

# **Análisis automatizado de imagen y preparaciones digitales**

**Marcial García Rojo**

**Hospital General Universitario  
de Ciudad Real**

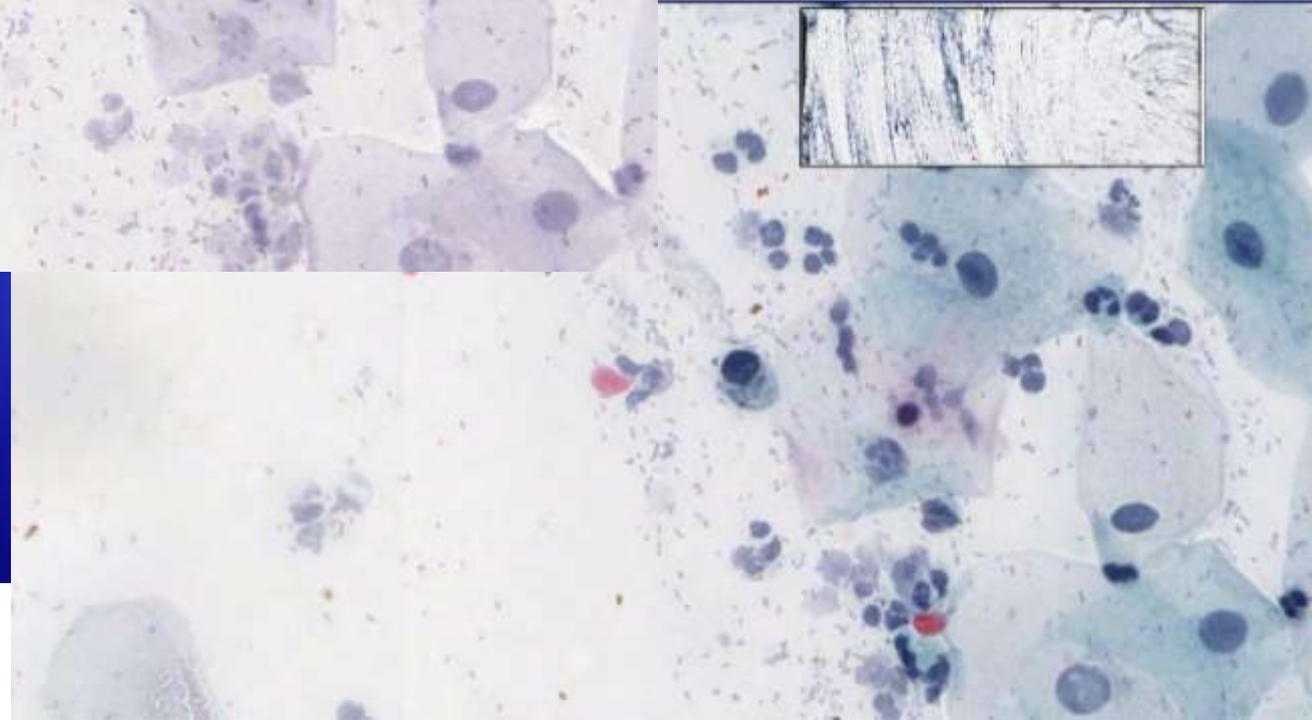
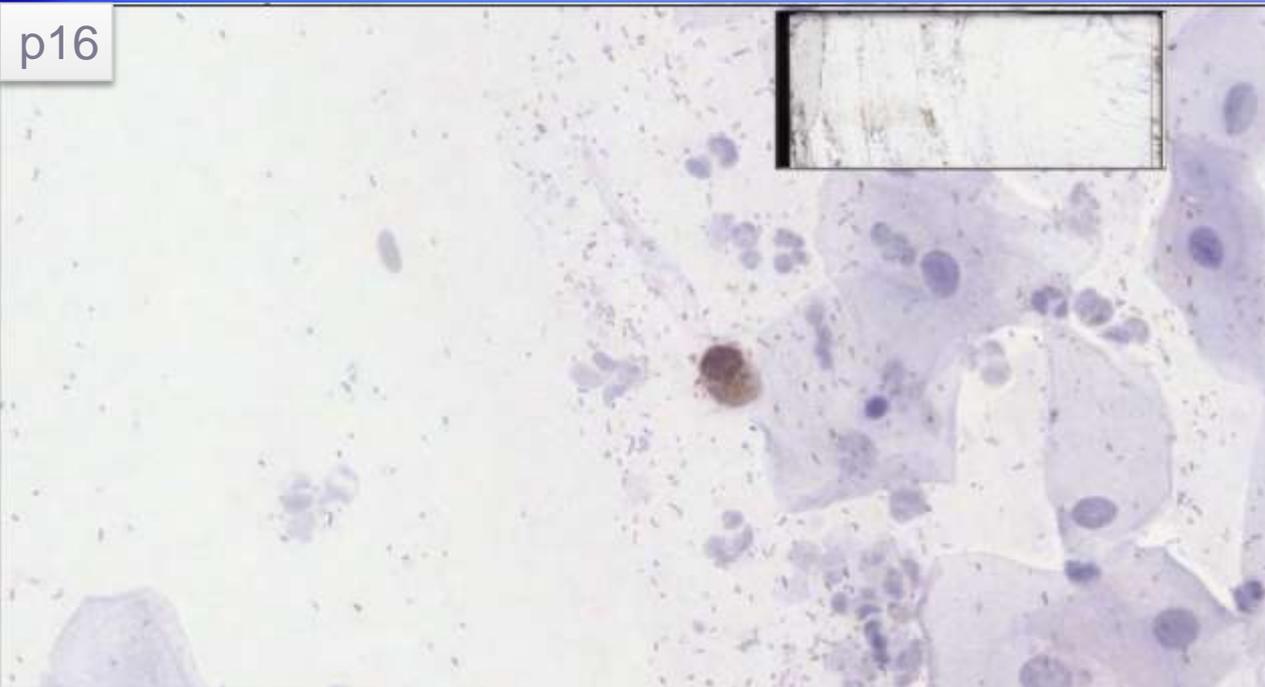
**[marcial@cim.es](mailto:marcial@cim.es)**

# Índice

- Análisis de imagen microscópica en la práctica asistencial
- Sistemas de microscopía digital
- Conclusiones

# Para qué sirven las preparaciones digitales

Cuando no hay más material para IHQ



Análisis automatizado de imagen y  
preparaciones digitales

**SISTEMAS DE MICROSCOPIA  
DIGITAL ¿CUÁL ELEGIR?**

# ¿Qué escáner elegir?

Sistemas de microscopía virtual:

Aperio ScanScope

Olympus SIS .slide

Hamamatsu Nanozoomer

3DHistech Panoramic



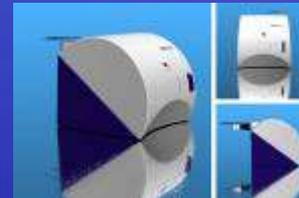
Aperio Scanscope XT / CS



3D Histech



Olympus .slide



Hamamatsu Nanozoomer



*Int J Surg Pathol* 2006; 14; 285.

