

# RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA DIGITAL DE LA SEAP

## Introducción

**Antonio Félix Conde Martí, coordinador del club**

*Correspondencia: [felixconde@telefonica.net](mailto:felixconde@telefonica.net)*

Las tecnologías de la información y comunicación (TIC) han transformado la forma de trabajar en nuestros servicios de patología a lo largo de las últimas décadas. De la edición de informes a la forma en que vemos y compartimos las imágenes y su información asociada, todo va cambiando. Los flujos de trabajo de nuestros laboratorios se organizan y podemos determinar con exactitud la secuencia que ha seguido cada muestra y qué recursos hemos utilizado en su estudio. La información generada en el servicio de patología se estructura e integra en bases de datos dinámicas, convirtiéndose en la base de registros epidemiológicos. El proceso culmina con la digitalización del trabajo de rutina, acción todavía pionera en algunos centros, pero que dadas las ventajas que supone sobre el trabajo con preparaciones físicas (seguridad, disponibilidad, cuantificación objetiva de biomarcadores, archivo...) se terminará extendiendo.

Más que una guía clínica al uso, el presente capítulo recoge las recomendaciones que el Club de Patología Digital considera importantes en cada uno de los elementos del proceso de transformación de nuestros servicios en su vertiente asistencial. Finalmente se exponen algunas reflexiones sobre la adaptación de la normativa legal al nuevo entorno de trabajo.



# Guía práctica para la implantación de la patología digital

Marcial García Rojo<sup>1</sup>, Antonio Félix Conde<sup>2</sup>, Jaume Ordi<sup>3</sup>, Juan Ruiz Martín<sup>4</sup>, Josep M<sup>a</sup> Corominas<sup>5</sup>, Ramiro Álvarez Alegret<sup>6</sup>, Luis Alfaro<sup>7</sup>, Sonia Gatius<sup>8</sup>, Xavier Matias Guiu<sup>8</sup>, Enrique de Álava<sup>9</sup>, José Ramírez<sup>3</sup>

1. *Hospital de Jerez de la Frontera, Cádiz.*
2. *Hospital Universitario Perpetuo Socorro Badajoz.*
3. *Hospital Clínic, Barcelona.*
4. *Complejo Hospitalario de Toledo.*
5. *Hospital del Mar. Barcelona.*
6. *Hospital Universitario Miguel Server, Zaragoza.*
7. *Hospital Rey Don Jaime, Castellón.*
8. *Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Lérida.*
9. *Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.*

## I. INTRODUCCIÓN. ALCANCE Y JUSTIFICACIÓN

La anatomía patológica se enfrenta una creciente demanda de volumen de trabajo, mayor cantidad de información que debe generarse en cada informe y mejora en la calidad, exactitud diagnóstica y seguridad del paciente. A menudo, se esgrimen argumentos económicos para evolucionar hacia un modelo centralizado de servicios diagnósticos, con el fin de mejorar el acceso a los expertos o a servicios muy especializados.

Paralelamente, la anatomía patológica en nuestro país está viviendo cambios significativos en los últimos cinco años con el avance de las tecnologías de la información y las comunicaciones (TIC), que en nuestra especialidad, hasta el momento se han concretado en la mejora de los sistemas de información de anatomía patológica (SIAP) o LIS (Laboratory Information System, en inglés), el impulso de la trazabilidad de muestras y la incorporación de la imagen digital microscópica.

El concepto de patología digital incluye todos los aspectos relacionados con el uso de las TIC en anatomía patológica, pero en la práctica se aplica a un contexto en el que se ha incorporado el uso de preparaciones digitales o tecnología de escaneado completo de preparaciones (WSI, de las siglas de Whole Slide Imaging, en inglés) histológicas o citológicas, antes conocida como microscopía virtual. Esta tecnología ha tenido un especial desarrollo en aspectos docentes y en investigación en anatomía patológica y es previsible que lo tenga también en la faceta asistencial.

El conocimiento actual de la tecnología de escaneado de preparaciones o de interoperabilidad o integración entre los diferentes componentes de un sistema de patología digital es aún escaso entre los patólogos y entre los informáticos de las instituciones sanitarias. Además, las instalaciones de los servicios de informática de los hospitales necesitan adaptarse para dimensionar la capacidad de almacenamiento necesario para

las preparaciones digitales y para integrar las nuevas normas de interoperabilidad que están definiendo los organismos internacionales de informática médica.

El objetivo de este capítulo es analizar la situación de la patológica digital en el contexto asistencial, con especial énfasis en el uso de preparaciones digitales y dar unas recomendaciones que permitan a los servicios de anatomía patológica abordar de forma práctica, segura y fiable la digitalización masiva de las preparaciones. En ese sentido, se incluyen algunas medidas que los responsables de la gestión de los centros sanitarios y los legisladores deberían tener en cuenta.

Con un enfoque de “patología basada en pruebas”, este documento recoge las pruebas científicas que hasta el momento existen para valorar las ventajas o las desventajas del uso de la imagen digital microscópica en patología, explica algunos conceptos técnicos básicos que permiten comprender esos estudios científicos, aborda la mejora de los circuitos asistenciales gracias al uso de la patología digital y expone un uso clínico recomendable de la patología digital en el diagnóstico primario, en los comités de tumores, en las consultas entre patólogos, en la patología molecular y en el análisis automatizado de imagen. Por último, se realiza una evaluación de riesgos y una exposición de opciones y decisiones que deben tomarse antes de comenzar un proyecto de digitalización masiva de preparaciones.

Hasta la fecha, existen algunas experiencias aisladas de digitalización masiva de preparaciones en servicios de anatomía patológica, pero esta digitalización se realiza a menudo después del diagnóstico con un microscopio convencional. Incluso, aunque la preparación digital está disponible, en muchos casos los patólogos siguen prefiriendo utilizar el microscopio. El número de patólogos que realizan diagnóstico directo en preparaciones digitales (“diagnóstico primario”) es aún escaso, pero poco a poco se va extendiendo gracias a la experiencia de algunos centros pioneros, que han comenzado a dar este paso [1,2].

Los avances en las nuevas tecnologías correctamente aplicadas a anatomía patológica permitirán solucionar muchos de los retos arriba comentados (mayor demanda asistencial, impulso de la calidad, nuevos modelos de organización), pues el entorno digital permitirá no depender de algunos factores que ahora pueden limitar el crecimiento de la especialidad, como la falta de automatización de muchos procesos o la dependencia de espacios o estructuras físicas para organizar el almacenamiento de las muestras.

## II. ASPECTOS TÉCNICOS

Tradicionalmente los sistemas de patología digital y telepatología se han clasificado en tres variantes:

- Estática: con grabación de las imágenes y envío a distancia de las mismas
- Dinámica: con envío de video en tiempo real asociado o no a microscopía robótica.
- Preparaciones digitales o tecnología de escaneado completo de las preparaciones microscópicas o WSI, que combina en cierta manera las dos anteriores [3].

La forma más habitual de telepatología estática es la obtención de fotografías microscópicas y su envío por e-mail y está al alcance de cualquier servicio de anatomía patológica pues no requiere infraestructura específica. Las cámaras fotográficas digitales actuales permiten obtener imágenes de alta resolución con valor diagnóstico.

La telepatología dinámica o transmisión de video en tiempo real ha evolucionado al incorporar sistemas de video digital de alta resolución (HD) que requieren una infraestructura más elaborada con capturadoras de video y un software adaptado para la emisión y recepción de las imágenes. Es posible configurar estos sistemas de manera que un patólogo, a distancia, pueda manejar el microscopio (microscopía robótica) si en el lugar de origen no hay ningún patólogo que pueda hacerlo.

En la actualidad la tecnología que predomina en patología digital es la de escaneado completo a alta resolución de preparaciones microscópicas (WSI) [4]. Se obtienen ficheros digitales de gran tamaño habitualmente por encima de 1 GB para preparaciones escaneadas a 400x, en diferentes tipos de formatos de imagen, que pueden visualizarse de manera local en el propio hospital o de forma remota a través de Internet, con el uso de visores de estos formatos gráficos.

Antes de valorar las características técnicas de un sistema de patología digital, debemos valorar el objetivo

que debe cumplir el sistema. Si el sistema tiene como objetivo dar apoyo a la investigación en cáncer, deberá cumplir una serie de requisitos, como el escaneado de preparaciones de fluorescencia a muy alta resolución. En esta guía, nos centramos en el escaneado masivo de preparaciones digitales con fines asistenciales, para la práctica clínica diaria, para lo cual las recomendaciones técnicas las clasificamos en características esenciales, ideales y opcionales.

## COMPONENTES DE UN SISTEMA DE PATOLOGÍA DIGITAL

Los principales componentes de un sistema de escaneado completo de preparaciones digitales son tres: el escáner, el software de gestión y visualización de imagen y el almacenamiento de las imágenes. Siguiendo la descripción de la *Food and Drug Administration* (FDA) [5], un sistema de patología digital debe ir acompañado de la siguiente información técnica en adquisición y visualización de imagen:

- **Adquisición de imagen.** A partir de una preparación convencional se obtiene un fichero de imagen digital.
  - Alimentador de preparaciones. Puede ser independiente del escáner. Debe describirse el número, tamaño y grosor (cuidado con preparaciones con doble porta) de las preparaciones que admite, e indicar si la preparación siempre se mantiene horizontal.
  - Fuente de luz. Debe indicar tipo de lámpara (halógena, arco xenón, led), modelo y tiempo de vida estimado.
  - Condensador. Formato de iluminación (Köler, crítica), modelo, apertura numérica (NA).
  - Óptica. Describir toda la vía óptica, incluyendo objetivos (fabricante, tipo, aumento, apertura numérica) y lentes accesorias (tipo). Aumento final, según ISO 8039:1997.
  - Movimiento de preparación o de objetivos. Describir la platina (fabricante, modelo, mecanismo de retención de preparación), sus movimientos (resolución X-Y-Z, control de movimientos)
  - Sensor de imagen digital. Tipo de sensor (CCD; CMOS), fabricante, dimensiones en píxeles, diseño, especificaciones de respuesta y ruido, tasa de lectura (píxeles o "frames" por segundo)
  - Procesamiento de imagen. Exposición, balance de blancos, corrección de color, submuestreo y cualquier otro cambio que se produzca en la imagen original.
  - Composición de la preparación digital. Indicar método de escaneado (lineal, fotogramas, con o sin superposición entre fotogramas, etc.), velocidad de escaneado para cada aumento y por área de tejido y escaneado en eje Z.
  - Formato de fichero de imagen. Indicar método y grado de compresión, formato de fichero, organización del/los fichero/s (piramidal, carpeta con diversos ficheros), compatibilidad con DICOM.
- **Visualización de la imagen.** A partir de un fichero de imagen digital se emiten señales ópticas que recibe el usuario.
  - Visor. Software de manipulación y revisión de imagen
    - Movimiento continuo en los ejes X e Y. Almacenamiento previo ("pre-fetching") de áreas adyacentes para mejorar el movimiento.
    - Zoom continuo (aumentos)
    - Movimiento en el eje Z (múltiples planos)
    - Comparar varias preparaciones a la vez en múltiples ventanas
    - Realizar anotaciones o marcas de áreas de interés y revisarlas
    - Herramientas básicas de mejora de imagen (enfoque, color, balance de blancos, filtros, histograma).
    - Visualizar áreas ya revisadas y a qué aumentos.
    - Sincronizar múltiples visores ("multicabezal virtual")
  - Entorno del ordenador. Describir el tipo de ordenador de la estación de trabajo del patólogo y sus prestaciones, incluyendo:
    - Tipo de ordenador (PC o Mac)
    - Sistema operativo, preferiblemente 64 bit (Win8.1, OSX, Linux/Ubuntu)

- Tarjeta gráfica (marca y modelo)
- Controlador de tarjeta gráfica (fabricante, modelo y versión)
- Gestión de color (ICS o WCS)
- Perfil de color (sRGB IEC61966-2.1)
- Interfaz del monitor (DVI o DisplayPort)
- Monitor. Debe incluir una descripción completa de la pantalla, la tarjeta gráfica y el software de control correspondiente. De forma específica:
  - Tecnología de la pantalla (LED, LCD)
  - Tamaño de visualización real
  - En monitores LCD, tipo de retroiluminación
  - Matriz de píxeles, "pitch" (distancia entre puntos) y patrón
  - Técnicas de sub-pixelación o de "color driving"
  - Ancho de banda de vídeo
  - Controles en la pantalla (OSD)
  - Sensores de luz ambiente
  - Tecnología táctil
  - Herramientas de calibración de color y métodos de gestión de color
  - Procedimientos de control de calidad.

## Recomendaciones técnicas que debe cumplir un sistema de patología digital

### Arquitectura

El sistema de patología digital debe ser un sistema integrado con el resto de los sistemas de información. Para conseguir una integración ideal es necesario que cada uno de los tres componentes del sistema de patología digital (escáner, visor y almacenamiento) pueda comunicarse con los demás sistemas usando normas internacionales. En este sentido hay que distinguir entre la **fase de trabajo interno**, que puede estar basada en soluciones cerradas o propietarias, pensadas para optimizar los tiempos de respuesta y disponer de un gran número de funcionalidades y la **fase de comunicación de resultados**, en la que tanto las imágenes como los datos deben estar almacenados en formatos estándar y deben estar accesibles desde diversas aplicaciones, y en la cual deben realizarse todos los esfuerzos posibles de normalización.

