de los dos tipos tumorales estudiados, dado que solo se observa cuando hay invasión perineural, no siendo el caso. Según la literatura lo podemos encontrar con una mayor frecuencia en los CEC que en los CBC (2,5%-1,4% versus 1% respectivamente)⁽¹⁴⁾. El cartílago no fue observado en ninguno de los dos tumores, ni con AT ni con HyE. Esto es debido a que durante la cirugía de Mohs no se llegó a estudiar en profundidad hasta el cartílago.

En resumen, este estudio no muestra diferencias significativas entre ambas tinciones, sólo en algunas características especialmente con HyE.

Debemos considerar que el tamaño de la muestra de este estudio es pequeño, especialmente para CEC, donde se evaluaron sólo siete pacientes, con lo cual es necesario hacer más estudios con un mayor número de pacientes para poder interpretar estos resultados.

Conclusiones

Tanto la tinción con HyE como con AT son confiables para el diagnóstico de los carcinomas cutáneos observados durante la CMM con la técnica por congelado en tejido fresco. Si bien sabemos que en la actualidad se

utiliza en la práctica diaria más comúnmente la HyE, no podemos dejar de apreciar que con la técnica de AT algunas características de los tejidos que son importantes en el reconocimiento de tumor residual se pueden observar mejor. Sería óptimo si se pudieran emplear ambas tinciones de forma dual en el estudio de los CBC y CEC mediante la CMM, lo que aumentaría la sensibilidad diagnóstica, sabiendo que esto aumentaría el tiempo y los costos. Esto no fue realizado en esta oportunidad, ya que el objetivo del estudio era comparar ambas técnicas.

Abstract

Introduction: Mohs micrographic surgery is a specialized surgical technique used to treat nonmelanoma carcinoma. Histopathology plays a vital role in the diagnosis of this condition, and the choice staining method is controversial.

Objective: to compare results in the use of hematoxylin and eosin (H&E) versus Toluidine blue (TB) staining during surgery.

Method: observational, descriptive and transversal study conducted from November, 2017 until May, 2018 of the slides used during surgeries in the selected period. Slides were analysed by the Mohs surgeon, 3 residents and a dermopathologist to evaluate the results of both staining methods, in consideration of cell features and stromal elements.

Results: 23 tumors were analysed (16 Basal Cell carcinomas and 7 Squamous Cell Carcinoma). Microscopic observation of slides prepared with Toluidine blue and hematoxylin and eosin stains did not show significant global differences between both groups, except in terms of a few characteristics, in particular with hematoxylin and eosin stains.

Conclusions: this was the first study in Uruguay to evaluate the effectiveness of both staining methods during Mohs micrographic surgery, and it concluded that both Toluidine blue and hematoxylin and eosin stains are very good techniques in evaluating skin-cancer.

Resumo

Introdução: a cirurgia micrográfica de Mohs é uma técnica cirúrgica especializada para o tratamento do câncer de pele não melanoma. A histopatologia desempenha um papel fundamental, onde a escolha da coloração é um ponto de controvérsia.

Objetivos: comparar o desempenho das colorações de hematoxilina e eosina versus azul de toluidina durante a cirurgia.

Método: estudo observacional, descritivo e transversal de novembro de 2017 a maio de 2018. Foram incluídas as lâminas utilizadas durante as cirurgias no referido período. Estas foram analisadas pelo cirurgião especializado na técnica de Mohs, 3 residentes e um dermatopatologista onde foi avaliado o desempenho de ambas as colorações, levando em consideração as características celulares e os elementos do estroma.

Resultados: foram estudados 23 tumores (16 carcinomas basocelulares e 7 carcinomas espinocelulares). Quando observados ao microscópio de luz para coloração AT e H&E, não foram encontradas diferenças significativas entre os dois grupos em geral, apenas em algumas características, especialmente com o H&E.

Conclusões: é o primeiro estudo no Uruguai que compara a eficácia dos 2 corantes durante a cirurgia micrográfica de Mohs. Em conclusão, tanto a coloração com hematoxilina e eosina quanto com azul de toluidina são técnicas muito boas para o diagnóstico de carcinomas de pele.