# Barriers to digital pathology adoption

<b>Too expensive</b> .....	52%
Traditional pathology/microscope works fine..... (quality?)	36%
<b>Integration concerns with LIS</b> .....	23%
<b>Too slow</b> .....	15%
Reimbursement issues.....	13%
Limited validated clinical tests.....	8%
Large data/image storage concerns.....	5%
No time/patience to learn.....	5%
Concerns about image resolution.....	3%

\*Survey respondents were able to select multiple answers

Source: *LE's Digital Pathology Trends Survey, June 2010; n=255*

# Leica SCN400 (Alemania)



# Philips Slide Scanner (Holanda)



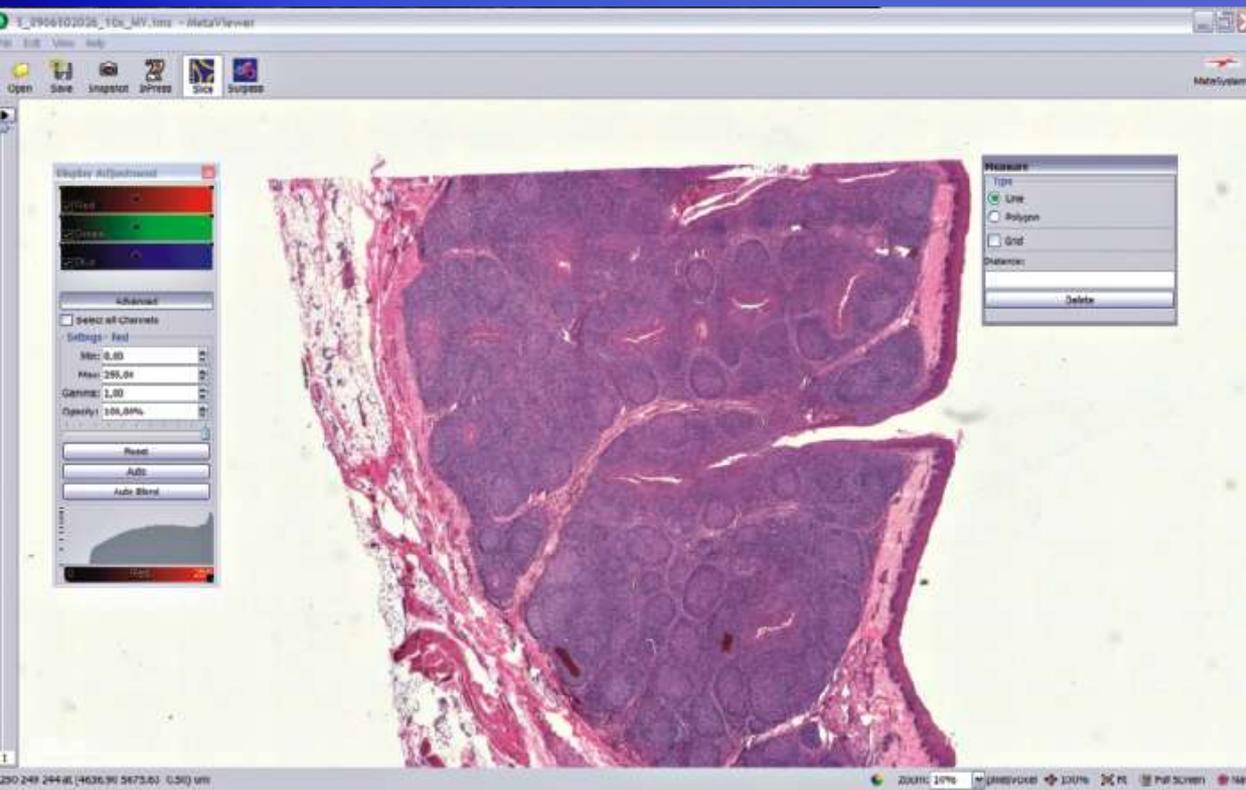
# Menarini D-Sight y D-Sight *fluo* (Italia)

	D·SIGHT		D·SIGHT <i>fluo</i>	
	D-Sight-05	D-Sight-50	D-Sight-F-05	D-Sight-F-50
Slide loading	D-Sight-05	D-Sight-50	D-Sight-F-05	D-Sight-F-50
	5 slides, auto	50 slides, auto	5 slides, auto	50 slides, auto
Speed (15 x 15 mm)	< 3 min/slide at 20x		< 3 min/slide at 20x brightfield	
Objective	4x, 10x, 20x, 40x		4x, 10x, 20x, 40x, 100x oil	
Maximum number of objectives	Up to 6		Up to 6	
Scanning magnification	Related to the objective mounted		Up to 100x	
Scanning range	27 x 55 mm		25 x 52 mm	
Resolution at 20x	0,5 micron/pixel		0,5 micron/pixel	
Resolution at 40x	0,25 micron/pixel		0,25 micron/pixel	
Image compression	JPEG-2000 (JP2)		JPEG-2000 (JP2)	
Barcode reader	YES		YES	
Fluorescence Lamp House			100W Mercury Lamp	
Filters			DAPI, FITC, TRITC	
Maximum number of filters			Up to 6	
Digital microscope	Brightfield with colour camera		Brightfield with colour camera Fluorescence with monochrome camera	



# Metasystems Vslide (Alemania)

Microscopio robotizado con un software para crear preparaciones digitales



# Principales criterios para adquirir un escáner

- Calidad de la imagen: Sin artefactos de unión y si áreas desenfocadas
- Velocidad de escaneado a 40x
- Software de gestión de imagen
- Precio
- Capacidades de integración (LIS, PACS): Estándares
- Mantenimiento y soporte
- Política de actualización: Nuevas versiones de software y acceso a nuevos modelos de escáner

# Lo mejor de algunas soluciones disponibles

- Precisa escáneres de diversas capacidades o funciones (alimentador, inmersión aceite, fluorescencia): 3DHistech, Aperio, BioImagene
- Excelente calidad imagen: Hamamatsu, Leica, Omnyx
- Fácil de usar: Philips, Claro
- Flexibilidad: Olympus dotslide
- Rápido: Philips
- Barato: ¡Ninguno!