**Características esenciales:** La arquitectura del sistema (cliente-servidor, web, u orientación a servicios) debe estar orientada a facilitar y optimizar el trabajo del patólogo (fase de trabajo interna), facilitando el trabajo multipuesto (se accede a la información desde cualquier estación de trabajo) y debe garantizar el rendimiento de todo el sistema (ancho de banda para transmitir la imagen, respuesta de la base de datos ante múltiples peticiones y capacidad de procesamiento local del ordenador). El tiempo de respuesta del sistema debe ser adecuado para no interrumpir el ritmo de trabajo normal del usuario [6].

**Características ideales:** El sistema de patología digital puede estar constituido por módulos (llamados "servicios" en informática), que se pueden comunicar con otros sistemas, usando las normas internacionales de informática médica.

### Integración con otros sistemas de información

**Características esenciales:** Los sistemas de patología digital deben estar diseñados para integrarse con el SIAP. El protocolo de comunicación debe basarse en HL7

**Características ideales:** El sistema de patología digital debe integrarse con la historia clínica electrónica y con el sistema central de almacenamiento de imágenes médicas del hospital (PACS, de las siglas del inglés Picture Archiving and Communication System). De esta forma, desde la historia clínica es posible acceder a las preparaciones digitales, ya sea mediante enlaces en la lista de estudios de estudios anatomopatológicos disponibles de cada paciente (de forma similar al acceso a las imágenes radiológicas) o a través de enlaces

existentes dentro de cada informe de anatomía patológica, que se a su vez se almacena en la historia clínica del paciente. Las normas que debe cumplir el sistema son:

- Integrating Healthcare Enterprise (IHE) Anatomic Pathology Technical Framework ([http://www.ihe.net/Technical\\_Frameworks/#anatomic](http://www.ihe.net/Technical_Frameworks/#anatomic))
- Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM). Supplement 122: Specimen Module and Revised Pathology SOP Classes ([ftp://medical.nema.org/medical/dicom/final/sup122\\_ft2.pdf](ftp://medical.nema.org/medical/dicom/final/sup122_ft2.pdf))
- Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) Supplement 145: Whole Slide Microscopic Image IOD and SOP Classes ([ftp://medical.nema.org/medical/dicom/final/sup145\\_ft.pdf](ftp://medical.nema.org/medical/dicom/final/sup145_ft.pdf))

*Características opcionales:* Los informes y las imágenes de anatomía patológica deben poder enviarse automáticamente a los sistemas informáticos de registros de tumores y de biobancos, o a otras bases de datos de utilidad pública, siguiendo las recomendaciones de IHE:

- IHE Anatomic Pathology Technical Framework Supplement. Anatomic Pathology Reporting to Public Health (ARPH) ([http://www.ihe.net/Technical\\_Frameworks/#anatomic](http://www.ihe.net/Technical_Frameworks/#anatomic))

### El informe estructurado de anatomía patológica

**Características esenciales:** Los informes de anatomía patológica deben poder completarse de forma sencilla y estructurada usando valores prefijados para todas o la mayor parte de las variables. Además, deben permitir insertar un enlace a una o un grupo de preparaciones digitales, correspondientes al mismo informe.

*Características ideales:* Los informes de anatomía patológica deben seguir la estructura normalizada de documento clínico de HL7 (CDA), recomendada por IHE:

- IHE Anatomic Pathology Technical Framework Supplement. Anatomic Pathology Structured Reports (APSR) ([http://www.ihe.net/Technical\\_Frameworks/#anatomic](http://www.ihe.net/Technical_Frameworks/#anatomic))

### Almacenamiento

**Características esenciales:** La capacidad de almacenamiento de datos o imágenes de pacientes y muestras debe ser suficiente para evitar su pérdida (**obligación de custodia de la historia clínica**) y debe estar disponible durante al menos 5 años desde la última visita o proceso asistencial de cada paciente, según indica la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

*Características ideales:* Si el almacenamiento original supone un desembolso económico importante y no es asumible, la Ley 41/2002, al referirse a la forma de conservación de las historias clínicas, reconoce la posibilidad de mantenerla en un soporte distinto al original, poniendo de manifiesto la necesidad de implementar las medidas de seguridad exigibles para los ficheros de datos de carácter personal, remitiéndose a la regulación de protección de datos. Lo ideal sería poder almacenar al menos 30 años las imágenes de anatomía patológica.

### Formato de imagen

**Características esenciales:** El escáner debe permitir generar formatos de fichero de uso universal, como TIFF o JPEG2000.

*Características ideales:* El sistema debe ser capaz de enviar las imágenes al PACS del hospital usando dos normas internacionales DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine) específicas para las imágenes de anatomía patológica: el suplemento 122 y el suplemento 145, arriba indicados.

### Visor de preparaciones digitales

**Características esenciales:** El visor de preparaciones del puesto de trabajo del patólogo debe ser rápido y con todas las funcionalidades básicas y avanzadas, incluyendo la integración con el sistema de análisis de imagen. El visor de preparaciones digitales que vaya a utilizarse fuera del puesto habitual de trabajo del patólogo y que utilicen otras especialidades, debería ser un visor web, que no requiera instalación previa y debe permitir mostrar imágenes en diferentes formatos de imagen.

*Características ideales:* El visor de preparaciones digitales debe ser capaz mostrar indistintamente preparaciones digitales, fotografías en color o imágenes radiológicas almacenadas en el PACS hospitalario.

## Seguridad

**Características esenciales:** Se realizarán copias de seguridad de todas las preparaciones digitalizadas, aunque sea en soportes más lentos o económicamente más asequibles. El sistema de patología digital estará sometido a la misma política de seguridad y protección antivirus que el resto de los sistemas de información corporativos del hospital.

*Características ideales:* Se realizarán automáticamente copias de seguridad diarias, que no entretendrán el funcionamiento óptimo del sistema, y al menos una copia estarán disponible en un lugar seguro, físicamente distinto al hospital donde originalmente se escanearon las preparaciones.

## Privacidad y control de accesos

**Características esenciales:** El sistema debe reconocer usuarios internos (patólogos, TEAP) y usuarios externos (otros médicos especialistas, patólogos de otros centros), ofreciendo diversas funcionalidades a cada uno. La identificación podrá realizarse mediante usuario y contraseña. La contraseña de cada usuario debe poder gestionarse automáticamente, obligando a su renovación una vez al año.

*Características ideales:* El acceso debe garantizarse mediante el mismo sistema seguro (uso de certificados digitales o tarjetas inteligentes) que permita el acceso a otras aplicaciones clínicas. La base de datos de usuarios debe estar integrada con el sistema de información hospitalario.

*Características opcionales:* El administrador clínico debe poder acceder a los registros de accesos (auditoría).

## Actualización

**Características esenciales:** El fabricante debe informar cada vez que esté disponible una nueva versión con cambios significativos de cada uno de los módulos funcionales del sistema y de sus dependencias (si el cambio de un módulo con lleva el cambio de otros).

*Características ideales:* El fabricante debe acordar con el servicio de anatomía patológica el procedimiento de notificación de la aparición de una nueva versión, las condiciones económicas que rigen la actualización de versiones, el procedimiento que se debe seguir durante dicha actualización, el tiempo aproximado de actualización, el impacto sobre el funcionamiento del sistema y la formación que precisan los usuarios [6].

*Características opcionales:* El producto debe tener una frecuencia de actualización de versiones mayores de al menos una cada 2 años y que el usuario debe poder conocer con la suficiente anticipación los planes de mejora y nuevas funcionalidades del fabricante [6].

## Mantenimiento

**Características esenciales:** Todos los equipos de patología digital, independientemente de la forma de financiación para su adquisición, deben contar con un contrato de mantenimiento. El contrato debe indicar el horario de asistencia técnica y el tiempo de respuesta según el tipo de incidencia (crítica o leve), para evitar la parada del sistema. Además, el hospital debe garantizar que el hardware disponible en clientes y servidores, y la capacidad de red (o ancho de banda) son suficientes para asegurar un funcionamiento correcto del sistema [6].

*Características ideales:* El contrato de mantenimiento debe garantizar el funcionamiento continuo y si no es posible la reparación en pocas horas, el distribuidor debe proporcionar un equipo de sustitución. Cada servicio de anatomía patológica debe disponer de al menos dos escáneres de preparaciones digitales. El sistema debe avisar de funcionamientos anómalos (falta de calibración de colon o del sistema óptico) y de la necesidad de realizar labores de mantenimiento.

*Características opcionales:* El fabricante proporcionará asesoría continuada al servicio de informática y al administrador clínico del sistema [6].

## **FUNCIONALIDADES IMPRESCINDIBLES EN UN SISTEMA DE PATOLOGÍA DIGITAL**

Las siguientes funcionalidades son consideradas básicas, antes de plantearse el abandono del uso de microscopio convencional.

### **1.- Velocidad de escaneado**

Este es el factor donde se aprecia una evolución más rápida en los equipos de patología digital. Los equipos de última generación ya se acercan a la barrera de 1 minuto en tiempo de escaneado completo con alta resolución. Cuando un servicio de anatomía patológica se plantea la digitalización de sus preparaciones, debe conocer el tiempo total de escaneado para poder establecer el número de escáneres que necesitará. En la valoración del tiempo de escaneado debe considerarse que no solo contabiliza el tiempo de captura de las imágenes sino que suele haber un tiempo que utiliza escáner en la calibración o enfoque de la muestra que puede ser previo o simultáneo a la captura y que con frecuencia puede variar si se ajusta un foco de mayor sensibilidad. Adicionalmente, tras el procedimiento de captura de imágenes, el escáner puede necesitar un tiempo de ensamblaje de las mismas y generación del fichero digital, para que quede disponible para su visualización.

El tiempo de escaneado es también un factor crítico si se planea su utilización en realización de estudios intraoperatorios [7].

El escáner debe disponer de un alimentador de preparaciones de al menos 100 preparaciones (algunos sistemas admiten hasta 400 preparaciones) y lo ideal es que el sistema permita carga continua de preparaciones y permita ajustar la prioridad de cada una de las preparaciones.

La velocidad total de escaneado no debe ser superior a 2 minutos para escanear un área de  $1,5 \times 1,5$  cm usando una resolución de 0,5 micrómetros/píxel (equivalente a objetivo 20x) [8].

### **2.- Calidad de imagen obtenida por el escáner**

En la actualidad prácticamente la totalidad de fabricantes de escáneres de preparaciones microscópicas obtienen imágenes de elevada calidad. Se trata de dispositivos de elevado precio que utilizan componentes de alta calidad. La obtención de imágenes digitales se realiza empleando objetivos similares a los de los microscopios ópticos pero casi siempre se seleccionan los de gama más alta y mejores prestaciones ópticas. Ello se combina con cámaras digitales con sensores de alta resolución. La combinación de sistema óptico (objetivos y otras lentes) y captura digital (cámaras que capturan fotogramas, líneas o áreas), hoy día, deben cumplir con al menos los siguientes requisitos técnicos:

La resolución espacial debe medirse en micrómetros por píxel y no en aumentos. El valor mínimo recomendable es de 0,5 micrómetros/píxel (equivalente a objetivo 20x) para diagnóstico histopatológico [9] y 0,25 micrómetros/píxel (equivalente a 40x) para diagnóstico citopatológico.

El porcentaje de preparaciones que necesitan ser reescaneadas (por pliegues en el tejido, tejido débilmente teñido, etc.) no debe ser superior al 5 %, aunque esta cifra también está directamente relacionada con la calidad de la técnica histológica de cada centro. Se recomienda usar sistemas de tinción y montaje automático de preparaciones histológicas y citológicas.

El escaneado de citologías es más complicado. En general, pueden ser escaneadas de forma adecuada con parámetros similares a los usados en histopatología, si los frotis no son muy gruesos (por ejemplo, mediante citología líquida), aunque el porcentaje de reescaneado puede acercarse al 10% (ver escaneado en el eje Z en funcionalidades opcionales).

La compresión de la imagen obtenida no debe ser superior a 70% si se utiliza compresión con los métodos JPEG o JPEG2000. El método JPEG2000 de compresión permite obtener mejor calidad de imagen y un tamaño de fichero más reducido, aunque requiere mayor tiempo de compresión o disponer de ordenadores de mayores prestaciones.

