

Implementación de un microscopio virtual para el curso de Patología General del pregrado en una Facultad de Medicina

Implementation of a virtual microscope for the undergraduate general pathology course in a school of medicine

Carlos Orellano^{1,a}

RESUMEN

Objetivo: Describir la implementación de un microscopio virtual (MV) para la visualización de las láminas virtuales (LV) correspondientes a las prácticas de microscopía del curso de Patología General. **Material y métodos:** Se eligió como visor para el MV a la aplicación de Google Maps por su fácil manejo y amplia difusión. Para generar las LV, se evaluó cada grupo de fotografías (tomadas con un cabezal de cámara de microscopía y un lente ocular de 10X), según el objetivo usado, para determinar cuál tenía una mejor área de visualización y menor difusión de imagen a mayor acercamiento. Luego, fueron segmentadas a través de un script para producir un mosaico de imágenes por cada nivel de visualización (NV) y se almacenaron en uno de los servidores de la Facultad. **Resultados:** Se eligieron y procesaron las fotografías obtenidas con el objetivo de 10X para producir 6 NV (del 0 al 5) para el MV, siendo el segundo, tercer y cuarto nivel equivalentes a 100X, 200X y 400X respectivamente. Se produjeron 68 250 archivos de imagen con un tamaño total de 1110,29 MB. Finalmente, se publicaron en el Espacio Virtual para la Docencia del curso. **Conclusiones:** La disposición de microfotografías con un MV fue viable de acuerdo a los lineamientos planteados. Su uso no debe reemplazar a las prácticas habituales de microscopía, sino es una herramienta complementaria. Debido a su elevada similitud con la microscopía tradicional, se puede aplicar en cualquier disciplina donde las imágenes sirven para el diagnóstico a través de la telemedicina.

PALABRAS CLAVE: Educación médica, patología, microscopía (**Fuente:** DeCS BIREME)

SUMMARY

Objective: To describe the implementation of a virtual microscope (VM) for viewing virtual slides (VL) related to the microscopy practices of the course of General Pathology. **Methods:** Google Maps application was chosen as the VM's viewer for its easy use and wide diffusion. For generate VL, each group of photographs (taken with a microscope camera head and a 10X ocular lens), according to the objective lens used, was evaluated to determine which had a better viewing area and less image diffusion while zooming. Then, they were segmented by a script to produce an image tile for each viewing level (VL) and saved in one of the School's servers. **Results:** The photographs taken with the 10X objective were chosen to get six VL (from 0 to 5), being the second, third and fourth levels equivalent to 100X, 200X and 400X respectively. 68,250 image files were produced with a total size of 1110.29 MB. Finally, they were published in the Virtual Space for Teaching of the course. **Conclusions:** The disposition of microphotographs with a VM was viable according to the defined approaches. Its use should not replace the common microscopy practices, but rather be a complementary tool. For its high similarity with the traditional microscopy, it could be applied in any discipline where the image serves for diagnosis via telemedicine.

KEYWORDS: Medical, education, pathology, microscopy (**Source:** MeSH NLM)

1 Departamento Académico de Clínicas Médicas. Facultad de Medicina Alberto Hurtado. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

a Médico Cirujano. Profesor contratado.

INVESTIGACIÓN ORIGINAL / ORIGINAL RESEARCH

INTRODUCCIÓN

Los cambios que ocurren en la asistencia sanitaria actual, que incluyen la disminución de los recursos económicos, la concientización sobre la seguridad del paciente y la importancia cada vez mayor sobre el trabajo en equipo, han contribuido al uso de herramientas y técnicas basadas en la simulación dentro de la educación médica (1). Es así que los últimos avances en la obtención de imágenes de alta resolución han servido para la aparición de la microscopía virtual.

La realización de prácticas en un laboratorio de microscopía es parte de la enseñanza de patología. Requiere de la adquisición y mantenimiento de microscopios ópticos (MO) así como la preparación de láminas y su reemplazo cuando se dañan, lo que significa una gran inversión de las facultades, y la poca disponibilidad de estos materiales obliga a que sean compartidos entre varios alumnos (2). Otras limitaciones son la restricción del uso del laboratorio fuera de clases y la falta de docentes ante un número creciente de estudiantes. Por ello, muchas escuelas médicas están reemplazando sus laboratorios de microscopía por nuevas aulas de cómputo (3).