Análisis automatizado de imagen y  
preparaciones digitales

**ANÁLISIS AUTOMATIZADO DE  
IMAGEN MICROSCÓPICA**

# Medir y cuantificar

Herramientas de medidas:

Melanomas: Espesor de Breslow

Ganglios centinelas: Localizar y distinguir entre células aisladas y micrometástasis

Algoritmos de análisis de imagen

(Inmunohistoquímica): Her2, receptores estrógenos y receptores de progesterona

Detección de áreas de interés (citología)

# Análisis automatizado de imagen

- Cuantificación IHQ
- Fluorescencia (FISH)
- TMA
- Reconstrucción 3D

Productos:

Virtual slides (Mirax, Aperio Scanscope, Nanozoomer)

Software: analySIS, Definiens, BioImagene, TissueGnostics, SlidePath (Leica)

Cuantificar marcadores inmunohistoquímicos y de FISH:

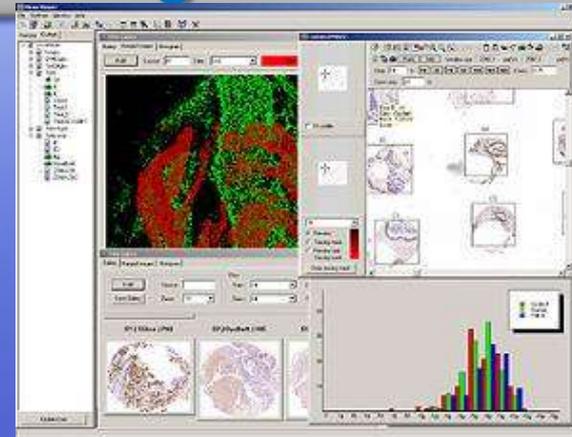
Applied Imaging Ariol (Genetix - Leica)

Dako ACIS III

Ayuda al cribado citológico:

Hologic ThinPrep Imaging System

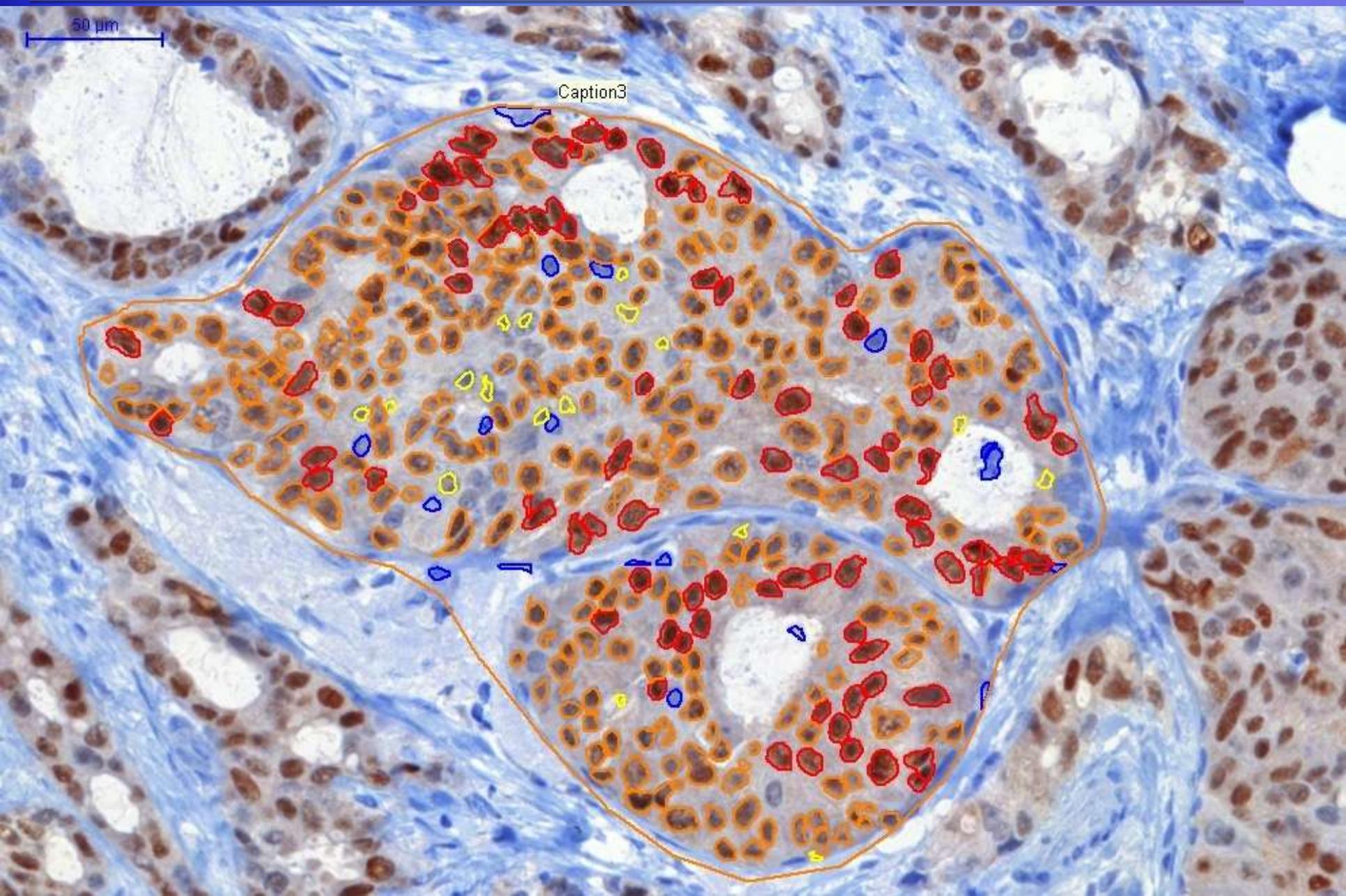
Civagen FocalPoint



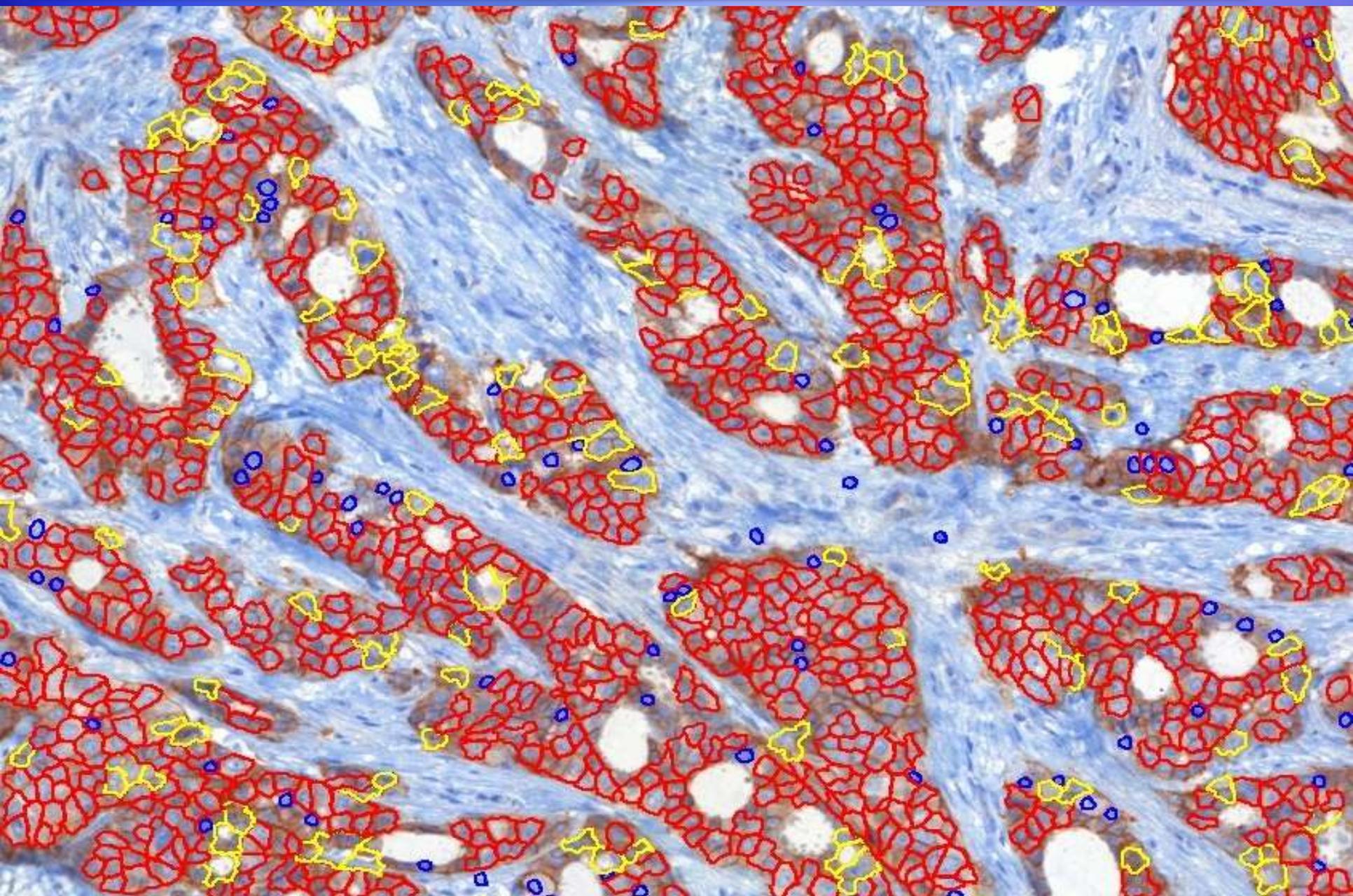
*FDA Clearance  
para Her2/neu,  
Recept.  
Estrógenos y  
Receptores  
Progesterona*