### **3.- Calidad del monitor en la visualización de preparaciones digitales.**

Al margen de la calidad de imagen obtenida por el escáner es imprescindible contar con un buen sistema de visualización de la imagen (habitualmente un monitor o pantalla de ordenador). La percepción

subjetiva de la calidad de imagen depende casi siempre en mayor medida de este factor, que del sistema de obtención de imagen por parte del escáner. Es importante tener en cuenta que las pantallas convencionales que acompañan a los ordenadores de uso doméstico, en general, no son adecuadas para patología digital, aunque en los últimos años han aparecido monitores para uso doméstico con una calidad muy aceptable y a un precio asequible. Como referencia en cuanto a resolución un monitor de 2K (1920x1080 píxeles) debe ser lo mínimo exigible. El tamaño mínimo recomendable de la pantalla puede estar en torno a 22 pulgadas, aunque pueden ser necesarios tamaños mayores si en la misma pantalla se quiere mostrar a la vez el visor de las preparaciones digitales y el SIAP. Además de la resolución y el tamaño de visualización, otros criterios que definen la calidad de un monitor son: el tamaño del punto (dot pitch) que mide la distancia que separa dos puntos del mismo color y da idea de la nitidez de imagen. Suele medir en torno a 0,28 mm y cuanto más pequeño sea este valor más nitidez obtendremos. También definen la calidad de un monitor sus características de contraste y luminosidad. Los valores de contraste que ofrecen los fabricantes de monitores en ocasiones se refieren a contraste real (diferencia entre un píxel negro y otro blanco en un único instante, con cifras alrededor de 800:1, 1000:1, 1600:1...), y en ocasiones a contraste dinámico (que mide lo que varía un píxel de negro a blanco en un período de tiempo con cifras en estos rangos 20000:1, 50000:1, 100.000:1). El primer parámetro valora mejor las imágenes fijas y el segundo las imágenes en movimiento [10]. La luminosidad se mide en candelas por metro cuadrado con valores en torno a 250 a 300 cdm<sup>2</sup>.

Los monitores de calidad médica con una resolución entre 4 a 6 megapíxeles y 30 pulgadas de tamaño, a pesar de su elevado precio, están teniendo gran aceptación en anatomía patológica, debido a que garantizan unas condiciones de trabajo ergonómicas (frecuencia de refresco, brillo uniforme, adaptación a luz ambiente), imprescindibles para trabajar durante horas de forma ininterrumpida delante del ordenador. También se están haciendo populares los llamados monitores 4K (resolución de 4.096 x 2.160 píxeles, hasta 8,8 millones de píxeles), incluso con tecnología táctil. Conviene recordar que si aumenta significativamente la resolución del monitor, veremos los objetos significativamente más pequeños incluso aunque apliquemos el máximo zoom o aumento del visor [10].

#### **4.- Velocidad de visualización o lectura de las preparaciones digitales**

Para el trabajo de rutina no son admisibles tiempos de espera en la transición de imágenes o en los cambios de aumento de un sistema digital. Un trabajo fluido requiere una velocidad de refresco de imágenes en la que las transiciones sean imperceptibles. Este es un factor que depende del método de composición de la imagen (la transición de enfoque gradual es más agradable que la composición de fragmentos o cuadrados en la imagen), de la capacidad del ordenador que actúa como estación de trabajo y de las líneas de comunicaciones. Habitualmente, las preparaciones digitales no se almacenan en el mismo ordenador en el que trabaja el patólogo, sino que se transmiten desde un servidor central que suele estar ubicado en el servicio de informática. Son los servicios de Informática del hospital los que deben garantizar que las líneas de comunicaciones tengan un ancho de banda suficiente para este uso.

### **FUNCIONALIDADES OPCIONALES DE UN SISTEMA DE PATOLOGÍA DIGITAL**

Diversos elementos adicionales deben ser valorados a la hora de implantar un sistema de patología digital:

#### **1.- Escaneado en eje Z (obtención de diferentes niveles de foco de una preparación)**

Los sistemas de enfoque automatizados son uno de los elementos más sofisticados en los escáneres de preparaciones digitales. Aunque, en general, los cortes de muestras biopsicas obtenidos a 3-4 micras pueden digitalizarse en un único plano, esto no es aplicable a todos los tipos de muestras que se manejan en los servicios de anatomía patológica. Dado que el índice de reescaneados es mayor en citología y puede ser superior al 10%, esto conlleva la necesidad de escanear múltiples planos, pues las citologías convencionales tanto exfoliativas (cervicovaginales) como punciones (PAAF) suelen tener agregados celulares tridimensionales que son imposibles de valorar en una preparación digital escaneada en un plano único [11]. Algunos escáneres permiten seleccionar el número de planos de escaneado e incluso la separación entre

cada plano (0,5, 1, 2... micras). Esta solución técnica debe usarse con precaución dado que el escaneado en múltiples planos es más lento y genera ficheros digitales mucho mayores en función del número de niveles escaneados. Así, actualmente no resultaría eficiente un escaneado en múltiples planos de todas las citologías cervicovaginales si fuéramos a obtener ficheros superiores a 5 GB por cada preparación. Algunos escáneres incluyen una opción de foco dinámico o mejorado (que toma el mejor foco de cada plano y lo muestra en un solo plano), que optimiza este proceso.

En determinados tipos de biopsias por ejemplo biopsias renales o biopsias prostáticas (cilindros) en los que la valoración a gran aumento es importante y donde el disponer de varios planos aporta información adicional útil, la disponibilidad técnica de esta opción puede resultar muy valiosa.

## 2.- Escaneado de preparaciones bajo luz de fluorescencia

Los escáneres de preparaciones microscópicas están diseñados esencialmente para el trabajo con muestras habituales bajo campo claro. Sin embargo, la posibilidad de escanear preparaciones de fluorescencia (inmunofluorescencia directa, FISH, etc.) tiene especial valor dado que estas preparaciones tienden a degradarse por lo que no pueden conservarse de manera indefinida, mientras que un fichero digital obtenido de un escáner con fluorescencia permite mantener estas preparaciones digitales de forma indefinida. Esta función, aunque muy útil para estos casos, ha de valorarse teniendo en cuenta que suelen requerir un tiempo de escaneado mayor y encarece el precio de los escáneres.

## 3.- Capacidad de exportación y flexibilidad del software y del tipo de ficheros digitales.

En la actualidad no existe un sistema normalizado en la generación de ficheros digitales de preparaciones microscópicas. Coexisten múltiples tipos de ficheros dependiendo del fabricante del escáner. Aunque la iniciativa DICOM trabaja para intentar avances en cuanto a normalización en el almacenamiento, de momento ningún fabricante ofrece una solución basada en DICOM. Es por ello importante valorar a la hora de implantar un sistema de patología digital el tipo de ficheros que se utilizarán. Algunos fabricantes emplean ficheros propios incompatibles con otros sistemas y con dificultades para su exportación a ficheros más estandarizados. Resulta útil disponer de un sistema de ficheros que pueda exportarse a alguno de los formatos digitales más empleados (JPEG2000, TIFF). Por otra parte la posibilidad de exportar nuestras preparaciones digitales a un sistema convencional facilita enormemente su utilización en entornos web y el empleo de alternativas de software abierto o gratuito [12-16].

## III. TRAZABILIDAD Y PATOLOGÍA DIGITAL

La Organización Internacional para la Estandarización (ISO) define la trazabilidad como "la capacidad para seguir la historia, la aplicación o la localización de todo aquello que este bajo consideración" [17].

En anatomía patológica, al hablar de trazabilidad, nos referimos a la capacidad de conocer la ubicación y estado de una muestra y sus derivados dentro del flujo de trabajo de todo el servicio.

Cuando nos enfocamos en la patología digital, al igual que en el resto de los procesos por los que pasa una muestra, debemos ser capaces de saber en qué momento la muestra ha llegado al/los proceso/s de digitalización y cuál fue el resultado del mismo.

En el caso de la digitalización de la imagen macroscópica, este proceso puede realizar mediante la lectura del código de barras o bidimensional que posee el recipiente en el que viene la muestra y luego, una vez tomada la imagen se deberá confirmar al sistema de trazabilidad si el proceso se ha realizado correctamente o si ha habido algún error.

Luego, en el momento de digitalizar la imagen microscópica se deberán cumplir los mismos pasos, es decir, la lectura del código de barras o bidimensional presente en el portaobjetos y la confirmación del resultado del proceso.

Si solo estamos digitalizando un número reducido de preparaciones o laminillas y/o imágenes macroscópicas, este proceso puede realizarse de forma manual leyendo el código a la hora de recibir la muestra en

la estación de fotos macro o digitalización de preparaciones y luego validando la correcta culminación del proceso en el SIAP o sistema de trazabilidad que estemos utilizando.

Si el número de preparaciones que se digitalizan al día es muy elevado, este proceso puede automatizarse mediante la integración del sistema de gestión de imágenes y el SIAP. De esta forma, al finalizar el proceso de digitalización ya sea de imágenes macro o micro, el sistema de gestión de imágenes informará al SIAP del resultado de dicho proceso y la ubicación de la imagen digital creada.

## TRAZABILIDAD Y FLUJO DE TRABAJO

La digitalización integral de un servicio de anatomía patológica implica la integración del sistema de digitalización en el SIAP y el establecimiento de un sistema de trazabilidad. Esto permite una mejor utilización de los recursos y un mayor control de las muestras y las preparaciones.

Para ello, es necesario establecer un flujo de trabajo que empieza con la llegada de la muestra. En el momento de la entrada al servicio de anatomía patológica, la muestra se registra en el SIAP y se imprimen etiquetas con un código uni- o bidimensional del bote que contiene el tejido y a su vez de la hoja de petición de estudio anatomopatológico correspondiente. Mediante este código asignado a cada muestra podremos saber en todo momento dónde se encuentra y en qué fase de procesamiento o diagnóstico está dicha muestra.

La muestra de tejido, correctamente etiquetada en el envase, se lleva de la recepción a la sala de tallado. En el caso de tratarse de una pieza quirúrgica con una macroscopía de interés, se realiza una fotografía macroscópica. La integración del sistema de digitalización macroscópica al sistema de trazabilidad nos permite integrar la foto macroscópica al SIAP automáticamente. Para ello, la cámara lleva asociado un software para marcado de la muestra y un lector de código de barras (el cual puede estar integrado o no dentro del sistema de macrofotografía) de forma que, al realizar la foto, se lee el código uni- o bidimensional con el lector y la foto queda registrada automáticamente en el SIAP.

Seguidamente, la muestra será procesada en la sala de tallado. Después de realizar la disección macroscópica, la muestra es depositada en un casete previamente identificado con el código bidimensional (los códigos de barras unidimensionales no son recomendables dado el pequeño tamaño de la superficie imprimible). Cada casete se valida en el SIAP al pasar el código correspondiente por la estación de lectura o verificación de casetes, en la cual es recomendable añadir un paso de verificación que consisten en leer primero el código uni- o bidimensional del envase con la muestra y posteriormente leer los códigos de los casetes, para comprobar que pertenecen a la misma muestra (punto de control 1). Posteriormente, los casetes se procesan y se procede a la estación de parafinado de la muestra (en la cual debe existir un punto de verificación, punto de control 2) y posteriormente, realizar los cortes en la estación de microtomía (que también debe incluir otro punto de verificación, punto de control 3).

A continuación, se lleva a cabo el proceso de tinción de las preparaciones histológicas. Si el teñidor automático está integrado con el SIAP, éste recibe automáticamente la información sobre la tinción, e incluso el montaje, realizados (punto de control 4). Una vez teñidas, las muestras se cargan en el escáner digital que escanea cada uno de los cortes y los registra automáticamente en el SIAP (punto de control 5).

El patólogo tiene acceso a la muestra desde cualquier lugar con conexión a la red de comunicaciones y los permisos correspondientes para entrar en el sistema. En el SIAP, podremos ver un listado con todos los casos que tenemos realizada la macroscopía (punto de control 1), procesados (punto de control 2), con microtomía realizada (punto de control 2), teñidos (punto de control 4) y escaneados (punto de control 5).

En la pantalla de trabajo, tras entrar en el caso a estudiar, existe un enlace mediante el cual se accede directamente a las imágenes escaneadas, mediante la conexión con el visualizador de imágenes.

Las imágenes escaneadas quedan almacenadas digitalmente para poder consultarse en revisiones posteriores y para su utilización en la docencia y/o investigación. En caso que no se disponga de espacio de almacenamiento suficiente, cada servicio puede decidir cuáles serán los escaneados que quiere conservar y cuáles se pueden eliminar (ver "Evaluación de riesgos y aspectos éticos. Normativa").

#### IV. PATOLOGÍA DIGITAL EN EL DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DE RUTINA

##### EVIDENCIAS EXISTENTES SOBRE LA FIABILIDAD DEL DIAGNÓSTICO DIGITAL EN PATOLOGÍA

La implementación de la microscopía basada en el escaneado completo de preparaciones (WSI) en el diagnóstico rutinario ha sido cuestionada por algunos autores debido a que consideran como limitadas las evidencias sobre su fiabilidad diagnóstica. El principal problema aducido es el número relativamente escaso de publicaciones que demuestren su utilidad. Otro problema añadido de las publicaciones sobre WSI es que muchos de los estudios presentan algunas deficiencias en su diseño, como estar limitados a muestras o especialidades concretas, no incluir un periodo suficientemente largo de separación entre la visualización de preparaciones con WSI y con microscopía convencional (MC) o no evaluar la concordancia intraobservador.