La microscopía virtual consiste en simular a la microscopía óptica tradicional con archivos de imágenes digitales, llamadas también láminas virtuales (LV) (4). Una forma de hacer disponible un microscopio virtual (MV) y sus contenidos es a través de la web. Para ello, se requiere de un sistema digital de adquisición de imágenes, un servidor para almacenarlas y hacerlas disponibles por la web y un software que permita su exploración (5).

El objetivo de este trabajo fue describir la implementación de un microscopio virtual para la visualización de las láminas virtuales correspondientes a las prácticas de microscopía del curso de Patología General.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la construcción del MV, se optó por usar como visor a la Interfaz de Programación de Aplicaciones (API) de Google Maps (Google Inc., Mountain View California) en JavaScript. Posee controles para navegar y amplificar imágenes alojadas en un servidor web. Fue elegido por su fácil manejo, amplia difusión y por ser de uso libre para propósitos académicos. No requiere ser instalado localmente, ya que a partir de la codificación de una página web se hace la llamada

al archivo JavaScript que se encuentra alojado en el servidor de Google APIs (maps.googleapis.com/maps/api/js) para cargar los símbolos y definiciones del programa.

Las prácticas de microscopía consistían en la observación de 50 diferentes patologías (5 por cada sesión), que habían sido fotografiadas previamente por el coordinador del curso a través de un cabezal de cámara a color de alta definición para microscopía marca Nikon modelo DS-Fi1 de 5 Mpx acoplado sobre un MO con un ocular a 10X. Las microfotografías estuvieron en formato JPEG de 2560 x 1920 px. Cada patología fue fotografiada por cada objetivo del MO (a 4X, 10X, 20X y 40X). El docente cedió las fotografías para su uso en el MV.

Para que una fotografía sea vista por el API de Google Maps, se debe segmentar en pequeñas imágenes para conformar un mosaico para cada nivel de visualización (NV). El NV es un número entero mayor o igual a 0. Cada NV está representado por una capa o cuadrícula dividida en 4NZ sectores de imagen (losetas). Una loseta es un cuadrado de 256 x 256 px, almacenada como archivo de imagen en formato JPEG. Es así que, primero, la fotografía (de forma rectangular) se encaja dentro de un cuadrado y en posición central, completando el resto del área con color negro. Luego, se procede a la fragmentación de esta nueva imagen conforme al NV y finalmente, se redimensiona cada una de las losetas resultantes a las medidas referidas anteriormente. Este procedimiento se haría automáticamente a través de una secuencia de comandos (script).

La librería de imágenes se organizó en varias carpetas almacenadas en uno de los servidores de la Facultad. Cada una de éstas albergó a las losetas de los diferentes NV pertenecientes a una determinada lámina. Para la reconstrucción de la capa de un NV, el visor requiere de las coordenadas para ubicar cada una de las losetas dentro de la cuadrícula. Esto es posible a través del nombre de archivo de la loseta, el cual se compone de la siguiente nomenclatura: NV_C_F, donde C es el número de columna en la cuadrícula y F es el número de fila. Así como NV, C y F son números enteros mayores o iguales a 0 y sus conteos inician desde el extremo superior izquierdo y sigue hacia la derecha (para las columnas) y abajo (para las filas).

RESULTADOS

Para la selección del grupo de fotografías, se tuvo que sopesar entre el tamaño del área de visualización

INVESTIGACIÓN ORIGINAL / ORIGINAL RESEARCH

que ofrecía y la calidad de las imágenes resultantes del proceso de generación de capas. Se ejecutó el script de ajustes a 7 capas para las fotografías de esta prueba y se visualizaron en el MV. Se encontró que a pesar que las fotografías capturadas el objetivo de 4X mostraban mayor área de observación, el acercamiento producía imágenes difusas. Mientras que, con las fotografías tomadas el objetivo de 20X o 40X tenían una mejor calidad de imagen durante la aproximación pero había menor área de exploración. Siendo así, se decidió que la librería de imágenes estaría conformada por las fotografías tomadas con el objetivo a 10X y se ejecutó el script para la creación de 6 capas (NV del 0 al 5), siendo los NZ 2, 3 y 4 equivalentes a 100X, 200X y 400X respectivamente.

Por cada fotografía procesada, se obtuvieron 1365 losetas (Tabla 1) y la mediana de los tamaños de archivo fue de 16,27 KB (9,5 – 55). La mediana de los tamaños de las 50 carpetas de imágenes fue de 22,18 MB (18,06 – 27,99). La librería contó con 68 250 losetas y un tamaño total de 1110,29 MB (Tabla 2).