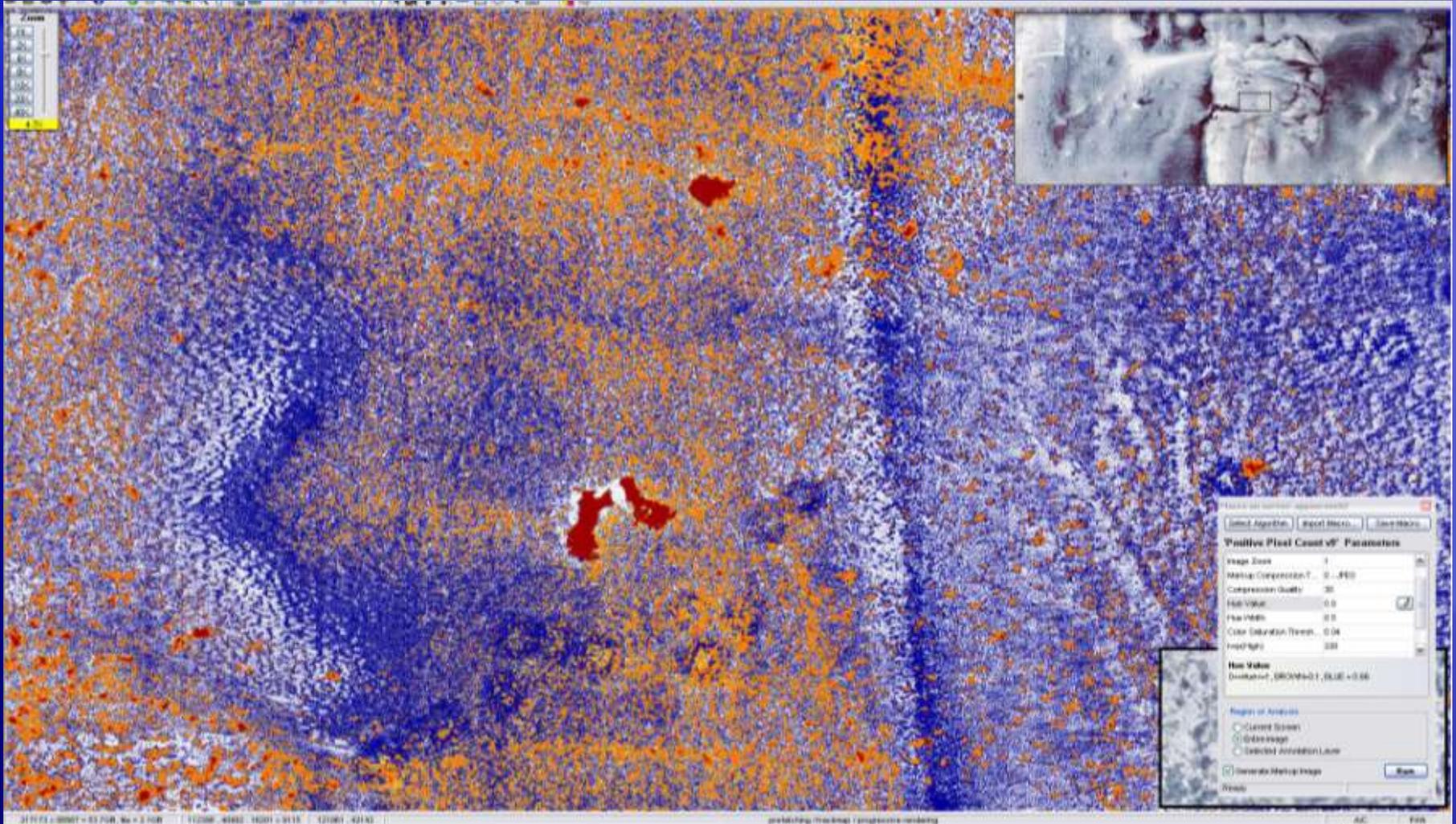
# Cuantificación nuclear



# Cuatificación de membrana

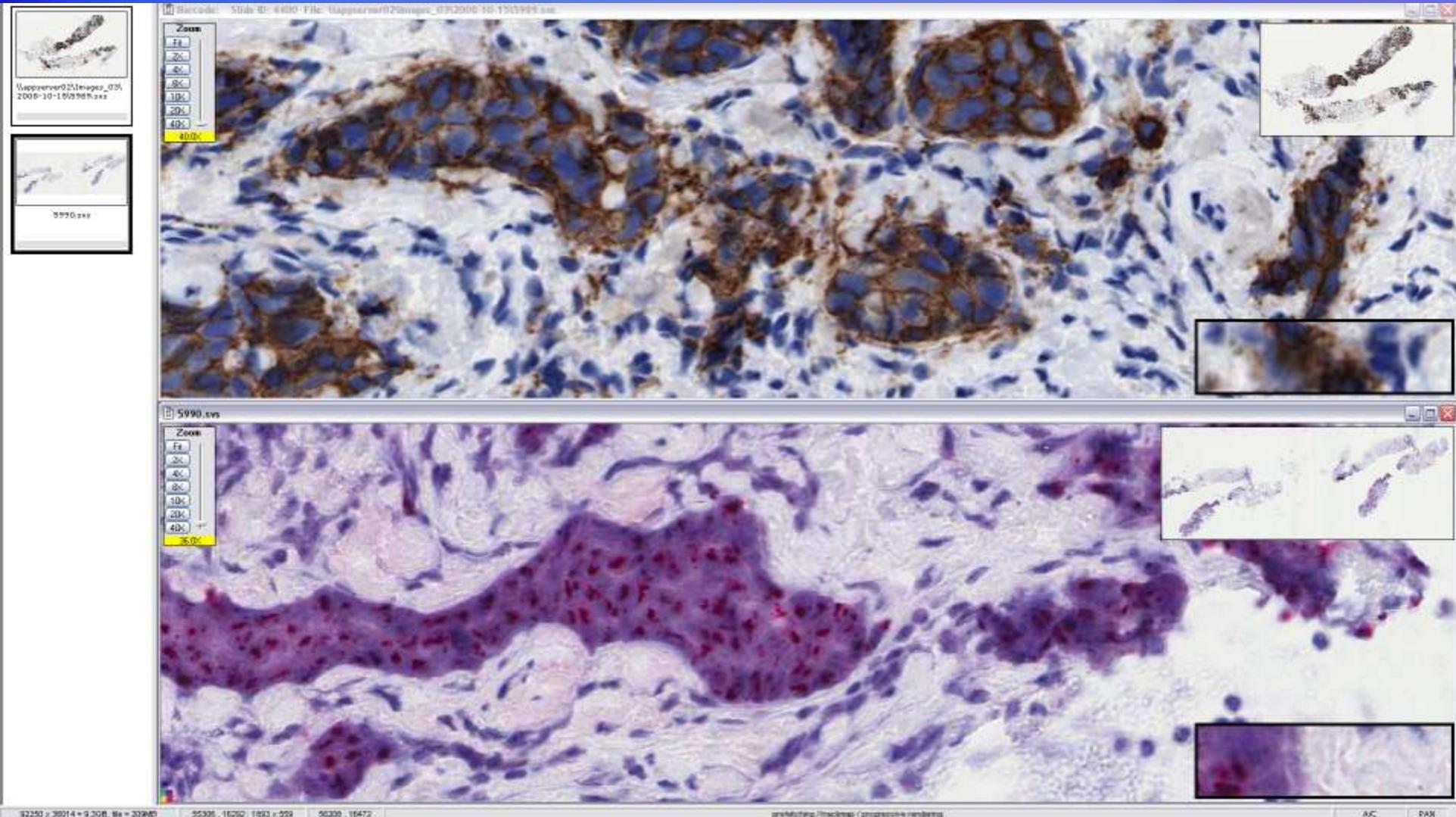