Recientemente, la *American Telemedicine Association* y el *College of American Pathologists* han realizado una revisión de los 112 artículos publicados en los que se ha utilizado una metodología adecuada, entre 767 publicaciones totales existentes sobre el tema [18,19]. En dicha revisión se ha puesto de manifiesto que el nivel de concordancia en los distintos estudios varía entre el 73% y el 98%, y que las discrepancias mayores representan entre el 3% y el 7%. Estas variaciones dependen en gran parte de las características del estudio y, de forma particular, de si la concordancia medida es intra- o interobservador [20]. La revisión concluye que la concordancia entre WSI y MC, aunque no es del 100%, es adecuada. De hecho, numerosos estudios han demostrado que la concordancia intraobservador cuando se emplea solo la MC tampoco es completa y depende de factores como la dificultad del caso o la información clínica disponible.

##### RECOMENDACIONES PARA LA VALIDACIÓN DE LA MICROSCOPÍA VIRTUAL

De acuerdo con los resultados de esta revisión, la *American Telemedicine Association* y el *College of American Pathologists* han publicado unas guías sobre los requisitos necesarios para una correcta implementación de la WSI. En ellas se establece una clasificación de pruebas científicas (grado A si son óptimas; grado B son pruebas científicas buenas; grado C sin los resultados no son concluyentes; y opinión de expertos, como grado de certeza más bajo) y concluyen como recomendación principal que debe realizarse una validación interna en cada centro en el que se vaya a introducirse la WSI en el diagnóstico rutinario, aunque reconocen que esta recomendación no se basa en pruebas científicas sino en la opinión del grupo de expertos que elaboran estas guías [18,19]. El objetivo de esta validación es demostrar que la WSI es igual de efectiva para el diagnóstico de rutina que la MC [2,20,21]. Las recomendaciones de estas guías para la validación interna de la WSI son las siguientes [18,19]:

- La validación debería simular la práctica real del centro y abarcar el número suficiente de casos de cada tipo (intraoperatorias, preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina, inmunohistoquímica) para que pueda considerarse un adecuado reflejo del espectro y la complejidad de las muestras y diagnósticos que se llevan a cabo en el centro (grado A de pruebas científicas). Sin embargo, no es necesario incluir todos los órganos ni especialidades, pues los resultados pueden extrapolarse a especialidades y muestras con características similares, con excepción de algunas como la dermatopatología, la hematopatología y la citología. En algunos estudios sugieren que son necesarios un mínimo de 60 casos de cada tipo de muestras (con 60 casos se alcanza una precisión aproximada del 90% y una concordancia del 95%, y con 200 casos una precisión del 100% y una concordancia del 91%).
- Debería medirse la concordancia intraobservador (grado C de pruebas científicas) con un periodo de separación o "limpieza" entre las evaluaciones con WSI y MC de al menos dos semanas (grado B de pruebas científicas).
- El orden de evaluación de la MC y la WSI puede ser aleatorio, puesto que no parece influir en el resultado final (grado A de pruebas científicas).
- La validación debería abarcar todos los componentes del sistema implicados en la WSI. No es necesario evaluar cada componente por separado (grado B de pruebas científicas). En caso de que se realice alguna variación importante en un componente sería necesario volver a evaluar todo el sistema en conjunto (opinión de expertos).

- Es preciso comprobar que todas las preparaciones han sido correctamente digitalizadas y que la totalidad del material de éstas se encuentra en la imagen generada (opinión de expertos). La mayoría de los sistemas actuales permiten comprobarlo directamente, al incluir una imagen en miniatura de cada preparación
- Se debería comprobar que las imágenes enviadas por el escáner son iguales a las recibidas por el patólogo, presentando especial atención si han sido comprimidas empleando sistemas de compresión irreversible. Del mismo modo que para el caso anterior, la mayoría de los sistemas actuales permiten comprobarlo
- Se recomienda que un patólogo entrenado en el uso de la WSI esté involucrado en el proceso (grado B de pruebas científicas).
- La validación debería incluir a todo el personal involucrado en la digitalización (facultativos, personal técnico y de gestión)
- La validación debería de llevarse a cabo según los estándares más actualizados, incluyendo los métodos, medidas y evaluaciones del sistema
- El documento generado de la validación interna debería ser conservado por si es necesario efectuar comprobaciones con posterioridad (opinión de expertos)

No obstante, es preciso reseñar que estas recomendaciones son ideales pero muy difíciles de llevar a cabo en la práctica diaria. Pueden resultar poco realistas en muchos centros, dada la necesidad de dedicar para su puesta en práctica una gran cantidad de recursos y de tiempo. Teniendo en cuenta que existen suficientes evidencias en la literatura que demuestran que el diagnóstico con WSI es comparable al de la MC, se considera como correcto realizar validaciones menos estrictas e incluso, podría considerarse la adopción de un sistema de patología digital previamente validado por otros centros, sin necesidad de validación *in situ*. Si es conveniente tener en cuenta la necesidad de un periodo de adaptación de cada patólogo a la visualización y diagnóstico de las imágenes histológicas en un monitor de ordenador. Puede resultar prudente en este sentido mantener durante un periodo de tiempo activa la MC con el objeto de permitir la reevaluación de los casos con dudas. De hecho, la introducción de la WSI no va a representar con absoluta certeza la sustitución total de los microscopios convencionales.

#### RECOMENDACIONES PRÁCTICAS PARA EL ESCANEADO EN EL DIAGNÓSTICO DIGITAL DE RUTINA

En la mayoría de las patologías el escaneado con un objetivo de 20x parece ser suficiente para un diagnóstico correcto, aunque algunos casos o algunas preparaciones específicas dentro de un caso puedan requerir un escaneado a 40x para una mayor precisión de la imagen [1,22,23]. Es posible que algunas patologías como la biopsia renal o hepática o la identificación de microorganismos precisen un escaneado rutinario a mayor aumento (40x). Es importante identificar las patologías, casos o preparaciones que requieren una mayor resolución para evitar escaneados innecesarios a gran aumento dado que pueden cuadruplicar el tamaño del archivo resultante generando importantes problemas de espacio de disco para su almacenamiento.

La introducción de la WSI en el diagnóstico de rutina de un Servicio de Anatomía Patológica implica la adquisición de hábitos digitales por parte de los patólogos y los técnicos. Por ello, cualquier avería del escáner conlleva importantes disfunciones en el servicio. Aunque los escáneres modernos son herramientas robustas y fiables presentan, como cualquier instrumento, averías de forma ocasional. Por ello, se considera recomendable que los servicios que se planteen la digitalización dispongan de un plan de contingencia que especifique qué debe hacerse en caso de fallo del sistema. Para ello, es recomendable disponer al menos de dos escáneres. Ello permite continuar con la actividad en el caso de que se produzcan problemas técnicos con uno de los aparatos.

La digitalización de un servicio de anatomía patológica implica el escaneado de un gran número de preparaciones. Es fundamental elaborar protocolos que identifiquen los casos urgentes para priorizar su digitalización y poder disponer de la imagen histológica en pocos minutos, evitando en la medida de lo posible las distorsiones resultantes de buscar dentro del escáner preparaciones que precisan evaluación urgente.

Es imprescindible la involucración del personal técnico (TEAP) en el proceso de la digitalización. Ello que conlleva la necesidad de un aprendizaje y genera un aumento moderado de la carga asistencial [2,18,19]. Es necesario tener en cuenta estos aspectos a la hora de gestionar el volumen de trabajo del personal técnico y el tiempo dedicado a las distintas tareas. Un representante de los técnicos debería de estar involucrado en el control de calidad de la WSI.

La digitalización de preparaciones de material congelado para el diagnóstico peroperatorio requiere un personal técnico y facultativo muy entrenado en el uso de la WSI para disminuir el tiempo al mínimo. Los estudios disponibles revelan que la precisión en el diagnóstico es la misma que con las muestras parafinadas (sólo un 0,3% de los casos requirieron mirar la preparación de cristal) y el tiempo total requerido varía entre 14 y 20 minutos [20,24,25].

Existen algunas limitaciones de las imágenes digitalizadas, como la imposibilidad de poder ajustar el enfoque sobre distintos planos de la preparación. Esta característica dificulta el diagnóstico con WSI en ciertas especialidades como la citología, por lo que no es del todo recomendable plantear por el momento un proyecto de digitalización de todas las citologías [19], aunque es previsible que pronto dispongamos de una tecnología más adecuada.

Las preparaciones tienen que cumplir unas características de calidad rigurosas para poder ser escaneadas, lo cual permite, de forma indirecta, realizar un control de calidad de las propias preparaciones histológicas [19].

Una vez la WSI ya es utilizada en el diagnóstico de rutina es necesaria la realización de un control de calidad sistemático, que incluya tanto los casos primarios como los de consulta diagnóstica [18,19]. A continuación se detallan las recomendaciones disponibles en las guías sobre el control de calidad:

- Es necesaria la creación de un comité para supervisar el proceso de control de calidad. Éste tiene que estar compuesto por representantes de los facultativos, del personal técnico y de la dirección del servicio.
- Tiene que llevarse a cabo una revisión de forma regular de los cambios en la política sobre el uso de WSI que puedan resultar relevantes
- La documentación sobre el uso del software y hardware, y sobre los procedimientos necesarios para llevar a cabo el diagnóstico empleando WSI deberían de estar escritos
- Debería de articularse un mecanismo para la detección y la resolución de problemas
- Es necesario documentar parámetros de importancia como el tiempo y la concordancia en el diagnóstico de congelados, el porcentaje de casos que requieren una revisión de la preparación de cristal y las razones, y el porcentaje de reescaneados necesarios
- Deberían de ser revisados un 10% de los casos de consultas y diagnósticos primarios, empleando WSI y MC.
- Al igual que ocurre con la validación de la WSI, las recomendaciones de las guías sobre el control de calidad son muy estrictas. Para muchos centros, puntos como la revisión de un 10% de los casos pueden suponer un gasto de tiempo y de recursos excesivo. De hecho, se recomienda la revisión de este mismo porcentaje de preparaciones convencionales para el control de calidad del diagnóstico, pero la aplicación en la práctica de estas recomendaciones es muy baja.

## COMITÉ DE TUMORES Y PATOLOGÍA DIGITAL

La patología digital permite compartir imágenes entre distintos facultativos que se encuentran en el mismo o en distintos lugares, requiriendo tan sólo un ordenador y una pantalla. Esta característica resulta muy útil en la realización de comités multidisciplinarios, disminuyendo las barreras entre las distintas especialidades y facilitando la interacción entre patólogos y clínicos [1,19,20]. Otro beneficio de esta tecnología es que disminuye la necesidad de desplazar preparaciones y microscopio, con la subsecuente disminución del riesgo de ruptura o pérdida de las preparaciones, o de posibles daños sobre el microscopio.

Los estudios revelan un impacto positivo sobre el uso de la WSI en la preparación de los casos que se presentan en los comités de tumores, disminuyendo el tiempo entre 30 minutos y una hora semanal (se reducen aproximadamente al 50%). Esto es debido a que no es necesario realizar fotografías previas de los

casos, pues se pueden visualizar en tiempo real y con gran calidad. Además se dispone de la totalidad del material y se pueden hacer anotaciones y mediciones sobre las imágenes [1].

### **PATOLOGÍA DIGITAL EN CONSULTAS (SEGUNDA OPINIÓN ENTRE PATÓLOGOS)**

Una de las aplicaciones más atractivas de la patología digital es el acceso inmediato a segundas opiniones. La aplicación al diagnóstico de la tecnología de preparaciones digitales ya ha demostrado su eficacia en diagnóstico primario [26], en programas de calidad [27] y en interpretación de la expresión de biomarcadores [28].

La teleconsulta mediante preparaciones digitales facilita el acceso a segundas opiniones porque evita la necesidad de transporte de preparaciones. Esta facilidad tiene un doble impacto en la calidad de la asistencia. El más directo es la posibilidad de acceso de cualquier paciente, con independencia de su ubicación geográfica, a la opinión diagnóstica del especialista más cualificado para un caso concreto. En ocasiones, es el paciente quien se traslada de área geográfica para recibir un tratamiento que no está disponible en el centro sanitario de su localidad. En estas circunstancias es frecuente que el centro receptor requiera la evaluación del material en su servicio de patología. Algunos autores han estudiado la frecuencia de discordancias entre el diagnóstico original y el realizado en el centro de referencia [29].

De forma indirecta, pero no con menor importancia, la teleconsulta digital incide también en la calidad de la asistencia al mejorar la formación del patólogo general que tiene la posibilidad de contar con la opinión del experto y comentar los casos que se apartan significativamente de la rutina. La consulta mediante preparaciones digitales tiene además el valor añadido de mejora en la eficiencia no solo por la reducción de costes y tiempo en los envíos. La mejora de la calidad del diagnóstico y de la formación del patólogo general, derivada de la mayor facilidad en la consulta implica un mejor uso de las técnicas complementarias, reduciendo su número y en consecuencia reduciendo costes. Además, al evitar el transporte de material se mejora la seguridad previniendo pérdidas por extravío o rotura de preparaciones [30].