Bibliografía

1. Vitaliano PP, Urbach F. The relative importance of risk factors in nonmelanoma carcinoma. *Arch Dermatol* 1980; 116(4):454-6.
2. Madan V, Lear JT, Szeimies RM. Non-melanoma skin cancer. *Lancet* 2010; 375(9715):673-85.
3. Ocampo-Candiani J, Vidaurre LM, Olazarán Z. Cirugía micrográfica de Mohs en tumores malignos de piel. *Med Cutan Iber Lat Am* 2004; 32(2):65-70.
4. Lane JE, Kent DE. Surgical margins in the treatment of non-melanoma skin cancer and mohs micrographic surgery. *Curr Surg* 2005; 62(5):518-26.
5. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. National Comprehensive Cancer Network. Versión 2, 2018.
6. Alaejos Algarra C, Berini Aytés L, Gay Escoda C. Valoración de los métodos de tinción con azul de toluidina y lugol en el diagnóstico precoz del cáncer bucal. *Av Odontostomatol* 1996; 12(7):511-7.
7. Geneser F. *Histología*. 3 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2009.
8. Styperek A, Goldberg L, Goldschmidt L, Kimyai-Asadi A. Toluidine blue and hematoxylin and eosin stains are comparable in evaluating squamous cell carcinoma during Mohs. *Dermatol Surg* 2016; 42:1279-84.
9. Humphreys T, Nemeth A, McCrevey S, Baer S, Goldberg L. A pilot study comparing blue and hematoxylin and eosin staining of basal cell and squamous cell carcinoma during Mohs surgery. *Dermatol Surg* 1996; 22:693-7.
10. Tehrani H, May K, Morris A, Motley R. Does the dual use of toluidine blue and hematoxylin and eosin staining improve basal cell carcinoma detection by Mohs surgery trainees?. *Dermatol Surg* 2013; 39:995-1000.
11. Fernández K, Rodriguez de Valentiner RA, Chópita M, López C, Jalmes RO, Oliver M. Características clínicas e histológicas del carcinomas basocelular. *Dermatol Venez* 2003; 41(2):9-14.
12. Goldberg LH, Wang SQ, Kimyai-Asadi A. The setting sun sign: visualizing the margins of a basal cell carcinoma on serial frozen sections stained with toluidine blue. *Dermatol Surg* 2007; 33:761-3.
13. Humphreys TR. Commentary: Does the use of toluidine blue and hematoxylin and eosin improve tumor detection by Mohs surgery trainees? *Dermatol Surg* 2013; 39(7):1001-2.
14. Feasel AM, Brown MD, Bogle MA, Tschen JA, Nelson BR. Perineural invasion of cutaneous malignancies. *Dermatol Surg* 2001; 27:531-42.
15. 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(10):1303-6.

Contribución de autores

- Erika Lutz, ORCID 0000-0002-8843-182X. Concepción, diseño, ejecución, análisis, interpretación de los resultados, redacción, revisión crítica.
- Virginia Rivero, ORCID 0000-0002-9372-7748. Concepción, diseño, ejecución, análisis, interpretación de los resultados, redacción.
- Nelson Turra, ORCID 0000-0002-3369-8279. Ejecución, observador del grupo de residentes.
- Camila Otero, ORCID 0000-0001-5382-7130. Ejecución, observadora del grupo de residentes.
- Cecilia Fernández, ORCID 0000-0002-4098-0109. Ejecución, observadora del grupo de residentes.
- Analía Guerra, ORCID 0000-0002-8753-8094. Ejecución, observadora dermopatóloga.
- Julio Magliano, ORCID 0000-0003-2007-9871. Concepción, diseño, ejecución, análisis, interpretación de los resultados, redacción, revisión crítica.
- Carlos Bazzano, ORCID 0000-0003-1960-3365. Concepción, revisión crítica.
- Alicia González, ORCID 0000-0002-8624-9768. Técnica de anatomía patológica.
- Verónica Lezué, ORCID 0000-0001-8552-1339. Técnica de anatomía patológica.