



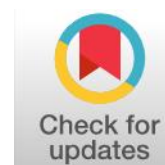
6.- Patología digital para técnicos especialistas en Anatomía Patológica (TEAP).

Victoria Pérez Parra¹, Alberto Sánchez Espinosa², Ana Ortiz González² y Joaquín Moya Biosca¹.

¹ Técnico Especialista en Anatomía Patológica. Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena (Hospital Santa María del Rosell - Hospital General Universitario Santa Lucía).

² Facultativo Especialista en Anatomía Patológica. Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena (Hospital Santa María del Rosell - Hospital General Universitario Santa Lucía).

Correspondencia: Victoria Pérez victoria-pp@hotmail.es



Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 España (CC BY-NC-ND 3.0 ES)
This Work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License

<https://doi.org/10.47579/AP.20.04.0029>

Introducción

La Patología Digital (PD), ha dejado de ser el futuro para pasar a ser una realidad en los servicios de Anatomía Patológica, ya que en la actualidad es una de las apuestas más importantes para la modernización y mejora en la calidad del diagnóstico [1]. Su incorporación en un servicio de Anatomía Patológica aporta múltiples beneficios, como la obtención de imágenes de excelente calidad, la posibilidad de compartir casos, hacer consultas incluso a distancia mediante telepatología [2], realizar sesiones clínicas o cursos “online”, mejorar la formación y emplear algoritmos diagnósticos, entre otras. Además, en un futuro inmediato gracias a este procedimiento, se incorporarán a nuestros servicios métodos automatizados de lectura y diagnóstico, ya muy avanzados como ocurre con la lectura automatizada de la citología cérvico-vaginal [3,4]. Por ello, la patología digital se ha convertido en una herramienta fundamental tanto para el diagnóstico, como para la docencia.

Estas técnicas nos permiten obtener imágenes de una calidad similar o superior a la que nos proporciona la óptica convencional, pero la buena calidad de la imagen y el éxito de los resultados que se obtienen en la PD, pasan por un cuidadoso manejo preanalítico de las muestras por parte de los Técnicos Especialistas en Anatomía Patológica (TEAP).

Exponemos nuestra experiencia en el uso de la PD y compartimos el manejo técnico de las muestras para sacar el máximo rendimiento.



Preanalítica en la digitalización

En nuestro servicio hemos puesto en marcha una serie de modificaciones y mejoras en la organización del trabajo del laboratorio y sobre todo en la preanalítica de las muestras para conseguir que la digitalización de estas sea fluida y no suponga una demora en el diagnóstico.

Es importante que haya un técnico cualificado responsable del manejo de estos equipos, que conozca perfectamente no solo su funcionamiento, sino también la solución de “averías menores”, para evitar así que se interrumpa el flujo de trabajo. Una mala preanalítica, puede ocasionar múltiples problemas en el escaneo de las preparaciones e incluso en el buen funcionamiento de los equipos, tales como: aumento del tiempo de escaneado por exceso de cortes en el portaobjetos, mala calidad de la imagen por exceso o deficiencia en el grosor del corte, o bloqueo del equipo por mal montaje o etiquetado de la preparación.