### **Recomendaciones para un sistema de segunda opinión en patología digital:**

El flujo de información de un sistema de teleconsulta en patología debe ser bidireccional. Para su adecuado funcionamiento se recomiendan las siguientes condiciones:

1. Acceso seguro. La teleconsulta mediante preparaciones digitales implica, si el consultor se encuentra fuera de la red institucional del centro que genera la consulta, el acceso seguro al caso y por tanto la posibilidad de que el consultor y solamente el consultor, pueda examinar el caso completo (todas las preparaciones e información clínica relevante), preservando la seguridad de la base de datos. Ante la instalación de un sistema de patología digital el hospital debe planificar entre sus funcionalidades la teleconsulta y habilitar la posibilidad de acceder a los casos que se someten a consulta. Paradójicamente algunos hospitales tienen un buen sistema de patología digital pero las limitaciones de acceso a la red del hospital impiden por completo las consultas. El uso de un acceso tipo red privada virtual (VPN) podría servir, aunque puede resultar un tanto complejo para algunos usuarios. Tiene ventajas en cuanto a seguridad, pero como alternativa el poder disponer de un servidor web tradicional donde pueden moverse los casos de consulta, simplifica enormemente el acceso y su flexibilidad. También es posible habilitar protección con contraseñas en los servidores web.

2. Anotaciones. El sistema debería permitir la inserción de anotaciones en las preparaciones digitales, así como el uso de herramientas de análisis de imagen digital como medio de mejora de la formación de los profesionales que desarrollan su labor en centros generalistas.

3. Registro de informe de segunda opinión. Idealmente, el sistema debería facilitar la inserción de un informe de segunda opinión firmado, ligado al registro del paciente.

### **IMÁGENES MOLECULARES: DIGITALIZACIÓN DE MUESTRAS DE FISH**

Las muestras teñidas con la técnica FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*) constituyen uno de los casos más específicos y complejos a la hora de digitalizar. Esto se debe principalmente a que se trata de casos de fluorescencia de generalmente 3 o más canales y donde las señales que se desean captar son muy pequeñas

tanto en intensidad como en tamaño. A esto se añade la gran diversidad de sondas de los distintos fabricantes que utilizan diferentes técnicas de marcado en fluorescencia.

Estas características condicionan la tecnología que deberemos utilizar para lograr una imagen con calidad diagnóstica. Las principales características que debe tener el equipo de digitalización son: disponer de un objetivo de al menos 40x (o resolución espacial de al menos 0,25 micras por píxel), disponer de una fuente de iluminación con la potencia y especificidad en longitud de onda de excitación necesarias, disponer de una cámara de bajo ruido y alta eficiencia cuántica y por último es necesario tener la posibilidad de escanear en modo "Z-Stack", es decir, tener la posibilidad de navegar por distintos planos focales en la imagen digital.

Por otro lado, son estas características las que hacen que el proceso de digitalización de este tipo de muestras sea un procedimiento que no puede automatizarse y que requerirá la interacción de un usuario experto ya que a la hora de escanear, deberán ajustarse manualmente los tiempos de exposición y ganancia digital de cada canal y el modo "Z-Stack" deberá ajustarse al espesor de corte de la muestra.

Una vez obtenida la imagen digital, generalmente será necesario realizar algunos ajustes en los parámetros de brillo, contraste y saturación de los distintos canales para lograr resaltar la fluorescencia específica de la de fondo.

## **V. ANÁLISIS AUTOMATIZADO DE IMAGEN FRENTE A CUANTIFICACIÓN MANUAL EN BIOMARCADORES ONCOLÓGICOS**

Uno de los principales retos que se nos presenta en la patología del siglo XXI es la patología del cáncer; el diagnóstico, el pronóstico mediante la determinación de biomarcadores y la consecuente terapia oncológica dirigida en el seno de la medicina personalizada requieren procesos que a cada paso generan más información, que a cada paso requieren más precisión. Esta calidad en el manejo diagnóstico, pronóstico y terapéutico de los enfermos de cáncer solo se puede asegurar, a nuestro entender, mediante un proceso que tenga la patología digital como elemento básico para su funcionamiento, mediante el análisis automatizado de biomarcadores [31].

El análisis automatizado de imagen se enfrenta con la limitación técnica impuesta por la fijación de los tejidos, las variaciones en el grosor de los cortes o las variaciones impuestas por los métodos de tinción.

Los aspectos técnicos específicos a tener en cuenta para realizar análisis de imagen óptimo están relacionados con la calidad de la imagen obtenida, con el grado de compresión que se aplique a la imagen, con la eficiencia del software de análisis de imagen y con las funcionalidades del visor de preparaciones o fotografías digitales, que debe ser capaz de ofrecer un resultado intuitivo, por ejemplo superponiendo los resultados del análisis con la imagen original.

En esta sección nos centraremos en la ventaja del análisis de imagen automatizado frente a la cuantificación manual, especialmente en el cáncer de mama, finalizando con unas recomendaciones prácticas, que nos servirán de guía en la patología digital oncológica del futuro cercano.

## **INMUNOHISTOQUÍMICA**

El proceso diagnóstico realizado por el patólogo se apoya en los datos clínicos del paciente, en los resultados de la imagen radiológica, en la morfología y en varias técnicas auxiliares, entre las cuales la inmunohistoquímica (IHQ) es la más importante. En los últimos 20 años se ha producido un incremento del 300% en los estudios basados en la IHQ [32].

La cuantificación de la inmunotinción es un proceso cada vez más usado en patología (ver sección "El paradigma"). La cuantificación manual de la tinción inmunohistoquímica de biomarcadores en tejidos es laboriosa y subjetiva, tendente a la variabilidad intra- e interobservador. Para minimizar esta variabilidad, nada mejor que el análisis automatizado de imagen virtual, que nos permite cuantificar la intensidad y extensión de la tinción. En los últimos años se han desarrollado numerosos algoritmos para el análisis automatizado de la imagen digital de varios marcadores inmunohistoquímicos, más rápidos, más objetivos

y más sensibles en la medición de la expresión proteica en los distintos tejidos [33-35]. Para impedir que determinadas variables no biológicas, derivadas de la imagen virtual o de la propia extracción de datos de la misma, sesguen los resultados, se ha avanzado en la estricta normalización del proceso en su conjunto [33,35-36].

La mayoría de los algoritmos para el análisis automatizado de imagen están diseñados para sistemas basados en preparaciones digitales. Los algoritmos diseñados para IHQ se pueden clasificar en esos grupos: nuclear, membrana, citoplasmático. Existe gran variedad de programas diseñados específicamente para el análisis cuantitativo de imagen en IHQ: ACIS, AQUA, Ariol SL-50, BLISS and IHC score, iVision and GenoMx, LSC Laser Scanning Cytometer, ScanScope, SlidePath's Tissue Image Analysis y Virtuoso son solo algunos ejemplos [34,37]. Algunos de ellos se presentan en forma de plataformas cerradas, de manera que el software de imagen solo se puede aplicar de manera reproducible en las preparaciones digitales generadas por los escáneres de la misma compañía. Algunos de estos sistemas tienen opciones adicionales para el análisis de técnicas de hibridación FISH o CISH (*Chromogenic In Situ Hybridization*). Lo que es más importante, varias de estas aplicaciones comerciales para el análisis automatizado de IHQ han demostrado unos resultados más reproducibles y uniformes que la evaluación manual y han recibido la aprobación para su uso diagnóstico por la FDA (US Food and Drug Administration).

### TERAPIA DIRIGIDA PERSONALIZADA

La medicina personalizada es el intento de tratar a cada paciente como individuo. Recientemente, las terapias dirigidas contra una variedad de tumores malignos han mostrado tasas de respuesta significativas clínicamente, de manera que en oncología han desarrollado estrategias terapéuticas basadas en el individuo para estos pacientes. A gran escala, se ha demostrado que estas aproximaciones terapéuticas se asocian a un mejor comportamiento clínico [38-41]. Un estudio racional para estas aproximaciones terapéuticas implica la identificación de una molécula o moléculas diana en el tumor del paciente. Las diferentes moléculas diana se determinan de manera rutinaria mediante IHQ en las muestras quirúrgicas de los diferentes tumores, lo que genera una cantidad creciente de datos importantes para la toma de decisiones terapéuticas basadas en información pronóstica relevante [41]. La identificación de los pacientes que son subsidiarios de recibir un tratamiento personalizado óptimo demanda unos ensayos adecuados de alta calidad para la determinación de biomarcadores. De los aproximadamente 290 genes supresores de tumores y los 35 oncogenes que conocemos, solo hay 5 genes con tratamiento dirigido bien documentado en la actualidad: HER-2, EGFR, KRAS, BRAF y APC.

LA IHQ es la estrategia de cribado en la evaluación de la mayoría de los biomarcadores en la mayoría de los servicios de anatomía patológica. Cada laboratorio usa sus propios protocolos, con diferentes reactivos, diferentes procesos y características de tinción, distintos esquemas de puntaje y diferentes puntos de corte para cada biomarcador a valorar. Sin embargo, la reproducibilidad de la técnica (en todos sus niveles) es fundamental para la consistencia del algoritmo diagnóstico y terapéutico. Por esta razón, es recomendable el uso de kits de IHQ aprobados por la FDA y seguir las instrucciones especificadas en los mismos [39,42-44]. En este sentido, es relevante que se hayan realizado guías de actuación en la validación del propio uso de la preparación digital, lo que aportaría aún más calidad en la reproducibilidad de la técnica, en el proceso de la medicina personalizada [18,45].

### EL PARADIGMA: RECEPTORES DE ESTRÓGENOS Y PROGESTERONA, KI67 Y HER-2 EN EL CÁNCER DE MAMA.

En Europa, el tratamiento personalizado del cáncer de mama precoz viene guiado, en gran parte, por las recomendaciones del consenso bianual de expertos de St. Gallen [46]. En el último consenso del año 2013, se pone de manifiesto la necesidad de maximizar la calidad de las determinaciones de los distintos biomarcadores que nos definirán, de manera subrogada a la IHQ, los distintos subtipos intrínsecos del cáncer de mama (tabla 1).

**Tabla 1.** Clasificación molecular subrogada a IHQ de cáncer de mama.

	RE	RP	Ki67	Her2
Luminal A like	Positivo	≥20%	<14%	Negativo
Luminal B like-Her2 negativo	Positivo	<20%	≥14%	Negativo
Luminal B like-Her2 positivo	Positivo	Indiferente	Indiferente (alto)	Positivo
Her2 no luminal	Negativo	Negativo	Indiferente (alto)	Positivo
Triple negativo	Negativo	Negativo	Indiferente (alto)	Negativo

### Receptores de estrógenos y progesterona

La IHQ está aceptada como el método de evaluación estándar para la determinación de la expresión de los receptores de estrógenos (RE) y progesterona (RP). La definición de los distintos subtipos de cáncer de mama esta subrogada a los niveles de expresión de receptores de progesterona, con un punto de corte del 20%. Además, existe una relación estadísticamente significativa entre el nivel de expresión de estos receptores (tanto en intensidad como en extensión) con el grado de respuesta a quimioterapia hormonal (receptores como factor predictivo de respuesta a quimioterapia). Estos hechos son los que hacen imprescindible una buena estandarización de los test de IHQ y hacen recomendable el uso de la cuantificación automatizada de los niveles de expresión de receptores hormonales [46]. La valoración automatizada consigue una mejora en la cuantificación y la normalización. Varios grupos han publicado datos sobre la valoración automatizada de los RE y RP en cáncer de mama [47-50], con una excelente correlación con el análisis manual, además de la rapidez y la objetividad a la hora de graduar núcleos teñidos. Solo alguno de estos algoritmos de análisis de imagen nuclear por IHQ cuentan con la aprobación de la FDA.

### Ki-67

Posiblemente, este es el biomarcador más estudiado en patología oncológica. Al establecerse un punto de corte del 14% en el cáncer de mama, el análisis automatizado mejora la reproducibilidad de la valoración [51], así como la clasificación de los tumores en las distintas categorías (luminal A frente a luminal B), aunque pueda ser necesaria una doble tinción con citoqueratina que permita no confundir células epiteliales con estromales o ruido de fondo [52,53].

### HER-2

Dado el poder pronóstico y predictivo de este biomarcador, es absolutamente necesario asegurar la validez de su determinación, que permita un tratamiento específico y eficaz con anticuerpos monoclonales como trastuzumab.

La Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) y el Colegio de Patólogos Americanos (CAP) editan una guía con las recomendaciones para los laboratorios para la evaluación de la expresión de HER-2 [54]. Se han desarrollado varios algoritmos para la determinación semiautomática o automática de la expresión de esta proteína [47,55] con una reproducibilidad contrastada [56]. Esta mejora en la precisión nos parece especialmente importante a la hora de determinar si la expresión de HER2 es 3+, ya que el paciente sería subsidiario de tratamiento, o bien de 2+, que implicaría hacer otra determinación diagnóstica (por FISH o CISH) con el consiguiente retardo en el diagnóstico y aumento en el coste [57]. La última guía ASCO/CAP recomienda el uso de sistemas de análisis automático de imagen validados por la FDA cuando estén disponibles en el servicio de anatomía patológica en cuestión.