Se escribió en una página en PHP los códigos para llamar a la API de Google Maps y se estableció una variable especificar la carpeta de imágenes para reconstruir alguna de las LV. Además, se configuraron otros parámetros tales como fijar el deslizador de acercamiento para 6 capas, activar la vista general en miniatura, etc.

Se brindó el acceso al MV desde el Espacio Virtual para la Docencia (6) del curso, creando un módulo de lección por cada práctica de microscopía. Las lecciones fueron un conjunto de páginas escritas en HTML que permitían mostrar contenidos en forma secuencial. Se

Tabla 1. Número de losetas por cada capa para cada fotografía procesada y mediana de los tamaños de las capas de la librería.

Capa	Número de losetas	Mediana de los tamaños de la capa (KB)
0	1	32,00
1	4	134,00
2	16	480,00
3	64	1 549,75
4	256	4 768,80
5	1 024	15 245,00

Tabla 2. Número de losetas y tamaño total de la librería de imágenes según capa.

Capa	Número de losetas	Tamaño total (MB)
0	50	1,60
1	200	6,49
2	800	23,37
3	3 200	76,44
4	12 800	237,93
5	51 200	764,47

creó una página por cada LV. Su observación se pudo hacer desde computadoras de escritorio, smartphones y tablets capaces de interpretar los códigos de Google Maps.

DISCUSIÓN

La disposición de microfotografías a través de un MV fue viable de acuerdo a los lineamientos planteados. Su uso no pretende reemplazar a las prácticas habituales de microscopía, sino ser una herramienta complementaria al aprendizaje de la histopatología tradicional, sirviendo como elemento para una enseñanza basada en procesos en la cual se establecen una secuencia de pasos que orientan al aprendiz hacer un diagnóstico correcto (7). Ciertos estudios han mostrado que la microscopía óptica puede ser reemplazada o suplementada por otros métodos de enseñanza tales como transparencias fotográficas, videos e imágenes estáticas por computadora (8) pero no permiten explorar las preparaciones tal como se hace con el MV, que simula la experiencia del MO tradicional.

La microscopía virtual ofrece muchas más ventajas que la microscopía óptica (9). Con el MV se asegura que los estudiantes vean las mismas imágenes, contrario a las prácticas tradicionales en las que surge la preocupación del alumno sobre si las láminas que examina tienen la misma calidad que aquellas que utilizan sus compañeros. Se puede acceder desde cualquier lugar y momento. Se obvian los ajustes del enfoque, del condensador y de la luz. Además, el uso de proyectores en el laboratorio para mostrar las LV promueve un ambiente colaborativo y de discusión, donde el tiempo del instructor se distribuye eficientemente, cuyas respuestas a las preguntas llegan a todos y se mejora el aprendizaje (10). Mione S y col (11), encontraron que la adquisición de conocimientos en histología era independiente de la forma en que se

INVESTIGACIÓN ORIGINAL / ORIGINAL RESEARCH

llevan las prácticas de laboratorio (a través del MV o MO). Inclusive, el MV puede ser incorporado como parte del modelo basado en la resolución de casos clínicos para la enseñanza y evaluación (12).

Triola MM y Holloway WJ (13), quienes reportaron la implementación de un MV con Google Maps en la Escuela de Medicina de la Universidad de Nueva York, señalaron que usaron un escáner de láminas de microscopía para obtener imágenes a 40X y 100X, alcanzando mayores niveles de acercamiento. Poseer este tipo de dispositivo u optar por servicios externos de escaneo requiere de una importante inversión económica, siendo la principal barrera que impide su realización. Por ello, la utilización de una cámara de microscopía resultó en una alternativa viable para afrontar esta dificultad.

Sin embargo, las imágenes mostradas en nuestro MV correspondieron a uno de los campos de las láminas utilizadas. Una técnica para obtener una imagen de toda la extensión de la lámina a través de una cámara, tal como lo hacen los escáneres, es el stitching. Es un proceso usado en fotografía en el cual se combinan imágenes para producir una imagen panorámica (14). Cuando el número de fotografías es pequeño, se puede utilizar cualquier programa de procesamiento de imágenes para alinearlas y superponerlas; obteniéndose resultados satisfactorios. Pero, cuando la cantidad de campos capturados es muy amplia, el procedimiento se vuelve difícil y consume mucho tiempo. Ante ello, es posible que mientras se va desplazando por toda una lámina se realicen estas fases a través de un software.