1. El éxito de un buen escaneado comienza con un buen tallado. Las muestras seleccionadas al examen macroscópico deben tener un tamaño adecuado en el que sus bordes no toquen el borde del casete y un grosor que no sobrepase los 3 milímetros, para asegurarnos un buen procesado y una buena inclusión en parafina.
2. El corte al microtomo se realiza a 3 micras, evitando al máximo los pliegues para la obtención de una imagen óptima, ya que estos interfieren en el escaneado. Una vez obtenemos los cortes, es importante colocar uno solo en cada portaobjetos y debe localizarse en el centro de este, ya que los tejidos teñidos no deben tocar los márgenes del portaobjetos. En el caso de muestras obtenidas por endoscopia o cortes seriados en los que se trabaja con varios cortes por muestra, se pondrá un solo corte por nivel; de esta manera reduciremos al máximo los puntos de enfoque y con ello el tiempo de escaneado.
3. Realizar una buena tinción, limpia y bien contrastada. Si los portaobjetos tienen gotas de colorantes o restos de medio de montaje, se deben quitar antes del escaneo.
4. No deben escanearse portaobjetos con marcas de rotulador ni con cubreobjetos rayados o rotos.
5. Intentar que tras en montado, el portaobjetos quede limpio, sin burbujas, ni exceso de medio de montaje. El resultado es mejor cuando utilizamos un montador automático y mejora aún más con el empleo de montadores de film, que sustituyen el cubreobjetos y el medio de montaje por una película plástica adhesiva.
6. Es importante revisar los portaobjetos antes de introducirlos en el escáner para asegurarnos de que no sobresale ni el cubreobjetos ni la etiqueta identificativa. Si esto ocurre, se debe limar los bordes del cubreobjetos con una lima de uñas, y en el caso de las etiquetas, recortarlas con una hoja de bisturí o despegarlas y hacer una nueva.
7. Comprobar las imágenes escaneadas para establecer un buen control de calidad. Si la calidad no es óptima, se debe de repetir antes de enviarla a la carpeta del patólogo.

Para evitar averías y desajustes en los escáneres, estos deben de estar en una zona libre de golpes y alejados de equipos que produzcan vibraciones, como centrifugas o microtomos, y tampoco cerca de puertas que se abran



con frecuencia, y si lo están evitar portazos. En la medida de lo posible deben de estar aislados ya que son equipos sensibles a golpes y vibraciones.

Siguiendo este protocolo de trabajo, hemos conseguido mejorar la calidad de las imágenes escaneadas y reducir el número de re-escaneos. El técnico debe de realizar un control de calidad de la imagen digitalizada antes de incorporarla a la bandeja del patólogo.

Equipos e información técnica

En nuestro centro disponemos de tres escáneres: *Ventana iScan HT600*, *Leica Aperio AT2* y *Ventana DP200* (Figura 1). Los dos primeros son de carga continua lo que nos permite ir añadiendo portaobjetos sin necesidad de que haya finalizado el proceso anterior. Tiene la ventaja de que podemos escanear sobre la marcha los casos más urgentes en el momento que se precise, inclusive muestras intraoperatorias, y posponer el escaneo de los casos de rutina para más tarde. Tienen una capacidad máxima de 500 y 400 preparaciones respectivamente, y digitalizan a 10x, 20x o 40x según elijamos. El *Ventana DP200* no es de carga continua y permite lanzar un máximo de 6 cristales a la vez a con los aumentos 20x y 40x, aunque se le estima una capacidad de 500 portaobjetos diarios. La velocidad de digitalización es variable, pero para una muestra incisional cutánea estándar y a un aumento de 40x el tiempo estimado varía desde 45 segundos hasta 5 minutos, siendo el equipo más rápido. Todos ellos, permiten mediante su software, la elección de áreas de escaneo individualizadas, siendo en ocasiones seleccionables incluso antes de iniciar el proceso.