### CONSEJOS PRÁCTICOS

Todos los programas comerciales de análisis automatizado de imagen de biomarcadores de mama, (receptores hormonales, HER2, p53, Ki67), se basan en algoritmos similares dirigidos a la cuantificación por-

centual de señales (expresión positiva), nuclear o de membrana, puestas de manifiesto mediante técnica de inmunohistoquímica, frente a la falta de expresión de las mismas, en una zona determinada del tumor, de igual forma que realizamos en la cuantificación manual.

Dichos algoritmos están diseñados, para poder detectar pequeñas intensidades de tinción a partir de una zona umbral (fondo) que es considerada como negativa, otro parámetro que tienen en cuenta, para evitar cuantificación de señales no deseadas es el tamaño de la señal la cual es considerada como positiva o negativa, a partir de una determinada área.

Hay disponibles sistemas gratuitos y muy sencillos de usar [58,59] que requieren sin embargo, un periodo de adaptación y optimización para ser utilizados de manera fiable en la práctica diaria. También la mayor parte de los fabricantes de escáneres y algunas empresas especializadas en este sector han desarrollado sistemas de análisis de imagen especialmente orientados a los casos anteriores o también a la valoración de TMA (tissue microarrays), hibridación in situ o metodologías de fluorescencia. Estos sistemas comerciales son bastante fiables ya que suelen someterse a estudios de validación y evaluación por agencias de control de calidad, que en esta área de la patología digital tienen especial importancia [60].

### Condiciones de escaneado

El escaneado de las preparaciones inmunohistoquímicas de los biomarcadores, es adecuado realizarlo con el objetivo de 20 x no siendo necesario escanear a 40 x, dado que para el análisis de la tinción IHQ, el escaneado a mayor aumento no aporta una mejor información al sistema de cuantificación y aumenta el tiempo de escaneado.

### Selección de la zona de estudio

La forma de selección de los elementos a estudiar es parecida en todos los programas y se basa en la utilización de herramientas informáticas simples para poder delimitar de manera fácil las zonas de cuantificación.

De igual forma que realizamos el análisis de los marcadores en el microscopio, debemos hacerlo en el monitor, utilizando un aumento que proporcione un campo de la preparación lo suficientemente amplio y a la vez que nos permita poder trabajar fácilmente para la delimitación de las áreas de cuantificación. En nuestra experiencia esto se consigue utilizando el aumento de 10 o 20 x.

Para seleccionar las áreas a estudiar, en primer lugar debemos observar si se trata de una tumoración con una expresión del marcador homogénea o heterogénea, en caso de ser homogénea y según el tamaño del área a analizar (componente infiltrante) debemos delimitar las zonas de cuantificación, mediante las diversas herramientas informáticas del programa destinadas a este fin, evitando al máximo las zonas de estroma y áreas no tumorales, para conseguir que el porcentaje de positividad frente al total de células estudiadas corresponda principalmente a las células tumorales. El número de campos a estudiar dependerá del tamaño de la lesión pero es aconsejable contar un total de unas 1.000- 2.000 células, cifras que se obtiene fácilmente con estos sistemas (aproximadamente dos - tres campos de cuantificación).

Cuando la lesión tumoral presenta una positividad heterogénea, debemos actuar de forma similar a la que realizamos en la cuantificación manual, en el caso de los receptores hormonales debemos seleccionar diversas zonas tumorales con distintos porcentajes de positividad e intensidades, para obtener una media de la expresión de toda la tumoración, en el análisis de HER2 delimitar y analizar las zonas infiltrantes del tumor, excluyendo las zonas in situ y cuantificar principalmente las zonas con mayor sobreexpresión de la proteína.

En el caso del Ki67, es mejor desde un punto biológico analizar los clones con mayor proliferación (zonas más mitóticamente activas) aunque puede también realizarse una selección de distintas áreas del tumor, lo que nos da una media del índice proliferativo de la tumoración.

### Verificación de los resultados

Los distintos programas editan los resultados de forma cualitativa, cuantitativa o gráfica y suelen indicar en el caso de marcadores nucleares, el número total de elementos contados (células), el número de señales positivas y negativas y su porcentaje. En el caso de HER2 (membrana) indican el número de elementos con-

tados y el recuento de tinción total, parcial o negativa de la membrana así como su intensidad, determinado con estos datos el score, según sus algoritmos, los cuales siguen normalmente las directrices de cuantificación que la ASCO/CAP determina. Una vez el sistema nos suministra el resultado, debemos verificar de forma visual si el mismo está de acuerdo con nuestra impresión diagnóstica; si esta difiere de manera evidente, buscar cual ha podido ser la causa y volver a la cuantificación, normalmente en nuestra experiencia es casi siempre una mala delimitación del campo a analizar.

### AVANCES EN EL ANÁLISIS AUTOMATIZADO DE BIOMARCADORES

Para ver la importancia que está adquiriendo el análisis de imagen y de la que seguramente tendrá en un futuro próximo, solo hace falta examinar las recomendaciones en la validación del sistema de patología digital en los servicios de anatomía patológica, ya mencionadas [18]. Un departamento que tenga un sistema de patología digital basado en preparaciones digitales cuenta con una gran ventaja a la hora de ser competitivo con respecto a otros, no solo en lo que a la determinación de biomarcadores en cáncer de mama respecta.

De la misma manera que el Ki67 es un factor pronóstico en el cáncer de mama, es importante también en otras neoplasias, como pueden ser los tumores neuroendocrinos el tumor del estroma gastrointestinal o el melanoma. Se están desarrollando algoritmos para el primer caso [61] que mejoran la concordancia interobservador y aumentan (de nuevo) la calidad del proceso [45]. O bien se pueden cuantificar otras proteínas, como el caso de las células inmunes en el cáncer de colon, de manera que se generasen nuevos sistemas de clasificación que mejorasen los ya existentes (como el TMN) [62].

En investigación es fundamental el uso de análisis de imagen automatizado. Una cuantificación automatizada de potenciales biomarcadores sobre una plataforma basada en TMA (tissue microarrays) aumentaría no solo la calidad [45,63] sino la precisión de los modelos pronósticos generados [64] y la velocidad con que estos pudieran tener salida al mercado en relación con futuros tratamientos dirigidos.

La medicina personalizada es más compleja, pero más racional y más efectiva: se dan tratamientos específicos a quien los necesita y no se le dan a quien no los necesita. Como hemos visto, la Patología, la Oncología y la Industria, mediante el análisis automatizado de imagen, podrían ir de la mano a la hora de determinar con la mayor calidad la expresión de los distintos biomarcadores, fundamento de la (competitiva) terapia dirigida.

## VI. COSTE EFECTIVIDAD DE PATOLOGÍA DIGITAL

El cambio a patología digital es aún más complejo que el vivido por radiología pues nuestras imágenes microscópicas son mucho más complejas que las imágenes radiológicas por su información de color y por su tamaño y, además, para justificar el cambio a digital, aunque en radiología se esgrime como argumento la disminución de costes al no tener que usar placas radiológicas, en anatomía patológica no podemos eliminar las preparaciones en vidrio ni la exposición a productos químicos peligrosos. Hoy día, el cambio al modelo digital debemos hacerlo añadiendo nuevos pasos al flujo de trabajo prediagnóstico, que son los que conlleva el escaneado de preparaciones (selección de preparaciones, limpieza, carga del alimentador automático, comprobación de resultados, reescaneado, descarga del alimentador de preparaciones y archivo de las preparaciones originales).

El presupuesto de un servicio de anatomía patológica apenas llega al 1% del total de un hospital. ¿Cómo es posible que un servicio con un presupuesto anual total de 500.000 euros pueda adquirir y mantener equipamiento que a menudo supera los 200.000 euros?

La clave puede estar en buscar aquellos aspectos de la implementación de la patología digital que a corto o medio plazo pueden ayudar a ahorrar costes en el sistema sanitario [65]

En general, los siguientes factores pueden ser considerados "facilitadores" de la adopción de patología digital [66]:

- Ahorro de costes
  - Evitamos tener que reemplazar microscopios convencionales
  - Los monitores y ordenadores tienen múltiples usos (además de patología digital)

- Rendimiento
  - El número de aplicaciones para preparaciones digitales crece continuamente
  - Ergonómicamente puede ser la única opción para que patólogos con problemas de salud puedan seguir trabajando como patólogos.
  - Mejorar la productividad. Reducir el tiempo que el patólogo dedica a buscar las preparaciones que coinciden con la hoja de solicitud de estudio anatomopatológico o buscarlas para preparar comités de tumores, estudios de investigación o para mostrárselas a los residentes. Se estima que actualmente el patólogo invierte un 15% de su tiempo en estas tareas [66].
  - Es posible centralizar la relación de algunas técnicas especiales.
  - Equilibrar más equitativamente las cargas de trabajo entre los patólogos.
  - Los casos más complejos pueden ser asignados directamente a patólogos especializados. Disminuir los tiempos de segunda opinión.
  - Realizar reuniones vía web (webinar) que eviten desplazamientos para alcanzar un consenso en el diagnóstico.
- Eficiencia en el flujo de trabajo
  - La integración con el SIAP evita errores de identificación de muestras y posible pérdida de datos
  - Tras un entrenamiento adecuado, la navegación por la preparación puede ser muy efectiva, comprobado que no se quedan áreas sin revisar.
  - Es posible ver múltiples preparaciones simultáneamente.
  - Facilitar el acceso a casos de referencia que sirven para comprobar diagnósticos de sospecha.
  - Las herramientas de ayuda al diagnóstico (detección de área sospechosa de tumor) y a la cuantificación de biomarcadores o de mitosis son algunas de las aplicaciones que mejoran la eficiencia y la calidad del diagnóstico.
  - Es más eficiente revisar las preparaciones digitales con residentes durante la validación de los casos, sobre todo cuando el patólogo tiene su cargo más de un residente. Los residentes pueden revisar posteriormente las anotaciones realizadas durante la validación.
- Mejor acceso a servicios de patología desde lugares con pocos recursos
  - Facilitar el acceso a expertos o servicios muy especializados a lugares remotos que no disponen de servicio de anatomía patológica.
  - Evitar los costes y los retrasos al utilizar servicios de mensajería para enviar preparaciones para diagnóstico primario o segunda opinión.
  - Evitar posibles pérdidas o daños en el transporte de preparaciones convencionales, que son muy frágiles.

Los costes reales de un sistema de patología digital incluyen, al menos los siguientes:

- Adquisición e instalación (escáner, base de datos ordenadores, monitores). 200.000 euros.
- Integración con SIAP. 20.000 euros.
- Formación de patólogos y técnicos especialistas de anatomía patológica (TEAP). 5.000 euros (unas 10 personas).
- Mantenimiento anual de todo el sistema en el servicio de anatomía patológica, incluyendo actualización de licencias o del software de análisis de imagen. 20.000 a 40.000 euros al año.
- Coste de recursos humanos para digitalizar, gestionar la información o manipular las preparaciones y su archivo [67]. 30.000 euros
- Mantenimiento anual de servidores en el servicio de informática. 10.000 euros al año (mantenimiento y licencias de bases de datos y servidores).
- **Almacenamiento anual de preparaciones digitales. 360.000 euros** (120.000 preparaciones escaneadas a 0,25 micras/píxel, cada una de 1 GB; unos 120 TB/año; asumiendo un coste de 3.000 euros/TB en un servicio de informática hospitalario).

Ho et al estimaron que los ahorros que se producen en mejoras de la productividad y organización gracias a la implantación de la patología digital son muy significativos (en torno a 12,4 millones de dó-

lares en 5 años para 20 hospitales), a los que habría que añadir el ahorro producido por las mejoras en el diagnóstico y tratamiento de algunos tipos de cáncer (unos 5,4 millones de dólares en esas mismas circunstancias), suponiendo que el 90% de las biopsias son diagnosticadas mediante preparaciones digitales [65].