Una de las funciones que permite Google Maps, y que aún no hemos aplicado, son las “anotaciones” en las cuales se fija en algún punto de la imagen un marcador para señalar o agregar alguna información. Para nuestro caso, serviría para indicar las estructuras en las LV y hacer descripciones o para realizar evaluaciones en línea.

El visor usado en el MV depende de la disponibilidad gratuita de la API de Google Maps. Si en un futuro se restringe su uso, la librería de imágenes puede ser integrada a otros tipos de visores ya que su adaptación y almacenamiento son independientes.

Es la primera vez que se implementa un MV de estas características para la educación médica en el Perú. El crecimiento de la librería de imágenes aumentaría con la participación de otras facultades

y de centros sanitarios interesados en la enseñanza, evaluación de desempeño e investigación. Debido a la elevada similitud de la microscopía virtual con la microscopía tradicional, también se puede aplicar en cualquier disciplina en la que se utiliza esta última, donde las imágenes sirven para el diagnóstico, tales como radiología y dermatología, a través de la telemedicina.

Declaración de financiamiento y de conflictos de interés:

El desarrollo de este trabajo fue financiado por el autor. El autor declara que no existe conflicto de interés.

Agradecimientos:

Al Dr. Jaime Cáceres, coordinador del curso de Patología General, por la toma de microfotografías; y al Lic. Luis Fucay y al Ing. Walter Castillo, de la Unidad de Telemedicina de la FMAH, por la adaptación de imágenes y programación del MV respectivamente.

Correspondencia:

Carlos Orellano
Av. Honorio Delgado 430. Urb. Ingeniería. San Martín de Porres.
Lima 31. Perú.
Correo electrónico: carlos.orellano@upch.pe

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nelson D, Ziv A, Bandali KS. Going glass to digital: virtual microscopy as a simulation-based revolution in pathology and laboratory science. *J Clin Pathol.* 2012; 65(10):877-81.
2. Fontelo P, Faustorilla J, Gavino A, Marcelo A. Digital pathology - implementation challenges in low-resource countries. *Anal Cell Pathol (Amst).* 2012; 35(1):31-6.
3. Hamilton PW, Wang Y, McCullough SJ. Virtual microscopy and digital pathology in training and education. *APMIS.* 2012; 120(4):305-15.
4. Weinstein RS, Graham AR, Richter LC, et al. Overview of telepathology, virtual microscopy, and whole slide imaging: prospects for the future. *Hum Pathol.* 2009; 40(8):1057-69.
5. Glatz-Krieger K, Glatz D, Mihatsch MJ. Virtual slides: high-quality demand, physical limitations, and affordability. *Hum Pathol.* 2003; 34(10):968-74.
6. Orellano C. Uso de los espacios virtuales para la docencia en cursos de pregrado de medicina. *Rev*

INVESTIGACIÓN ORIGINAL / ORIGINAL RESEARCH

- Med Hered. 2012; 23(3):188-192.
7. Helle L, Nivala M, Kronqvist P, Gegenfurtner A, Björk P, Säljö R. Traditional microscopy instruction versus process-oriented virtual microscopy instruction: a naturalistic experiment with control group. *Diagn Pathol.* 2011; 6(S1):S8.
 8. Krippendorf BB, Lough J. Complete and rapid switch from light microscopy to virtual microscopy for teaching medical histology. *Anat Rec B New Anat.* 2005; 285(1):19-25.
 9. Dee FR. Virtual microscopy in pathology education. *Hum Pathol.* 2009; 40(8):1112-21.
 10. Ducut E, Liu F, Avila JM, Encinas MA, Diwa M, Fontelo P. Virtual Microscopy in a Developing Country: A Collaborative Approach to Building an Image Library. *JETA.* 2010; 8(2):112-5.
 11. Mione S, Valcke M, Cornelissen M. Evaluation of virtual microscopy in medical histology teaching. *Anat Sci Educ.* 2013; 6(5):307-15.
 12. Kumar RK, Velan GM, Korell SO, Kandara M, Dee FR, Wakefield D. Virtual microscopy for learning and assessment in pathology. *J Pathol.* 2004; 204(5):613-8.
 13. Triola MM, Holloway WJ. Enhanced virtual microscopy for collaborative education. *BMC Med Educ.* 2011; 11:4.
 14. Ma B, Zimmermann T, Rohde M, Winkelbach S, He F, Lindenmaier W, Dittmar KE. Use of Autostitch for automatic stitching of microscope images. *Micron.* 2007; 38(5):492-9.

Recibido: 13/12/2013
Aceptado: 24/03/2014