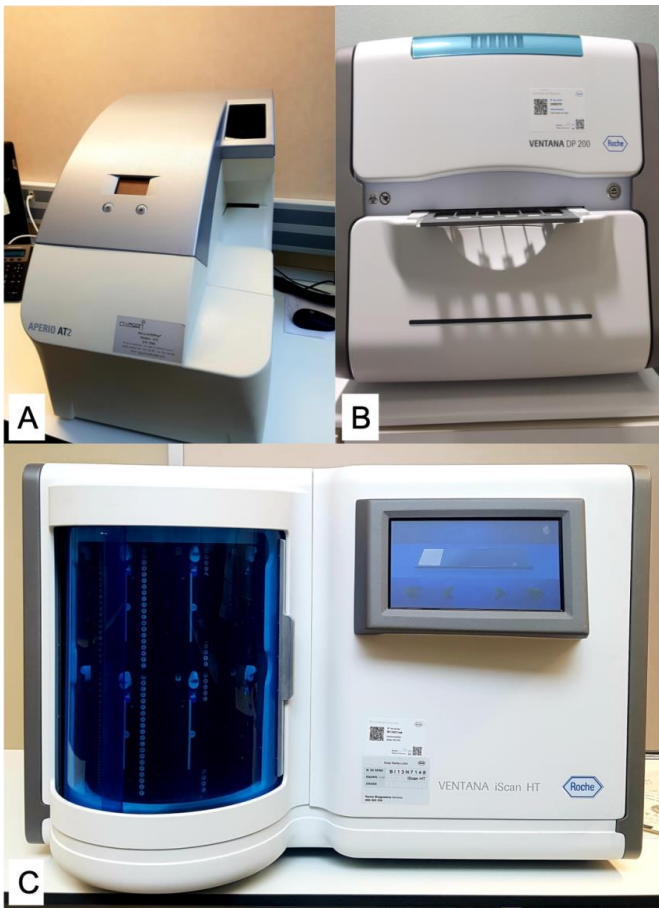


Figura 1. Escáneres que empleamos en nuestro servicio: *Leica Aperio AT2* (A), *Ventana DP200* (B) y *Ventana iScan HT600* (C).



Una de las características de los escáneres que consideramos importantes es el tipo de movimiento de sus componentes. Es primordial saber durante el escaneo; en la lectura de la preparación para la digitalización, si se mueve el soporte con las muestras o directamente el equipo óptico. Cuando se mueven las muestras, hemos detectado un número mayor de errores (los portaobjetos se mueven o se caen con frecuencia y atascan el circuito).

Todos los escáneres permiten la realización del escaneo en capas o niveles, es decir la creación en un mismo archivo de distintos niveles de una misma muestra, lo que se asemejaría al uso del micrométrico del microscopio. Por ejemplo, en las citologías interesa digitalizar a varias capas para poder ser capaces de diferenciar con buena resolución las distintas células que se encuentran en varios planos cuando están agrupadas o dispuestas en grupos tridimensionales. La utilización de niveles aumenta considerablemente el tamaño del archivo y el tiempo de escaneo.

La calidad de la digitalización de las muestras histológicas en nuestro centro, a un aumento 40x equivale a la obtenida en microscopía analógica convencional, resultados similares a los reflejados en otros estudios [5]. En el caso de las citologías, aunque son procesadas en medio líquido, sigue existiendo cierto decalaje en la visualización de las diferentes capas de la muestra, siendo necesario la digitalización de al menos 3 niveles de entre 1-2 micras para una completa visualización. Las extensiones citológicas obtenidas mediante punción no solemos escanearlas debido al intenso fondo que contienen y al gran decalaje en la visión de las células, que impide una correcta interpretación de las mismas.

El tamaño de los archivos varía de una muestra a otra y depende del tamaño de la muestra a escanear, del aumento al que nos interese digitalizarlo (cuanto mayor es el aumento, más tardará el escaneo y más tamaño tendrá el archivo de almacenamiento) y del número de capas que queramos obtener de la muestra. Por ejemplo, en una muestra incisional cutánea de pequeñas dimensiones escaneada con un aumento de 40x el peso varía desde 400 megabytes hasta 700 megabytes; y en el caso de una biopsia escisional cutánea de grandes dimensiones a 40x alcanza un tamaño de hasta 3-4 gigabytes. En global, de forma estimada en nuestro centro en el año 2019 se generaron 5.311 archivos de imágenes en formato .BIF que ocuparon unos 2.7 terabytes. Los formatos digitales que utilizamos en nuestro centro son: .TIFF, .TIF, .BIF (formato propio de Roche) y .jpeg200.

Es conveniente visualizar las imágenes escaneadas con pantallas de alta resolución. Disponemos en nuestro centro de pantallas entre 2MP y 4 MP, cuya resolución y colores permite una fácil interpretación de las imágenes con ajustes mínimos en el visor de imagen.

Almacenamiento y visores digitales

En nuestro servicio los archivos de imágenes digitalizadas se alojan en servidores externos (mediante la utilización de nubes privadas) propios de las empresas proveedoras de los servicios, o mediante la utilización de discos duros en el propio PC del equipo, que se utilizan de forma casera como servidor. Todo esto tiene inconvenientes: si son subidos a un servidor externo podemos encontrar dificultad en la recuperación de archivos que a posteriori se consideran importantes; y en el caso de utilizar discos duros propios, podemos tener el problema de la escasa capacidad de almacenaje.