En la práctica, la adquisición de los equipos de patología digital puede hacerse de diversas formas:

- Compra directa por algún proyecto de investigación
- Opción de “mejora” o de valor añadido en un concurso público de reactivos
- Se incluye como instrumental necesario en concurso público de reactivos
- Se indica un lote específico de patología digital en un concurso público que incluye otros lotes (generalmente, de reactivos)
- Concurso/contrato público para compra de equipos (4 o 5 años, con extensión de 2 años)
- Concurso/contrato público para provisión de servicios
- Proyecto nacional o regional

No es aconsejable adquirir un sistema de patología digital para uso asistencial si antes no existe un proyecto de digitalización en el que se contemple, al menos:

- La integración del sistema de patología digital con el sistema de información de anatomía patológica
- Los recursos humanos (p. ej TEAP) que podrán dedicarse a las labores de digitalización.
- La lectura automatizada de códigos de barras de preparaciones
- Capacidad de almacenamiento digital para los próximos 3 años

A la hora de elegir un modelo de escáner o de sistema de patología digital, deben valorarse, como mínimo:

- Una estimación del número de preparaciones que se van a escanear anualmente
- Número de patólogos que van a utilizar el sistema
- Qué criterios de calidad y de resolución son los que necesitamos, según los tipos de muestras o las técnicas utilizadas (una biopsia prostática o la detección de microorganismos pueden requerir resoluciones mayores)
- Si necesitamos aplicar algoritmos de análisis de imagen (TMA, biomarcadores)
- Contemplar la renovación tecnológica de los equipos y el software al cabo de 5 años.
- Contrato de mantenimiento
- Coste de la integración con otros sistemas (SIAP, PACS)

Es conveniente que además de la descripción del sistema de patología digital que necesitamos y su dimensionamiento, se acompañen del objetivo asistencial o de gestión perseguido, que puede ser la simplificación de procesos, el facilitar el acceso remoto a preparaciones digitales, la mejora en la seguridad y en la eficiencia, etc. Como ejemplo, podemos tomar el concurso público publicado por el NHS en Gales el 25 de septiembre de 2014 (T.0444 Digital Pathology Solution), en el que se describía:

- *Un concurso para la provisión de una solución de patología digital, en concreto un equipo completo de escáner de preparaciones digitales y estación de trabajo de patólogo (software), que puede integrarse con sistema de información del laboratorio marca XXXX, un sistema de gestión de preparaciones digitales y de archivo de imágenes, formación, mantenimiento y soporte técnico.*
- *Las ofertas serán enviadas a XXXX y el proveedor seleccionado firmará un contrato por 5 años, con opción a 2 años más. Se necesitan que hasta 12 patólogos puedan realizar sus informes usando preparaciones digitales, 8 en el hospital central de referencia y dos estaciones en cada uno de los lugares remotos [...].*
- *Los principales beneficios que pueden anticiparse serán la mejora en la eficiencia de los flujos de trabajo, dado lugar a una flexibilidad en los circuitos con una menor circulación de preparaciones físicas.*
- *El valor estimado total de la compra para toda la duración del contrato oscila entre 500.000 y 2.000.000 de libras esterlinas.*
- *El principal criterio de valoración será el precio, siempre que se cumplan los criterios expuestos en el contrato.*

## VII. EVALUACIÓN DE RIESGOS Y ASPECTOS ÉTICOS. NORMATIVA.

La Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) tiene que liderar los cambios que sean precisos en las normativas actuales sobre aspectos éticos y legales. En el momento actual no existe ninguna norma referida a la digitalización de preparaciones sobre las que se efectúa el diagnóstico anatomopatológico (DAP). Nuestro objetivo, como patólogos de la SEAP, debe ser garantizar a los ciudadanos que la normativa a este respecto es científicamente correcta y legalmente ajustada al derecho. Este tema será objeto de debate entre los patólogos, ya que se han detectado algunas discrepancias de base. El presente capítulo ha de entenderse como una base para el citado debate.

### SITUACIÓN LEGAL INTERNACIONAL

Al menos cuatro fabricantes de sistemas de patología digital disponen de marcado CE que autoriza el uso de los escáneres de preparaciones para el diagnóstico anatomopatológico primario de rutina en la Unión Europea. Conviene recordar que en la Unión Europea este marcado CE sólo indica que el fabricante cumple una serie de especificaciones técnicas. En EE.UU. la FDA ha clasificado los escáneres de preparaciones como dispositivos clase III, lo que obliga a los fabricantes a realizar estudios de validación clínica, actualmente en marcha, para poder usar estos dispositivos en diagnóstico primario.

Podemos concluir que es esencial que el sistema de patología digital disponga al menos del marcado CE para su uso en diagnóstico primario.

En EE.UU., la norma CLIA (Clinical Laboratory Improvements Act) requiere que todas las pruebas ("test") de laboratorio sean validadas; sin embargo, en el caso de una preparación digital que tienen una preparación teñida con hematoxilina-eosina no se sabe qué parte es la prueba que debe validarse, ya que ha pasado por varias fases [66].

En todos los países, a los patólogos les preocupa que la adopción de la patología digital enlentezca su trabajo y aumente la posibilidad de cometer errores. Además con necesarios estudios de ergonomía que estudien la fatiga visual que pueda producirse al utilizar monitores en vez de microscopios [66]. A pesar de ello, tal y como se ha expuesto anteriormente, las pruebas científicas actuales indican que el uso de las preparaciones digitales no afectan negativamente a la adecuada atención sanitaria de los pacientes ni la certeza de diagnóstico de cada patólogo [18,66].

### SITUACIÓN LEGAL ACTUAL EN ESPAÑA

Las normativas autonómicas así como el Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España de 2009 indican la obligatoriedad de mantener preparaciones y bloques de las biopsias durante 10 años [68-70]. La realidad es que en la práctica totalidad de los servicios de anatomía patológica de hospitales públicos (SAPHP) no se eliminan nunca ni bloques ni preparaciones, por su valor científico. Los datos del Libro Blanco indican un 85% de conservación eterna de bloques y una 75% de SAPHP que preservan *sine die* preparaciones [70]. Estas normas permiten la conservación de los informes en soporte informático del tipo que sea, no siendo precisa su conservación en papel impreso. Es destacable que éste último aspecto se refiere al informe como parte de la historia clínica y es el hospital el responsable de ésta conservación. Cualquier cambio de normativa tiene que respetar los derechos de los pacientes y mantener las normativas globales referidas a nuestra especialidad, que fueron revisadas ampliamente por A. Paños-Perez, ente las que cabe destacar la obligatoriedad de mantener al menos durante 30 años la trazabilidad de la información sobre el material biológico existente en los servicios de anatomía patológica debe tener trazabilidad [71].

### CASOS SUSCEPTIBLES DE DIGITALIZACIÓN

Todos los casos de biopsias pueden ser digitalizados, si bien las biopsias grandes, rutinarias y sin grandes dificultades de diagnóstico suponen un mayor beneficio sobre la gestión global. Iniciar el proceso de digitalización por las piezas quirúrgicas genera conocimiento, práctica y agilidad que posteriormente son necesarias en el proceso de adaptación a biopsias endoscópicas o punciones. Para limitar el riesgo de errores

en las primeras fases de la implementación, se aconseja la validación en cada centro, tal y como se discute en el apartado 4, de modo que se genera confianza en el grupo que inicia el DAP.

### **CONSIDERACIONES SOBRE LAS PREPARACIONES MICROSCÓPICAS**

Las preparaciones microscópicas en formato cristal para microscopía convencional (MC) pueden ser sustituidas por las imágenes digitales mediante el escaneado completo de preparaciones (WSI). Ésta aseveración es compartida parcialmente por los patólogos consultados. Datos obtenidos de un estudio realizado [72] indican que en la mayoría de los casos de diagnóstico rutinario (entre el 65% y el 80% de la práctica asistencial convencional dependiendo de las diferentes especialidades) es posible eliminar las preparaciones de forma inmediata tras su digitalización. Por ello, la SEAP debería definir unos criterios aceptables para la mayor parte de los patólogos. Una respuesta simple podría ser eliminar todas las preparaciones convencionales en las que exista un bloque de parafina con material residual adecuado [72].

### **CONSIDERACIONES SOBRE LAS IMÁGENES DIGITALES**

Cuando un SAPH se plantea el diagnóstico rutinario de su material y el número de preparaciones digitalizadas aumenta, debe tenerse en cuenta el gran consumo de espacio en disco que la conservación de las todas las imágenes va a representar. Es necesario plantear estrategias dirigidas a reducir las necesidades de archivo de imágenes como la compresión de archivos o la posibilidad de eliminar las imágenes digitales tras un período de tiempo para su posible revisión. Dicha eliminación podría realizarse tras un período de 12 meses durante los cuales las imágenes estarían disponibles para su revisión. Estas estrategias basadas en la eliminación pueden reducir, según un estudio presentado en USCAP 2015, más del 80% del espacio de disco [72]. Ello podría, por tanto, reducir hasta cinco veces la inversión en servidores destinados al almacenamiento de imágenes. Es preciso reseñar, como eje de la discusión, que la eliminación de archivos debería afectar solo a casos en los que existieran bloques de parafina con material suficiente, que garantizaran la posible revisión del caso y/o la realización, si se precisara, de técnicas ancilares. Es también necesario indicar que la naturaleza digital de los archivos y su obligado registro en los sistemas de información de los laboratorios deberían permitir realizar este proceso de borrado de forma automática y protocolizada según criterios bien establecidos. La SEAP debería tener un papel clave en la definición de estos criterios de preservación de preparaciones e imágenes.

### **CAMBIOS A DESARROLLAR POR GRUPOS DE TRABAJO SOBRE LAS NORMATIVAS LEGALES DE ARCHIVO DE PREPARACIONES DE MC Y DE IMÁGENES DE WSI**

Con el objeto de plantear las bases de un acuerdo sobre el cambio de normativa de archivo de preparaciones histológicas convencionales e imágenes digitales, y con la premisa de que simplificar es el mejor camino para que cualquier propuesta sea factible en la práctica diaria, se proponen las siguientes bases, estructuradas en cuatro aspectos clave:

1. Los cambios de normativa afectarán solamente a aquellos casos en los que se ha utilizado para diagnóstico únicamente la WSI.
2. Las imágenes con información diagnóstica o de pronóstico relevante, o bien las consideradas importantes por cuestiones docentes
3. Para utilizar la WSI como única herramienta de diagnóstico se requiere que exista un bloque de parafina con material residual suficiente que permita estudios adicionales en caso de que sea necesario.
4. Es necesario revisar las pruebas científicas y valorar si es necesario y si es posible adaptar la normativa legal existente para plantear la posibilidad de eliminar las preparaciones digitales, de cumplirse los criterios anteriores una vez se ha efectuado el diagnóstico y establecer en qué plazo puede llevarse a cabo esa eliminación.

### **COMENTARIO FINAL**

Se considera importante que los patólogos muestren una visión abierta y capacidad de adaptación, de forma semejante a la que tuvieron los radiólogos hace más de una década cuando iniciaron el cambio

que ahora llega a nosotros. Este cambio tecnológico debería aprovecharse para adaptar las normativas, lo cual permitiría minimizar los problemas actuales de archivo que tienen la mayor parte de los hospitales en España. Aunque es fácil continuar manteniendo todo para siempre, creemos que es preciso ser realistas y alcanzar un equilibrio adecuado entre el interés por el coleccionismo y las verdaderas necesidades médicas, científicas, jurídicas y de gestión de recursos.

### **Bibliografía**

1. 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;5:14.
2. Ordi J, Castillo P, Saco A, Del Pino M, Ordi O, Rodríguez-Carunchio L, Ramírez J. Validation of whole slide imaging in the primary diagnosis of gynaecological pathology in a University Hospital. *J Clin Pathol*. 2015 Jan;68(1):33-9.
3. Pantanowitz L, Wiley CA, Demetris A, Lesniak A, Ahmed I, Cable W, Contis L, Parwani AV. Experience with multimodality telepathology at the University of Pittsburgh Medical Center. *J Pathol Inform*. 2012;3:45
4. Park S, Parwani AV, Aller RD, Banach L, Becich MJ, Borkenfeld S, Carter AB, Friedman BA, Rojo MG, Georgiou A, Kayser G, Kayser K, Legg M, Naugler C, Sawai T, Weiner H, Winsten D, Pantanowitz L. The history of pathology informatics: A global perspective. *J Pathol Inform*. 2013 May 30;4:7.
5. FDA. Technical Performance Assessment of Digital Pathology Whole Slide Imaging Devices. Draft Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. February 25, 2015.
6. Gómez Tello V, Alvarez Rodríguez J, Núñez Reiz A, González Sánchez JA, Hernández Abadía de Barbará A, Martínez Fresneda M, Morondo Valdeolmillos P, Nicolás Arfelis JM, Pujol Varela I, Calvete Chicharro M; Sociedad Española de Medicina Intensiva Crítica y Unidades Coronarias (SEMICYUC). Estándares técnicos y funcionales, y proceso de implantación, de un sistema de información clínica en unidades de cuidados intensivos. *Med Intensiva*. 2011;35(8):484-96.
7. Ribback S, Flessa S, Gromoll-Bergmann K, Evert M, Dombrowski F. Virtual slide telepathology with scanner systems for intraoperative frozen-section consultation. *Pathol Res Pract*. 2014 Jun;210(6):377-82.
8. Canadian Association of Pathologists Telepathology Guidelines Committee, Bernard C, Chandrakanth SA, Cornell IS, Dalton J, Evans A, Garcia BM, Godin C, Godlewski M, Jansen GH, Kabani A, Louahlia S, Manning L, Maung R, Moore L, Phillely J, Slatnik J, Srigley J, Thibault A, Picard DD, Cracower H, Tetu B. Guidelines from the Canadian Association of Pathologists for establishing a telepathology service for anatomic pathology using whole-slide imaging. *J Pathol Inform*. 2014 Mar 28;5:15.
9. Al Habeeb A, Evans A, Ghazarian D. Virtual microscopy using whole-slide imaging as an enabler for teledermatopathology: A paired consultant validation study. *J Pathol Inform*. 2012;3:2.
10. García Rojo M, Bueno G. Analysis of the impact of high resolution monitors in digital pathology. *J Pathol Informatics* 2015 (in press) .
11. Wright AM, Smith D, Dhurandhar B, Fairley T, Scheiber-Pacht M, Chakraborty S, Gorman BK, Mody D, Coffey DM. Digital slide imaging in cervicovaginal cytology: a pilot study. *Arch Pathol Lab Med*. 2013