# Citología – Localizar grupos epiteliales

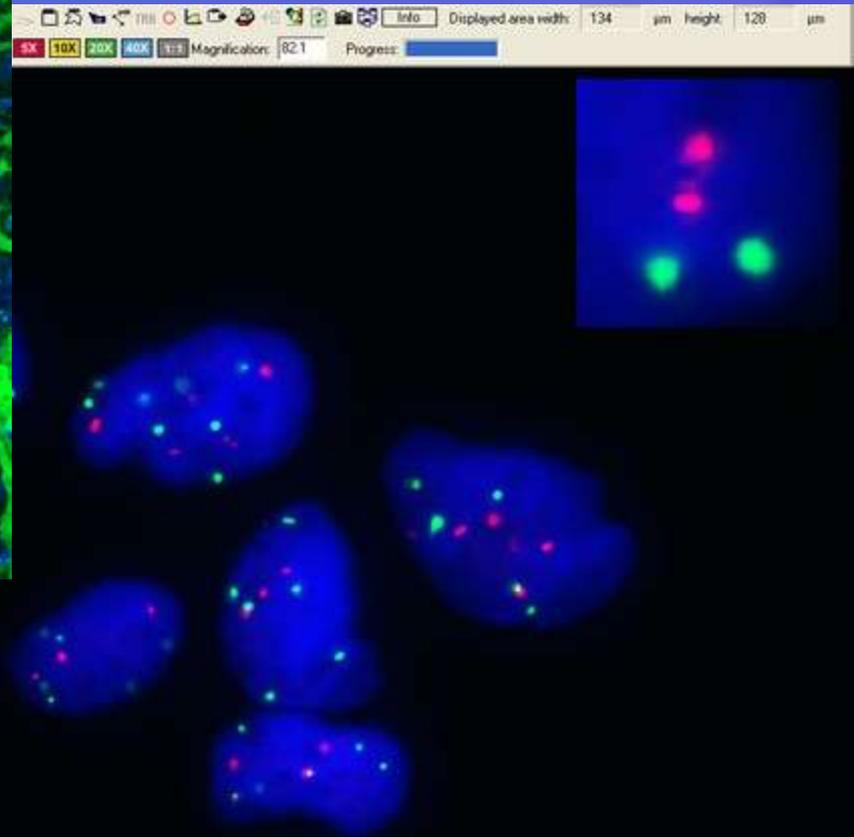
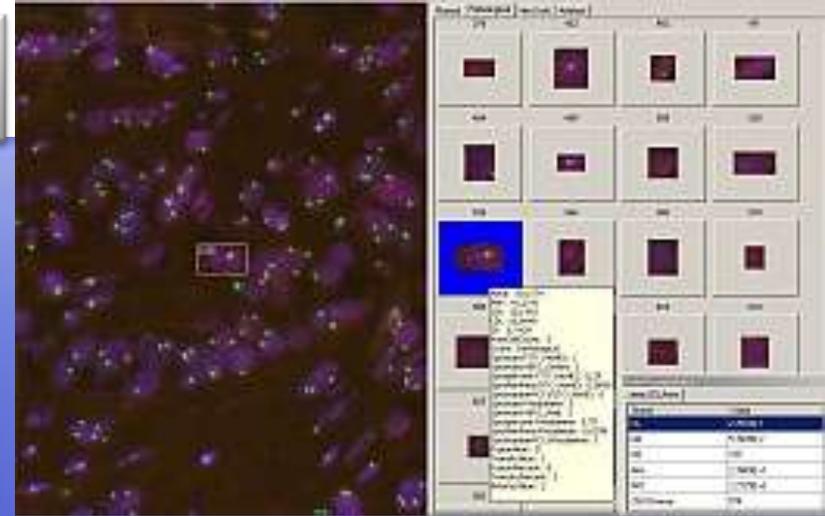
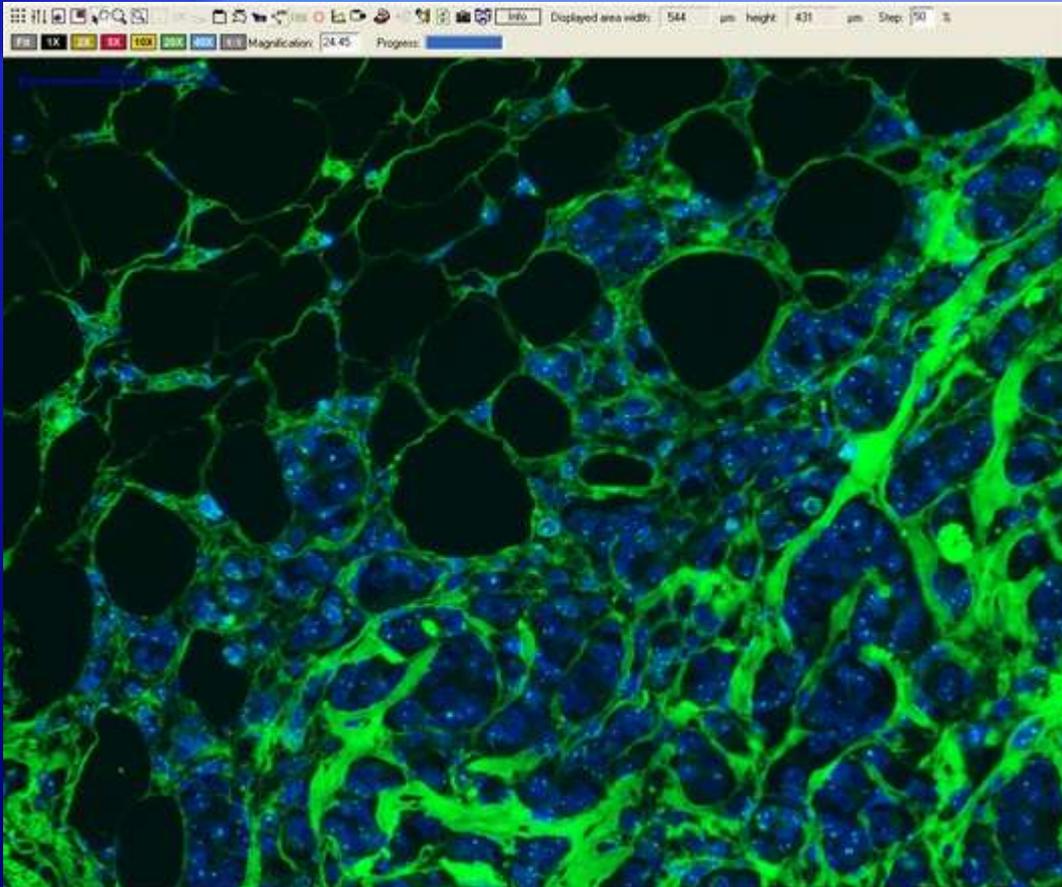