El conseguir un archivo de una imagen escaneada es sólo el principio de la digitalización, ya que es necesario disponer de un software adecuado para su visualización. El visor más utilizado en nuestro centro es *Virtuoso*, un visor web propiedad de Roche. Este visor tiene la ventaja de que nos permite la realización de algo fundamental en la patología digital actual, que es la utilización de algoritmos para la medición y cuantificación de marcadores inmunohistoquímicos, como receptores hormonales y HER2/neu en patología mamaria, cuya reproducibilidad se ha visto demostrada en estudios recientes [6] y han sido aprobados por la FDA (*Food and Drug Administration* de Estados Unidos). En el día a día utilizamos también otros visores no web, como *ImageViewer* (propiedad de Roche), *QuPath* (*software libre*), *ImageScope* (*propiedad de Leica*) o *Civagenius* (*propiedad de Civagen*) (*Imagen 2*). Todos son lo suficientemente completos para una correcta visualización, pero la incompatibilidad de formatos de las imágenes escaneadas nos obliga a disponer de más de un visor. Es por ello necesario la adopción de un formato estándar universal como *DICOM*, que permita no sólo disponer de un único visor, sino que los archivos puedan ser compartidos y visualizados de forma más sencilla y global.

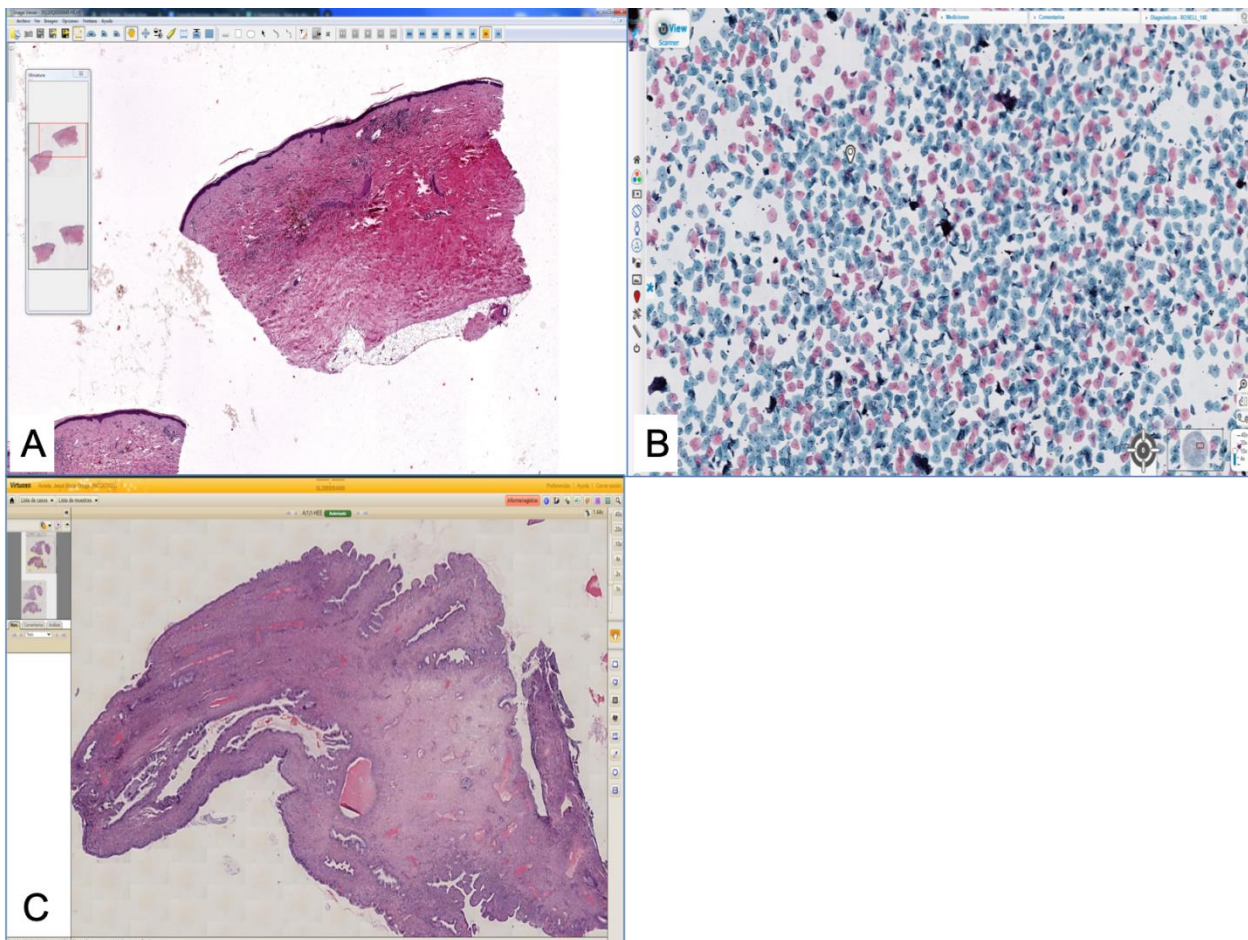


Imagen 2. Visores empleados para visualizar las imágenes digitalizadas: *ImageViewer* (A), *Civagenius* (B) y *Virtuoso* (C).

Conclusión

El futuro de la Anatomía Patológica se centra en la digitalización. La patología digital es ahora el presente de muchos servicios y ocupa un papel importante en el desarrollo de la actividad asistencial de gran número de facultativos [7]. Nos aporta grandes beneficios y es el punto de salida de una Anatomía Patológica en la que se puedan consultar casos clínicos escaneados en tiempo real, se puedan crear bibliotecas de imágenes