- May;137(5):618-24.
12. Deroulers C, Ameisen D, Badoual M, Gerin C, Granier A, Lartaud M. Analyzing huge pathology images with open source software. *Diagn Pathol*. 2013 Jun 6;8:92.
  13. TIFF Tools Overview. <http://www.remotesensing.org/libtiff/tools.html> [Consultado 30-3-2015]
  14. LargeTIFFTools. <http://www.imnc.in2p3.fr/pagesperso/deroulers/software/largetifftools/> [Consultado 30-3-2015]
  15. Khushi M, Edwards G, de Marcos DA, Carpenter JE, Graham JD, Clarke CL. Open source tools for management and archiving of digital microscopy data to allow integration with patient pathology and treatment information. *Diagn Pathol*. 2013 Feb 12;8:22
  16. Microsoft Expression. <https://msdn.microsoft.com/en-us/expression/> [Consultado 30-3-2015]
  17. Sistemas de gestión de la calidad. Fundamentos y vocabularios (ISO 9000:2005)
  18. Pantanowitz L, Sinard JH, Henricks WH, Fatheree LA, Carter AB, Contis L, Beckwith BA, Evans AJ, Otis CN, Lal A, Parwani AV. Validating Whole Slide Imaging for Diagnostic Purposes in Pathology. Guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137:1710–1722.
  19. American Telemedicine Association. Clinical guidelines for telepathology. <http://www.americantelemed.org/docs/default-source/standards/clinical-guidelines-for-telepathologyFBFDA18D6793.pdf?sfvrsn=8>
  20. Pantanowitz L, Valenstein PN, Evans AJ, et al. Review of the current state of whole slide imaging in pathology. *J Pathol Inform* 2011 ; 2:36. doi: 10.4103/2153-3539.83746.Epub@2011 Aug 13: 36-3539
  21. Brachtel E, Yagi Y. Digital imaging in pathology- current applications and challenges. *J Biophotonics* 2012; 5:327-35
  22. Al-Janabi S, Huisman A, Van Diest PJ. Digital pathology: current status and future perspectives. *Histopathology*. 2012; 61:1-9.
  23. Cornish T C, Swapp R E, Kaplan K J. Whole-slide imaging: Routine Pathology Diagnosis. *Adv Anat Pathol*, vol 19, Number 3, May 2012
  24. Winokur TS, McClellan S, Siegal GP, et al. A prospective trial of telepathology for intraoperative consultation (frozen sections). *Hum Pathol* 2010; 134:1020-3.
  25. Fallon MA, Wilbur DC, Prasad M. Ovarian frozen section diagnosis: use of whole-slide imaging shows excellent correlations between virtual slide and original interpretations in a large series of cases. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 1020-3.
  26. Evans AJ, Chetty R, Clarke BA, Croul S, Ghazarian DM, Kiehl TR, et al. Primary frozen section diagnosis by robotic microscopy and virtual slide telepathology: the University Health Network experience. *Hum Pathol*. 2009;40:1070–81.

27. Ho J, Parwani AV, Jukic DM, Yagi Y, Anthony L, Gilbertson JR. Use of whole slide imaging in surgical pathology quality assurance: design and pilot validation studies. *Hum Pathol.* 2006;37:322–31.
28. Gavrielides MA, Gallas BD, Lenz P, Badano A, Hewitt SM. Observer variability in the interpretation of HER2/neu immunohistochemical expression with unaided and computer-aided digital microscopy. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135:233–42.
29. Manion E, Cohen MB, Weydert J. Mandatory second opinion surgical pathology referral material: clinical consequences of major disagreements. *Am J Surg Pathol.* 2008; 32:732-7.
30. Bernard C, Chandrakanth S A, Cornell IS, Dalton J, Evans A, Garcia BM, et al. Guidelines from the Canadian Association of Pathologists for establishing a telepathology service for anatomic pathology using whole-slide imaging. *J Pathol Inform* 2014;5:15
31. Slodkowska J, Garcia-Rojo M. Digital pathology in personalized cancer therapy. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 2011;49(4):570-578.
32. Kalyuzhny AE. The dark side of the immunohistochemical moon: industry. *J Histochem Cytochem* 2009;57:333-340.
33. Krenacs T, Zsakovics I, Micsik T, et al. Digital microscopy the upcoming revolution in histopathology teaching, diagnostics, research and quality assurance, In: A. Méndez-Vilas and Díaz Álvarez (Edrs) *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*. Vol. 2, 965-77, Publisher: Formatex Research Center, Badajoz, 2010, (ISBN (13): 978-84-614-6190-5).
34. García-Rojo M., Bueno G., Slodkowska J. Review for imaging solutions for integrated quantitative immunohistochemistry in the pathology daily practice. *Folia Histochem Cytobiol* 2009;47:349-354.
35. Di Napoli A, Signoretti S. Tissue Biomarkers in Renal cell Carcinoma: Issues and Solutions. *Cancer* 2009;115(10):2290-97.
36. López C, Lejeune P, Escriva P, et al. Effects of Image Compression on Automatic Count of Immunohistochemically Stained Nuclei in Digital Images. *J Am Med Inform Assoc* 2008;15:794-98.
37. Cregger M, Berger AJ, Rimm DL. Immunohistochemistry and Quantitative Analysis of protein Expression. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:1026-30.
38. Yaziji H, Taylor CR, Goldstein NS, et al. Consensus recommendations on estrogen receptor testing in breast cancer by immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2008;16:513-20.
39. Keedt VL, Temin S, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: epidermal growth factor receptor (EGFR) Mutation testing for patients with advanced non-small-cell lung cancer considering first-line EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy. *J Clin Oncol.* 2011 May 20;29(15):2121-7.
40. Cheng L, Zhang S, Alexander R, et al. The landscape of EGFR pathways and personalized management of non-small-cell lung cancer. *Future Oncol.* 2011 Apr;7(4):519-41.
41. Atkins D, Reiffen KA, Tegtmeier CL, et al. Immunohistochemical detection of EGFR in paraffin-embedded

- tumor tissues: variation in staining intensity due to choice of fixative and storage time of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 2004;52(7):893-901.
42. Nakhleh RE, Grimm EE, Idowu MO, et al. Laboratory compliance with the American Society of Clinical Oncology/college of American Pathologists guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: a College of American Pathologists survey of 757 laboratories. *Arch Pathol Lab Med.* 2010 May;134(5):728-34.
  43. Fitzgibbons PL, Murphy DA, Hammond ME, et al. Recommendations for validating estrogen and progesterone receptor immunohistochemistry assays. *Arch Pathol Lab Med.* 2010 Jun;134(6):930-5
  44. Sauter G, Lee J, Bartlett JM, et al. Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: biological and methodologic considerations. *J Clin Oncol.* 2009 Mar 10;27(8):1323-33.
  45. Gray A, Wright A, Jackson P, et al. Quantification of histochemical stains using whole slide imaging: development of a method and demonstration of its usefulness in laboratory quality control. *J Clin Pathol.* 2015 Mar;68(3):192-9.
  46. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013 Sep;24(9):2206-23.
  47. Słodkowska J, Filas V, Buszkiewicz E, et al. Study on breast carcinoma Her2/neu and hormonal receptors status assessed by automated images analysis systems: ACIS III (Dako) and ScanScope (Aperio). *Folia Histochem Cytobiol.* 2010 Jan 1;48(1):19-25.
  48. Sharangpani GM, Joshi AS, Porter K, et al. Semi-automated imaging system to quantitate estrogen and progesterone receptor immunoreactivity in human breast cancer. *J Microsc* 2007 Jun;226(Pt 3):244-55.
  49. Rexhepaj E, Brennan DJ, Holloway P, et al. Novel image analysis approach for quantifying expression of nuclear proteins assessed by immunohistochemistry: application to measurement of oestrogen and progesterone receptor levels in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2008;10(5):89.
  50. Gokhale S, Rosen D, Sneige N, et al. Assessment of two automated imaging systems in evaluating estrogen receptor status in breast carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2007;15(4):451-5.
  51. Vörös A, Csörgő E, Kóvári B, et al. The Use of Digital Images Improves Reproducibility of the Ki-67 Labeling Index as a Proliferation Marker in Breast Cancer. *Pathol Oncol Res* 2013; Nov 8. [Epub ahead of print]
  52. Harvey J, Thomas C, Wood B, et al. Practical issues concerning the implementation of Ki-67 proliferative index measurement in breast cancer reporting. *Pathology* 2015 Jan;47(1):13-20.
  53. Laurinavicius A, Plancoulaine B, Laurinaviciene A, et al. A methodology to ensure and improve accuracy of Ki67 labelling index estimation by automated digital image analysis in breast cancer tissue. *Breast Cancer Res* 2014;16(2):35.
  54. Wolff AC, Hammond ME, Hicks, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 2013 Nov 1;31(31):3997-4013.

55. Ciampa A, Xu B, Ayata G, et al. HER-2 status in breast cancer: correlation of gene amplification by FISH with immunohistochemistry expression using advanced cellular imaging system. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2006 Jun;14(2):132-7.
56. Keay T, Conway CM, O'Flaherty N, et al. Reproducibility in the automated quantitative assessment of HER2/neu for breast cancer. *J Pathol Inform.* 2013 Jul 31;4:19.
57. Vogel UF. Confirmation of a low HER2 positivity rate of breast carcinomas - limitations of immunohistochemistry and in situ hybridization. *Diagn Pathol* 2010 Jul 29;5:50.
58. <https://sites.google.com/site/dermpathsy3/Home/using-imagej-to-know-the-ki67-index> [Consultado 31-3-2015]
59. Inmunoratio. <http://153.1.200.58:8080/inmunoratio/> [Consultado 31-3-2015]
60. Cornish TC, Swapp RE, Kaplan KJ. Whole-slide imaging: routine pathologic diagnosis. *Adv Anat Pathol.* 2012;19(3):152-9.
61. Tang LH, Gonen M, Hedvat C, et al. Objective quantification of the Ki67 proliferative index in neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system: a comparison of digital image analysis with manual methods. *Am J Surg Pathol* 2012 Dec;36(12):1761-70.
62. Halama N, Zoernig I, Spille A, et al. Quantification of prognostic immune cell markers in colorectal cancer using whole slide imaging tumor maps. *Anal Quant Cytol Histol* 2010 Dec;32(6):333-40.
63. Mroz P1, Parwani AV, Kulesza P, et al. Central pathology review for phase III clinical trials: the enabling effect of virtual microscopy. *Arch Pathol Lab Med* 2013 Apr;137(4):492-5.
64. Dander A, Baldauf M, Sperk M, et al. Personalized Oncology Suite: integrating next-generation sequencing data and whole-slide bioimages. *BMC Bioinformatics* 2014 Sep 18;15:306.
65. Ho J, Ahlers SM, Stratman C, Aridor O, Pantanowitz L, Fine JL, Kuzmishin JA, Montalto MC, Parwani AV. Can digital pathology result in cost savings? A financial projection for digital pathology implementation at a large integrated health care organization. *J Pathol Inform.* 2014 Aug 28;5:33
66. Ghaznavi F, Evans A, Madabhushi A, Feldman M. Digital Imaging in Pathology: Whole-Slide Imaging and Beyond. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2013. 8:331–59.
67. Barisoni L, Nast CC, Jennette JC, Hodgins JB, Herzenberg AM, Lemley KV, Conway CM, Kopp JB, Kretzler M, Lienczewski C, Avila-Casado C, Bagnasco S, Sethi S, Tomaszewski J, Gasim AH, Hewitt SM. Digital pathology evaluation in the multicenter Nephrotic Syndrome Study Network (NEPTUNE). *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013 Aug;8(8):1449-59.
68. Comunidad autónoma de Madrid. Orden 2095/2006, de 30 de Noviembre.
69. Documento sobre Anatomía Patológica. Conselleria de Salut. Generalitat de Catalunya. [www.gencat.cat](http://www.gencat.cat)
70. Libro blanco de la SEAP. Edición 2009.

71. Alba Paños-Pérez. Marco legal de los servicios de anatomía patológica vigente en España. *Patologia. Revista latinoamericana* 2013; 51:23-28.
72. Saco A, Ramírez J, Sagasta A, Ordi O, Martinez A, Ordi J, Whole-Slide Imaging in the Routine in a Pathology Laboratory: Can File Storage Requirements be Reduced by Deleting Unnecessary Images? *Mod Pathol* 2015; 28 (Supl 2): 401A