# Comprobar las mismas áreas o células con 2 o más marcadores

## Interpretación CISH



# FISH – Un reto tecnológico



01/06/2011

# Cribado: Biopsias y citologías

The screenshot displays a web-based interface for processing histology images. On the left side, there is a vertical status bar with the text "Results of WSI Processing". The main interface is divided into several sections:

- Thumbnail:** A small inset image in the top left shows a low-magnification view of the tissue with a red square indicating the area of interest.
- IMAGE PROCESSING:** A control panel containing four checkboxes:
  - Image Zoom
  - Distances and Preprocessing
  - Insert Comments
  - WSI Processing
- ZOOM IMAGE:** A section with a magnification search icon and several buttons for zoom levels: x1, x2, x10, x20, x40, x80, and a "Personal" button with a search icon.
- UCLM Logo:** The logo of the Universidad Carlos III de Madrid (UCLM) is displayed, featuring a stylized red and white emblem above the text "UCLM" and "UNIVERSIDAD CARLOS III DE MADRID".
- Dimension:** A box at the bottom left of the control panel shows the image dimensions: "Dimension : 48000 x 40000".

The main area on the right shows a large, high-magnification histology image of a tissue section, stained with hematoxylin and eosin (H&E), showing glandular structures. At the bottom of the interface, there is a status bar with the text "Comments Inserted on the Image" flanked by vertical bars.