escaneadas de acceso libre destinadas a la docencia y se pueda facilitar el trabajo a distancia para patólogos cuando la situación lo requiera [8]. Es un futuro prometedor y el comienzo de la era de la digitalización de la Anatomía Patológica [9].

Bibliografía

- [1] Bueno G, Fernández-Carrobles MM, Deniz O, García-Rojo M. New Trends of Emerging Technologies in Digital Pathology. *Pathobiology* 2016;83:61-69.
- [2] Martínez EP, Ferreres LA, Martín AP, Casado YR. Telepatología estática. *Rev. Esp. Patol.* 2003; 36 (3):257-266.
- [3] Martínez-Más J, Bueno-Crespo A, Martínez-España R, Remezal-Solano M, Ortiz-González A, Ortiz-Reina S, Martínez-Cendán JP. Classifying Papanicolaou cervical smears through a cell merger approach by deep learning technique. *Expert Syst Appl.* 2020; 160: 113707.
- [4] Wilbur DC. Digital pathology and its role in cytology education. *Cytopathology.* 2016; 27(5):325-30.
- [5] Thorstenson S, Molin J, Lundström C. Implementation of large-scale routine diagnostics using whole slide imaging in Sweden: Digital pathology experiences 2006-2013. *J Pathol Inform.* 2014; 5(1):14.
- [6] Keay, Tyler & Conway, Catherine & O'Flaherty, Neil & Hewitt, Stephen & Shea, Katherine & Gavrielides, Marios. Reproducibility in the automated quantitative assessment of HER2/neu for breast cancer. *Journal of pathology informatics.* 2013; 4.
- [7] Fraggetta F, Garozzo S, Zannoni GF, Pantanowitz L, Rossi ED. Routine Digital Pathology Workflow: The Catania Experience. *J Pathol Inform.* 2017;8:51.
- [8] Stathonikos N, van Varsseveld NC, Vink A, van Dijk MR, Nguyen TQ, Leng WWJ, Lacle MM, Goldschmeding R, Vreuls CPH, van Diest PJ. Digital pathology in the time of corona. *J Clin Pathol.* 2020.
- [9] Bueno G, Fernández-Carrobles M, Deniz O, García-Rojo M: New Trends of Emerging Technologies in Digital Pathology. *Pathobiology.* 2016;83:61-69.