# Cribado: Biopsias y citologías

## RESULTS WSI

DIAGNOSTIC : MALIGN

Number of Cells : 215188

Number of Malign Cells : 530

Number of Benign Cells : 7279

Number of Groups : 656

(36) Mesotelial Benign

(37) Mesotelial Benign

(38) Mesotelial Benign

(39) Mesotelial Benign

(40) Mesotelial Benign

(41) Mesotelial Malign

(42) Mesotelial Benign

(43) Mesotelial Benign

(44) Mesotelial Benign

(45) Mesotelial Malign

(46) Mesotelial Benign

(47) Mesotelial Malign

(48) Mesotelial Benign

(49) Mesotelial Benign

(50) Mesotelial Benign

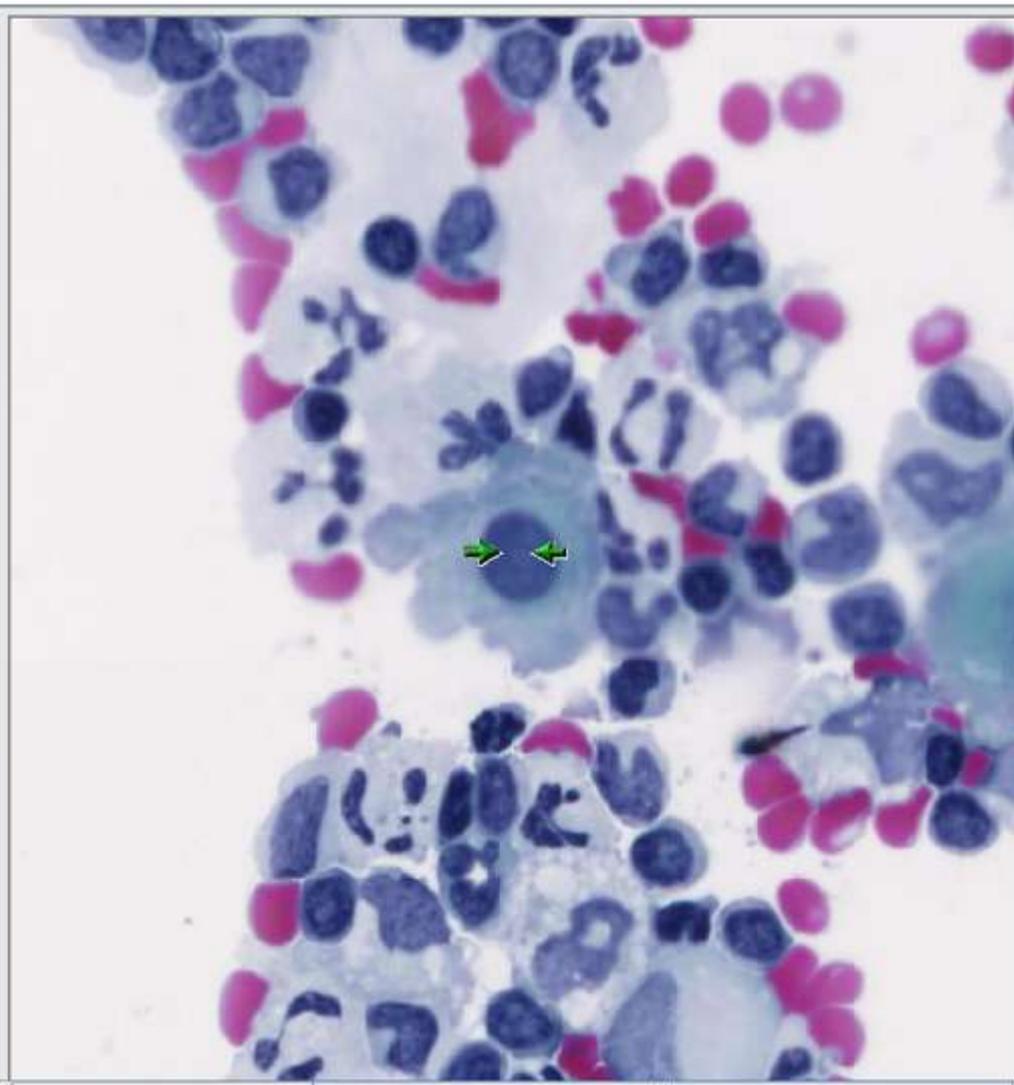
(51) Mesotelial Benign

(52) Mesotelial Malign

(53) Mesotelial Benign

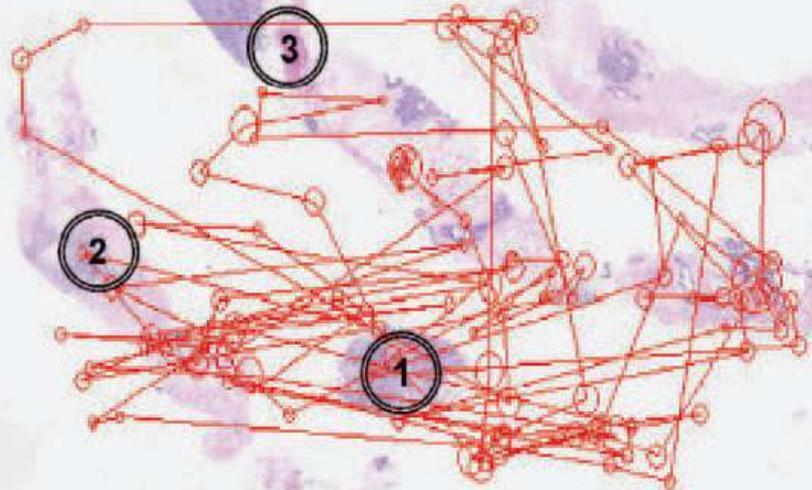


Results of WSI Processing

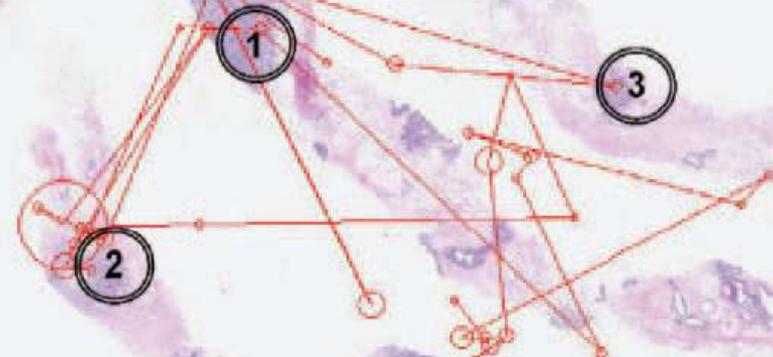


Comments Inserted on the Image

Medical Student



Resident

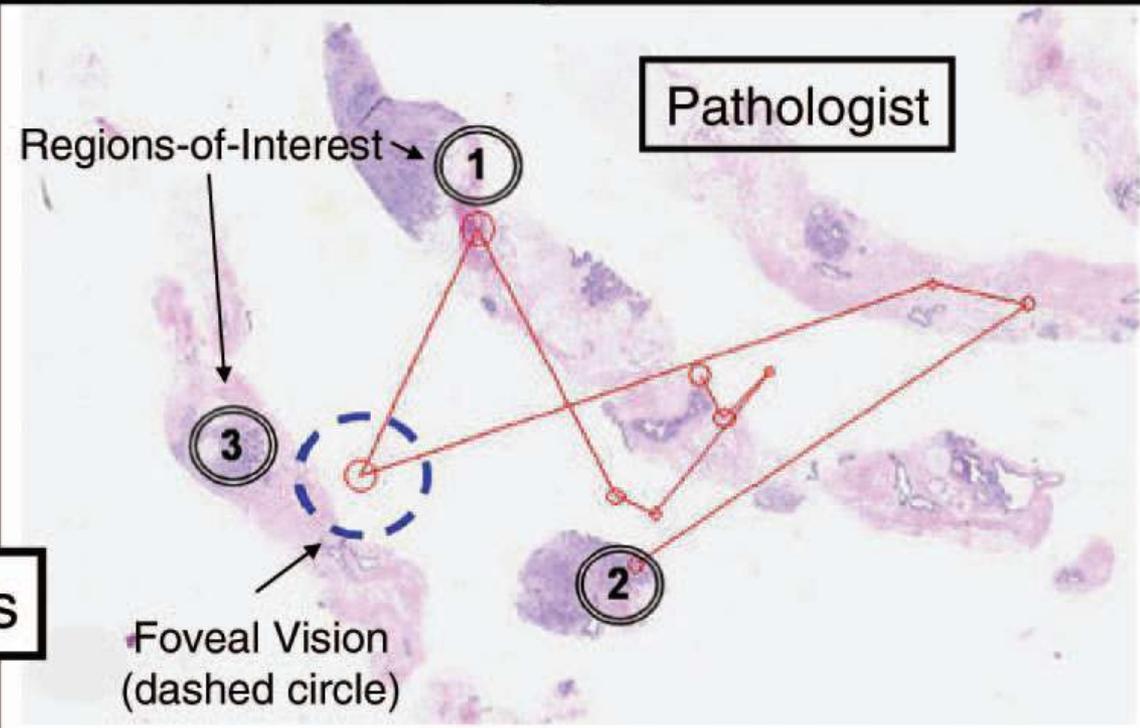


Pathologist

Regions-of-Interest

Foveal Vision  
(dashed circle)

Scan-Paths



# Imagen multispectral ¿El futuro?

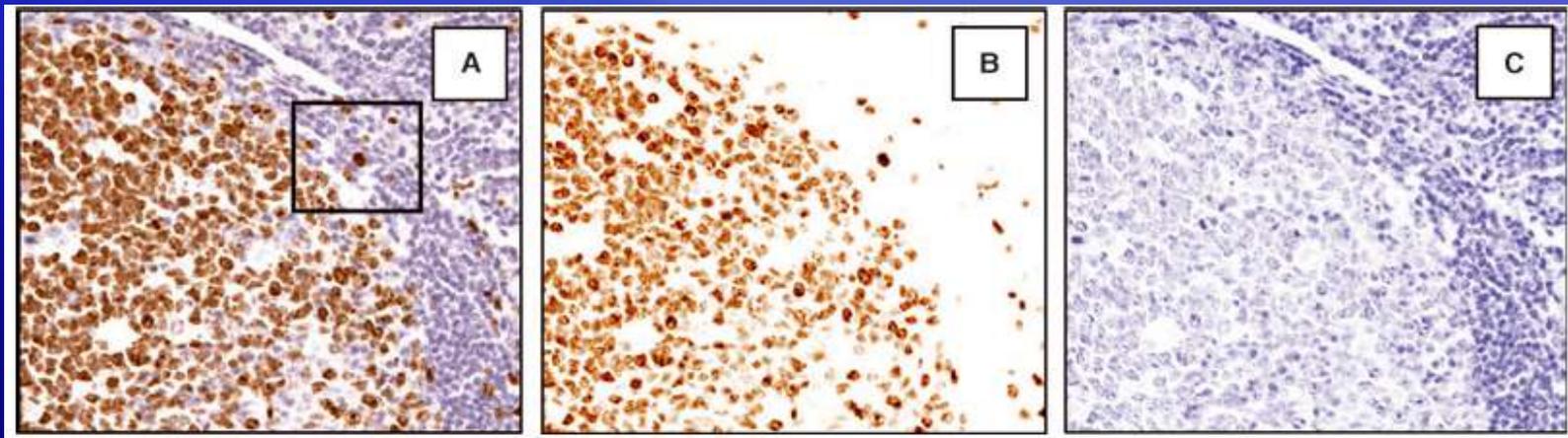
A series of 3-20 images are taken from blue to the red (e.g. 420–700 nm)

DAB stain exhibit scattering behaviour

Vector Red, have been shown to have excellent linearity and dynamic range

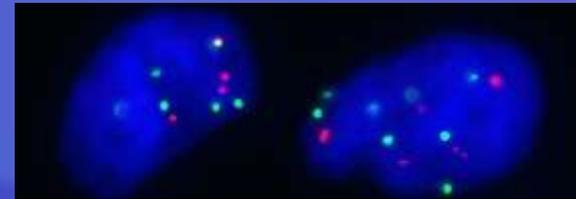
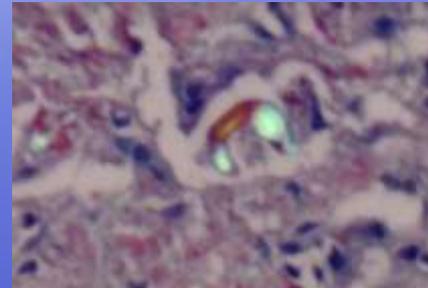
Counterstain → unmixing of the chromogen (typically DAB) from the counterstain (typically haematoxylin) (conversion to optical density)

Multiplexing: unmixing of three or more chromogens is feasible

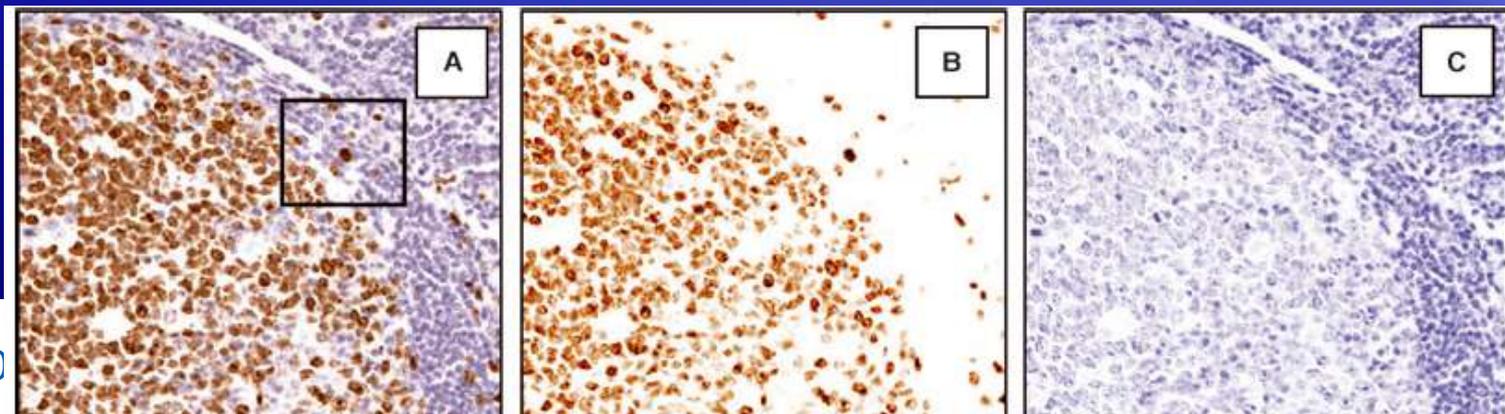


# Tecnología de imagen en el escaneado

- Luz polarizada
  - Amiloidosis
  - Líquido sinovial
- Escaneado de Fluorescencia
  - FISH
  - Piel y riñón



• **Imagen Multiespectral:** Ase toma una serie de 3-20 imágenes desde el azul hasta el rojo (p. ej. 420–700 nm) → Multiplexar: separar 3 o más cromógenos



## Nanoprobos (nanosondas)

Hibridación para dianas específicas de ADN

Nanosondas marcadas contra dos biomarcadores:  
los genes Her-2 y Ki-67

La lectura se hacen inmediatamente tras la  
reacción de hibridación (son pasos de lavado), lo  
que simplifica la detección de múltiples genes a  
la vez (Wang H-N, 2009).

## Quantum dots nanocristales

Comparado con los fluoroforos orgánicos, los QDs tienen diversas propiedades espectrales que consiguen que sean más sensibles, con más variedad de color y con mejor calidad de imagen para cuantificar.

QD también se pueden utilizar en inmunohistoquímica convencional en campo claro.

# El futuro de la imagen digital microscópica

Si se alcanzan las necesidades en velocidad y calidad, entonces el paso de crear la laminilla en cristal puede obviarse.

Aumentar la automatización en el flujo en laboratorio

Hoy día, muchos pasos manuales en patología digital:

Inclusión → Microtomía → Tinción → Montaje permanente  
→ Escaneado → Lectura → Almacenar laminilla

En el futuro, todos los pasos estarán automatizados:

Inclusión → Microtomía → Tinción → Montaje **temporal** →  
Escaneado → Lectura → Almacenar la sección de tejido  
sólo si es necesario (estudios de ADN/ARN/proteómica)

**No habrá producción de laminillas en cristal**

**Análisis automatizado de imagen y  
preparaciones digitales**

**CONCLUSIONES**

# Conclusiones

- La Patología digital permite automatizar procesos críticos para optimizar y reducir al mínimo las posibles fuentes de error.
- Evaluación diagnóstica, terapéutica y pronóstica más rápida y con más calidad, especialmente relevante en los estudios intraoperatorios.
- Facilita la consulta intra e interdepartamental
- Un mejor seguimiento del proceso de diagnóstico.
- Introducir el uso de herramientas de análisis y procesamiento de imagen para ayudar en la patología de diagnóstico.

Muchas gracias.

[marcial@cim.es](mailto:marcial@cim.es)



01/06/2011